

CATARINA DUARTE DIAS

**UROLITÍASE NUMA POPULAÇÃO DE *MACROPUS*
RUFUS E *MACROPUS RUFOGRISEUS* DO JARDIM
ZOOLOGÍCO DE BARCELONA**

Orientador: Prof. Dr. Pedro Faísca

Co-Orientador: Dra. Vanessa Almagro

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2016

CATARINA DUARTE DIAS

**UROLITÍASE NUMA POPULAÇÃO DE *MACROPUS*
RUFUS E *MACROPUS RUFOGRISEUS* DO JARDIM
ZOOLOGÍCO DE BARCELONA**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Medicina Veterinária no curso de Mestrado Integrado
em Medicina Veterinária conferido pela Universidade
Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Presidente: Dra. Michelle Serafim

Arguente: Dra. Rute Noiva

Orientador: Prof. Dr. Pedro Faísca

Co-Orientador: Dra. Vanessa Almagro

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2016

Agradecimentos

Às pessoas que me dedicaram muito do seu tempo e apoio de forma incondicional, de forma a que tenha sido possível atingir este objectivo que sempre foi o meu sonho, dedico todas estas palavras.

Em primeiro lugar, um muito especial obrigada aos meu pais, que tornaram possível todo o meu percurso académico e que fizeram de mim quem sou. Mesmo em tempos difíceis, fizeram o possível e impossível, para tornar todo este sonho real, apoiando-me de forma estermosa e incondicional. Por me terem dado a oportunidade de poder estudar e tornar-me assim a pessoa que sempre quis ser. Obrigada por terem acreditado em quem sou e por todo o apoio, força e dedicação que me deram. Se não fosse todo o vosso amor, eu não era a pessoa que sou hoje. Ficarvos-ei eternamente grata. Obrigada por serem os pais que muito gente sonha ter. Obrigada por serem a minha inspiração.

Ao meu irmão, pela paciência que teve comigo em alturas mais complicadas do meu percurso académico, nomeadamente nas épocas de maior estudo. Pelas gargalhadas no final de muitos dias. Por compreender a importância de todo este caminho e assim o apoio sempre presente. Muito obrigada por seres a pessoa que és, por seres o irmão que muitos desejariam ter. Serás sempre o meu orgulho.

Quero agradecer aos meus avós, por todo o apoio e dedicação que sempre disponibilizaram. Por serem as pessoas maravilhosas e inspiradoras que são, e que sempre me motivaram a dedicar empenho aos meus objectivos. Por estarem sempre presentes de braços abertos e muitas vezes, em períodos mais difíceis, serem o meu porto de abrigo. Um grande obrigada por todo o amor que me retribuem de braços abertos.

À minha tia e madrinha Cristina, quero agradecer todo o apoio e carinho que me proporcionou, principalmente nos momentos mais difíceis.

Um especial obrigada à Verónica, por todos os momentos bons e maus que passa a meu lado, sempre com uma força e um incentivo incansável. Por toda a ajuda, apoio incondicional e confiança. Por acreditar e valorizar a pessoa que sou, quer a nível pessoal, quer profissional.

Aos meus grandes e eternos amigos de curso, seja da mesma época ou épocas distintas, pela maravilhosa amizade que me retribuíram e que nunca esquecerei. Por todos os momentos partilhados, gargalhadas, desespero de muitas noites de trabalho e estudo e da mão que muitas vezes esticámos para nos levantar-mos uns aos outros. Obrigada por

terem caminhado comigo este longo e difícil percurso que foi o nosso. Conseguimos. Continuaremos a ser fiéis colegas, mas acima de tudo grandes amigos.

À Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, na pessoa da sua Diretora, Professora Doutora Laurentina Pedroso, pela possibilidade de realização desta Dissertação de Mestrado.

Ao meu orientador, Professor Doutor Pedro Faísca, por toda a ajuda e dedicação na elaboração da minha dissertação de mestrado. Por todos os conselhos facultados e tempo disponibilizado, onde sempre se mostrou disponível para qualquer dúvida. Sem a sua preciosa ajuda esta dissertação não teria acontecido.

À minha co-orientadora, Doutora Vanessa Almagro, por me disponibilizar o maravilhoso tema de dissertação que tanto gosto me deu a desenvolver. Por toda a dedicação e ajuda que me disponibilizou durante todo o estágio curricular, e após, durante a elaboração da dissertação, se encontrou sempre disponível. Por todos os conhecimentos facultados. Quero assim, agradecer a toda a equipa veterinária do Jardim Zoológico de Barcelona, constituído pelo Dr. Hugo Fernandez, Dra. Vanessa Magro e Dra. Mariángeles Huzman, por me transmitirem, ao longo de três maravilhosos meses de estágio, os extensos conhecimentos que possuem e pela fantástica oportunidade de aprender junto de todos vós.

Quero agradecer ao Doutor Rui Bernardino, pelo tempo disponibilizado que foi uma ajuda fundamental na elaboração da dissertação. Por toda a pesquisa e trabalho fornecido. Um muito obrigada por toda a dedicação e pela transmissão dos vastos conhecimentos e ensinamentos que com tanto gosto, proporcionou ao longo de 6 anos de curso. Foi um prazer aprender junto de si e assim desenvolver um maior conhecimento de toda a medicina zoológica, área esta que sempre me fascinou.

A toda a equipa da Clínica Veterinária de Tires, com um especial obrigada ao Doutor Rui Patrício, por todos os conhecimentos que facultou ao longo de 6 anos de curso e dos 4 meses de estágio curricular, por todos os conselhos e dedicação. Pelos bons momentos passados na companhia de uma grande equipa e por toda amizade que recebi ao longo do estágio e que ficará para sempre. Também como parte da fantástica equipa, um grande obrigada à Doutora Ana Sofia Ribeiro, por toda a dedicação, por todos os ensinamentos e acima de tudo, pela maravilhosa amizade que se criou.

Por tudo isto, queria expressar o meu mais especial e sincero agradecimento, pois hoje finalmente sou Médica Veterinária.

Resumo

A urolitíase é uma doença, bem documentada, do sistema urogenital em animais domésticos e humanos, tendo vindo a ser relatada cada vez mais em espécies selvagens, tanto em cativeiro como em estado selvagem. Contudo o seu relato em marsupiais, nomeadamente em espécies de *Macropus*, é raro.

O presente estudo retrospectivo, relata 6 casos de urolitíase, como achados de necrópsia, com ausência de sintomatologia clínica, em duas espécies do género *Macropus* (*Macropus rufus* e *Macropus rufogriseus*), parte da coleção do Jardim Zoológico de Barcelona, relatados entre 2010 e 2015. Os animais afetados eram todos fêmeas, com idades entre os 5 e os 17 anos. Quatro dos seis casos são da espécie *Macropus rufogriseus* e os restantes dois casos da espécie *Macropus rufus*.

Os urólitos analisados, eram compostos por carbonato de cálcio puro. Em três dos seis casos, os urólitos apresentavam-se com localização na pélvis renal, bilateral; em dois casos apresentavam-se com localização na pélvis renal do rim esquerdo; num caso, encontravam-se na pélvis renal do rim esquerdo e no ureter direito. Embora a causa exata ainda seja desconhecida, existe uma forte suspeita de um possível desbalanço nutricional, com excesso de fontes ricas em cálcio na dieta, levando ao desenvolvimento de urólitos.

Palavras-chave: *Macropus rufus*, *Macropus rufogriseus*, urolitíase, carbonato de cálcio, marsupiais.

Abstract

Urolithiasis is a disease of the urogenital system, well documented in domestic animals and humans, and increasingly being reported in wild species, both in captivity and in the wild. However in marsupials, namely in *Macropus* species, is rarely documented.

The present retrospective study, reports 6 cases of urolithiasis, as necropsy findings, with absence of clinical signs, in two *Macropus* species (*Macropus rufus* e *Macropus rufogriseus*), part of the Barcelona Zoo collection, reported between 2010 and 2015. The affected animals were all females, aged 5 to 17 years. Four of the six cases are from the *Macropus rufogriseus* species and the remaining two cases from the *Macropus rufus* species.

The analyzed uroliths were composed of pure calcium carbonate. In three of the six cases, uroliths were located in the renal pelvis, bilateral; in two cases were located in the renal pelvis of the left kidney; in one case they were in the renal pelvis of the left kidney and right ureter. Although the exact cause is still unknown, there is a strong suspicion of a possible nutritional imbalance, with excess of rich calcium sources in the diet, leading to the development of uroliths.

Keywords: *Macropus rufus*, *Macropus rufogriseus*, urolithiasis, calcium carbonate, marsupials.

Lista de Abreviaturas, Símbolos e Acrónimos

JZB – Jardim Zoológico de Barcelona

CAMV – Centro de Atendimento Médico-Veterinário

Dr. – Doutor

Dra. – Doutora

Img. – Imagem

Fig. – Figura

F – Fêmea

M – Macho

CC – Condição Corporal

N – Normal

HT – Hematócrito

VCM – Volume Corpuscular Médio

HCM – Hemoglobina Corpuscular Média

CHCM – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

Rim D. – Rim direito

Rim E. – Rim esquerdo

Ureter D. – Ureter direito

Ca:P – Rácio cálcio fósforo

cm – Centímetros

mm – Milímetros

kg – Quilogramas

g – Gramas

↑ – Valor aumentado

Índice Geral

Agradecimentos.....	1
Resumo	3
Abstract	4
Lista de abreviaturas, símbolos e acrónimos	5
Índice de Tabelas	7
Índice de Figuras	8
Índice de Imagens	9
Índice de Gráficos.....	10
I. CASUÍSTICA DO ESTÁGIO CURRICULAR	11
II. DISSERTAÇÃO DE MESTRADO	19
1. Introdução	19
2. Objectivos	24
3. Materiais e métodos	25
3.1 – Instituição Zoológica	25
3.2 – Amostra	25
3.3 – Recolha de dados intrínsecos e extrínsecos da amostra	26
4. Resultados	31
4.1 - Caracterização da amostra populacional em estudo	31
4.2 - Necrópsia	34
4.3 - Espectroscopia de infravermelhos	39
4.4 - Análises bioquímicas e hemograma	40
5. Discussão.....	42
6. Conclusão	53
7. Referências Bibliográficas	55

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Protocolo nutricional dos <i>Macropus rufogriseus</i>	29
Tabela 2 – Protocolo nutricional dos <i>Macropus rufus</i>	29
Tabela 3 – Características intrínsecas dos animais em estudo	31
Tabela 4 – Tempo de permanência de cada animal na coleção zoológica	33
Tabela 5 – Causa de morte de cada animal	34
Tabela 6 – Achados de necrópsia.....	35
Tabela 7 – Dados de análise dos urólitos	39
Tabela 8 – Bioquímicas.....	40
Tabela 9 – Hemograma	40
Tabela 10 – Hemograma (Continuação).....	41

Índice de Figuras

Figura 1 – Morfologia gástrica de espécies <i>Macropus</i>	20
Figura 2 – Trato Urogenital feminino de um <i>Macropus</i>	21

Índice de Imagens

Imagem 1 – Instalação <i>Macropus rufogriseus</i> . Pátio exterior 1	27
Imagem 2 – Instalação <i>Macropus rufogriseus</i> . Pátio exterior 2	27
Imagem 3 – Instalação <i>Macropus rufus</i> . Pátio 1	28
Imagem 4 – Instalação <i>Macropus rufus</i> . Pátio 1	28
Imagem 5 – MG1 – Irregularidade da superfície renal, compatível com atrofia renal de ambos os rins	36
Imagem 6 – MG2 – Posição anatómica normal do aparelho urinário. Presença de bastante gordura abdominal.....	36
Imagem 7 – MG2 – Presença de urólitos ao nível da pélvis renal do rim direito, acompanhado de hidronefrose renal.....	36
Imagem 8 – MG2 – Presença de urólitos ao nível da pélvis renal do rim esquerdo, acompanhado de hidronefrose renal	36
Imagem 9 – MG3 – Presença de urólitos ao nível da pélvis renal do rim esquerdo, acompanhado de hidronefrose renal	37
Imagem 10 – MG3 – Presença de urólitos ao nível da pélvis renal do rim esquerdo, acompanhado de hidronefrose renal	37
Imagem 11 – MG4 – Presença de urólitos ao nível da pélvis renal do rim esquerdo, acompanhado de hidronefrose renal	37
Imagem 12 – MR2 – Rim esquerdo	37
Imagem 13 – MR2 – Pélvis renal do rim esquerdo com pequenos urólitos e algum grau de dilatação da mesma	38
Imagem 14 – MR2 – Pélvis renal do rim esquerdo com pequenos urólitos e algum grau de dilatação da mesma	38
Imagem 15 – MR2 – Urólitos removidos de ambos os rins	38

Índice de Gráficos

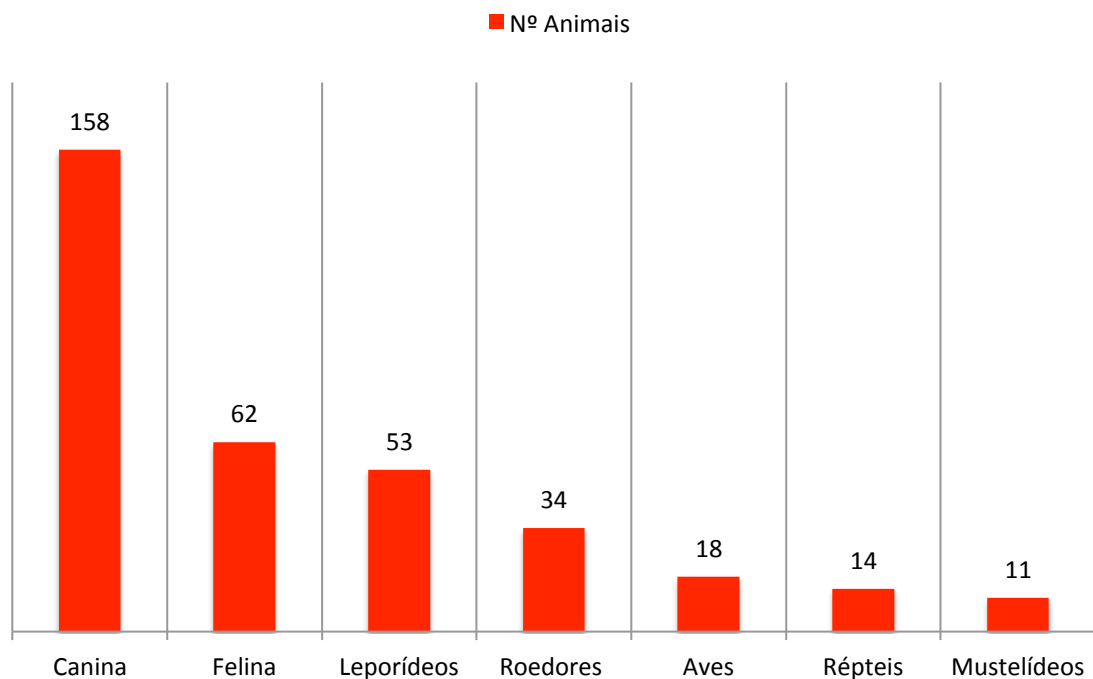
Gráfico 1 – Número de animais observados durante o estágio CAMV	11
Gráfico 2 – Atos médicos realizados durante os três meses de estágio CAMV	12
Gráfico 3 – Tipos de procedimentos cirúrgicos realizados no CAMV	13
Gráfico 4 – Percentagem de vacinas efectuadas nas diferentes espécies no CAMV	13
Gráfico 5 – Número de animais por grupos observados durante o estágio no JZB	14
Gráfico 6 – Atos médicos realizados durante os três meses de estágio no JZB	15
Gráfico 7 – Número de anestésias realizadas por grupo de animais no JZB	16
Gráfico 8 – Tipos de procedimentos cirúrgicos realizados durante o estágio no JZB	16
Gráfico 9 – Exames diagnóstico realizados durante o estágio no JZB	17
Gráfico 10 – Número de necrópsias realizadas durante o estágio no JZB	18
Gráfico 11 – Distribuição dos animais doentes e não doentes por sexo (<i>Macropus rufogriseus</i>)	32
Gráfico 12 – Distribuição dos animais doentes e não doentes por sexo (<i>Macropus rufus</i>) ..	33

I. CASUÍSTICA DO ESTÁGIO CURRICULAR

No período compreendido entre 12 de Outubro de 2015 a 8 de Janeiro de 2016, foi realizado a primeira parte do estágio final de curso de Medicina Veterinária, supervisionado pelo Dr. Rui Patrício, na Clínica Veterinária de Tires, que tem como especialidade animais exóticos, mas abrange todos os animais, incluindo cães e gatos. Durante o período de estágio foi possível observar o dia-a-dia de uma clínica veterinária, onde se realizou consultas, cirurgias e tratamentos.

Durante o estágio, foram observados 350 animais, em diferentes atos médicos (Gráfico 1). 158 cães, 62 gatos, 53 coelhos, 34 roedores (porcos-da-índia, chinchilas, hamster, ratazana, etc.), 18 aves, 14 répteis (tartarugas aquáticas e terrestres, camaleões, dragões barbudos, basiliscos, etc.) e 11 furões.

