



Raquel Alexandra Martins Simões

Controlo Reprodutivo em Carnívoros no Zoológico de Barcelona

Orientador: Professor Doutor Vinícius Ricardo Cuña de Souza

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2023

Raquel Alexandra Martins Simões

Controlo Reprodutivo em Carnívoros no Zoológico de Barcelona

Dissertação defendida em prova pública para a obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária no curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, no dia, perante o júri, nomeado pelo despacho nº 258/2023, com a seguinte composição:

Presidente: Prof^a. Doutora Laurentina Pedroso

Arguente: Prof. Doutor João Martins

Orientador: Professor Doutor Vinícius Ricardo Cuña de Souza

**Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias
Faculdade de Medicina Veterinária**

**Lisboa
2023**

***“No todo lo que vez,
es lo que es!”***

Agradecimentos

Agradeço muito a toda a equipa de profissionais com quem tive o prazer de trabalhar no Parque Zoológico de Barcelona. Com especial carinho à Doutora Vanessa Almagro por todos os ensinamentos, paciência, atenção e amabilidade que teve para comigo. Ao Doutor Hugo Fernandez pelos conhecimentos transmitidos, e por todas as discussões de pensamento crítico, pelas piadas e pela boa disposição. À Laura, pela grande simpatia e por me ter passado todos os conhecimentos e mais alguns nas necropsias. À Vego e à Aurora, muito obrigada pelo carinho e amor com que me trataram sempre. Ao Davide, muito obrigada por tudo, obrigada por me teres acompanhado nesta experiência da minha vida, obrigada por teres sido um amigo incrível e um companheiro de trabalho maravilhoso, por todas as aventuras alucinantes e todos os momentos, sem ti nada teria sido igual, gracias por todo! Agradeço também à maravilhosa família que me acolheu nesta minha aventura, em especial à Valerie, por todo o amor que me deram e terem feito de mim parte da vossa família, levovos no meu coração. Muchas gracias a todos!

Muito obrigada ao Professor Vinícius, por ter aceite ser o meu orientador, por toda a ajuda que me facultou, por toda a paciência, simpatia e boa disposição. Também por todos os conhecimentos de acupuntura que me vão ser extremamente úteis na vida profissional.

Agradeço muito ao Professor Bruno Tavares, por ter despertado em mim a paixão por estomatologia, por me cativar e sempre ter acreditado em mim. Os conhecimentos que levo para a minha vida profissional são de ouro.

Agradeço bastante ao Professor Rui Patrício, pela passagem de conhecimento em exóticos, pela sua paciência comigo e por me ajudar sempre.

Muito obrigada com todo o meu coração ao Doutor Nuno Soriano, por desde cedo me ter recebido de braços abertos, por sempre me cativar e acreditar nas minhas capacidades, por me transmitir todos os conhecimentos e mais alguns, pela grande amizade dentro e fora da veterinária. À Miriam e à Ana por serem as melhores parceiras, pelo carinho e por todos os momentos bem passados.

Agradeço a todos os professores e profissionais que de certa forma fizeram parte do meu percurso.

Agradeço muito à minha Mãe, por tudo o que fazes e sempre fizeste por mim, por te orgulhares de mim e acreditares que era capaz. Obrigada Pai, sem ti e sem o teu apoio nada disto teria sido possível, obrigada por me teres transmitido tanto na vida. Ao meu irmão Rodrigo, por

estares lá para mim, pelos momentos maravilhosos que já passámos juntos. Amo-vos imenso para sempre, obrigada por tudo o que fazem por mim.

Agradeço milhões à minha querida Avó Alda, obrigada por me teres transmitidos os melhores valores e os melhores traços de personalidade, por me teres dado as melhores memórias, devo grande parte de quem sou a ti. Aos meus Avós Carlos e Alice pelo carinho que me dão e por estarem lá para mim sempre.

Agradeço do fundo do coração ao meu namorado Rúben, por todo o amor e apoio que me dás, por todos os dias fazeres de mim uma mulher feliz, por seres o melhor parceiro, pelo teu companheirismo, pelos teus bons conselhos, pela tua imensa calma e paciência e pelo teu bom coração e humildade. Obrigada por acreditares em todas as minhas capacidades e nunca me deixares desistir. Contigo sou a melhor versão de mim mesma. Amo-te.

Um enorme obrigada à minha Madrinha, por estares sempre lá para mim, por tudo o que me dás, pelos teus conselhos e por me motivares sempre. À minha Tia Graça, por todo o amor e carinho que sempre me dá. Obrigada às duas por fazerem tanto parte da minha vida de forma tão positiva, obrigada pelo vosso amor.

Ao meu Tio Jorge e Gabi um muitíssimo obrigado por estarem lá para mim nesta aventura que foi Barcelona, pela motivação e não me deixarem desistir.

À minha amiga Maria, por seres uma amiga fantástica, obrigada pelas grandes aventuras, por todos os maravilhosos momentos que passámos juntas. Obrigada à minha amiga Daniela, por seres uma das pessoas mais carinhosas do mundo, por estares lá sempre para me ouvir, e por me motivares sempre. Obrigada à minha amiga Patrícia, pelas loucas aventuras, por me compreenderes tão bem, por tudo o que fazes por mim e por seres uma pessoa tão boa, tão humilde e genuína. Obrigada a todas, por de maneiras diferentes completarem tão bem a minha vida, adoro-vos milhões.

Agradeço aos meus maravilhosos cães, Marley e Oscar, por serem os meus companheiros de vida, pelos momentos divertidos que me proporcionam, sem vocês a minha vida não faria qualquer sentido.

A ti Max foste o meu grande amor e companheiro. Infelizmente a vida levou-te demasiado cedo, e para sempre fica a saudade, as incontáveis memórias e o grande amor. A tua passagem na minha vida foi determinante para a pessoa que sou hoje, se pudesse voltar a ter-te daria de tudo. Dedico tudo isto a ti, obrigada por teres estado presente na minha vida, por teres sido um cão absolutamente incrível. Um dia, seguramente, teremos a oportunidade

de voltarmos a nadar juntos. Onde quer que estejas, todos os dias penso em ti com carinho e saudade.

Por último, agradeço a todos os animais que de alguma maneira fizeram parte da minha vida.

Resumo

A contraceção é uma ferramenta essencial no controlo reprodutivo das populações de carnívoros selvagens nas instituições zoológicas, santuários ou reservas de vida selvagem. O manejo contracetivo destas populações pode ser alcançado através do recurso a diversos métodos contracetivos temporários ou até irreversíveis. Na escolha do método ideal deve-se levar em consideração a finalidade exata e a duração pretendida do efeito anticoncepcional, o impacto potencial na fertilidade futura, e na genética populacional, as contra-indicações médicas, os potenciais efeitos colaterais adversos e problemas éticos.

O uso de implantes subcutâneos com análogos sintéticos de hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH) como a Deslorelina, em que a substância ativa é libertada de forma lenta e constante por um longo período de tempo, apresentou bons resultados na supressão de forma reversível do estro em diversas espécies de carnívoros selvagens e domésticos, revelando poucos efeitos adversos em comparação a outras opções, sendo por isso o método utilizado no Parque Zoológico de Barcelona.

O protocolo de utilização do método contracetivo deslorelina revelou uma elevada eficácia, segurança para as espécies em causa e facilidade de implementação. Não tendo sido reportado nenhum efeito nefasto consequente deste protocolo. O presente trabalho inclui uma revisão bibliográfica sobre as características gerais e comportamentais das espécies de carnívoros presentes no Zoológico de Barcelona e métodos adequados para o controlo da sua atividade reprodutiva, com o objetivo de avaliar a eficácia e benefícios da aplicação dos atuais métodos de controlo utilizados.

Palavras-chave: contraceção; carnívoros; GnRH; Deslorelina; atividade reprodutiva;

Abstract

Contraception is an essential tool in the reproductive control of wild carnivore populations in zoological institutions, wildlife sanctuaries or reserves.

Reproductive control of these populations can be achieved through the use of various irreversible or temporary contraceptive methods. In choosing the optimal method, consideration must be given to the exact purpose and intended duration of the contraceptive effect, the potential impact on future fertility and population genetics, medical contraindications, potential adverse side effects and ethical issues.

The use of subcutaneous implants with synthetic GnRH analogues such as Deslorelin, in which the active substance is released slowly and constantly over a long period of time, has shown good results in reversibly suppressing oestrus in several species of wild and domestic carnivores, revealing few adverse effects compared to other options, and is therefore the method used in the Barcelona Zoological Park.