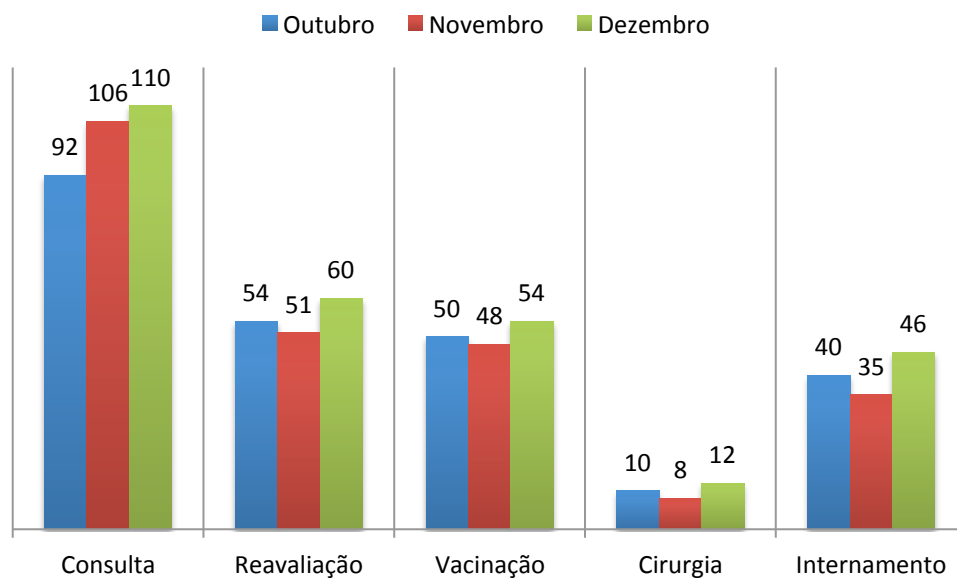
Gráfico 1: Número de animais observados durante o estágio CAMV.



Com os dados recolhidos durante os três meses, perante o gráfico 2, é possível determinar que a maioria dos atos médicos realizados são consultas. Grande parte das consultas, foram realizadas em felídeos e canídeos. Em qualquer um dos parâmetros presentes no gráfico estão incluídos, tanto espécies exóticas, como a espécie felina e canina.

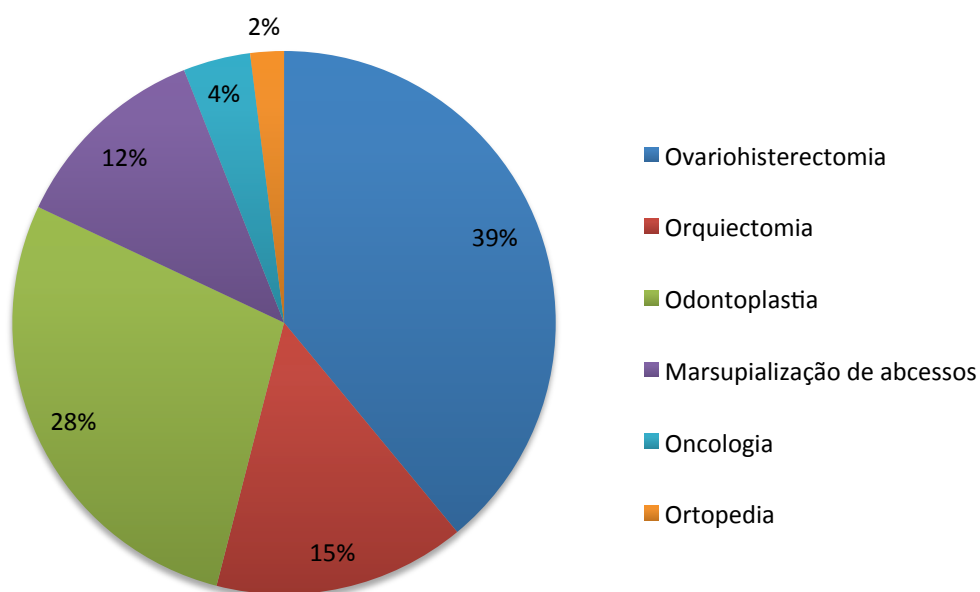
Podemos concluir que o mês onde se realizou mais procedimentos clínicos foi em Dezembro. Outubro foi o mês onde se realizaram menos atos clínicos, excepto consultas médicas.

Gráfico 2: Atos médicos realizados durante os três meses de estágio CAMV.



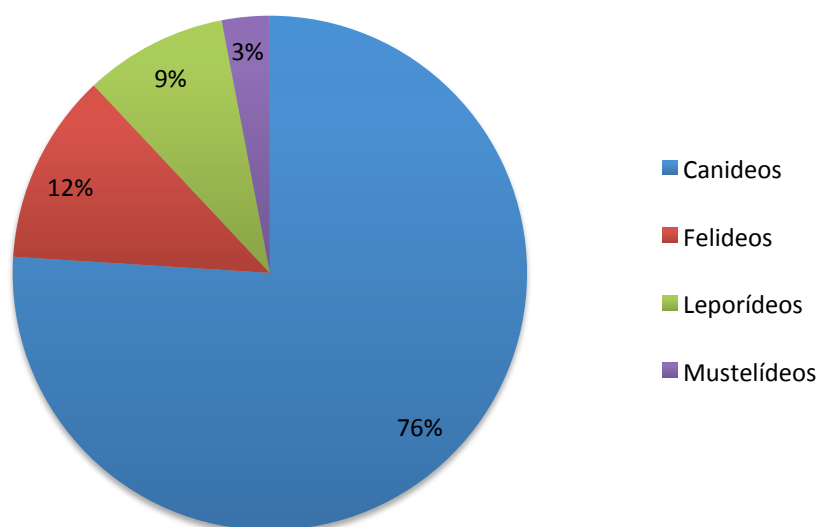
No gráfico 3, podemos observar os procedimentos cirúrgicos realizados durante o período de estágio, com um total de 30 cirurgias. A maioria dos procedimentos, foi para controlo de natalidade e prevenção de futuras neoplasias do aparelho reprodutor, no caso da espécie felina, canina e leporídeo. Em relação às odontoplastias e marsupialização de abscessos, os leporídeos foram os animais mais envolvidos nestes procedimentos cirúrgicos.

Gráfico 3: Tipos de procedimentos cirúrgicos realizados no CAMV.



No caso das consultas de vacinação podemos constatar, segundo o Gráfico 4, que 76% das vacinas foram realizadas em canídeos, 12% em felídeos, 12% em espécies exóticas, sendo 9% em leporídeos e 3% em mustelídeos.

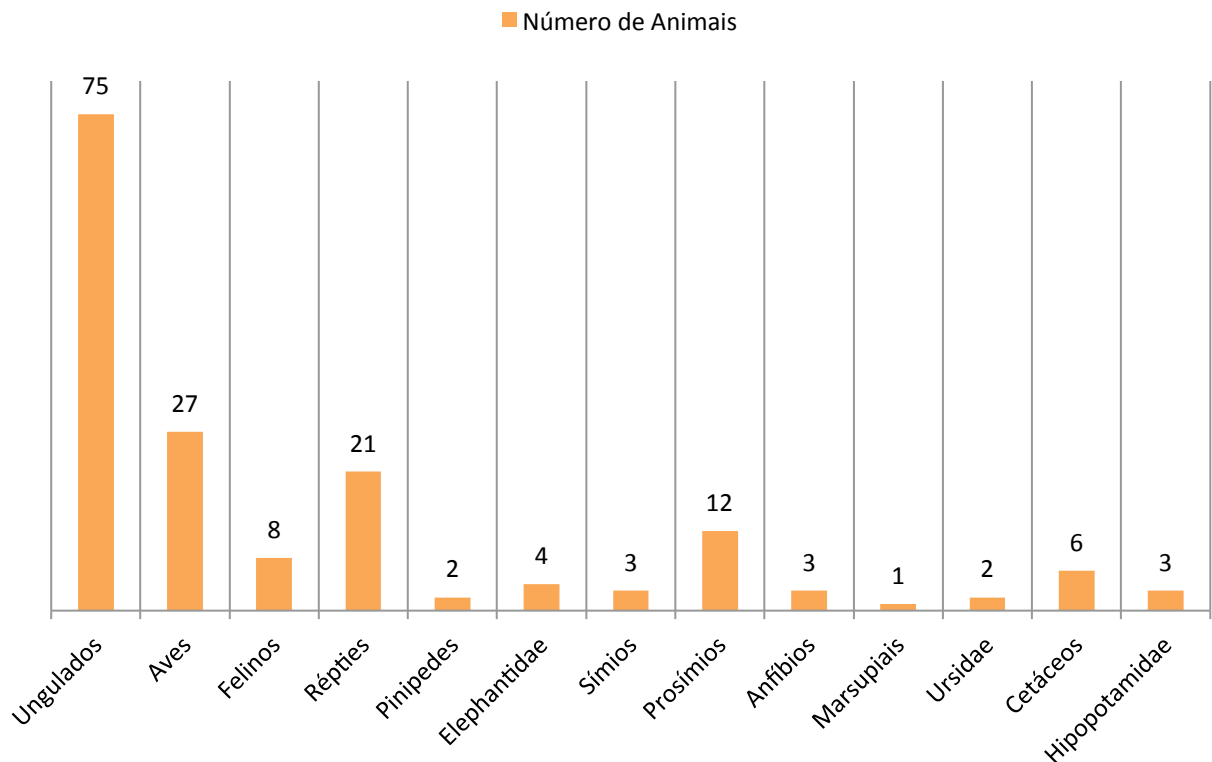
Gráfico 4: Percentagem de vacinas efetuadas nas diferentes espécies no CAMV.



No período compreendido entre 1 de Fevereiro de 2016 a 29 de Abril de 2016, foi realizado a segunda parte do estágio final de curso de Medicina Veterinária no Jardim Zoológico de Barcelona (JZB). O mesmo foi supervisionado pela Dra. Vanessa Magro. Durante o período de estágio foi possível observar o dia-a-dia de um veterinário dedicado a medicina zoológica, onde se realizou exames de rotina, cirurgias, tratamentos, necropsias e manejo.

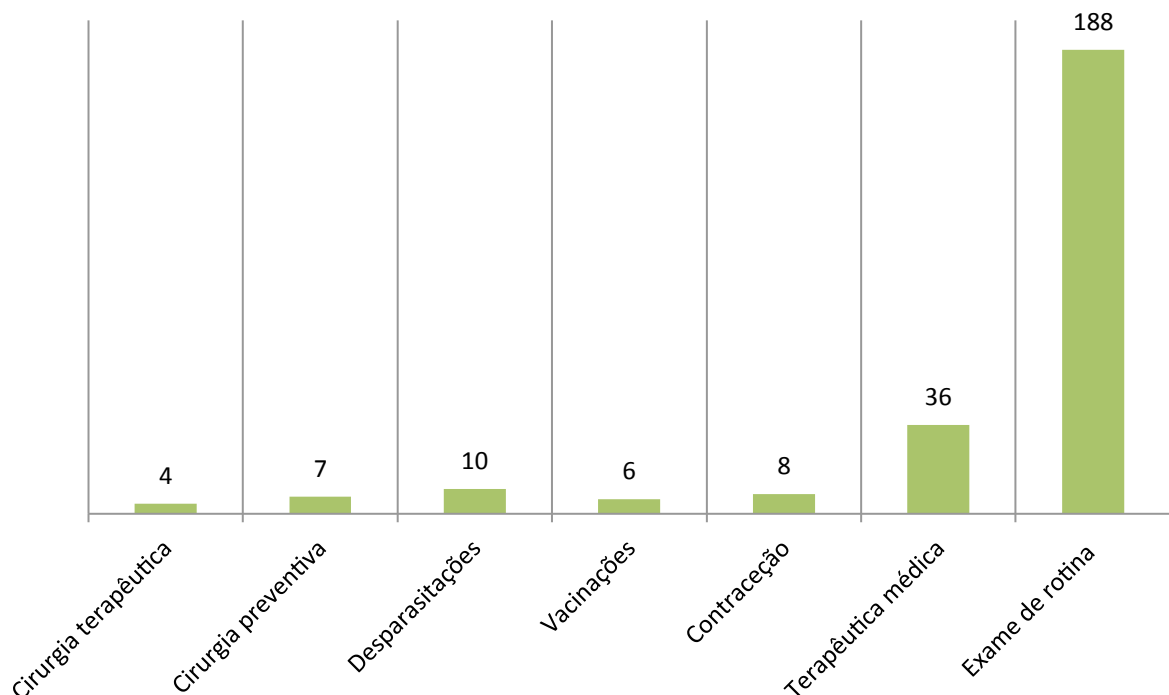
Durante o estágio, foram observados um total de 167 animais, dos quais 75 eram ungulados, 4 *Elephantidae*, 3 *Hipopotamidae*, 27 aves, 8 felinos, 21 répteis, 2 pinípedes, 6 cetáceos, 3 símios, 12 prosímios, 3 anfíbios e 2 *Ursidae* (Gráfico 5). Estes animais foram observados em diferentes atos médicos e cirúrgicos.

Gráfico 5: Número de animais, conforme grupos, observados durante o estágio no JZB.



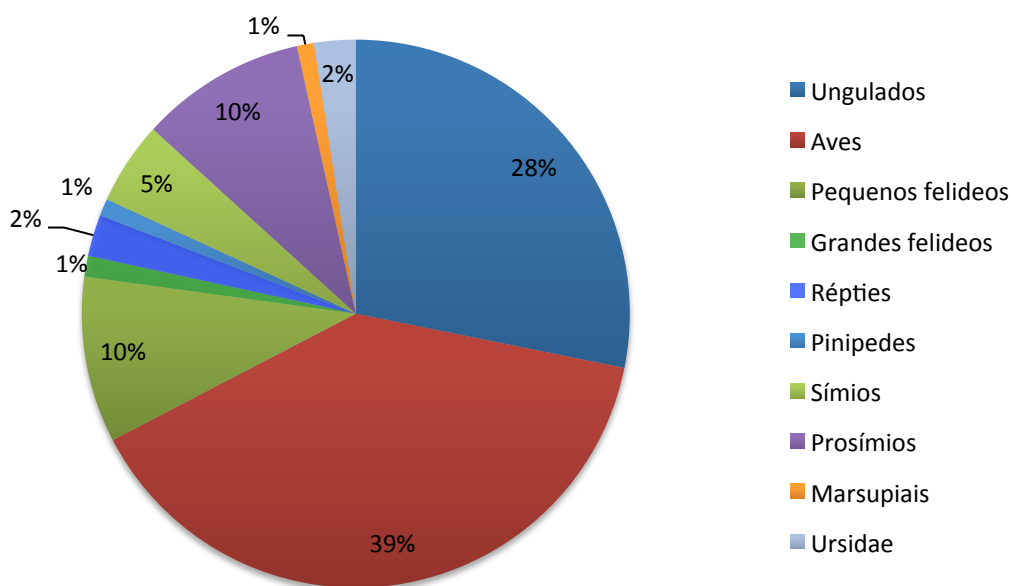
É possível constatar pelo gráfico 6, que a maioria dos atos médicos realizados são exames de rotina (recolha de sangue, amostras de pêlo, exames radiográficos, etc.), de forma a realizar uma medicina preventiva. Considera-se terapêutica médica tudo o que recorre a uso de fármacos para resolução de uma patologia e técnicas não-invasivas. No caso das cirurgias preventivas, refere-se a ovariectomia e orquiectomias. Os valores apresentados no gráfico, não são específicos para uma espécie, ou seja, em qualquer um dos parâmetros analisados estão incluídos todas as espécies intervencionadas, da população zoológica da qual fazem parte.

Gráfico 6: Atos médicos realizados durante os três meses de estágio no JZB.



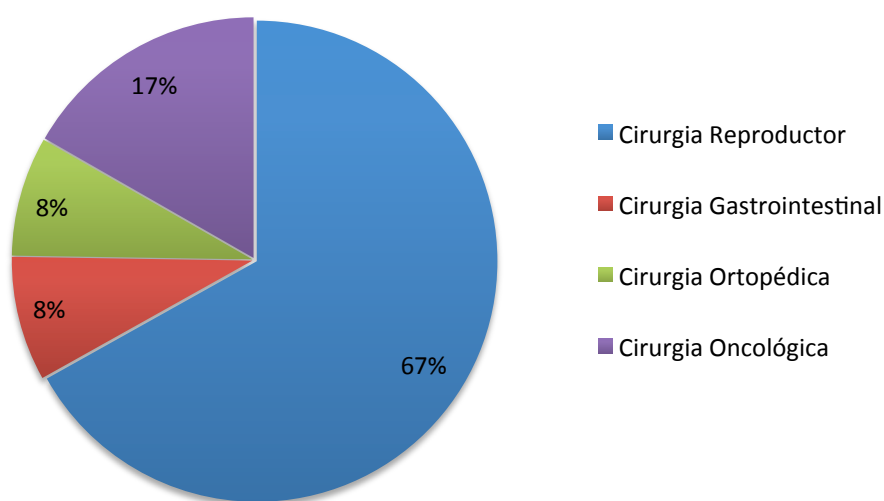
Segundo o gráfico 7, é possível constatar que o grupo de animais que mais procedimentos anestésicos recebeu durante os três meses de estágio, num total de 82 anestésias neste período, de forma a serem intervencionados, é o grupo de aves, seguido dos ungulados. Isto deve-se ao facto de serem os grupos com maior número de animais, presentes nesta coleção zoológica.

Gráfico 7: Número de anestésias realizadas por grupo de animais no JZB.



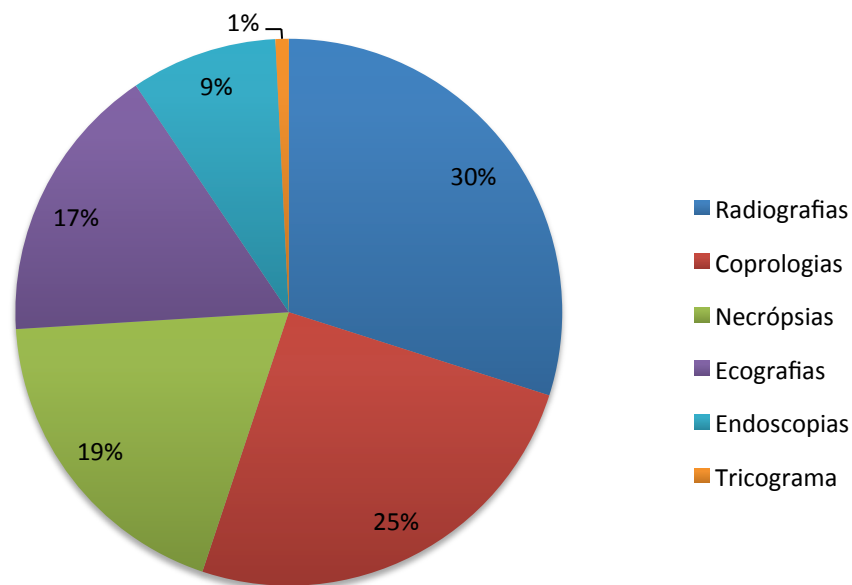
Em relação aos 12 atos cirúrgicos realizados (Gráfico 8), o sistema reprodutor foi o mais intervencionado para controlo da natalidade no caso de espécies felinas (gato doméstico) invasoras do espaço zoológico, de forma a evitar excesso dos mesmos, tentando diminuir o risco que estes causam à população de animais presentes na coleção.

Gráfico 8: Tipos de procedimentos cirúrgicos realizados durante o estágio no JZB.



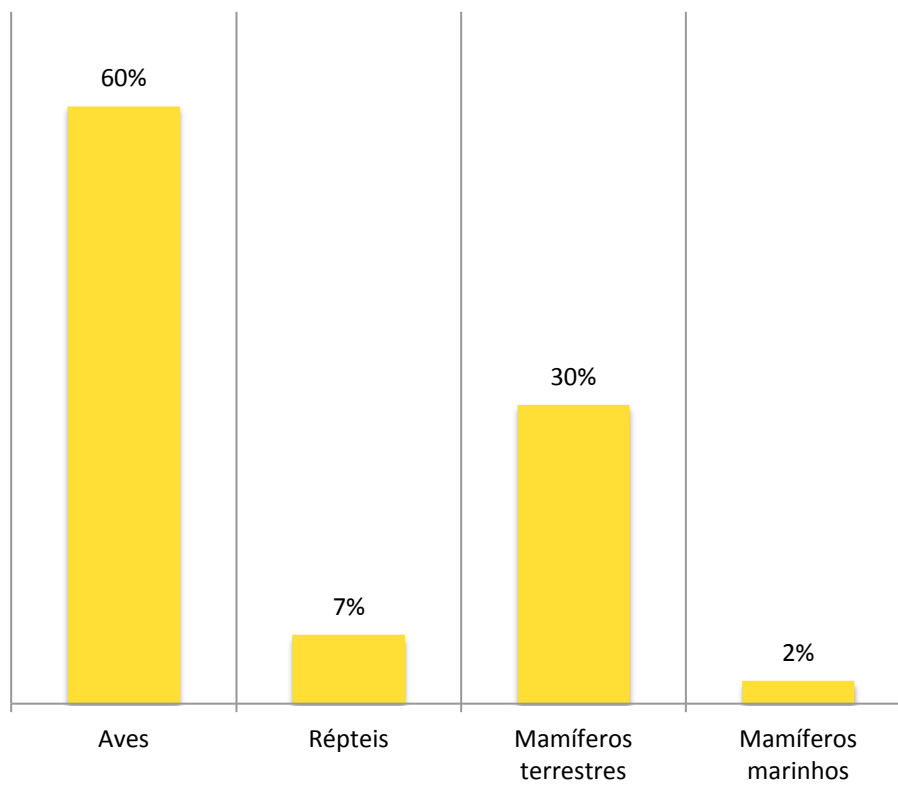
Num total de 127 procedimentos de diagnóstico, podemos observar no gráfico 9, que o exame radiográfico trata-se do método de diagnóstico mais frequentemente utilizado, aumentando o seu valor de uso na rotina de medicina preventiva, seguido dos exames coprológicos de rotina. Dentro dos métodos de diagnóstico menos recorridos, temos a endoscopia e o tricograma, tendo sido este último usado apenas num caso de automutilação em primatas.

Gráfico 9: Exames diagnóstico realizados durante o estágio no JZB.



Ao longo dos três meses de estágio no Jardim Zoológico de Barcelona, realizou-se um total de 43 necrópsias. Segundo o gráfico 10 é possível observar que a maioria das necrópsias foram realizadas a aves tanto da coleção zoológica como aves fora desta (selvagens), servindo assim para um controlo de possíveis doenças presentes nas mesmas, com potencial risco de contaminação para os animais presentes no JZB. Dentro dos mamíferos terrestres, com 30% das necrópsias, inclui-se várias espécies de ungulados e alguns primatas.

Gráfico 10: Número de necropsias realizadas durante o estágio no JZB.



II. DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

1. Introdução

As duas espécies, *Macropus rufogriseus* e *Macropus rufus*, pertencem à ordem *Diprotodontia*, à família *Macropodidae*, à subfamília *Macropodinae* e ao género *Macropus*. Ambas as espécies pertencem à infraclasse Marsupialia, um grupo diversificado de mamíferos, que existe numa grande variedade de habitats, desde regiões alpinas a florestas e desertos (Vogelnest & Woods, 2008; Vogelnest, 2014). São várias as características que os distingue dos restantes mamíferos, tais como a anatomia do trato reprodutor feminino, o curto período de gestação, com crias a nascerem num estado embrionário, entre outros (Vogelnest & Woods, 2008; Vogelnest, 2014).

Na presente dissertação, irão ser abordadas as características que fazem destas duas espécies, animais algo únicos, tanto a nível anatómico como fisiológico, que torna muitas vezes desafiante toda a sua medicina. *Macropus rufogriseus*, mais comumente conhecido por canguru-de-bennett, é um animal de tamanho médio, comum de habitar desde regiões florestais de eucalipto a savanas do sudoeste australiano e Tasmânia (Jackson, 2003; Vogelnest & Woods, 2008). O *Macropus rufus*, conhecido como canguru vermelho, é o maior de todos os cangurus, o maior mamífero nativo da Austrália, e o maior marsupial de momento existente (Jackson, 2003; Vogelnest & Woods, 2008). Este habita zonas áridas a semiáridas por toda a Austrália continental. Ambas as espécies são herbívoras, com baixo metabolismo, levando a que as necessidades de manutenção em energia, proteína, água e outros nutrientes seja menor, comparado a maioria dos mamíferos (Jackson, 2003; Vogelnest & Woods, 2008). Assim, as necessidades alimentares destes, podem ser alcançadas através de uma ingestão mais baixa de alimentos e dietas ricas em fibra de baixa qualidade (Vogelnest & Woods, 2008; Delaney, 2014; Vogelnest, 2014).

As espécies de macropus de grande porte, como o *Macropus rufus*, alimentam-se maioritariamente de gramíneas. Já as espécies de porte intermédio, como o *Macropus rufogriseus*, tendem a ter uma alimentação mista, entre gramíneas e folhas (Jackson, 2003). Em cativeiro, a maioria dos animais são alimentados em excesso, e muitas vezes com dietas com baixo teor de fibra, resultando em obesidade e patologias dentárias e gastrointestinais (Vogelnest & Woods, 2008; Vogelnest, 2014). Os macropus são fermentadores denominados “foregut”, ou seja, a fermentação do alimento nestes é realizada posteriormente ao estômago a nível do ceco. Estes contêm estômagos saculados,

divididos em 4 partes (fig. 1) (Vogelnest & Woods, 2008; Delaney, 2014; Vogelnest, 2014). São muitas vezes vistos como ruminantes pelo facto de regurgitarem o bolo alimentar para a cavidade oral, contudo, trata-se de um reflexo fisiológico, pois não ruminam o regurgitado acabando por voltar a deglutir o mesmo (Vogelnest & Woods, 2008; Vogelnest, 2014).

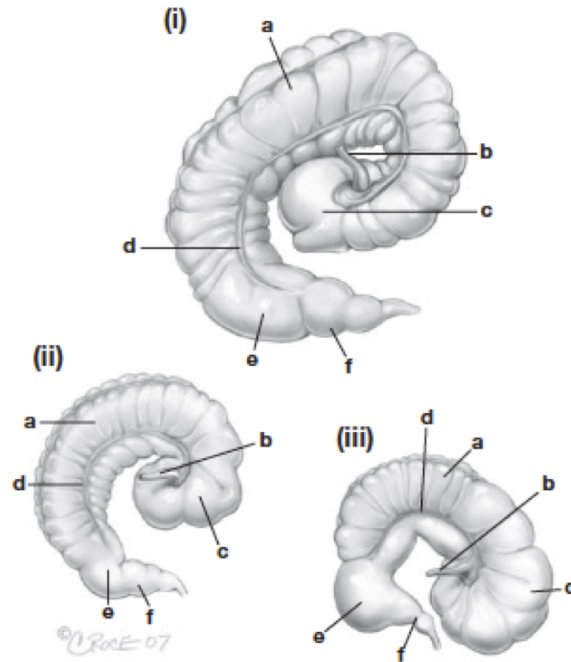


Fig. 1: Morfologia gástrica de espécies *Macropus*. i) Herbívoros de ervas. ii) Herbívoros de folhas. iii) Família Potoroidae, Canguru-arborícola e Pademelons. a) Estômago tubiforme. b) Esófago. c) Estômago saciforme. d) Taenia. e) Estômago posterior. f) Píloro. (After Hume (1999) and Tyndale-Biscoe (2005))(Vogelnest & Woods, 2008).

Anatomicamente existem algumas particularidades nestes animais, tais como a presença de cloaca (vestíbulo comum), que no caso das fêmeas, é onde vai desembocar o seio urogenital em conjunto com o recto (Vogelnest & Woods, 2008; Vogelnest, 2014). Nos machos, o pénis fica dentro do vestíbulo comum, onde as aberturas urogenitais se encontram ventrais ao recto (Vogelnest & Woods, 2008; Vogelnest, 2014). A nível do sistema urinário, este é semelhante em todos os marsupiais, tendo como exclusividade nestes o percurso realizado pelos ureteres, dos rins à bexiga (Vogelnest, 2014). Como se pode observar na figura 2, estes passam entre a vagina mediana e a lateral. No caso dos macropus e outras duas espécies de marsupiais, como os coalas (*Phascolarctos cinereus*) e vombate comum (*Vombatus ursinus*), a bexiga localiza-se numa região intra-pélvica, uma vez não distendida (Vogelnest & Woods, 2008; Vogelnest, 2014).

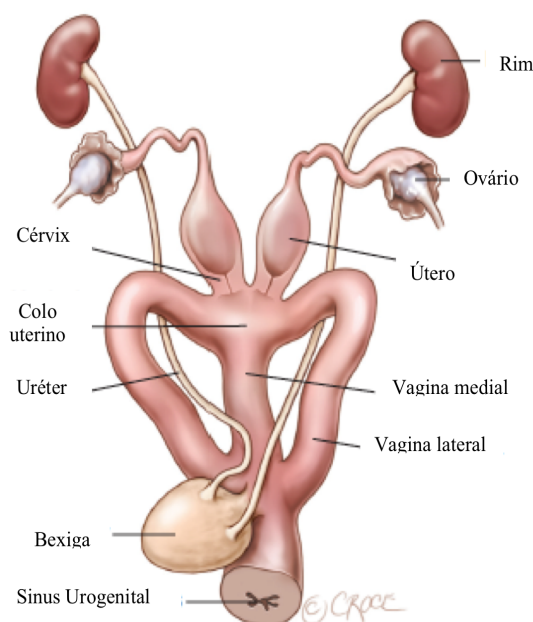


Fig. 2: Trato urogenital feminino de um *Macropus*. (Adaptado de Vogelnest L e Woods R: *Medicina of Australian Mammals*, CSIRO 2008, Reproduzido com correções 2010, Ilustrador: Beth Croce, Publicado pela CSIRO PUBLISHING, Collingwood, Victoria, Austrália, Reproduzido com permissão.)(Vogelnest, 2014).

A uretra de *Macropus* machos, tem presente uma espécie de cúspides semelhantes a válvulas, com cerca de 2 a 3 cm, proximal ao orifício externo. Cada cúspide é de aproximadamente 5 mm de comprimento. Imediatamente distal ao esfíncter da bexiga, encontra-se um par de cúspides semelhantes, mas de maior tamanho. Esta anatomia, torna o cateterismo uretral difícil (Vogelnest & Woods, 2008; Vogelnest, 2014). Suspeita-se que o sistema digestivo e a fisiologia renal destes animais, seja semelhante aos pequenos ruminantes domésticos (Lindemann *et al.*, 2013).

É ampla a gama de patologias que se pode observar no género *Macropus*, como em muitas outras espécies de animais domésticos e não domésticos. Em geral, os processos das mesmas e respectivas terapêuticas são semelhantes às espécies domésticas (Allen *et al.*, 2010), contudo, com algumas particularidades em determinadas doenças. Estes podem incluir patologias virais (ortopoxvírus, herpesvírus, encefalomiocardites virais, etc.), bacterianas (*Mycobacterium* sp., lumpy jaw (Necrobacillose oral/*Fusobacterium necrophorum*, salmonelose, infecção da bolsa marsupial (*Pseudomonas aeruginosa*, tétano), fúngicas (candidíase, dermatofitose, criptococose, etc.), parasitárias (coccidiose,

toxoplasmose, babesiose, etc.) e não-infecciosas (miopatia de captura, etc.) (Vogelnest & Woods, 2008; Vogelnest, 2014).

A urolitíase é uma das doenças que animais desta espécie podem vir a sofrer, porém a sua ocorrência e posterior documentação é escassa (Liptovszky *et al.*, 2014). Esta encontra-se bem descrita em animais domésticos, e já há alguns relatos em animais selvagens mantidos em cativeiro e estado selvagem (Faltas, 2000; Napier & Moore, 2005; Keller *et al.*, 2008). Os casos publicados são geralmente solitários, com a exceção de algumas espécies tais como a lontra-anã-oriental (*Aonyx cinérea*) (Calle, 1988; Liptovszky *et al.*, 2014). Na infraclasse *Marsupialia*, já foi relatada em várias espécies, nomeadamente *Macropus*, possums (*Pseudocheirus peregrinus*, *Trichosurus vulpecula*), coalas (*Phascolarctos cinereus*)(nos quais já foi relatado a ocorrência de nefrose por oxalato e formação de urólitos (Liptovszky *et al.*, 2014; Booth & Blanshard, 1999)), entre outros (Vogelnest & Woods, 2008; Speight *et al.*, 2012; Higbie *et al.*, 2014).

É uma doença do sistema urogenital, que consiste na formação de urólitos, que podem ter diferentes composições, podendo ocorrer em qualquer zona do trato urinário, podendo ou não, levar a obstruções parciais ou totais. A formação de urólitos envolve processos complexos, onde os principais factores que levam ao seu desenvolvimento incluem, volume urinário reduzido, alterações do pH urinário (relacionado com o tipo de urólito), supersaturação urinária (resultando na formação de cristais) e baixos níveis urinários de vários inibidores de cristalização, incluindo citrato e magnésio (Lavery *et al.*, 1992; Bryant & Rose, 2003). A composição dos mesmos varia consoante a espécie animal, ambiente, fisiologia e o tipo de dieta que o mesmo realiza. A urolitíase está na maioria das vezes associada com dietas ricas em concentrados, frequentemente usado em parques zoológicos (Fowler & Miller, 2008).

Segundo a literatura existente, não existe predisposição de género para o desenvolvimento de urólitos, contudo, devido às diferenças anatómicas do trato urinário inferior entre machos e fêmeas, nomeadamente ao nível do diâmetro da uretra, onde a mesma em machos é mais estreita que em fêmeas, existe maior número de casos diagnosticados (uma vez que normalmente são acompanhados de sintomatologia) no género masculino comparativamente ao feminino, pelo facto da ocorrência de obstruções nestas serem menores ou muitas vezes raras (Newland *et al.*, 2005; Parrah *et al.*, 2010). A compreensão básica da anatomia do sistema urinário destes animais, é fundamental de forma a determinar os locais mais comuns de desenvolvimento de urólitos, podendo ou não

levar a possíveis obstruções, e assim realizar abordagens terapêuticas adequadas a cada caso.