The protocol for the use of the Deslorelin contraceptive method showed high efficacy, safety for the species concerned and ease of implementation. No adverse effects have been reported as a result of this protocol. The present work includes a literature review on the general and behavioral characteristics of the carnivore species present in the Barcelona Zoo and suitable methods for the control of their reproductive activity, in order to evaluate the effectiveness and benefits of the application of the current control methods used.

Keywords: contraception; carnivores; GnRH; Deslorelin; reproductive activity;

Lista de abreviaturas

@ - Marca Registrada

AIZA - Associação Ibérica de Zoos e Aquários

EAZA - Associação Europeia de Zoos e Aquários, do inglês “European Association of Zoos and Aquaria”

EAZA RMG- Grupo de Maneio Reprodutivo da Associação Europeia de Zoos e Aquários, do inglês “European Association of Zoos and Aquaria Reproductive Management Group”

EEP - Programa Europeu de Reprodução de Espécies Ameaçadas, do inglês “European Endangered Species Programme”

ESB - Programa de Reprodução, do inglês “European Studbook”

FSH - hormona folículo-estimulante, do inglês “Follicle-stimulating hormone”

GnRF - fator de libertação de gonadotropina, do inglês “Gonadotropin-Releasing factor”

GnRH - hormona libertadora de gonadotrofinas, do inglês “Gonadotropin-releasing hormone”

LH - hormona luteinizante, do inglês “Luteinizing hormone”

MA - Acetato de Megestrol, do inglês “Megestrol acetate”

MGA - Acetato de Melengestrol, do inglês “Melengestrol acetate”

WAZA - Associação Mundial de Zoos e Aquários, do inglês “World Association of Zoos and Aquariums

ZIMS - Zoological Information Management Software

Índice geral

Índice de tabelas.....	12
Índice de figuras	12
Índice de gráficos.....	14

Casuística do estágio.....	15
I. REVISÃO DE LITERATURA.....	22
1. Introdução.....	22
2. Fisiologia reprodutiva dos carnívoros.....	26
2.1 Fêmeas.....	26
2.1.1. Espécies com ovulação induzida.....	27
2.1.2. Espécies com ovulação espontânea.....	28
2.1.3. Tipos de estro:.....	29
2.1.4. Pseudogestação.....	29
2.1.5. Implantação tardia.....	30
2.2 Machos.....	30
3. Métodos contraceptivos.....	31
3.1. Separação dos animais de sexos opostos.....	31
3.2. Agonistas GnRH.....	32
3.2.1. Deslorelin - Suprelorin®.....	32
3.2.2. Acetato de Leuprolide- Lupron®.....	41
3.3. Progestinas.....	41
3.3.1 Acetato de melengestrol.....	42
3.3.2. Acetato de Medroxiprogesterona.....	43
3.3.3. Acetato de Megestrol.....	44
3.4. Andrógenos.....	45
3.5. Imunocontraceção.....	45
3.5.1. Porcine Zona Pellucida.....	46
3.5.2 Antigénios de GnRH.....	46
3.5.3 Antigénios de LH.....	47
3.5.4. Antigénios dos espermatozoides.....	47
3.6 Métodos cirúrgicos.....	48
II. RELATÓRIO DE CASOS CLÍNICOS.....	50
Material e métodos.....	50
Caso Clínico 1	50
1. Plano de avaliação pré-cirúrgica.....	50
2. Protocolo anestésico.....	50
3. Procedimento cirúrgico.....	51
Caso Clínico 2	53
1. Plano de avaliação pré-cirúrgica.....	53
2. Protocolo anestésico.....	53

3. Procedimento cirúrgico.....	55
Caso Clínico 3	55
1. Plano de avaliação pré-cirúrgica	55
2. Protocolo anestésico.....	56
3. Procedimento cirúrgico.....	56
III. DISCUSSÃO.....	57
IV. CONCLUSÃO.....	59
Anexos	61
Referências bibliográficas.....	63

Índice de tabelas

Tabela 1: Distribuição do número de casos observados durante o estágio curricular.....	15
---	----

Índice de figuras

Figura 1: Entrada do Parque Zoológico de Barcelona.....	22
Figura 2: Fotografia de uma das leas residentes no Parque Zoológico de Barcelona.....	23
Figura 3: Demonstração das alterações nas concentrações hormonais presentes nos diferentes períodos do ciclo reprodutivo.....	27
Figura 4: Representação da fisiologia da ação da Deslorelina. Ação inibitória da Desloreina sobre as hormonas FSH e LH (X). Supressão do sistema reprodutivo em carnívoros selvagens com o implante de deslorelina de ação prolongada (Suprelorin®).....	33
Figura 5: Dados relativos ao estudo realizado em 21 leas relativamente à eficácia das várias formulações dos implantes de Deslorelina. A utilização de três implantes de 4.7 mg de Deslorelina revelaram ter uma eficácia mais prolongada.....	35
Figura 6: Medição fecal do estradiol e dos metabolitos da progesterona em uma leoa no Parque Zoológico de São Paulo. No dia 0 (seta) é implantada com 9,4 mg de Deslorelina. Após a colocação do implante há diversos picos elevados de estradiol e progesterona durante 2- 3 semanas (fase estimulatória). Depois os picos hormonais são pequenos e curtos. Após 905 dias os picos hormonais são pequenos e curtos, demonstrando a eficácia e durabilidade do implante.....	36
Figura 7: Imagem de ultrassom do espaço subcutâneo de uma leoa africana fêmea (<i>Panthera leo</i>) onde é possível observar os dois implantes de deslorelina identificados como as pequenas estruturas hipoecóicas ovóides rodeadas por tecido hiperecótico (entre as setas).....	36
Figura 8: Diminuição da produção de testosterona num macho de cão selvagem Africano <i>Lycaon pictus</i> com a utilização de um implante de deslorelina de 6 mg. A seta indica o momento de colocação do implante.....	37

Figura 9: Gráfico representativo de uma associação entre o ganho de peso e o número sucessivo de tratamentos. Onde animais com mais de 3 tratamentos sucessivos obtiveram uma percentagem bastante elevada de ganho de peso.....	38
Figura 10: Diminuição do volume testicular como reflexo da diminuição da espermatogenese, em comparação com a diminuição das concentrações hormonais de testosterona num cão selvagem africano <i>Lycaon pictus</i> 4 meses após o tratamento com uma dose única do implante de Suprelorin® (4, 7 mg).....	39
Figura 11: Pénis de uma Chita macho, com as espículas penianas presentes (Figura A). Pénis de uma Chita macho após o tratamento de um ano de Deslorelina (4,7 mg), as espículas penianas estão consideravelmente diminuídas (Figura B).....	40
Figura 12: Remoção cirúrgica dos implantes de deslorelina do espaço subcutâneo interescapular de uma leoa africana (<i>Panthera leo</i>).....	40
Figura 13: Vacinação de uma leoa através de treino comportamental no momento de contenção.....	46
Figura 14: Monitorização anestésica durante a cirurgia de colocação do implante de Deslorelina- Suprelorin® de 4,7 mg no lobo ibérico macho <i>Canis lupus signatus</i>	51
Figura 15: Localização do implante de Deslorelina-Suprelorin® na face interna da coxa do lobo ibérico macho <i>Canis lupus signatus</i>	52
Figura 16: Remoção cirúrgica do implante de Deslorelina-Suprelorin® de 4,7 mg na face interna da coxa do lobo ibérico macho <i>Canis lupus signatus</i>	52
Figura 17: Implante de Deslorelina - Superlorin® de 4,7 mg removido da face interna da coxa do lobo ibérico macho <i>Canis lupus signatus</i> . É possível observar o implante envolvido em tecido cicatricial.....	53
Figura 18: Monitorização anestésica durante a cirurgia de colocação do implante de Deslorelina- Suprelorin® de 4,7 mg na leoa <i>Panthera leo</i>	54
Figura 19: Monitorização anestésica durante a cirurgia de colocação do implante de Deslorelina- Superlorin® de 4,7 mg na leoa <i>Panthera leo</i>	56
Figura 20: Implantes de Suprelorin® (4.7 mg implante sólido, VIRBAC AH, número do lote SLC538D).....	57

Índice de gráficos

Gráfico 1: Distribuição das atividades clínicas participadas durante o estágio curricular e caracterização da amostra relativamente à espécie animal.....	16
Gráfico 2: Distribuição da casuística participada durante as atividades de clínica.....	16
Gráfico 3: Distribuição dos tipos de diagnóstico obtidos durante o estágio curricular.....	17
Gráfico 4: Distribuição da casuística de manejo participada durante o estágio curricular.....	17
Gráfico 5: Distribuição da mortalidade ocorrida durante o estágio curricular.....	18
Gráfico 6: Distribuição da casuística de amostras recolhidas durante o estágio curricular.....	18
Gráfico 7: Distribuição da casuística de necrópsias realizadas durante o estágio curricular.....	19
Gráfico 8: Distribuição da casuística de estágio em função da espécie durante o estágio curricular na clínica de animais de companhia.....	20
Gráfico 9: Distribuição da casuística participada durante as atividades de internamento e de consultas.....	20
Gráfico 10: Distribuição das áreas de especialidade das cirurgias participadas durante o estágio curricular.....	21

Casuística do estágio

A autora realizou o Estágio Curricular entre outubro de 2022 e dezembro de 2022, no Parque Zoológico de Barcelona, sob a orientação do Dr. Hugo Fernandez e Dra. Vanessa Almagro. Durante o período de estágio a autora teve oportunidade de assistir e participar nas diversas atividades diárias da clínica do Parque Zoológico de Barcelona; onde foi possível à estudante trabalhar com diferentes espécies de taxonomias distintas: mamíferos, répteis, anfíbios e aves (Gráfico 1). Entre as atividades praticadas (Gráfico 2) a autora realizou tarefas clínicas: exame clínico geral, exame clínico focalizado (p. ex., musculoesquelético, dermatológico, reprodutivo, oftalmológico, neurológico, odontológico, digestivo), exames de imagem (p. ex., radiografia, ecografia, radiografia oral e endoscopia laparoscópica), técnicas anestésicas e cirúrgicas, medicina preventiva e populacional (Gráfico 4), exames laboratoriais (p. ex., estudos parasitológicos, estudos hematológicos e citológicos), aplicação de tratamentos e recolha de amostras (Gráfico 6). Para além destas atividades a autora participou em vários estudos *post mortem* de diferentes espécies (Gráfico 7).

Durante estes três meses, a estudante apresentou três discussões sobre publicações científicas, um estudo de caso clínico final e um registo de casos com todos os casos observados durante o estágio (Tabela 1).

Tabela 1: Distribuição do número de casos observados durante o estágio curricular.

RESULTADOS GERAIS	TOTAL
CASOS CLINICOS	42
MANEIO	57
NECROPSIA	Coleção 13 Wildlife 1
TOTAL NECROPSIAS	14
MÉDIA DO Nº DE TRATAMENTOS CONSECUTIVOS	2,39
DIAGNOSTICO CLÍNICO	21
DIAGNOSTICO NECROPSIA	1
TOTAL DE CASOS	113

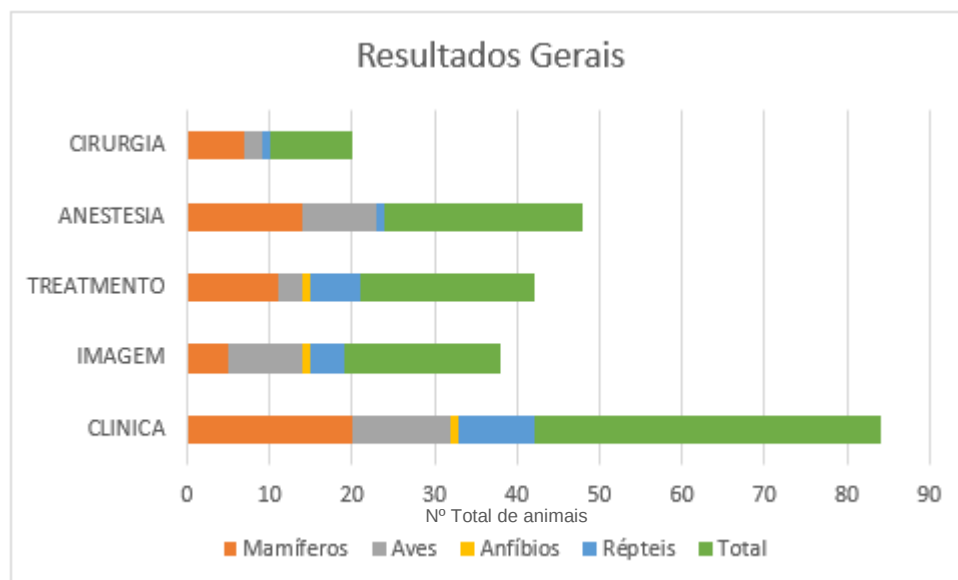


Gráfico 1: Distribuição das atividades clínicas participadas durante o estágio curricular e caracterização da amostra relativamente à espécie animal.

A maioria das atividades clínicas participadas, durante o período de estágio, foram correspondentes à clínica, sendo que a maior percentagem de animais pertencia à classe dos mamíferos (Gráfico1).

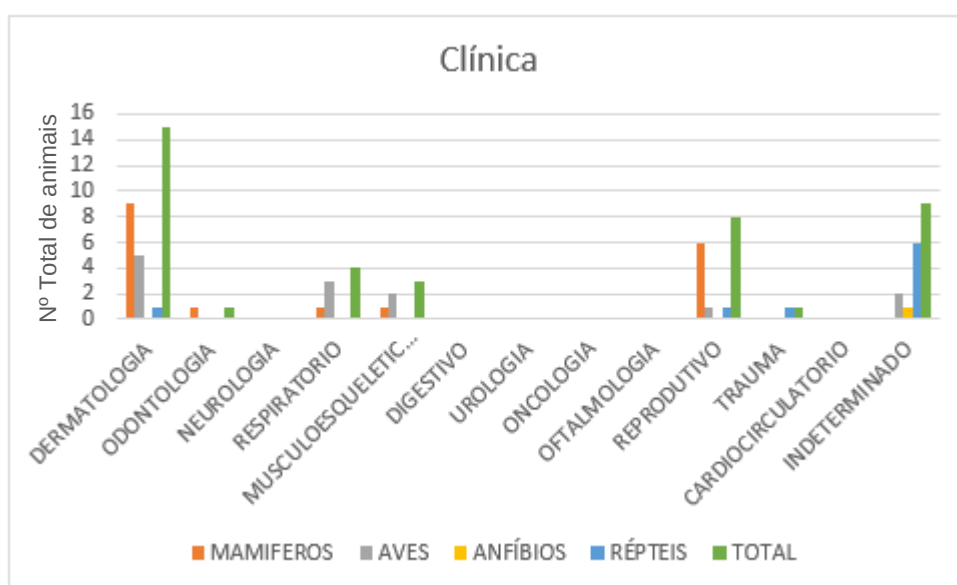


Gráfico 2: Distribuição da casuística participada durante as atividades de clínica.

A grande quantidade de casos clínicos observados durante o estágio curricular foram no âmbito da área de dermatologia (Gráfico 2). Isto pode ser devido a fatores de influência como a época do ano e temperaturas, e ao facto de os animais selvagens e exóticos

facilmente encobrirem os sinais clínicos de outras patologias, ao contrário do que acontece nas patologias dermatológicas que são possíveis de observar a olho nu pelos tratadores e veterinários (Gráfico 3).

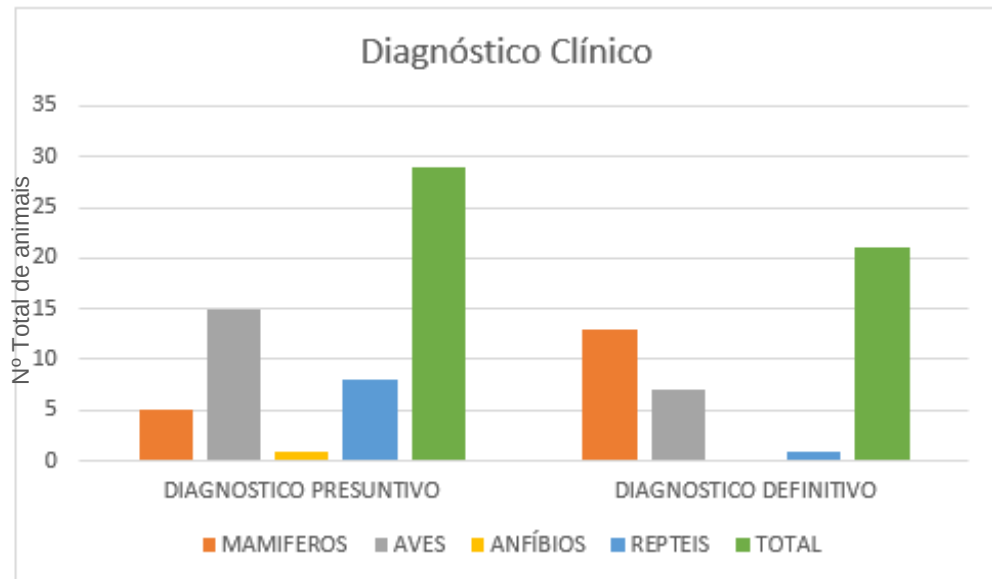


Gráfico 3: Distribuição dos tipos de diagnóstico obtidos durante o estágio curricular.