Os sinais clínicos normalmente associados à doença em questão são variáveis, dependendo da localização dos urólitos, da composição, do seu tamanho e forma, sendo por exemplo mais agressivos para a mucosa da bexiga, urólitos de dimensões maiores e de superfície rugosa, podendo muitas vezes ser esta a causa de cistites secundárias (Grauer, 2010). Nos casos em que o urólito se localiza no trato urinário inferior, os sinais podem ser mais evidentes, muitas vezes devido a obstrução que os mesmos causam.

A imagiologia é a ferramenta de diagnóstico de eleição para a detecção de urólitos. Consoante o tipo de urólitos, estes podem ser radiopacos ou radiolucentes, sendo assim necessário recorrer a diferentes métodos de diagnóstico imagiológicos (Grauer, 2010). O exame radiográfico abdominal, é geralmente a primeira modalidade de imagiologia de diagnóstico utilizado para detectar urólitos radiopacos. A ultrassonografia ou cistografia de duplo contraste, pode ser usada para detectar a presença dos mesmos, incluindo aqueles que são radiolucentes. Estas técnicas de imagem, têm grande valor como métodos de diagnóstico na detecção de urólitos, determinação da sua localização, número, tamanho, forma e densidade dos mesmos (Bartges & Callens, 2015). O valor do exame radiográfico é menos satisfatório quando estamos perante urólitos de cálcio, podendo estes ser radiolucentes (Grauer, 2010). O diagnóstico de urolitíase passa por uma boa anamnese, presença ou ausência de sinais clínicos e uso de métodos de diagnóstico indicados ao caso, como análise de urina (tipo 1 e 2) e exames imagiológicos. Em alguns casos, a urolitíase, pode ser um achado acidental ou de necrópsia, uma vez não observados sinais clínicos (Grauer, 2010). No caso de animais selvagens mantidos em cativeiro, muitas vezes o único meio de diagnóstico é *post mortem*, através de necrópsia, pois o diagnóstico *ante mortem* torna-se complicado, pelo facto de serem animais com comportamentos de interpretação difícil, com tendência a esconder qualquer tipo de sinal (Vogelnest, 2014).

2 . Objetivos

A presente dissertação, trata-se de um estudo retrospectivo, que procura documentar seis casos de urolitíase, em duas populações do género *Macropus*, de espécies diferentes, *Macropus rufus* e *Macropus rufogriseus*, do Jardim Zoológico de Barcelona, registados num período de tempo compreendido entre 2010 a 2015.

De forma a encontrar possíveis causas de desenvolvimento da doença nestas espécies de marsupiais, analisou-se as características intrínsecas (sexo, idade, condição corporal, analíticas, patologias associadas) e extrínsecas (dieta, água, instalações, etc.) de ambas as populações de *Macropus*.

3. Materiais e Métodos

Uma vez que não foi possível acompanhar pessoalmente os casos de urolitíase em *Macropus*, os dados dos mesmos foram facultados pela equipa veterinária, através de uma pesquisa na base de dados de registo da coleção zoológica da instituição, durante o período de estágio. Após obtenção dos dados de cada animal, procedeu-se à recolha de todas as informações consideradas importantes para o estudo em questão, de modo a selecionar-se os animais.

3.1. Instituição Zoológica

Inaugurado no ano 1892, e com uma das coleções de animais mais importantes da Europa, o Jardim Zoológico de Barcelona, encontra-se situado no Parque da Cidadela, em Barcelona, Espanha. Os primeiros animais provinham da coleção privada de animais exóticos e nativos de Lluís Martí Codolar, tendo sido oferecidos por este à Câmara Municipal de Barcelona, que posteriormente acomodou os mesmos nos terrenos do parque. Este tem como principal objetivo, contribuir para a conservação da fauna selvagem e da biodiversidade global, investigação e educação, trabalhando em parceria com outras instituições zoológicas, universidades e centros de investigação, tendo já em campo, vários projetos de reprodução e recuperação de várias espécies em vias de extinção.

3.2. Amostra

Entre 2010 e 2015, 24 animais do género *Macropus*, de uma população total de 47, morreram no JZB, tendo sido de seguida submetidos a necrópsia nas instalações da instituição. Destes 24 animais, 15 eram da espécie *Macropus rufogriseus* e 9 da espécie *Macropus rufus*. Dos 15 *Macropus rufogriseus*, 4 apresentavam, como achado de necrópsia, presença de urólitos e dos 9 *Macropus rufus*, 2 também apresentavam urólitos, como achado de necrópsia. Dando um total de 6 casos de urolitíase na população de *Macropus* da instituição zoológica, tornando esta a população alvo de estudo. Assim, todos os 6 casos de urólitos no sistema urinário documentados no presente trabalho foram achados de necrópsia, com ausência de qualquer sinal clínico.

3.3. Recolha de dados intrínsecos e extrínsecos da amostra

Os 6 animais envolvidos no estudo, foram caracterizados quanto a idade, sexo, peso do cadáver à necropsia em quilogramas, condição corporal (CC)(o qual não foi acompanhado de uma tabela de referência, realizando-se a avaliação através de referências gerais de outros animais, tendo em conta a visualização das costelas e quadris com respeito a magreza e na obesidade com respeito a perda de visualização de silhueta abdominal e cintura ausente) e a origem do animal (nascido no JZB ou proveniente de outra instituição zoológica), e análises bioquímicas e hemograma.

De forma a avaliar a existência de uma possível relação entre o género e a ocorrência de urolitíase em ambos os grupos de *Macropus*, realizou-se uma análise estatística inferencial (teste de chi-quadrado).

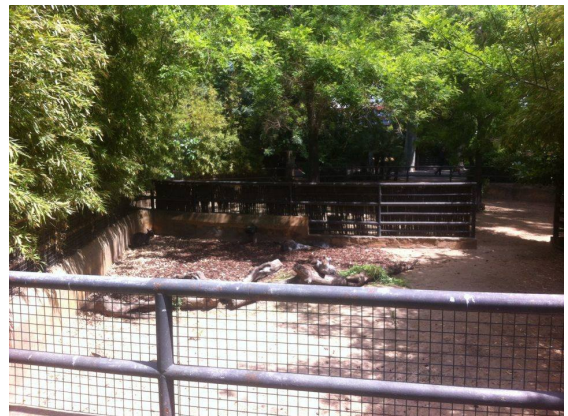
Apenas um animal (MG4) foi submetido a análises bioquímicas e hemograma *ante mortem*, a dois dos restantes animais em estudo (MG1 e MG2), realizou-se as mesmas *post mortem*. No caso das bioquímicas, com foco na medição de ureia (BUN) e creatinina, através da recolha do humor vítreo com seringa estéril durante a necrópsia do animal MG2 e MG1. O animal MG4 realizou as análises bioquímicas *ante mortem*, com medição de ureia (BUN), creatinina, proteínas totais e albumina, tal como hemograma com painel completo. Este último foi submetido a anestesia com protocolo anestésico composto por, medetomidina 0,6 mg (0,06 mg/kg i.m.), ketamina 30 mg (3 mg/kg i.m.) e midazolam 2 mg (0,2 mg/kg i.m.), através de uso manual de seringa. De seguida procedeu-se à recolha de sangue através de venopunção central (via veia jugular). As amostras de sangue para bioquímicas, recolhidas do animal MG4, foram coletadas para tubos de heparina e as para hemograma para tubos de EDTA. Todas as amostras para análise, tanto para bioquímicas como para hemograma, foram transferidas e analisadas num laboratório externo ao JZB.

Os dados de necrópsia, tais como, peso do cadáver, condição corporal, localização do(s) urólito(s) e lesões macroscópicas a nível do sistema urinário (Img. 5 a 15), foram registadas durante o procedimento de necrópsia. Foram recolhidas amostras de rim para posterior análise histopatológica, conservados em formol, apenas de dois animais, um de cada espécie de *Macropus*. O mesmo realizou-se para avaliação dos urólitos. Todos os urólitos foram submetidos a análise, com exceção de dois, cuja análise foi incompleta. O método de análise ao qual os urólitos foram submetidos foi espectroscopia de infravermelhos.

Ambas as espécies encontram-se em instalações separadas. As imagens 1 e 2, mostram o exterior da instalação onde se encontra a população de *Macropus rufogriseus* do JZB. Esta é composta por dois pátios. Um pátio de maiores dimensões (pátio 1) e um outro de dimensões mais reduzidas (pátio 2). Ambos livres de obstáculos, com várias zonas de sombra e algumas de sol. Os pátios encontram-se anexados entre si (ligação direta) e a uma zona interior ampla, esta com o objectivo de descanso e refúgio dos animais de forma a evitar problemas de stress causados pela agitação do público. Em toda a área da instalação, existem vários pontos de alimentação e água, de forma a evitar carências nutricionais, devido a comportamentos de dominância por parte de membros do grupo, nomeadamente machos reprodutores, sobre esses pontos. O pátio exterior 1 encontra-se na sua maioria sem cantos e sim com curvas, já o pátio exterior 2 demonstra presença de alguns cantos.



Img. 1: Instalação *Macropus rufogriseus*.
Pátio exterior 1.



Img. 2: Instalação *Macropus rufogriseus*.
Pátio exterior 2.

O piso de ambos os pátios é composto de areia. O pátio 1 contém um piso empedrado à entrada da instalação interior e o pátio 2 contém num dos seus cantos uma zona de extrato de solo diferente, com um tipo de casca de árvore. Toda a instalação encontra-se rodeada por árvores já antes presentes no local. As imagens 3 e 4, mostram o exterior da instalação onde se encontra a população de *Macropus rufus*. Esta é bastante semelhante à instalação dos *Macropus rufogriseus*, descrita acima. O que varia na instalação da espécie *Macropus rufus* é a questão dos pátios, que encontram-se anexados entre si, através de uma instalação interior, esta com objectivo de descanso e refúgio dos animais de forma a evitar problemas de stress causados pela agitação do público. Toda a

instalação encontra-se rodeada por árvores já antes presentes no local, contudo, em menor quantidade comparativamente à instalação dos *Macropus rufogriseus*.



Img. 3: Instalação *Macropus rufus*. Pátio 1.



Img. 4: Instalação *Macropus rufus*. Pátio 1.

Têm acesso a água livre e fresca. A dieta de ambas as espécies encontra-se presente nas tabelas 1 e 2, onde podemos observar as porções de cada alimento que compõem o protocolo nutricional de cada grupo. Estas apresentam-se por quantidade de cada alimento (em grama) por animal. O concentrado (pelletes) fornecido, descrito nas tabelas como “penso canguru”, é composto por subprodutos de cereais e frutas oleagenosas, minerais e produtos de outras plantas. Os componentes analíticos são, 16,4% de proteína bruta, 3,1% de gordura bruta, 9,9% de fibra bruta, 7,3% cinza bruta, 1,00% cálcio, 0,66% fósforo, 0,22% magnésio e 1,5% sódio. Os aditivos nutricionais são, vitamina A, D3, E e C, cobre, ferro, magnésio e zinco (Informação recolhida da embalagem de ração). O feno proporcionado em ambas as populações é composto por duas espécies de azevém, a espécie *Lolium multiflorum* e a *Lolium perenne*. Estas tratam-se de gramíneas de folha que produzem forragens altamente palatáveis, muitas vezes excedendo os 70% de matéria seca digerível e 20% de proteína bruta (Informação recolhida da embalagem de feno). Em ambas as populações de *Macropus*, é-lhes fornecido um suplemento de forma a cobrir possíveis carências de vitamina E e A. Este suplemento tem como componentes analíticos, 24,44% cálcio, 9,75% sódio, 6,30% fósforo e 0,07% magnésio. E como aditivos, contém vitamina A, D3 e E, magnésio, zinco, cobre, iodo de potássio, cobalto e selénio de sódio. Como suporte contém, 38,83% de carbonato de cálcio, 35,00% fosfato bicálcico, 25,00% de citrato de sódio e 0,14% de óxido de magnésio (Informação recolhida da embalagem de suplemento). Todos os animais de ambos os grupos têm acesso à mesma quantidade de

alimento. Independentemente de haver comportamentos de dominância de alguns membros do grupo, especialmente dos machos reprodutores, a quantidade de alimento administrada é suficiente, de modo a não haver desvios do ponto de vista nutricional.

Tabela 1: Protocolo nutricional dos *Macropus rufogriseus*.

Gramas (g) / por animal	Segunda	Terça	Quarta	Quinta	Sexta	Sábado	Domingo
Penso Canguru (Concentrado)	100	100	100	100	100	100	100
Alfafa desidratada	100	100	100	100	100	100	100
Alface	75	75	75	75	75	75	75
Cenoura	50	50	50	50	50	50	50
Batata cozida	100	100	100	100	100	100	100
Maça	200	200	200	200	200	200	200
Feno	<i>ad libitum</i>	<i>ad libitum</i>	<i>ad libitum</i>	<i>ad libitum</i>	<i>ad libitum</i>	<i>ad libitum</i>	<i>ad libitum</i>

Tabela 2: Protocolo nutricional dos *Macropus rufus*.

Gramas (g) / por animal	Segunda	Terça	Quarta	Quinta	Sexta	Sábado	Domingo
Penso Canguru (Concentrado)	350	350	350	350	350	350	350
Alfafa desidratada	125	125	125	125	125	125	125
Alface	200	200	200	200	200	200	200
Cenoura	200	200	200	200	200	200	200
Batata cozida	200	200	200	200	200	200	200
Maça	200	200	200	200	200	200	200
Feno	<i>ad libitum</i>	<i>ad libitum</i>	<i>ad libitum</i>	<i>ad libitum</i>	<i>ad libitum</i>	<i>ad libitum</i>	<i>ad libitum</i>

Na base de dados da instituição zoológica, não existem relatos de urólitos antes do período em que o presente estudo se baseia. Todos os dados presentes neste trabalho, foram registados pela equipa veterinária do JZB, constituída pelo Dr. Hugo Fernandez e Dra. Vanessa Almagro.

4. Resultados

Após análise dos dados facultados pela equipa do JZB foi possível chegar aos seguintes resultados.

4.1. Caracterização da amostra populacional em estudo

Durante o período de estudo foram observados pela equipa veterinária do JZB, 6 casos, no seu total, de urolitíase em ambos os grupos de macropus presentes na coleção zoológica (*Macropus rufus* e *Macropus rufogriseus*), os quais foram alvo de análise neste trabalho (Tabela 3) e serão descritos de seguida.

Tabela 3: Características intrínsecas dos animais em estudo.

Espécie	Número do animal	Data de morte	Sexo	Idade (anos)	Peso (Cadáver) (Kg)*	Condição Corporal
<i>Macropus rufogriseus</i>	MG1	Abril 27, 2014 Espontânea	F	10	10	Normal
<i>Macropus rufogriseus</i>	MG2	Novembro 11, 2011 Espontânea	F	17	14.02	Obeso
<i>Macropus rufogriseus</i>	MG3	Mai 17, 2012 Eutanásia	F	11	10.8	Normal
<i>Macropus rufogriseus</i>	MG4	Fevereiro 02, 2015 Espontânea	F	5	9.02	Baixa
<i>Macropus rufus</i>	MR1	Dezembro 15, 2010 Eutanásia	F	11	32.95	Baixa
<i>Macropus rufus</i>	MR2	Novembro 9, 2015 Espontânea	F	10	42.10	Obeso

Legenda: F: fêmea; M: macho. * Peso: *Macropus rufus*: 17 – 85 Kg; Peso *Macropus rufogriseus*: 11 – 27 Kg (Jackson, 2003).

Na tabela 3, pode observar-se de uma forma sintetizada, a resenha geral de cada indivíduo presente no estudo.

Dos 6 casos documentados, quatro são da espécie *Macropus rufogriseus*, todos com idade entre os 5 e os 17 anos, sendo o MG4, o indivíduo mais geriátrico com 17 anos (esperança de vida em cativeiro de 6 a 15 anos (Jackson, 2003)). Os restantes dois casos,

são da espécie *Macropus rufus*, com idade entre os 10 e os 11 anos (esperança de vida em cativeiro de 8 a 12(15) anos (Jackson, 2003)).

Na população de *Macropus rufogriseus*, com um total de 18 animais, 10 são fêmeas e 8 são machos (população total era de 25 animais, em que 7 foram excluídos da avaliação estatística pelo facto de não terem sexo determinado (juvenis)). Na população de *Macropus rufus*, com um total de 20 animais, 11 são fêmeas e 9 são machos (população total era de 22 animais, em que 2 foram excluídos da avaliação estatística pelo facto de não terem sexo determinado (juvenis)). Os valores referidos são relativos ao número de animais presentes em ambas as populações, no período de tempo (2010 a 2015) em que foram registados os 6 casos de urolitíase na população.

Foi realizada uma análise estatística inferencial (teste de chi-quadrado), para cada espécie separadamente, de forma a avaliar a existência da relação entre o sexo e a ocorrência de urolitíase em ambas as populações de *Macropus*.

Perante o gráfico 11 e 12, é possível observar que em ambas as espécies, *Macropus rufogriseus* e *Macropus rufus*, não foi encontrado relação estatística significativa ($P > 0,05$), mas há que ter atenção que todos os casos são fêmeas.

Gráfico 11: Distribuição dos animais doentes e não doentes por sexo (*Macropus rufogriseus*).

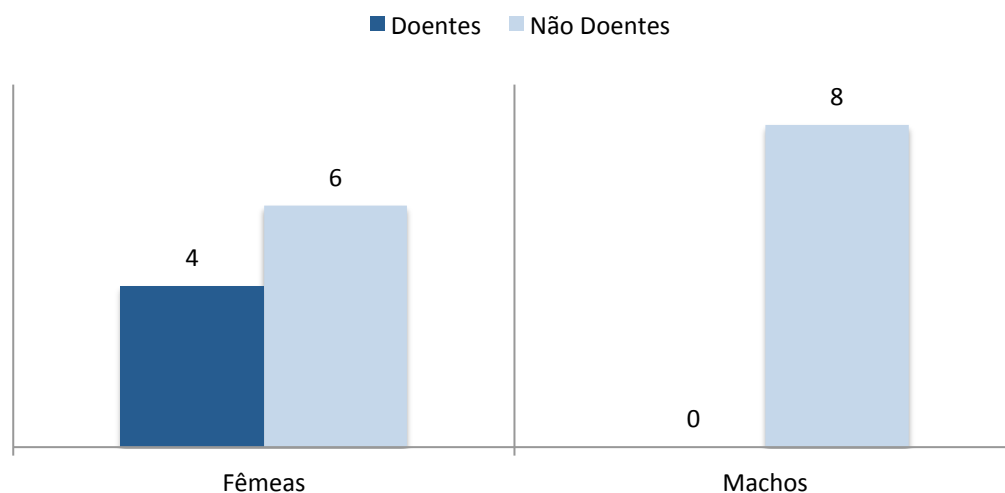
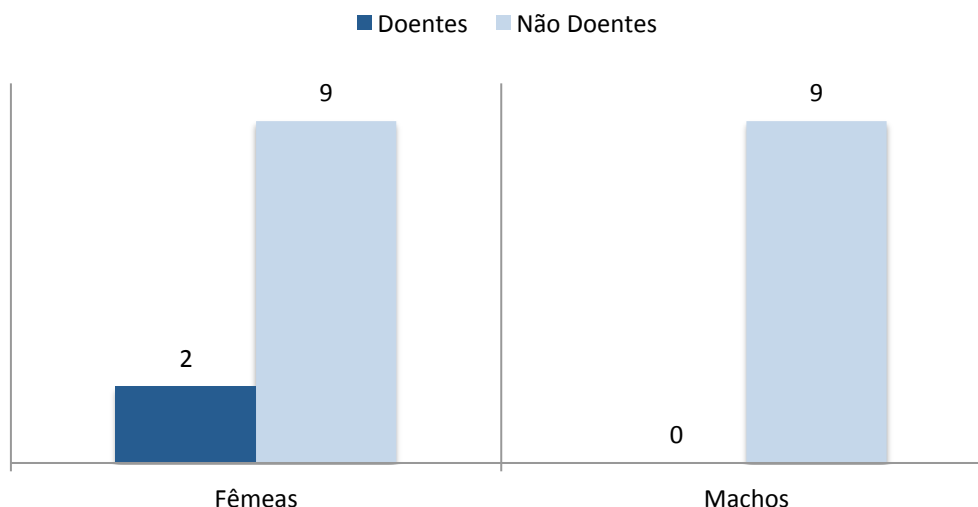


Gráfico 12: Distribuição dos animais doentes e não doentes por sexo (*Macropus rufus*).



O valor de P, para a espécie *Macropus rufus*, é 0,289 e o Risco Relativo é de 0,818 com IC (Intervalo de Confiança) de 0,619-1,081.

O valor de P, para a espécie *Macropus rufogriseus*, é 0,069 e o Risco Relativo é de 0,600 com IC (Intervalo de Confiança) de 0,362-0,995.

Dentro da população de *Macropus rufogriseus* (Tabela 4), dois foram animais nascidos no JZB (MG1 e MG4), os restantes dois desta espécie (MG2 e MG3), eram ambos provenientes de outra entidade zoológica. Da população de *Macropus rufus*, ambos os animais foram provenientes de entidades zoológicas diferentes, com um destes, apenas permanecendo cinco dias na coleção (MR2).

Tabela 4: Tempo de permanência de que cada animal na coleção zoológica.

Número do animal	Origem do animal	Tempo na coleção
MG1	JZB	10 anos
MG2	Zoo (X)	8 anos
MG3	Zoo (X)	9 anos
MG4	JZB	5 anos
MR1	Zoo (Y)	9 anos
MR2	Zoo (G)	5 dias

Não existe qualquer grau de parentesco entre os animais envolvidos no estudo, com exceção dos animais MG4 e MG3, sendo esta última progenitora do MG4. Todas as fêmeas envolvidas no estudo em questão, já estiveram gestantes com crias saudáveis.

4.2. Necrópsia

Durante o período de vida dos animais em questão, estes não apresentaram quaisquer tipo de sinais clínicos, indicativos de urolitíase. Todos foram achados de necrópsia, após eutanásias, por determinadas doenças não relacionadas com a que se encontra em estudo, ou devido a eventos de trauma com morte súbita (Tabela 5).

Tabela 5: Causa de morte de cada animal.

Animal	Causa de morte
MG1	Encontrado morto - Traumatismo craniano
MG2	Encontrado morto - Traumatismo craniano
MG3	Eutanásia - Abscesso dentário sem melhorias
MG4	Encontrado morto - Massa pulmonar
MR1	Eutanásia - Tumor das células da granulosa Ovário
MR2	Encontrado morto - Luxação cervical severa

Uma vez aberta a cavidade abdominal de cada animal, procedeu-se à avaliação macroscópica de todos os órgãos nesta contidos. Após inspeção detalhada de todo o sistema urinário, foi possível detectar presença de urólitos ao longo do mesmo (Img. 5 a 15), em que 50% (3/6) dos animais apresentavam localização renal bilateral (MG1, MG2 e MR2), 33% (2/6) localização ao nível da pélvis renal do rim esquerdo (MG3 e MG4) e 17% (1/6) ao nível da pélvis renal do rim direito e no ureter direito (MR1).

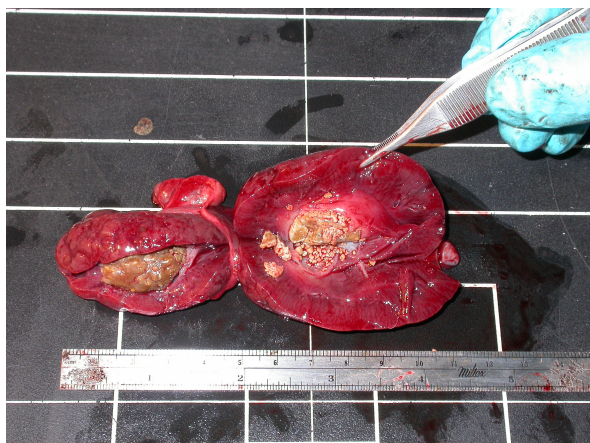
Na tabela 6, encontram-se documentadas as lesões macroscópicas observadas durante o procedimento de necrópsia de cada animal. Todos os animais apresentavam alterações macroscópicas a nível renal, com o indivíduo MG3 a apresentar alterações a nível da bexiga e o MR1 com alterações renais e de ureter direito.

Tabela 6: Achados de necrópsia.

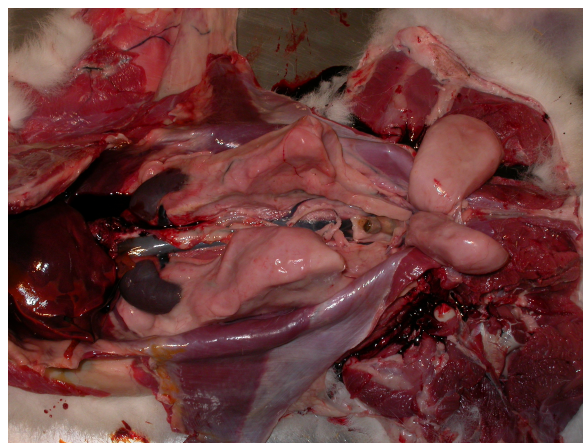
	MG1 (Img. 5)	MG2 (Img. 6, 7 e 8)	MG3 (Img. 9 e 10)	MG4 (Img. 11)	MR1	MR2 (Img. 12, 13, 14 e 15)
Rim Direito	Superfície irregular e atrofia renal	Hidronefrose da pélvis renal			Hidronefrose da pélvis renal e córtex renal pálido	Hidronefrose da pélvis renal
Rim Esquerdo	Superfície irregular e atrofia renal	Hidronefrose da pélvis renal	Superfície do córtex renal irregular	Hidronefrose da pélvis renal		Hidronefrose da pélvis renal
Ureter Direito					Dilatado até 20 cm de distância do rim, espessado com urólitos (Hidroureter)	
Bexiga			Petéquias			

Apenas foi realizado avaliação histopatológica dos órgãos afectados no animal MG3 e MR1. No caso do MG3, este apresentava ligeira a moderada infiltração inflamatória multifocal a nível intersticial e o parênquima renal encontrava-se parcialmente substituído por uma reação fibrosa intensa com infiltrado de linfócitos. Nas zonas em questão, aparentemente os glomérulos não se encontravam afectados, em contrapartida os restantes e escassos túbulos apresentavam-se dilatados e necrosados. No caso do animal MR1 observou-se infiltração linfocítica intersticial multifocal de forma extensa e fibrose com atrofia dos túbulos. Perante a avaliação histopatológica, foi possível determinar, no animal MG3, nefrite intersticial multifocal moderada com fibrose segmentar, e no MR1, nefrite intersticial crónica.

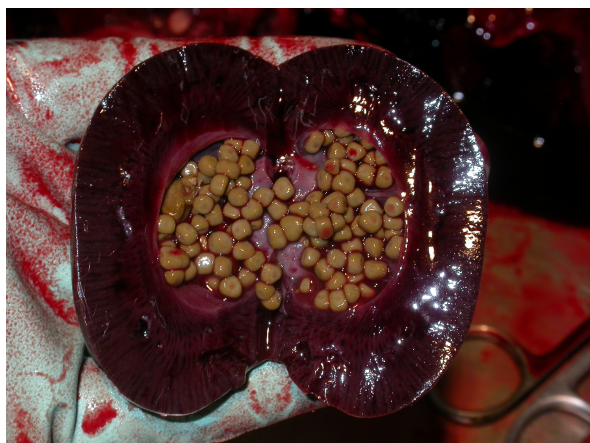
As imagens referidas na tabela 6 foram registadas durante o procedimento de necrópsia de cada animal. Nestas é possível observar as lesões de hidronefrose e atrofia renal.



Img. 5: MG1 – Irregularidade da superfície renal, compatível com atrofia renal de ambos os rins.



Img. 6: MG2 – Posição anatómica normal do aparelho urinário. Presença de bastante gordura abdominal.



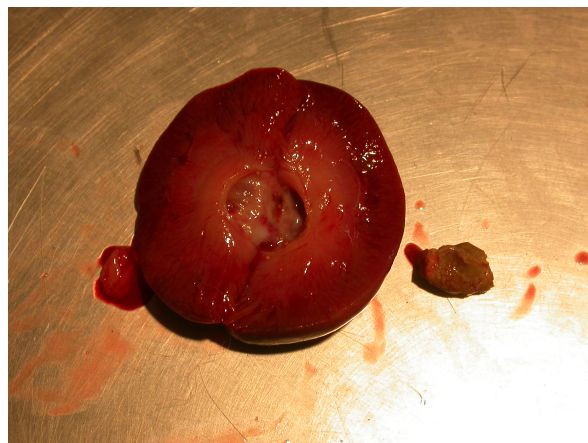
Img. 7: MG2 – Presença de urólitos ao nível da pélvis renal do rim direito, acompanhado de hidronefrose renal.



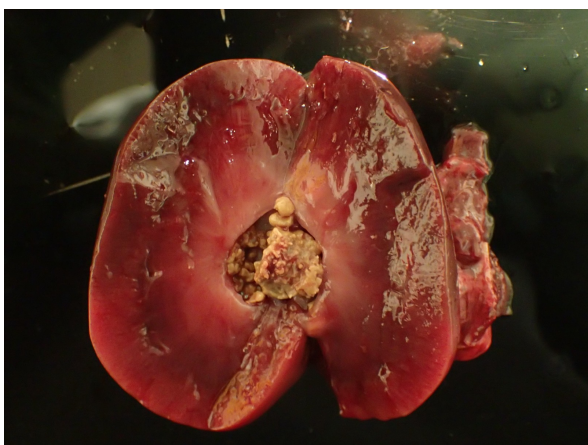
Img. 8: MG2 – Presença de urólitos ao nível da pélvis renal do rim esquerdo, acompanhado de hidronefrose renal.



Img. 9: MG3 – Presença de urólito ao nível da pélvis renal do rim esquerdo, acompanhado de hidronefrose renal.



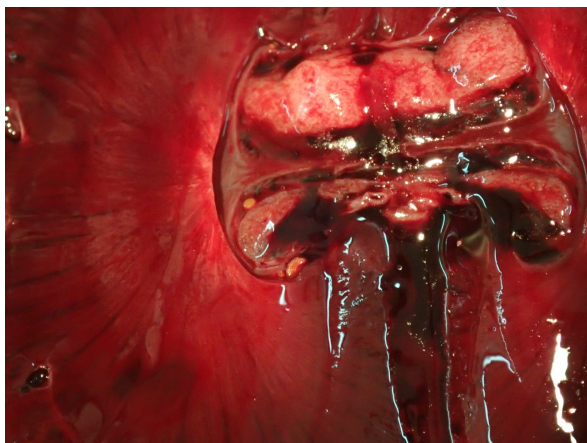
Img. 10: MG3 – Presença de urólito ao nível da pélvis renal do rim esquerdo, acompanhado de hidronefrose renal.



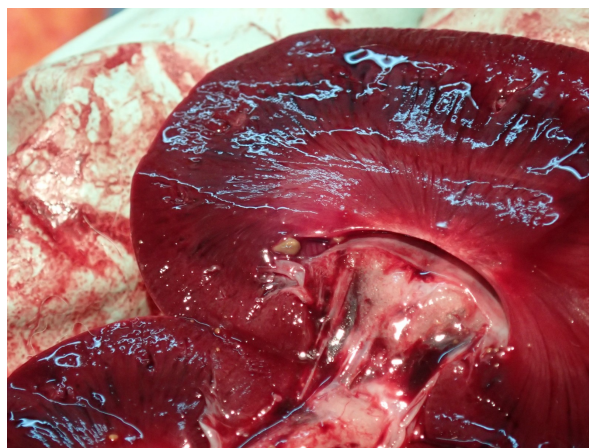
Img. 11: MG4 – Presença de urólito ao nível da pélvis renal do rim esquerdo, acompanhado de hidronefrose renal.



Img. 12: MR2 – Rim esquerdo.



Img. 13: MR2 – Pélvis renal do rim esquerdo com pequenos urólitios e algum grau de dilatação da mesma.



Img. 14: MR2 – Pélvis renal do rim direito com pequeno urólito e algum grau de dilatação da mesma.



Img. 15: MR2 – Urólitos removidos de ambos os rins.

4.3. Espectroscopia de Infravermelhos

Após extração dos urólitos de cada animal, os mesmos foram submetidos a uma análise através de espectroscopia de infravermelhos. Na tabela 7, encontram-se presentes todos os dados analíticos dos urólitos encontrados em cada animal. É possível observar que o tipo de cálculo presente em todos os animais é de carbonato de cálcio, com exceção dos indivíduos MG3 e MR1, aos quais não foi realizada uma análise urolítica, por razões desconhecidas. Após análise, determinou-se que os urólitos são muito semelhantes entre si. O aspecto, superfície, consistência e cor não varia muito entre animais. MG1 apresentava urólitos de maiores dimensões/peso e em maior número, com uma superfície ligeiramente rugosa comparada aos urólitos dos restantes animais. Os urólitos encontrados no indivíduo MG2 apresentavam uma coloração bege, comparando à cor castanha dos urólitos dos restantes indivíduos.

Tabela 7: Dados de análise dos urólitos.

Animal	Tipo Urólito	Diâmetro	Nº	Aspecto	Superfície	Consistência	Peso (mg)	Coloração
MG1	Carbonato de Cálcio	2cm x 1cm 2mm	20	Regular	Ligeiramente rugoso	Duro	10.69	Castanho
MG2	Carbonato de Cálcio	(Rim D. e Rim E.)	3	Regular	Liso	Duro	231	Bege
MG3	-----	-----	-----	-----	-----	Duro	-----	-----
MG4	Carbonato de Cálcio	5mm	13	Regular	Liso	Duro	850	Castanho
MR1	-----	1mm-4mm	3	-----	-----	-----	-----	-----
MR2	Carbonato de Cálcio	1mm-3mm	9	Regular	Liso	Duro	79	Castanho

Legenda: Rim D.: Rim direito; Rim E.: Rim esquerdo; Nº: Número.