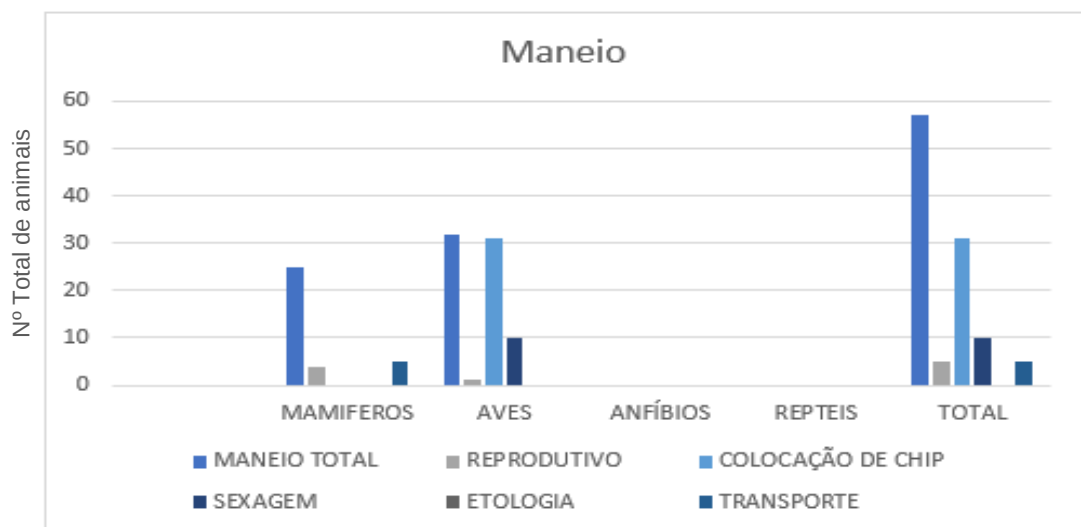


Gráfico 4: Distribuição da casuística de manejo participada durante o estágio curricular.

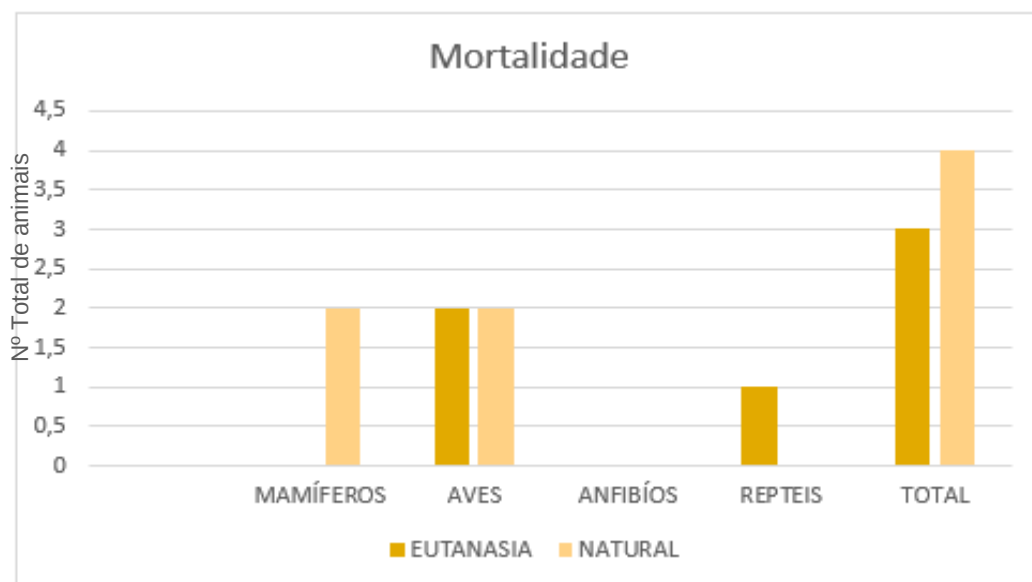


Gráfico 5: Distribuição da mortalidade ocorrida durante o estágio curricular.

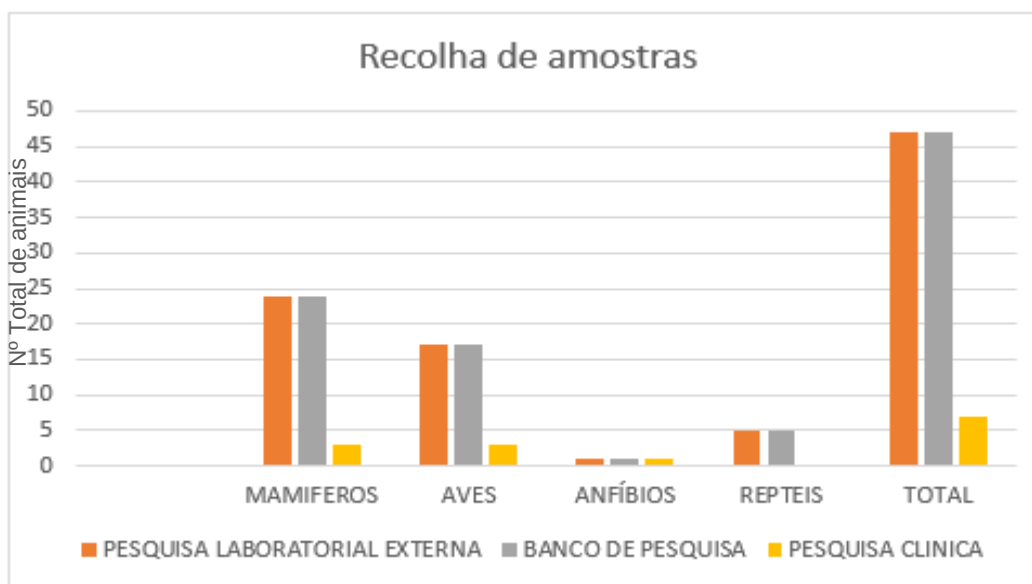


Gráfico 6: Distribuição da casuística de amostras recolhidas durante o estágio curricular.

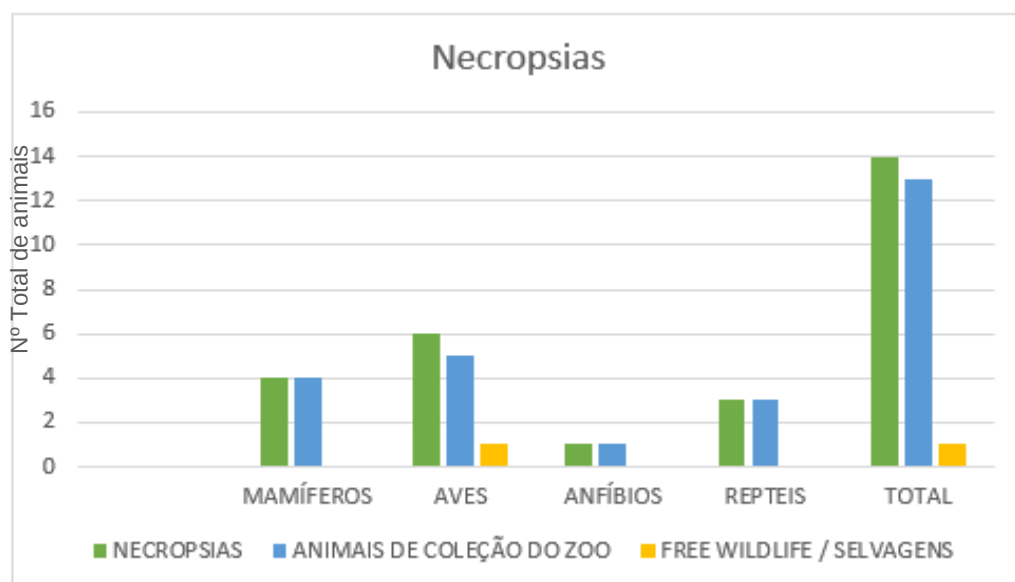


Gráfico 7: Distribuição da casuística de necropsias realizadas durante o estágio curricular.

A autora realizou a segunda parte do seu estágio, entre janeiro de 2023 e março de 2023, na Clínica veterinária de animais de companhia AmaPet. Durante este período de estágio foi possível acompanhar uma grande diversidade de casos clínicos e observar as distintas abordagens diagnósticas e terapêuticas em animais de companhia (Gráfico 8). Tarefas diárias foram realizadas durante o estágio na clínica. Exame clínicos, geral e focalizado, os de imagem (p. ex., radiografia e ecografia), técnicas anestésicas com ênfase na escolha e uso correto dos fármacos, e cirúrgicas, onde prevaleceu os procedimentos na área de ortopedia, recolha de amostras para exames laboratoriais (p. ex., estudos coprológicos, estudos hematológicos e citológicos), aplicação de tratamentos e profilaxia eram incumbências executadas pela autora do presente trabalho (Gráfico 9). Com este estágio a aluna fortaleceu as capacidades necessárias para desempenhar de forma autônoma, lidar com emergências, tomar decisões e assumir responsabilidades, trabalhar em equipa, comunicar com os tutores dos animais e com outros profissionais da área.

Este estágio foi bastante enriquecedor e permitiu à autora adquirir variadíssimos conhecimentos teóricos e práticos na área de cirurgia, essencialmente na área de cirurgia ortopédica, acompanhando o Doutor Nuno Soriano nos ambulatorios de cirurgia ortopédica (Gráfico 10). Nas diversas cirurgias realizadas foi possível à autora participar ativamente na realização de múltiplas técnicas cirúrgicas.

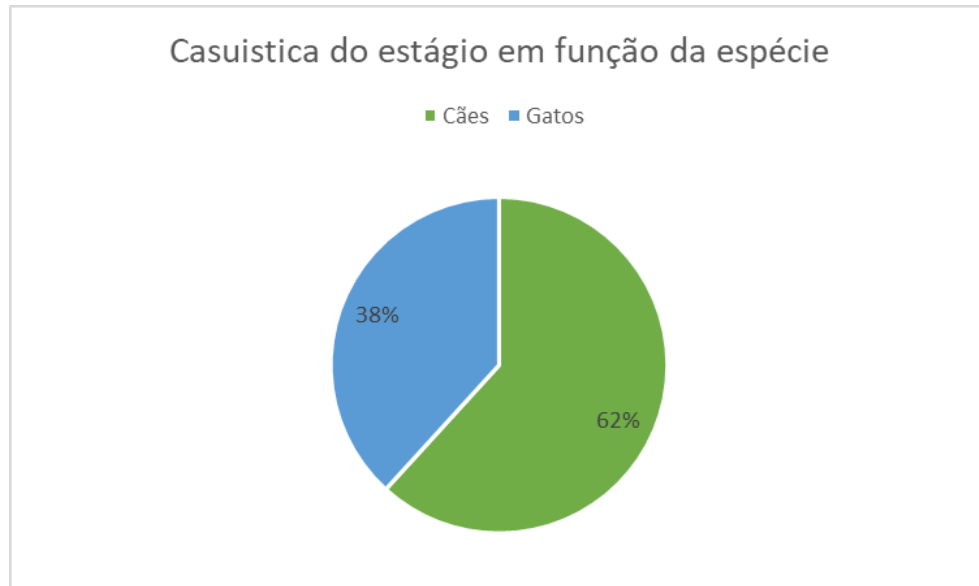


Gráfico 8: Distribuição da casuística de estágio em função da espécie durante o estágio curricular na clínica de animais de companhia. A maioria dos animais observados eram canídeos (62%), sendo a outra percentagem de animais felídeos (38%).

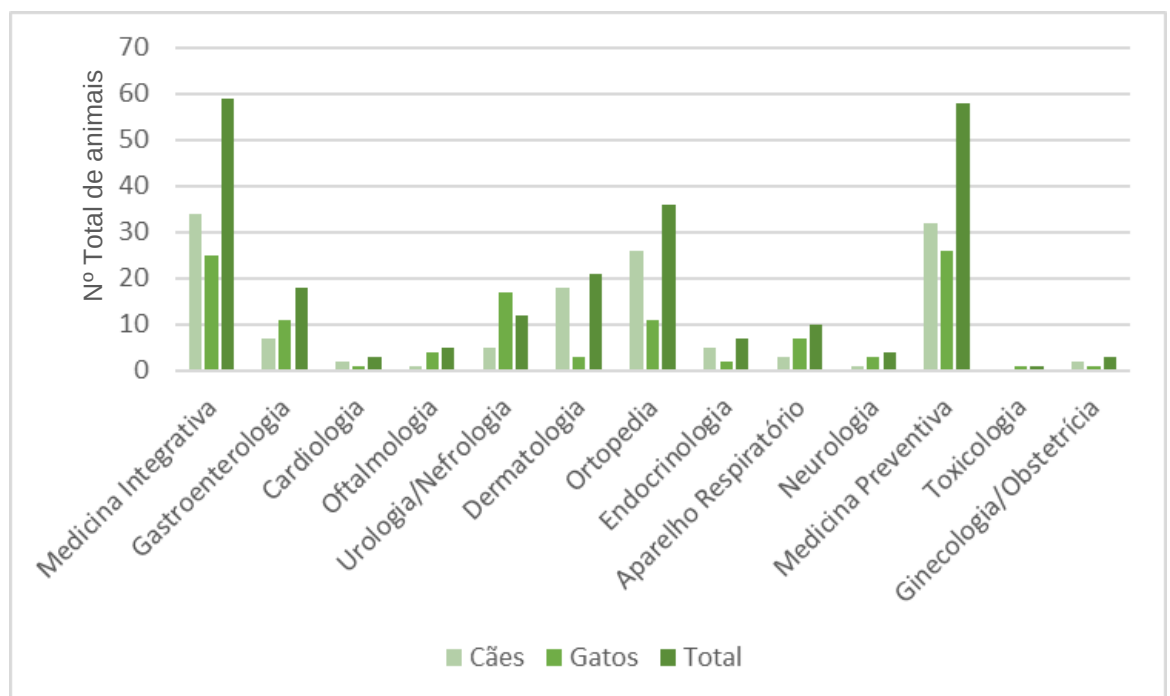


Gráfico 9: Distribuição da casuística participada durante as atividades de internamento e de consultas.

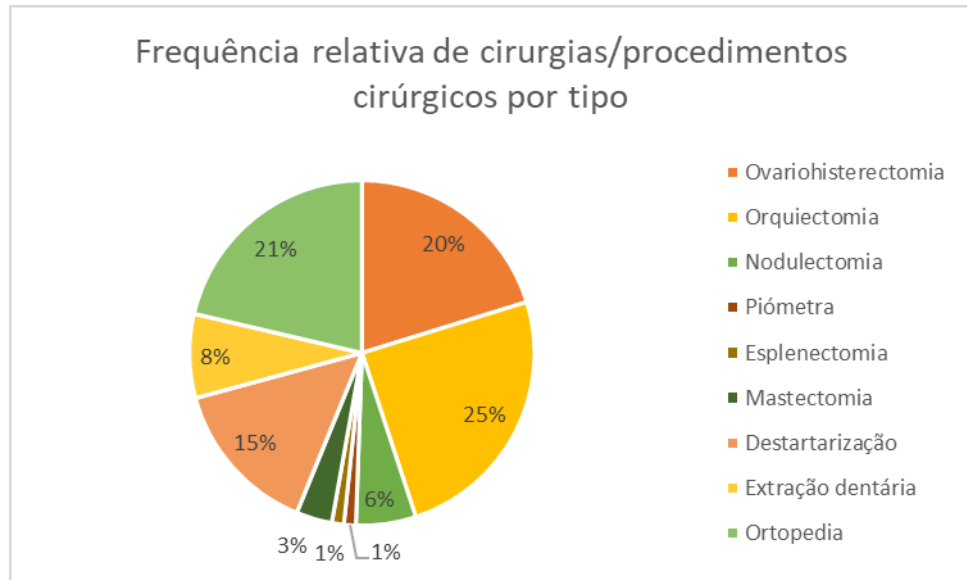


Gráfico 10: Distribuição do tipo de procedimentos cirúrgicos participados durante o estágio curricular.