4.4. Análises Bioquímicas e Hemograma

As análises bioquímicas dos animais MG2 e MG1, foram realizadas *post mortem*, através de amostras de humor vítreo. Ao animal MG4, realizou-se bioquímicas e hemograma *ante mortem*, através de amostras de soro.

Perante a tabela 8, é possível observar que a ureia é o parâmetro com alteração comum em todos os animais, com valores elevados. O animal MG4, acompanhando o aumento de ureia, também apresentava aumento das proteínas totais e albumina.

Tabela 8: Bioquímicas.

Animal	Ureia (11-48 mg/dL) *	Creatinina (0.6-4.0 mg/dL)*	Proteínas Totais (3.5-11.0 g/dL)*	Albumina (2.3-5.9 g/dL)*
MG2	107 ↑	2,24 N	-----	-----
MG1	137 ↑	1,87 N	-----	-----
MG4	73 ↑	1,72 N	83 ↑	33 ↑

Legenda: N: Valor normal; ↑: Valor aumentado. * (Intervalos de referência fisiológicos para *Macropus rufogriseus*. International Species Information System, U.S.A.).

Perante a tabela 9 e 10, é possível observar que o hemograma do animal MG4 encontra-se com os parâmetros dentro dos valores normais.

Tabela 9: Hemograma.

Animal	HT (30.5-65.0 %)*	Hemoglobina (10.9-22.3) (g/dL)*	GV (3.70-7.25) (*10 ⁶ / μl)*	VCM (68.4-108.4) (fL)*	HCM (26.3-37.3) (pg/cell)*	CHCM (32.1-45.3) (g/dL)*	Plaquetas (31-446) (*10 ³ / μl)*
MG4	44,10 N	15,3 N	5.100.000 N	86,47 N	30,00 N	34,69 N	377.000 N

Legenda: HT: Hematócrito; GV: Glóbulos Vermelhos; VCM: Volume Corpuscular Médio; HCM: Hemoglobina Corpuscular Média; CHCM: Concentração de Hemoglobina Globular Média; N: Valor normal. * (Intervalos de referência fisiológicos para *Macropus rufogriseus*. International Species Information System, U.S.A.).

Tabela 10: Hemograma (Continuação).

Animal	Leucócitos (1.600-15.600) (*10 ³ /μl)*	Eosinófilos (0.000-0.510) (*10 ³ /μl)*	Basófilos (0.000-0.252) (*10 ³ /μl)*	Linfócitos (0.081-10.40) (*10 ³ /μl)*	Monócitos (0.000-2.012) (*10 ³ /μl)*
MG4	10.600 N	212,00 N	0,00 N	1.696,00 N	424,00 N

Legenda: N: Valor normal. * (Intervalos de referência fisiológicos para *Macropus rufogriseus*. International Species Information System, U.S.A.).

5. Discussão

Urolitíase é uma doença do sistema urinário, que pode ocorrer em qualquer espécie animal, incluindo animais do género *Macropus*, nomeadamente mantidos em cativeiro (Liptovszky *et al.*, 2014). No caso da infraclasse *Marsupialia*, esta doença encontra-se pouco documentada devido ao raro desenvolvimento da mesma nestes animais. A sua etiologia e ausência de sinais clínicos na maioria dos casos em animais de zoológico, dificulta muitas vezes um diagnóstico atempado para uma posterior terapêutica.

Como referido anteriormente, a urolitíase trata-se de uma doença multi-factorial, que dependendo do tipo de urólito, pode ter como factor causal principal o manejo, tanto ambiental como nutricional dos animais mantidos em cativeiro. A patofisiologia da urolitíase e os fatores envolvidos no seu desenvolvimento, têm sido estudados ao longo do tempo em diferentes espécies, contudo em animais selvagens mantidos em cativeiro esta informação é escassa e com muito ainda por investigar (Liptovszky *et al.*, 2014). Supõe-se que as causas que contribuem para o processo de formação dos urólitos em *Macropus*, sejam semelhantes às que ocorrem em animais domésticos, embora os fatores de predisposição possam variar consoante a espécie envolvida (Liptovszky *et al.*, 2014; Vogelnest & Woods, 2008).

Há que ter em conta na avaliação dos resultados, que existe falta de muitos valores para determinados parâmetros em alguns animais, pelo fato de nem todos terem sido submetidos a uma análise completa das amostras. Como por exemplo, na avaliação de análises bioquímicas e hemograma, assim como exame ao nível dos urólitos. Isto evita que se possa realizar uma análise mais aprofundada do tema nesta população, de forma a ter um melhor conhecimento do desenvolvimento da doença em questão, em ambas as espécies. Uma vez que não foi possível acompanhar pessoalmente o desenrolar dos casos, e sendo este um estudo retrospectivo, com dados recolhidos de achados de necrópsia e não com um propósito específico, torna-se um factor limitativo de uniformização do estudo.

No presente estudo de 6 casos de urolitíase, entre 2010 e 2015, a população de *Macropus rufogriseus*, era constituída por 18 animais, em que 10 eram fêmeas e 8 eram machos, e na população de *Macropus rufus*, em 20 animais, 11 eram fêmeas e 9 eram machos. Após realização de uma análise estatística inferencial (teste de chi-quadrado), foi possível observar, que das 10 fêmeas de *Macropus rufogriseus*, 4 encontravam-se afetadas pela doença e 6 não, e dos 8 machos, nenhum se encontrava afetado. Na espécie *Macropus rufus*, das 11 fêmeas, 2 encontravam-se afetadas pela doença e 9 não, e dos 9 machos, nenhum se encontrava afetado. Apesar de todos os casos serem fêmeas, perante

estes valores, é possível observar que em ambas as espécies não foi encontrada relação estatística significativa, para a relação entre o sexo e a ocorrência de urolitíase. Isto deve-se ao facto de estarmos a lidar com uma amostra limitada a nível de tamanho populacional, havendo assim uma desproporção, algo significativa, entre os grupos doente/não doente e fêmea/macho. Na espécie *Macropus rufus*, os animais não doentes são dez vezes mais do que os doentes. Se isto for colocado como um caso controlo, em que normalmente a proporção de controlos deve de ser entre 2 e 3 vezes a dos casos, temos uma melhor compreensão dos resultados estatísticos. No caso da espécie *Macropus rufogriseus*, a questão é ligeiramente diferente, mas entende-se bem, uma vez que entre as fêmeas o número de doentes não varia muito do número de não doentes. Uma amostra maior iria certamente permitir encontrar uma relação estatística significativa. Ou seja, na espécie *Macropus rufus*, não é um Risco Relativo significativo, pois envolve o valor 1 no IC (0,619-1,081). Na espécie *Macropus rufogriseus*, estamos no limite dos valor, com um risco relativo significativo, pois quase envolve o valor 1 no IC (0,362-0,995).

Do ponto de vista biológico/anatómico, não há literatura que sustente uma possível predisposição de sexo, sendo isto um possível achado do acaso, contudo não deixa de ser importante referir o achado de todos os casos ocorrerem em fêmeas.

Perante a literatura existente, o número de estudos que relata maior número de casos em fêmeas que em machos é escasso e muitas vezes sem significado estatístico, comparativamente aos casos em machos, com exceção de dois estudos realizados na espécie *Cavia porcellus* (porcos-da-Índia). Um conduzido na Alemanha, que em 20 casos de urolitíase, 15 eram fêmeas e o outro realizado nos Estados Unidos da América, região da Pensilvânia, que em 6 casos, 5 eram fêmeas (Fehr & Rappold, 1997). Ambos sugerindo que nesta espécie pode existir maior predisposição para o sexo feminino, muitas vezes consequência de presentes cistites, contudo, a razão para esta diferença entre sexos é desconhecida (Peng *et al.*, 1990; Fehr & Rappold, 1997; Hawkins *et al.*, 2009). Em relatos de outros estudos em cães, gatos, ratos, ruminantes domésticos e cavalos, do sexo masculino, apresentaram maiores taxas de casos de urolitíase do que fêmeas (Samal *et al.*, 2011).

As diferenças de sexo no risco do desenvolvimento de urolitíase, têm sido também documentados em humanos, dependendo da composição do urólito e da etiologia subjacente à urolitíase. Pode dar-se como exemplo um estudo em que relata que os homens são 2,6 vezes mais propensos a desenvolver urólitos de oxalato de cálcio do que as mulheres (Newland *et al.*, 2005; Gault & Chafe, 2000). Esta maior predisposição de casos

em machos, pode dever-se ao facto de toda a anatomia do aparelho genito-urinário dos mesmos, apresentando uma uretra mais longa, tortuosa e estreita, comparativamente ao sexo feminino, levando a que seja um ponto comum de alojamento dos urólitos (Parrah *et al.*, 2010).

Assim, considera-se o sexo masculino com maior risco de desenvolver urolitíase, nomeadamente obstrutiva e com presença de sinais clínicos, comparativamente ao sexo feminino, tal como já foi relatado em ratos de laboratório (Newland *et al.*, 2005). Nestes, a discrepância de casos entre macho e fêmea, aumenta com a idade, subindo 3 vezes mais a prevalência em machos do que em fêmeas (Newland *et al.*, 2005). No caso das fêmeas, estas tem maior risco de desenvolver urólitos associados a infecções do trato urinário, como por exemplo associados a urólitos contendo fosfato de magnésio de amónio e estruvite (Newland *et al.*, 2005). Outros tipos de urólitos, não mostram diferenças significativas de sexo (Newland *et al.*, 2005).

Contudo, fêmeas das espécies *Macropus*, mantidas em cativeiro, são suscetíveis ao desenvolvimento de urólitos, ainda que não exista documentação de casos de obstrução do trato urinário inferior em fêmeas afetadas pela doença em questão (Bryant & Rose, 2003).

A origem dos animais envolvidos no presente estudo não é a mesma. Independentemente de todas as fêmeas envolvidas no estudo terem gerado crias, não existe qualquer grau de parentesco entre os animais em estudo, com exceção do indivíduo MG4 e MG3, sendo este último progenitora do MG4. Perante esta informação, onde apenas temos dois animais aparentados, não é possível afirmar a existência de predisposição genética para o desenvolvimento de urólitos nas populações em questão.

Dos 6 animais envolvidos neste estudo, 2 da espécie *Macropus rufogriseus*, nasceram no JBZ, todos os outros incluindo os da espécie *Macropus rufus*, foram animais provenientes de outras coleções zoológicas. MG2 e MG3, foram animais provenientes da mesma coleção zoológica de uma outra instituição, acabando por permanecer entre 8 a 9 anos no JZB.

O tempo de permanência de todos estes animais na coleção zoológica do JZB, foi entre os 5 aos 10 anos, com exceção do animal MR2, o qual apenas permaneceu 5 dias, após ter sido encontrado morto na instalação, com trauma. Perante o quadro de tempo na coleção, é possível que o desenrolar da doença em estudo possa estar relacionado com algum tipo de factor existente no JZB. Contudo há que ter em conta que o animal MR2 apenas permaneceu 5 dias na coleção, o que indica que já viria com a doença da coleção

zoológica anterior, evidenciando que esta será uma doença desenvolvida também em outros parques zoológicos, não sendo assim restrita ao JZB.

Na população de *Macropus rufogriseus*, os animais apresentavam idades compreendidas entre 5 a 17 anos de idade, todos eles com idades diferentes entre si. No caso da espécie *Macropus rufus*, o animal MR1 apresentava 11 anos de idade e o MR2 10 anos. Com isto, podemos determinar que a doença em questão em ambas as espécies, pode afectar animais de todas as idades, não existindo uma predisposição de idade. Perante os casos de urolitíase documentados no género *Macropus*, não existe qualquer predisposição de idade, podendo afectar várias faixas etárias (Clark *et al.*, 1982; Bryant & Rose, 2003; Lindemann *et al.*, 2013; Liptovszky *et al.*, 2014). Tal documenta-se noutras espécies, tanto domésticas como selvagens mantidas em cativeiro, inclusive no homem.

Relativamente aos dados do exame físico realizado *post mortem*, é importante ter em conta que a existência de informação detalha a este nível é muito escassa, tendo sido facultado pela base de dados, apenas informação relativa aos pesos em cadáver e condição corporal. No grupo de *Macropus rufogriseus*, dois animais apresentavam-se com CC normal e com pesos de 10 kg e 10.8 kg, um com obesidade e com peso de 14.02 kg e outro com anorexia e com peso de 9.02 kg (peso referência: 11-27 Kg (Jackson, 2003)). No grupo de *Macropus rufus*, um animal apresentava-se com CC baixa e peso de 32.95 kg e outro com obesidade e peso de 42.10 kg (peso referência: 17-85 Kg (Jackson, 2003)). Com estes dados é possível observar que a doença afectou animais em vários estados de condição corporal.

Dos 6 casos documentados no presente trabalho, a urolitíase foi um achado de necrópsia com ausência de manifestação clínica da doença. Em nenhum dos casos, a causa de morte está associada à presença dos urólitos, tendo todos os animais sido submetidos a necrópsia devido a mortes súbitas por trauma craniano/cervical ou eutanásia por presença de abscessos ou neoplasias sem sucesso terapêutico. Após abertura da cavidade abdominal e inspeção do aparelho urinário, detetou-se presença de urólitos a nível do mesmo, onde 3 dos 6 animais apresentavam localização a nível renal (pélvis renal), de forma bilateral, denominando-se assim renólitos, 2 apresentavam localização a nível do rim esquerdo e 1 dos animais a nível do ureter direito.

Os urólitos podem formar-se em qualquer região do trato urinário (Parrah *et al.*, 2010; Hoefer, 2006). Perante os casos relatados na literatura, é possível observar que a localização mais frequente é a nível da uretra e bexiga, sendo estas regiões comuns de obstruções com posterior demonstração de sinais clínicos (Espiñeira *et al.*, 1995). Tanto em

espécies exóticas (ex.: *Leporídeos*), como em ruminantes domésticos e equinos, são vários os casos de localização no trato urinário inferior, contudo, existem alguns casos relatados de urólitos presentes no trato urinário superior nestes animais, nomeadamente em equinos, em que no caso de urólitos constituídos por carbonato de cálcio, são mais comumente desenvolvidos a nível renal, sendo este o mineral predominante no trato urinário superior dos mesmos (Macharg *et al.*, 1984; Divers, 1989). Tal é relatado na espécie humana, onde a nefrolitíase encontra-se bem relatada (Dieringer *et al.*, 1992; Ling *et al.*, 1998), e que no caso de urólitos de carbonato de cálcio, a sua localização é mais comum a nível renal e/ou ureteral (Aggouret *et al.*, 2009). Menos de 4% dos casos de urolitíase em cães e gatos, são relatados com localização renal, enquanto que cerca de 97% dos casos de formação de cálculos em humanos, ocorre a nível renal (Aggouret *et al.*, 2009).

O sistema renal de certas espécies, contém áreas em que a urina é altamente concentrada no que diz respeito a um ou mais iões calculogénicos (por exemplo, Mg^{2+} , Ca^{2+} , PO_4^{3-}), o que leva a que a precipitação de iões minerais em cristais ocorra de forma rápida (Divers, 1989). Este facto pode observar-se em certos humanos (Divers, 1989; Meyer, 1990) e equinos, como referido anteriormente em relação ao mineral predominante no trato urinário superior dos mesmos (Divers, 1989).

Um outro estudo, em ratos de laboratório, sugere que perante as análises *post mortem* realizadas, o sexo masculino é mais propenso a ter urólitos a nível da bexiga, que o sexo feminino, que geralmente formam cálculos a nível dos rins. Contudo, o número de casos neste estudo era pequeno (Newland *et al.*, 2005). A literatura relativa ao género *Macropus*, documentam vários casos com localização a nível renal, nomeadamente em espécies de porte médio, tal como os wallabies (Clark *et al.*, 1982; Bryant & Rose, 2003; Lindemann *et al.*, 2013; Liptovszky *et al.*, 2014). A razão para estas diferenças entre espécies não é totalmente compreendida (Ling *et al.*, 1998).

Contudo, comparando a espécies onde também se observa casos com localizações iguais e de alguma frequência, tal como na espécie humana e equina, pode deixar-se em aberto uma suspeita sobre um possível mecanismo semelhante, de áreas em que a urina é altamente concentrada no que diz respeito a 1 ou mais iões calculogénicos, para o género *Macropus*.