I. REVISÃO DE LITERATURA

1. Introdução

Animais carnívoros alimentam-se predominantemente de carne, por este motivo são considerados predadores e denominados de consumidores secundários. Alguns carnívoros alimentam-se de outros animais carnívoros e são então considerados como consumidores terciários (p. ex., exemplo, Orcas). Alguns animais desta classe são carnívoros obrigatórios, ou seja, dependem apenas de carne para sobreviver (p. ex., exemplo, gatos ou Tigres), mas a maioria pertencente a esta classe são carnívoros não obrigatórios. As espécies animais pertencentes a esta classe podem ser encontradas na fauna selvagem ou em cativeiro. Os carnívoros estão compreendidos em cerca de 19 famílias. Entre elas estão a família *canidae* que compreende os cães, lobos, coiotes e raposas; a família *felidae*, onde estão compreendidos os gatos, tigres, leões, panteras; a família *Hyaenidae*, onde estão compreendidas as diversas espécies de hienas; e a família *Ursidae*, onde estão compreendidas as várias espécies de ursos. (Lu et al., 2023).

O Parque Zoológico de Barcelona (Figura 1) é uma instituição de conservação de espécies, fundado em 1892, no Parque da Ciutadella em Barcelona. Esta instituição participa no programa de recria e conservação estabelecido pelas instituições WAZA (Associação Mundial de Zoos e Aquários) e EAZA (Associação Europeia de Zoos e Aquários). Esta instituição faz também parte da AIZA (Associação Ibérica de Zoos e Aquários) (<https://www.zoobarcelona.cat/en>).



Figura 1: Entrada do Parque Zoológico de Barcelona. Figura original da autora.

No Zoo de Barcelona (Figura 2) habitam cerca de quatro mil animais pertencentes a mais de quatrocentas espécies. Algumas destas espécies fazem parte de programas de reprodução, como o Programa Europeu de Reprodução de Espécies Ameaçadas (EEP ou European Endangered Species Programme) e o Programa de Reprodução European Studbook (ESB) (<https://www.zoobarcelona.cat/en>).



Figura 2: Fotografia de uma das leas residentes no Parque Zoológico de Barcelona. Fotografia original da autora.

O Programa Europeu de Reprodução de Espécies Ameaçadas (EEP ou European Endangered Species Programme), é um programa dedicado à reprodução de espécies em ameaça de extinção. Este programa tem como intuito a reprodução destas espécies de forma a criar populações geneticamente saudáveis com o objetivo final da sua reintrodução em habitat natural. Para isto é necessária uma ação conjunta dos parques zoológicos integrados neste programa, bem como a criação de protocolos de forma a registar adequadamente todos os animais e evitar a consanguinidade (<https://www.eaza.net/conservation/programmes/>).

O Programa de Reprodução European Studbook (ESB) é um documento de registo de todos os indivíduos de cada espécie ameaçada presentes em cativeiro ou em cuidado humano, com o intuito de saber a demografia e genética das populações que existem nos diferentes zoos e reservas pertencentes à EAZA. Desta forma tenta-se evitar que haja consanguinidade na reprodução entre os indivíduos. Este programa tenta propiciar uma maior variabilidade genética dentro da espécie, fundamental para a sua sobrevivência (<https://www.eaza.net/conservation/programmes/>).

As espécies de carnívoros presentes no zoo de Barcelona são a Hiena Malhada - *Crocuta Crocuta*; o leão - *Panthera leo*; o Lobo Ibérico - *Canis lupus signatus*; Tigre de sumatra - *Panthera tigris sumatrae*; o Jaguar - *Panthera onca*; o Leopardo do Sri Lanka - *Panthera*

pardus kotiya; o Suricata - *Suricata suricata*; e a Mangosta Rayada- *Mungos mungo*. As espécies de carnívoros que fazem parte do Programa de Reprodução European Studbook (ESB) são a Hiena Malhada e o Jaguar. As espécies de carnívoros que integram o Programa Europeu de Reprodução de Espécies Ameaçadas (EEP ou European Endangered Species Programme) são o Lobo Ibérico, o Tigre da Sumatra e o Leopardo do Sri Lanka (<https://www.zoobarcelona.cat/en>).

O controlo populacional é uma ferramenta essencial a todos os zoológicos. De forma a evitar a sobrepopulação, a consanguinidade e a colmatar a falta de meios financeiros e de infraestruturas necessárias para albergar tantos animais (Miller et al., 2018).

No Parque Zoológico de Barcelona, o método contraceutivo reversível escolhido para os carnívoros inseridos em programas de controlo reprodutivo foi a Deslorelina, análogo e agonista da GnRH. Os procedimentos irreversíveis (gonadectomia) ou aqueles cuja reversibilidade não é segura (vacinas imunocontracetivas), não representam uma opção para esta instituição, uma vez que não se pretende a exclusão destes animais do fundo genético (Asa e Porton, 2005). Entre os vários contraceptivos hormonais a poderem ser utilizados, os progestagénios possuem vários estudos e relatos de ocorrência de efeitos nocivos em felídeos e canídeos. Os androgénios por poderem provocar um aumento na agressividade, não são aconselhados em animais selvagens (McEvoy et al., 2019). Os análogos da GnRH, nomeadamente a Deslorelina, são referidos pelo grupo de aconselhamento de contraceção da AZA Wildlife como sendo o método reversível mais eficaz e seguro para carnívoros selvagens, recomendados como método possível de utilizar numa contraceção a longo prazo. Este método possui poucos efeitos secundários em ambos os sexos, e alguns destes efeitos cessam após algum tempo. A Deslorelina como implante, já foi utilizada e estudada em diversas espécies de carnívoros, e a sua eficácia e reversibilidade foi comprovada. Das diversas formas de administração de contraceptivos, a colocação de um implante requer menor manuseio sucessivo, pelo tempo de duração prolongado (McEvoy et al., 2019; Agnew et al. 2021).

Como metodologia de identificação e controlo de populações, todos os animais residentes do Parque Zoológico de Barcelona possuem um microchip associado a um número de identificação individual, que está registado na plataforma Species360 ZIMS (Zoological Information Management Software). Nesta plataforma são registados todos os dados relativos a cada animal (nascimento, sexo, último peso, origem), bem como todo o historial clínico do animal e todas as intervenções de manuseio realizadas (<https://zims.species360.org/Login.aspx?ReturnUrl=%2f>).

Mais de 1.300 zoos, aquários e instituições de vida selvagem em 102 países utilizam a plataforma ZIMS com o objetivo de ajudar a alcançar melhores práticas de gestão animal e atingir os objetivos de conservação. Os módulos zootécnicos e veterinários ZIMS estão integrados numa base de dados principal, estabelecendo uma reserva rica que reflete uma fonte de informação global, precisa, abrangente e fiável relativa a milhões de registos sobre mais de 22.000 espécies e dez milhões de animais individuais. Esta plataforma contém o maior conjunto de dados do mundo sobre populações *ex situ* de animais selvagens (<https://zims.species360.org/Login.aspx?ReturnUrl=%2f>).

Os animais pertencentes ao Parque Zoológico de Barcelona são sujeitos a sistemas de controlo e vigia permanente por parte dos tratadores zoológicos. Qualquer alteração comportamental ou de saúde sofrida por um animal é imediatamente reportada à equipa veterinária, de forma a possibilitar, se necessário, uma rápida e atempada assistência ao indivíduo. Contudo, o manejo e a interação humana com os animais são evitados ao máximo, de forma a minimizar situações de stress, por este motivo a assistência veterinária que implique manejo e captura do animal só é realizada em situações de real necessidade.

2. Fisiologia reprodutiva dos carnívoros

Nos carnívoros o controlo endócrino da reprodução é feito através do eixo hipotálamo-hipófise-gónada. O hipotálamo controla através de um sistema de *feedback* negativo a secreção hormonal via hipófise por meio da secreção de peptídeos, ou seja, compara a concentração sanguínea hormonal com a concentração de hormonas produzidas no organismo e o aumento de produção de uma substância resulta na diminuição da outra (Heldstab et al., 2018).

2.1 Fêmeas

Nas espécies em que ocorre ovulação espontânea a hormona gonadoliberina ou hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH), é a principal responsável pelo funcionamento deste mecanismo. Esta é uma hormona hipofisiotrópica produzida pelas células neurosecretoras do hipotálamo. A secreção de GnRH é feita no hipotálamo de forma pulsátil. Posteriormente esta neurohormona é transportada através de axónios até uma sofisticada rede de capilares sanguíneos conhecida como sistema porta venoso hipotálamo-hipofisário. Finalmente atua estimulando as células gonadotróficas da hipófise anterior (adenohipófise) a produzir gonadotrofinas: hormona folículo-estimulante (FSH) e hormona luteinizante (LH) (Hampson e Schwitzer, 2016).

Nas fêmeas de espécies onde a ovulação é induzida, a produção de LH inicia-se em resposta a um estímulo externo, como a estimulação vaginal através de cópula ou através da ação de feromonas (Brown, 2011).

Na fase folicular a hormona FSH estimula o crescimento dos folículos imaturos no ovário e estimula as células da granulosa a produzir estrogénio. O estrogénio é produzido pelos folículos ovários, e está envolvido no desenvolvimento das características sexuais femininas e no comportamento sexual. As concentrações desta hormona durante o período de estro têm forte influência na secreção da hormona LH e consequentemente na ovulação. O comportamento de estro começa após o pico de estrogénio. Este pico estimula a secreção de LH, que por sua vez promove a maturação final dos folículos dominantes e despoleta a ovulação. A hormona FSH tem um papel essencial na conversão de células foliculares em células do corpo lúteo após a ovulação. Neste momento termina a fase folicular e inicia-se a fase lútea (Hampson e Schwitzer, 2016; Asa et al., 2021).

O corpo lúteo, formado após a rutura dos folículos dominantes, vai produzir progesterona. Durante a gravidez as concentrações de progesterona continuam elevadas até

pouco antes do nascimento (Asa et al., 2021). Caso não tenha havido concepção, o corpo lúteo regride lentamente e as concentrações de progesterona diminuem (Hampson e Schwitzer, 2016).

Nas espécies sazonais e monoéstricas, uma combinação de fatores causa o suprimento do eixo hipotálamo-hipófise durante a época de anestro, época em que a fêmea não demonstra sinais de qualquer atividade endócrina (Frederick et al., 2012). Endocrinologicamente é um período durante o qual o eixo hipotálamo-hipofisário se torna sensível aos efeitos do feedback negativo do estrogênio. A liberação pulsátil de LH diminui e torna-se menos efetiva, há ausência de picos pré-ovulatórios de LH e FSH, os níveis de progesterona estão baixos e há o bloqueio da fase final de maturação dos folículos e da ovulação até ao aparecimento espontâneo de um novo proestro. A sazonalidade reprodutiva depende de diversos fatores tais como a variação do fotoperíodo, a nutrição, temperatura, fatores sociais e de grupo, genética e ritmos endógenos (Heldstab et al., 2018).

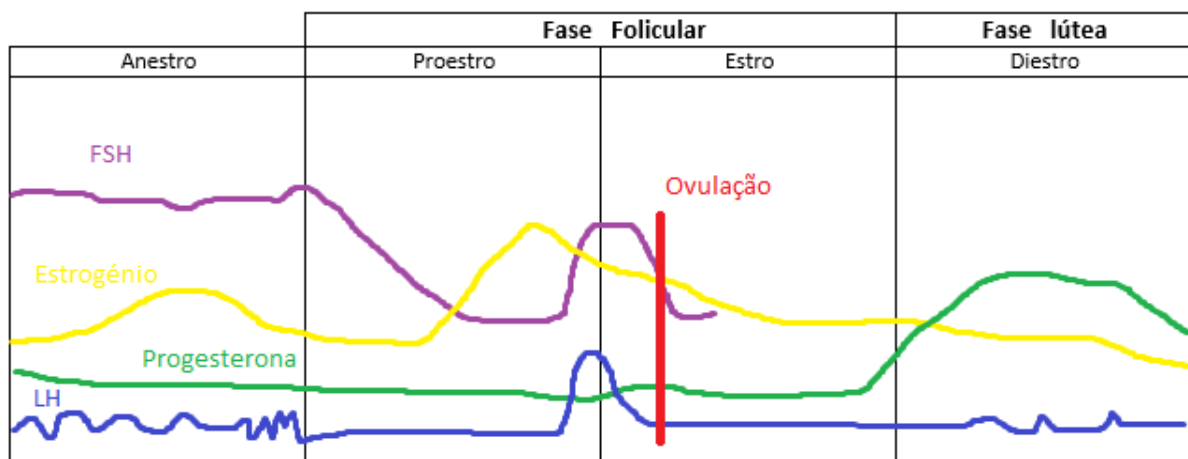


Figura 3: Demonstração das alterações nas concentrações hormonais presentes nos diferentes períodos do ciclo reprodutivo. Figura adaptada de Asa et al., 2021.

2.1.1. Espécies com ovulação induzida

Nas espécies em que a ovulação é induzida, as fêmeas vão ovular em resposta à cópula (estimulação vaginal) e a outros estímulos químicos, visuais e olfativos (exemplo as feromonas excretadas pelo macho). O tempo de estro (em associação com a exposição de estrogênio), a duração do período de cópula, e o número de cópulas e estimulação vaginal estão relacionados com a quantidade crescente de LH requerida para a ovulação. Neste caso os oócitos maduram nos ovários e são libertados em caso de cópula. Estas fêmeas

demonstram vários ciclos foliculares regulares, com aumento de FSH, LH e estrogênio, sem necessitar da presença do macho (Hampson e Schwitzer, 2016).

A ovulação induzida é comum em espécies solitárias com um sistema de vários machos em acasalamento e em espécies sem uma época fixa de criação. Nestas espécies há uma grande influência de fatores externos como luminosidade, temperatura e a estrutura social (DeMatteo et al., 2006). O cio repete-se ao longo de uma época favorável de reprodução. Na maioria das espécies, no inverno há muito pouca ou nenhuma ciclicidade, correspondendo ao anestro. Em algumas espécies de felídeos há a presença de períodos de interestro, ou seja, a fêmea não ovula mesmo na presença de estímulo (Larivière e Ferguson, 2003).

A maioria dos felídeos pertence a este grupo. Nas espécies com ovulação induzida também estão incluídas o panda vermelho (*Ailurus fulgens*), o Wolverine (*Gulo gulo*), o Lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*), a Raposa-das-ilhas (*Urocyon littoralis*), e grande parte dos ursos incluindo o urso negro (*Ursus americanus*) e urso polar (*Ursus maritimus*) (Mead et al., 1993; Asa et al., 2007; Heldstab et al 2018;).

Também existem espécies com ovulação induzida facultativa, nestes casos a ovulação pode ser espontânea ou induzida. As espécies onde isto pode ocorrer são leopardos (*Panthera pardus*), gato Pallas (*Felis manul*), gato pescador (*Prionailurus viverrinus*) e ocasionalmente em leões (*Panthera leo*) (Asa et al., 2021).

2.1.2. Espécies com ovulação espontânea

As fêmeas ovulam na ausência de copulação, e não necessitam da presença do macho ou de qualquer estímulo externo. A primeira fase do cio denomina-se de proestro, onde a fêmea atrai os machos, mas recusa a cópula. O hipotálamo produz mais GnRH que vai originar um aumento das hormonas FSH e LH produzidas pela adenohipófise, originando o crescimento dos folículos presentes no ovário. Estes folículos produzem nas células da granulosa a hormona estrogênio. Este por sua vez vai estimular o crescimento e atividade do epitélio glandular, promovendo a vascularização e edema da mucosa, provocando um espessamento do epitélio vaginal, edema e turgidez da vulva (Asa et al., 2021). No final do proestro o pico da hormona LH estimulada pelo estradiol precede a ovulação. Nesta fase há aceitação da cópula e ocorre o início de secreção de progesterona pelos ovários, mais especificamente por parte dos folículos pré-ovulatórios (Dixon, 2021).

A fase seguinte denomina-se de estro ou cio, e é onde ocorre a ovulação. Nas espécies poli ovulatórias há a libertação de vários oócitos. O estrogénio começa a diminuir e há aumento na secreção de progesterona. Nos canídeos a maturação dos oócitos ocorre no oviducto durante cerca de quarenta e oito a setenta e duas horas, mas na maioria dos mamíferos a ovulação liberta já o oócito maduro. Após ocorrer a ovulação forma-se um corpo lúteo que aumenta a produção de progesterona, este período é denominado de diestro (Jorge-Neto, et al., 2020).