Após localização dos urólitos, procedeu-se à avaliação das lesões macroscópicas dos órgãos do aparelho urinário, de cada animal. As lesões macroscópicas encontradas no trato urinário dos animais envolvidos no estudo são todas a nível do trato urinário superior, nomeadamente renal, sendo compatíveis com a localização dos urólitos. Apenas um animal

apresentou, para além de lesões renais, petéquias ao nível da bexiga. Segundo a literatura existente, as lesões documentadas no presente trabalho, são típicas de lesões associadas a nefrólitos, tal como a presença de hidronefrose, hidroureter, atrofia renal (cápsula e/ou córtex), fibrose intersticial e nefrite intersticial, e assim semelhantes às documentadas em outros casos de urolitíase, tanto do género *Macropus* como outras (Divers, 1989; Laing *et al.*, 1992; Saam, 2001; Bryant & Rose, 2003; Keller *et al.*, 2008; Macbeth, 2008). Embora os *Macropus* envolvidos no estudo não sofressem de uropatias obstrutivas, a presença de urólitos foi associada com lesões morfológicas do parênquima renal, nomeadamente fibrose intersticial. A presença de urólitos ao nível da pélvis renal, tem o potencial para resultar em hidronefrose, podendo ser um risco para o desenvolvimento de pielonefrites, já documentado em outros casos em *Macropus* (Bryant & Rose, 2003).

As análises bioquímicas dos animais MG1 e MG2, apenas demonstravam alteração dos valores de ureia. O aumento de ureia está muitas vezes relacionado com lesões renais, desidratação, excesso de proteína na dieta, défices de hidratos de carbono, estados catabólicos, insuficiência cardíaca congestiva, obstrução uretral e ruptura de bexiga (Allen *et al.*, 2010). O animal MG4, apresentava a mesma alteração do valor de ureia, com aumento da mesma. Acompanhado do aumento de proteínas totais, muitas vezes relacionado com estados de desidratação e inflamação crónica, e aumento dos valores de albumina, presente em estados de desidratação (Allen *et al.*, 2010). É importante referir que o animal MG4, encontrava-se a realizar tratamento com antibióticos e anti-inflamatórios, devido a lesões oculares, antes da eutanásia. Os resultados de hemograma deste mesmo animal, não apresentavam qualquer tipo de alteração de parâmetros.

Durante o processo de necrópsia de cada animal, com avaliação macroscópica das lesões a nível do aparelho urinário, partiu-se para a remoção dos urólitos e posterior envio dos mesmos para análise. Estes foram submetidos a análise de espectroscopia de infravermelhos, de forma a determinar a composição de cada um, com exceção do animal MG3 e MR1. Após análise urolítica, todos os urólitos submetidos à mesma foram determinados como constituídos por 100% carbonato de cálcio. As características, em relação ao aspecto, superfície, consistência e cor, não varia muito entre animais. O animal MG1 apresentava urólitos de maiores dimensões/peso e em maior número, com uma superfície ligeiramente rugosa comparada aos urólitos dos restantes animais.

Os urólitos compostos por carbonato de cálcio são o tipo mais frequente de cálculo encontrado em mamíferos herbívoros, tanto ruminantes como não ruminantes, tal como equinos, ruminantes domésticos, nomeadamente ovinos e caprinos, como selvagens (ex.:

Alce, gnu, uapiti, manatins)(Larsen, 2000; Keller *et al.*, 2008; Nwaokorie *et al.*, 2015) e espécies exóticas, como o coelho doméstico, porco-da-Índia e chinchilas (Hesse, 1998). O relato deste tipo de urólito em animais domésticos, como o cão e o gato, é extremamente raro (A. Hesse, 1998; Jones *et al.*, 1998), tal como para a espécie humana (Manning & Blaney, 1986; Faltas, 2000; Ashraf Aggour *et al.*, 2009; Silva *et al.*, 2010; Kaneko *et al.*, 2014). Segundo a literatura, apenas existe um caso documentado de presença de urólito composto por carbonato de cálcio em humanos (Koide *et al.*, 1982; Kaneko *et al.*, 2014). Segundo um estudo realizado pelo Centro do Urólito de Minnesota nos Estados Unidos da América, com o objectivo de determinar a composição mineral de 4468 urólitos de várias espécies de animais, entre 1981 a 2007, foi possível observar que as espécies onde se relata maior número de casos com urólitos compostos por carbonato de cálcio, foram espécies herbívoras, tanto domésticas como selvagens e exóticas, incluindo nestas espécies o género *Macropus* (Osborne *et al.*, 2009). Contudo, num número bastante reduzido de espécies carnívoras e omnívoras, também se detectou urólitos do composto em questão. Apenas 1 caso num furão, 2 em lontras, 3 em suínos domésticos, 2 em ratazanas e 26 em primatas (Osborne *et al.*, 2009).

Com isto, pode concluir-se que se trata de um tipo cálculo bem relatado em espécies herbívoras e raro em espécies carnívoras, omnívoras e frugívoras. São poucos os casos relatados de urolitíase em espécies do género *Macropus*, tal como em toda a infraclasse *Marsupialia*. No género *Macropus*, já foram relatados casos de urólitos compostos por oxalato de cálcio (*Macropus rufus*, *Macropus fuliginosus*, *Macropus rufogriseus banhianus* e *Macropus giganteus*)(Bryant & Rose, 2003), fosfato de magnésio hidrogeno (Clarke *et al.*, 1982), apatite carbonato (*Macropus eugenii*)(Liptovszky *et al.*, 2014) e carbonato de cálcio (*Macropus rufus* e *Macropus eugenii*)(Lindemann *et al.*, 2013)(Liptovszky *et al.*, 2014). Segundo um estudo que relata 15 casos de urólitos num grupo em cativeiro de wallaby tammar (*Macropus eugenii*) entre 2004 e 2011, a maioria dos urólitos eram compostos por 100% carbonato de cálcio ou este combinado com fosfato de cálcio (Liptovszky *et al.*, 2014). Perante os casos documentados, é possível observar que a maioria dos urólitos documentados nas espécies de *Macropus*, são compostos acima de tudo por cálcio, nomeadamente carbonato de cálcio, tal como observado nos casos do presente estudo, e oxalato de cálcio. Como já foi referido acima, este tipo de cálculo é frequente em espécies herbívoras, e bastante documentado em equinos (*Equus ferus caballus*) e coelhos (*Oryctolagus cuniculus*). Estes últimos são duas espécies domésticas que é frequente e esperado fisiologicamente, observar-se cristalúria por carbonato de cálcio

(Espiñeira *et al.*, 1995; Macbeth, 2008; Lindemann *et al.*, 2013). O metabolismo do cálcio e a sua excreção urinária, nestas espécies é algo particular às mesmas (Lindemann *et al.*, 2013). No caso dos coelhos, a percentagem de cálcio total no soro é 30-50% (13-15 mg/dl [3,25-3,75 mmol/L]) mais elevado, comparativamente a outros mamíferos domésticos, estando isto relacionado com a proporção de cálcio na dieta, e é independente da circulação de vitamina D (Lindemann *et al.*, 2013). De uma forma semelhante, os cavalos mantêm o cálcio no soro em concentrações elevadas (11-13 mg/dl [2,75-3,25 mmol/L]), comparativamente a outras espécies (9,2-10 mg/dl [2,3-2,5 mmol/L]) (Remillard *et al.*, 1992; Capello, 2008; Lindemann *et al.*, 2013).

Segundo condições fisiológicas normais e em contraste com o cavalo e o coelho, não se encontra documentado que animais do género *Macropus* exibam presença de cristalúria por carbonato de cálcio (Lindemann *et al.*, 2013). Tais urólitos, podem formar-se em espécies herbívoras, em associação a uma urina com pH alcalino (7.5-8.5), desidratação, consumo de dietas e água com uma elevada concentração de minerais e/ou ingestão de dietas ricas em concentrado e pobres em forragem (Petrini *et al.*, 1996; Larsen *et al.*, 2000; Samal *et al.*, 2011; Amarpal *et al.*, 2013).

A causa exata para a maioria dos casos de urólitos compostos por carbonato de cálcio, relatados e existentes na literatura, nomeadamente em espécies herbívoras, ainda é desconhecida, contudo, nestes casos existem fortes suspeitas de que estão associados a desequilíbrios dos protocolos nutricionais aplicados nesses animais. O conteúdo mineral dos alimentos fornecidos na deita, tem um forte efeito sobre a formação de urólitos em diferentes espécies (Petrini *et al.*, 1996; Sullivan *et al.*, 2012). Na Austrália e em outros países, é comum a presença de urólitos de carbonato de cálcio em ovinos, mas também em outros ruminantes domésticos, que se alimentam frequentemente de pastagens de trevo de crescimento rápido, pastagens de crescimento rápido de leguminosas, espécies herbáceas e gramíneas nativas, com altas concentrações de cálcio (Mcintosh *et al.*, 1974; Larsen *et al.*, 2000; Kannan & Lawrence, 2010). O mesmo aplica-se a dietas ricas em feno de alfafa ou feno de ervas suculentas (Nwaokorie *et al.*, 2015). São vários os casos relatados de urolitíase em herbívoros, com suspeita do envolvimento de alfafa, uma vez fazendo parte do protocolo nutricional dos mesmos (Woolf *et al.*, 1976; Larsen *et al.*, 2000; Hoefer, 2006; Macbeth, 2008; Lindemann *et al.*, 2013; Liptovszky *et al.*, 2014; Nwaokorie *et al.*, 2015). O feno de alfafa também pode contribuir para níveis elevados de minerais na urina (Sullivan *et al.*, 2013). Em pequenos ruminantes domésticos, o consumo de legumes ricos em cálcio, tal como a alfafa, pode predispor a formação de cristalúria por carbonato de cálcio, devido a

uma urina supersaturada, levando a uma possível formação de urólitos de carbonato de cálcio (Lindemann *et al.*, 2013). Este mesmo mecanismo de formação do cálculo, foi presumido ser semelhante no caso relatado de um *Macropus rufus* com desenvolvimento de urólitos compostos por carbonato de cálcio. Tendo como factor causal, mudanças não intencionais nas instruções do protocolo alimentar do mesmo, com administração excessiva na quantidade de alfafa fornecida ao mesmo (Lindemann *et al.*, 2013).

No caso dos equinos, não só uma dieta desequilibrada pode levar a formação de urólitos, como muitas vezes os casos são secundários a infeções do trato urinário, necrose tubular e presença de nefrotoxinas, assim como por uso de anti-inflamatórios não esteróides, presença de metais pesados, entre outros (Divers, 1989; Laverty *et al.*, 1992; Wooldridge *et al.*, 1992).

Dietas ricas em vitamina D, podem levar a hipervitaminose D, causando absorção e excreção excessiva de cálcio, levando posteriormente a urolitíase, tal já foi documentado numa lontra com uma dieta rica em vitamina D (Karesh, 1983). Uma vez que a maioria dos animais selvagens mantidos em cativeiro têm múltiplos suplementos na dieta, há que ter em conta este, como um possível factor causal, entre muitos outros factores de maior relevância, como referido anteriormente em relação a dietas ricas em alfafa e determinados tipos de pastagens.

A formação de urólitos ocorre quando mucoproteínas presentes na urina se agregam e precipitam como cristais, numa urina supersaturada com minerais, o qual já foi documentado em cabras e girafas (Laing *et al.*, 1992; Sullivan *et al.*, 2012). O desenvolvimento deste processo, que leva à formação do urólito, muitas vezes ocorre quando o rácio Ca:P da dieta encontra-se desequilibrado (Sullivan *et al.*, 2012). Suspeita-se que os urólitos de carbonato de cálcio possam refletir este rácio na dieta dos animais (Lindemann *et al.*, 2013). Perante as tabelas nutricionais de ambas as espécies de *Macropus* em estudo, é possível observar que existem várias fontes de cálcio na dieta, nomeadamente ao nível do feno de alfafa, pellets (concentrado), suplemento vitamínico e ao nível do feno ryegrass, que perante um estudo realizado em 1975 (Han *et al.*, 1975), o mesmo contém 0.1 g de CaCl_2 (cloreto de cálcio), sendo mais uma fonte deste elemento na dieta.

Como referido anteriormente ao longo da discussão, urólitos compostos por carbonato de cálcio são comuns em espécies herbívoras, cuja alimentação é composta na sua grande maioria por alimentos ricos em cálcio, nomeadamente alfafa (Macbeth, 2008). A presença de alfafa na dieta de ambas as populações de macropus, põe em questão a sua

relação com o desenvolvimento de urólitos como factor causal, tal como documentado em muitos outros casos que envolvem este tipo de cálculo em espécies herbívoras, tanto domésticos (Kannan & Lawrence, 2010; Kinsley *et al.*, 2011), como exóticas (Redrobe, 2002; Hoefer, 2006) e selvagens mantidas em cativeiro (Larsen *et al.*, 2000; Bryant & Rose, 2003; Lindemann *et al.*, 2013; Liptovszky *et al.*, 2014). Contudo, a quantidade que é administrada a cada grupo é pequena, pondo em causa o seu envolvimento como factor causal principal. Nos casos documentados, em que esta era um fator causal importante, a mesma tratava-se da base principal da dieta desses animais (Woolf *et al.*, 1976; Larsen *et al.*, 2000; Hoefer, 2006; Lindemann *et al.*, 2013; Nwaokorie *et al.*, 2015). O suplemento na dieta, que é usado para cobrir os macro, micro minerais e vitaminas (nomeadamente E e A), sendo composto por cálcio, fósforo, entre outros macrominerais, em conjunto com a dieta na sua totalidade, pode levar a um desbalanço ao nível do protocolo nutricional dos animais. Este conjunto, faz com que haja um excesso de cálcio na dieta dos animais, levando a um excesso de excreção de cálcio com supersaturação renal, levando assim a formação de cristais e posterior desenvolvimento urolítico.

Por ser uma urolitíase com cálculos compostos por carbonato de cálcio e sem sintomatologia clínica, pode-se pensar num possível desequilíbrio na dieta como o principal fator para a ocorrência de urólitos nos casos em estudo. Uma vez que todos os casos são fêmeas, podemos ter uma suspeita para a ausência de sintomatologia clínica associada à presença de urólitos, como descrito noutros estudos, nomeadamente em machos, devido à particularidade anatômica do sistema urogenital dos mesmos. É importante referir que um dos animais (MR2), já vinha com urólitos da instituição zoológica de origem, uma vez que apenas permaneceu 5 dias na coleção do JZB. Com isto, poderemos estar perante um problema transversal a outros zoológicos, tal como observado em outros casos documentados e referidos ao longo da discussão.

Os animais da género *Macropus* mantidos em cativeiro, são muitas vezes alimentados com dietas ricas em cálcio e vitamina D, podendo predispor-los a hipercalcúria e subsequente desenvolvimento de urolitíase (Bryant & Rose, 2003). Os fatores adicionais que podem predispor à formação de urólitos são volume urinário baixo, pH alcalino e baixos níveis de certos inibidores de cristalização (Bryant & Rose, 2003). Embora não se saiba ao certo se animais da género *Macropus* são fisiologicamente susceptíveis a hipercalcúria (Bryant & Rose, 2003), é provável que um excesso de cálcio ao nível do sistema urinário, possa estar envolvido na formação de urolitíase nos casos descritos no presente estudo.

O protocolo nutricional e manejo, incluindo a estrutura das instalações, de ambas as espécies envolvidas no estudo, não difere substancialmente das práticas realizadas noutras instituições zoológicas, tentando estar dentro das recomendações atuais (Jackson, 2003; EAZA, 2006; Vogelnest & Woods, 2008). Podemos observar perante o documento produzido pela ARAZPA (Associação Regional Australiana de Parques Zoológicos e Aquários), monotrémata e TAG (Grupo Consultivo Taxonómico) marsupial, endossado pela EAZA (Associação Europeia de Zoos e Aquários), a recomendação em relação à dieta das espécies de *Macropus*, que não mais de 50% da mesma seja sob a forma de concentrado (pelletes), pois o constituinte principal como base da dieta deverá ser a forragem (Hume, 1990; EAZA, 2006; Sullivan *et al.*, 2011).

Seria interessante realizar um estudo nutricional da dieta, com foco no rácio Ca:P, bem como na composição analítica da água fornecida a todas as instalações do parque, de forma a determinar os níveis dos vários minerais presentes na mesma, antes de se realizar alterações ao nível do protocolo nutricional dos animais. Não só importa toda a composição dos elementos fornecidos na dieta, para o risco de formação de urólitos, como também a qualidade da água, nomeadamente a nível de dureza da mesma, com foco no cálcio e magnésio, pois o aumento da dureza da água e dos níveis de magnésio, aumentam o risco para a formação de urólitos, já documentado em gado bovino, num estudo conduzido na Turquia (Sahinduran *et al.*, 2007).

Junto disto, a implementação de zonas plantadas de ervas onde os animais possam pastar, ao nível das instalações, aumentando assim a quantidade de água ingerida pelos mesmos, pode por sua vez tornar a urina mais diluída, limitando a formação de urólitos. No Jardim Zoológico de Barcelona, esta prática é compensada através do fornecimento diário de ervas frescas.

6. Conclusão

Embora a presente dissertação documente a ocorrência de urolitíase, com cálculos compostos 100% por carbonato de cálcio, como achado de necrópsia em duas espécies do género *Macropus*, não se sabe ao certo a verdadeira causa para a formação dos mesmos, deixando como possível principal fator causal, um desbalanço nutricional, devido a excesso de cálcio na dieta.

Assim, perante o desenrolar do presente trabalho, é possível observar que ambas as espécies de *Macropus* envolvidas no estudo podem desenvolver urólitos compostos 100% por carbonato de cálcio, tal como descrito noutras espécies herbívoras, mais especificamente em animais com dietas ricas em cálcio, criando desequilíbrios nutricionais, tal como suspeitado no presente estudo.

Perante os resultados do estudo em questão, ficam ainda muitas questões por responder e de interesse para um posterior conhecimento mais aprofundado do desenvolvimento da urolitíase em espécies de *Macropus*, pois para isso seria necessário fazer pesquisa e recolhas de amostras mais exaustivas, o qual não foi possível para o presente trabalho, e assim desenvolver um estudo mais detalhado do tema. Será necessário realizar estudos de forma a perceber-se melhor a metabolização do cálcio nestes animais, tais como de outros minerais também envolvidos na formação de urólitos, podendo haver diferenças entre sexos, para entender melhor toda a fisiologia dos mesmos; realizar-se análises à água presente nas instalações, de forma a saber a sua composição mineral, podendo ou não estar envolvida no desenvolvimento dos urólitos; e realizar um estudo mais aprofundado da composição mineral de todos os alimentos presentes no protocolo nutricional destes animais e aproveitando também para o fazer à vegetação em redor das instalações, de forma a perceber se esta também poderá estar envolvida no fator causal.

Até que novos estudos definam fatores específicos de predisposição para o desenvolvimento de urolitíase em *Macropus*, deve-se evitar alimentar este tipo de animais com dietas desbalanceadas em relação às quantidades de cálcio presentes nos diferentes elementos da mesma, nomeadamente, ter atenção ao rácio Ca:P (Samal et al., 2011). Também é importante fornecer vários pontos de alimentação e água, de forma a garantir que todos os animais tenham acesso a água, a fim de manter uma ótima produção urinária,

proporcionando também áreas amplas de instalações, que favoreçam assim a movimentação dos animais, evitando urinas estáticas na bexiga, com posterior sedimentação (Samal et al., 2011).

São também fundamentais, para um diagnóstico precoce, exames de rotina à urina, para detecção precoce de cristalúria e, de forma mais espaçadas no tempo, análises bioquímicas e exames imagiológicos. Contudo, há que ter em conta que são práticas que iram criar aumento de stress nos animais manipulados.

De forma a finalizar, chamo a atenção de profissionais de veterinária que trabalham com estas espécies, para realizarem estes procedimentos de rotina e, sempre que possível, relatarem novos casos, de forma a desenvolver-se um conhecimento mais preciso e aprofundado de todo o processo da urolitíase nestes animais.

7. Referências Bibliográficas

- Allen, D. G., Constable, P. D., Davies, P. R., Quesenberry, K. E., Reeves, P. T., Sharma, J. M. *et al.* (2010). Clinical Pathology and Procedures. In: Kahn, C. M. & Line, S. editors. The Merck Veterinary Manual (10^a Ed., pp. 1470). Whitehouse Station, N.J., U.S.A: MERCK & CO., INC.
- Amarpal, Kinjavdekar, P., Aithal, H. P., Pawde, A. M., Pratap, K. & Gugjoo, M. B. (2013). A retrospective study on the prevalence of obstructive urolithiasis in domestic animals during a period of 10 years. *Advances in Animal and Veterinary Science*, 1(3), pp.88-92.
- Ashraf Aggour, A., Ziada, A. M., AbdelHamid, A. Z., AbdelRahman, S. & Morsi A. (2009). Metabolic stone composition in Egyptian children. *Journal of Pediatric Urology*, 5(2), pp.132–135.
- Bartges, J. W. & Callens, A. J. (2015). Urolithiasis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 45(4), pp.747-768 .
- Booth, R. & Blanshard, W. (1999). Diseases in koalas. In: Fowler, M., Miller, R. Editors. Zoo and wild animal medicine (pp. 321-333). Philadelphia: W.B. Saunders.
- Bryant, B. & Rose, K. (2003). Calcium oxalate urolithiasis in four captive Macropods. In *Proceedings American Association of Zoo Veterinarians* (pp. 96–101).
- Calle, P. P. (1988). Asian Small-Clawed Otter (*Aonyx cinerea*) urolithiasis prevalence in North America. *Zoo Biology*, 7, pp.233-242.
- Capello, V. (2008). How I treat...Urolithiasis in pet rabbits. In *Proceedings of the Southern European Veterinary Conference and Congreso Nacional AVEPA*.
- Clark, W.T., Pass, D., Biddle, J. & Salmon, J. (1982). Urinary calculi composed of magnesium hydrogen phosphate in a kangaroo. *Australian Veterinary Journal*, 59.
- Delaney, C. A. J. (2014). Captive Marsupial Nutrition. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Pet*, 17(3), pp.415-447.
- Dieringer, T. M. & Lees, G. E. (1992). Nephroliths: Approach to therapy. In: Kirk, R.W., Bonagura, J.D. editors. Current Veterinary Therapy XI (pp. 889-892). Philadelphia, PA: W.B. Saunders.
- Divers, T. J. (1989). Nephrolithiasis and ureterolithiasis in horses and their association with renal disease and failure. *Equine Veterinary Journal*, 21, pp.161–162.
- Espiñeira, M. D., Escolar, E., Bellanato, J. & Rodriguez, M. (1995). Structure and

- composition of equine urolithis. *Journal of Equine Veterinary Science*, 15(1), pp. 27-34.
- Faltas, N. H. (2000). Urolithiasis in Cynomolgus Monkey (*Macaca fascicularis*): A Case Report. *American Association for Laboratory Animal Science*, 35(5), pp.536-537.
- Fehr, M. & Rappold, S. (1997). Urine matter formation in 20 guinea pigs (*Cavia porcellus*). *Veterinary Practice*, 5, pp.553-557.
- Fowler, M. E. (2008). Uroliths and gastroenteroliths in camelids. In: Fowler, M. E. & Miller, R. E. editors. *Zoo and Wild Animal Medicine* (6ª Ed., pp. 386-390). Philadelphia, PA: W.B. Saunders.
- Gault, M. H. & Chafe, L. (2000). Relationship of frequency, age, sex, stone weight and composition in 15,624 stones: comparison of results for 1980 to 1983 and 1995 to 1998. *Journal of Urology*, 164, pp.302-307.
- Grauer, G. F. (2010). Clinical Manifestations of Urinary Disorders. In: Nelson, R. W. & Couto, C. G. editors. *Small Animal Internal Medicine* (4ª Ed., pp.609-624). Elsevier Inc.
- Han, Y. W., Lee, J. S. & Anderson, A. W. (1975). Chemical composition and digestibility of Ryegrass straw. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 23(5).
- Hawkins, M. G., Ruby, A. L., Drazenovich, T. L. & Westropp, J. L. (2009). Composition and characteristics of urinary calculi from guinea pigs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 234(2).
- Hesse, A., Steffes, H. J. & Graf, C. (1998). Pathogenetic factors of urinary stone formation in animals. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 80.
- Higbie, C.T., Carpenter, J.W., Armbrust, L.J., Kloche, E. & Almes, K. (2014). Nephrectomy in an Asian Small-Clawed Otter (*Amblonyx cinereus*) with pyelonephritis and hydronephrosis secondary to ureteral obstruction. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 45(3), pp.690-695.
- Hofer, H. L. (2006). Urolithiasis in rabbits and guinea pigs. In *Proceedings of the North American Veterinary Conference* (Vol. 20).
- Hume, I.D. (1990). Artificial diets for captive marsupials. In *Proceedings American Association of Zoo Veterinarians*, pp.227-228.
- Jackson, S. (2003). Macropods. In: *Australian Mammals: Biology and Captive Management*. CSIRO Publishing (pp.245-278). Collingwood: CSIRO Publishing.
- Jones, B.R., Kirkman, J. H., Hogan, J. & Holmes, S. (1998). Analysis of uroliths from cats and dogs in New Zealand, 1993-96. *New Zealand Veterinary Journal*, 46, pp.233–236.
- Kaneko, K., Matsuta, Y., Moriyama, M., Yasuda, M., Chishima, N., Yamaoka, N., Fukuuchi T., Miyazawa, K. & Suzuki, K. (2014). Proteomic analysis of a rare urinary stone

- composed of calcium carbonate and calcium oxalate dihydrate: A case report. *International Journal of Urology*, 21, pp.341–346.
- Kannan, K. V. A. & Lawrence, K. E. (2010). Obstructive urolithiasis in a Saanen goat in New Zealand, resulting in a ruptured bladder. *New Zealand Veterinary Journal*, 58(5), pp.269–271.
- Karesh, W. B. (1983). Urolithiasis in Asian Small-Clawed Otters (*Amblonyx cinerea*). In *Proceedings American Association of Zoo Veterinarians*.
- Keller, M., Moliner, J. L., Vásques, G., Cruz, D., Bello, O., Costidis, M., Rommel, S. A., Mays, M. B. C. & Gearhart, S. (2008). Nephrolithiasis and Pyelonephritis in two West Indian Manatees (*Trichechus manatus* spp.). *Journal of Wildlife Diseases*, 44(3), pp.707-711.
- Kinsley, M. A., Semevolos, S., Parker, J. E., Zellmer, K. D. and Huber, M. (2013). Use of Plain Radiography in the Diagnosis, Surgical Management, and Postoperative Treatment of Obstructive Urolithiasis in 25 Goats and 2 Sheep. *Veterinary Surgery*, 42, pp.663–668.
- Koide, T., Yokogawa, K., Takemoto, M., Itatani, H. Sagawa, S. & Sonoda, T. (1982). Pure calcium carbonate urolithiasis in a human. *European Urology*, 8(5), pp.319-320.
- Laing, J.A., Rasis, A.L., Rawlinson, R.J. & Small, A.C. (1992). Chronic renal failure and urolithiasis in a 2-years-old colt. *Australian Veterinary Journal*, 69(8), pp.199-200.
- Larsen, R. S., Cebra, C. K. & Wild, M. A. (2000). Diagnosis and treatment of obstructive urolithiasis in a captive rocky mountain wapiti (*Cervus elaphus nelsoni*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 31(2), pp.236–239.
- Lindemann, D. M., Gamble, K. C. & Corner, S. (2013). Calcium carbonate obstructive urolithiasis in a red kangaroo (*Macropus rufus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 44(1), pp.196–199.
- Ling, G. V., Ruby, A. L., Johnson, D. L., Thurmond, M., & Franti, C. E. (1998). Renal Calculi in Dogs and Cats: Prevalence, Mineral Type, Breed, Age, and Gender Interrelationships (1981-1993). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 12, pp.11–21.
- Liptovszky, M., Sós, E., Bende, B., Perge, E., & Molnár, V. (2014). Urolithiasis in a Captive Group of Tammar Wallabies (*Macropus eugenii*). *Zoo Biology*, 33, pp.455–458.
- Laverty, S., Pascoe, J. R., Ling, G. V., Lavoie, J. P. & Ruby, A. L. (1992). Urolithiasis in 68 horses. *Veterinary Surgery*, 21(1), pp.56-62.
- Macbeth, B. J. (2008). Obstructive urolithiasis, unilateral hydronephrosis, and probable nephrolithiasis in a 12-year old Clydesdale gelding. *Canadian Veterinary Journal*, 49, pp.287-290.

- Macharg, M. A., Foerner, J. J., Philips, T. N. & Barclay, W. P. (1984). Two methods for the treatment of ureterolithiasis in a mare. *Veterinary Surgery*, 13, pp.95-98.
- Mair, T.S. & Holt, P.E. (1994). The aetiology and treatment of equine urolithiasis. *Equine Veterinary Education*, 6(4), pp.189-192.
- Manning, R. A. & Blaney, B. J. (1986). Identification of uroliths by infrared spectroscopy. *Australian Veterinary Journal*, 63, pp.393–396.
- Mcintosh, G. H., Pulsford, M. F., Spencer, W. G. & Rosser, H. (1974). A study of urolithiasis in grazing ruminants in South Australia. *Australian Veterinary Journal*, 50.
- Meyer, J. L. (1990). Physicochemistry of stone formation. In: Resnick MI, Pak CYC, editors. Urolithiasis: A medical and surgical reference (pp. 11-34). Philadelphia, PA: W.B. Saunders.
- Napier, J. E. & Moore, T. A. (2005). Chronic renal failure and nephrolithiasis in Two-Toed Sloth (*Choloepus didactylus*). In *Proceedings AAZV, AAWV, AZA/NAG Joint Conference*, pp.83-86.
- Newland, M. C., Reile, P. A., Sartin, E. A., Hart, M., Craig-schmidt, M. C., Mandel, I., & Mandel, N. (2005). Urolithiasis in Rats Consuming a dl Bitartrate Form of Choline in a Purified Diet. *Comparative Medicine, by the American Association for Laboratory Animal Science*, 55(4), pp.354–367.
- Nwaokorie, E. E., Osborne, C. A., Lulich, J. P., Fletcher, T. F., Ulrich, L. K., Koehler, L. A. & Buettner, M. T. (2015). Risk factors for calcium carbonate urolithiasis in goats. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 247(3), pp.293–299.
- Osborne, C. A., Albasan, H., Lulich, J. P., Nwaokorie, E., Koehler, L. A., & Ulrich, L. K. (2009). Quantitative Analysis of 4468 Uroliths Retrieved from Farm Animals, Exotic Species, and Wildlife Submitted to the Minnesota Urolith Center: 1981 to 2007. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 39(1), pp.65–78.
- Parrah, J. D., Hussain, S. S., Moulvin, B. A., Singh, M. & Athar, H. (2010). Bovine uroliths analysis: A review of 30 cases. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, 65(3), pp.103-107.
- Peng, X., Griffith, J. W., & Lang, C. M. (1990). Cystitis , urolithiasis and cystic calculi in ageing guineapigs. *Laboratory Animals*, 24, pp.159–163.
- Petrini, K. R., Trechsel, L. j., Wilson, D. V. & Bergert, J. H. (1996). Effects of an all fish diet on urinary metabolites and calcium oxalate supersaturation of Asian Small-Clawed Otters (*Aonyx cinerea*). In *Proceedings American Association of Zoo Veterinarians*, pp.508-517.
- Remillard, R. L., Modransky, P. D., Welker, F. H. & Thatcher, C. D. (1992). Dietary

- management of cystic calculi in a horse. *Journal of Equine Veterinary Science*, 12(6), pp.359-363.
- Ribeiro da Silva, S. F., Cordeiro de Matos, D., Leite da Silva, S., Daher, E. de F., Campos, H. de H. & Bruno da Silva, C. A. (2010). Chemical and morphological analysis of kidney stones . A double-blind comparative study. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 25(5), pp.444–448.
- Robertson, H. & Vicolson, V. (2006). *Feeding macropods in captivity Macropods - A document produced by the ARAZPA Monotreme and Marsupial TAG - endorsed by the EAZA Monotreme and Marsupial TAG*.
- Redrobe, S. (2002). Calcium Metabolism in Rabbits. In *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, 11, pp. 94–101.
- Saam, D. (2001). Urethrolithiasis and nephrolithiasis in a horse. *Canadian Veterinary Journal*, 42, pp.880-883.
- Sahinduran, S., Buyukoglu, T., Gulay, M. S., & Tasci, F. (2007). Increased Water Hardness and Magnesium Levels May Increase Occurrence of Urolithiasis in Cows from the Burdur Region (Turkey). *Veterinary Research Communications*, 31(6), pp. 665-671.
- Samal, L., Pattanaik, A. K., Mishra, C., Maharana, B. R., Sarangi, L. N. & Baithalu, R. K. (2011). Nutritional strategies to prevent urolithiasis in animals. *Veterinary World*, 4(3), pp.142-144.
- Smith, J. A. (2009). Macropod Nutrition. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 12(2), pp.197-208.
- Speight, K. N., Boardman, W., Breed, W. G., & Taggart, D. A. (2012). Pathological Features of Oxalate Nephrosis in a Population of Koalas (*Phascolarctos cinereus*) in South Australia. *Veterinary Pathology*, 50(2), pp.299–307.
- Sullivan, K., Freeman, S., Heugten, E. Van, Heugten, K. A., Wolfe, B., & Poore, M. H. (2012). Impact of two types of complete pelleted , wild ungulate feeds and two pelleted feed to hay ratios on the development of urolithogenic compounds in meat goats as a model for giraffes. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*.
- Vogelnest, L. & Woods, R. (2008). Macropods. In: Vogelnest, L., Woods, R. editors. *Medicine of australian mammals* (pp. 133-177). Collingwood: CSIRO Publishing.
- Volgenest, L. (2014). Marsupialia (Marsupials). In: Fowler, M. E. & Miller, R. E. editors. *Zoo and Wild Animal Medicine* (8^a Ed., pp. 255-274).Philadelphia, PA: W.B. Saunders.
- Wooldridge, A. A., Seahorn, T. L., Williams, J., Taylor, H. W., Oliver, J. L., Dae, Y. K. and Vicek, T. J. (1999). Chronic renal failure associated with nephrolithiasis, ureterolithiasis, and renal dysplasia in a 2-year-old quarter horse gelding. *Veterinary Radiology and*

Ultrasound, 40(4), 361–364.

Woolf, A., Kradel, D. and Rothenbacher, H. (1976). Prevalence of renal urolithiasis in large, captive white-tailed deer herd. *Journal of Wildlife Diseases*, 12.