O estrogénio estimula a produção de secreções vaginais que favorecem a sobrevivência dos gametas sexuais e o seu transporte. O transporte do esperma pelo canal vaginal é promovido pelo músculo liso, através de recetores adrenérgicos, e pela estimulação ciliar dos cornos uterinos. Caso ocorra cópula pode existir a gestação ou pseudogestação, correspondente ao período de diestro. Após este período há uma fase de repouso sexual correspondente ao anestro. Espécies onde ocorre isto são a maioria dos canídeos, Hiena e Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*) (Durrant et al., 2003; Asa et al., 2021).

2.1.3. Tipos de estro:

- Monoéstricas: fêmeas têm apenas um ciclo éstrico por ano ou por estação. Espécies: lobos, ursos, lince (Spady et al., 2007 ; Painer et al., 2014).
- Poliéstricas: as fêmeas têm vários ciclos éstricos ao longo do ano. Espécies: leões e chitas (*Acinonyx jubatus*) (Schmidt et al 1979 ; Brown et al., 1996).
- Poliéstricas sazonais: as fêmeas têm múltiplos ciclos éstricos durante certas épocas do ano. Espécies: tigre siberiano (*Panthera tigris tigris*) (Seal et al., 1985).

2.1.4. Pseudogestação

Seguido de um período de estro onde não houve fecundação, forma-se um corpo lúteo e ocorre uma fase lútea prolongada. (Van der Weyde et al., 2015). A progesterona diminui gradualmente até atingir valores basais e as concentrações de prolactina não aumentam. (Mead et al., 1993; Thongphakdee et al., 2020). Em algumas espécies, especialmente nos felídeos, a pseudogestação pode aumentar o risco de desenvolvimento de

patologias reprodutivas tais como a hiperplasia endometrial (Asa et al., 2014; Hampson e Schwitzer, 2016).

2.1.5. Implantação tardia

O desenvolvimento de um óvulo fecundado é suspenso (diapausa) em vez de ser implantado diretamente no útero. (Daniel, 1981). A duração deste período pode ser de apenas uns dias até 10 meses. Ocorre em espécies como os pinípedes, ursos e mustelídeos (Lindenfors et al., 2003; Ptak et al., 2012).

2.2 Machos

Nos machos a secreção pulsátil da hormona GnRH proveniente do hipotálamo estimula a produção das gonadotrofinas FSH e LH na adenohipófise. A hormona LH estimula as células de Leydig na produção e secreção de testosterona por parte dos testículos, que é fundamental na espermatogénese e que por sua vez regulam a secreção de LH através do mecanismo de feedback negativo. A hormona FSH por sua vez vai auxiliar a produção de espermatozoides através da estimulação no desenvolvimento dos espermatozoides nos machos. As hormonas LH e prolactina atuam nas células de Leydig e estimulam a produção de testosterona. A testosterona entra nos túbulos seminíferos, liga-se a receptores localizados nas células de Sertoli e estimula a espermatogénese em sinergismo com a FSH. A espermatogénese é contínua independentemente da frequência de ejaculação (Asa et al 2021).

Alguns machos também possuem sazonalidade reprodutiva, havendo tendência para o aumento de concentração de testosterona na época de reprodução (Iossa et al., 2008). Durante este tempo, a testosterona influencia não só os comportamentos de agressividade e de libido, como também aumenta o tamanho dos testículos, a espermatogénese e a qualidade do espermatozoide (Comizzoli 2021; Dixon, 2021).

A testosterona é a hormona primária sexual masculina, está envolvida diretamente na maturação dos órgãos sexuais, no desenvolvimento das características sexuais secundárias e no comportamento (Azevedo et al., 2020).

Em algumas espécies, onde a fêmea necessita de estímulo para que ocorra a ovulação, durante a cópula as espículas do pénis do gato estimulam o pico de LH que provoca

a ovulação. Estas espículas são influenciadas pela quantidade de testosterona (Comizzoli, 2021).

3. Métodos contraceptivos

A contraceção representa a prevenção deliberada da concepção. O método contraceptivo ideal é aquele que permite com sucesso e eficácia, de forma segura para o indivíduo e para os ecossistemas, não comprometendo a genética da espécie (Bertschinger & Caldwell 2016; Miller et al, 2018).

Nos anos 70 deu-se o início dos programas de contraceção em animais mantidos em cativeiro em Parques Zoológicos. É essencial implementar um protocolo de controlo reprodutivo em cada instituição zoológica (Bertschinger & Caldwell 2016). Os métodos de controlo reprodutivo utilizados podem ser letais ou não letais, reversíveis ou irreversíveis, cirúrgicos ou não cirúrgicos (Asa e Porton, 2005). As técnicas irreversíveis são bastante eficazes, contudo retiram o animal do fundo genético, por este motivo a contraceção reversível é, muitas vezes, mais benéfica. Os métodos irreversíveis são normalmente utilizados para animais que não se pretende a sua reprodução futuramente, ou seja, em animais cujo interesse genético é nulo ou diminuto (Boutelle et al., 2010).

De acordo com a AZA Reproductive Management Center os métodos contraceptivos disponíveis para a utilização em carnívoros selvagens são o grupo das progestinas, que contemplam o acetato de melengestrol, o acetato de megestrol, e o acetato de Medroxiprogesterona; o grupo dos agonistas de GnRH; os andrógenos sintéticos; a Imunocontraceção e os métodos cirúrgicos (<https://stlzoo.org/conservation/reproductive-sciences/aza-reproductive-management-center/contraception-program-of-aza-reproduction-management-center>).

3.1. Separação dos animais de sexos opostos

A separação dos animais por sexos pode ser feita apenas em períodos apropriados do ciclo reprodutivo. Depende do comportamento social da espécie e da disponibilidade do recinto para separar os animais (Asa e Porton, 2005). Esta separação pode perturbar o comportamento social da espécie, sendo que reintroduzir posteriormente os indivíduos pode

causar agressão no grupo à medida que a hierarquia é restabelecida. A longo termo, a ocorrência de vários ciclos não conceptivos podem aumentar o risco de infertilidade nas fêmeas (Bertschinger & Caldwell, 2016).

O método de alojar apenas animais do mesmo sexo nas mesmas instalações também pode funcionar como método contraceptivo, no entanto depende da dinâmica das instalações e do comportamento social da espécie (Boutelle et al., 2010).

3.2. Agonistas GnRH

A GnRH é uma hormona produzida pelo hipotálamo que induz a libertação de gonadotrofinas pela hipófise, sendo estas a hormona luteinizante (LH) e a hormona-folículo-estimulante (FSH) (Bertschinger & Caldwell 2016). A administração de GnRH vai causar uma diminuição da sensibilidade na hipófise devido a uma exposição contínua desta hormona. Este mecanismo vai resultar na diminuição da secreção de LH e FSH e, consequentemente, não haverá estimulação folicular (Asa e Porton, 2005; Agnew et al., 2021).

3.2.1. Deslorelin - Suprelorin®

A Deslorelina é uma hormona agonista da hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH), esta ao ser administrada estimula inicialmente o sistema reprodutivo seguido de uma supressão crónica através da ocupação contínua dos recetores de GnRH interrompendo o sinal enviado para a síntese e libertação das gonadotrofinas tanto nos machos (testosterona) como nas fêmeas (estradiol e progesterona), interrompendo a produção de esperma e a ovulação, respetivamente (Bertschinger & Caldwell 2016). O fármaco Suprelorin® é um implante que contém como substância ativa a deslorelina. A sua eficácia tem sido elevada em diversas espécies de mamíferos, especialmente em carnívoros (Agnew et al., 2021).

A administração exógena de Deslorelina mimetiza a GnRH endógena, estimulando inicialmente a adenohipófise nos recetores de GnRH e promovendo um aumento da secreção de LH e FSH. Esta fase de estimulação inicial tem como consequência a indução da ovulação nas fêmeas e, nos machos, um aumento pontual da concentração da testosterona plasmática e da produção de sémen. A longo prazo esta estimulação dos recetores faz diminuir a sensibilidade da adenohipófise à hormona GnRH, resultando numa supressão reprodutiva que vai inibir a produção de testosterona nos machos e a secreção de estrogénio e progesterona

nas fêmeas (Bertschinger et al., 2008). A diminuição dos níveis hormonais resulta numa diminuição na atividade ovárica ou testicular. Nas fêmeas dá-se a diminuição da função ovárica e consequentemente a inibição do estro. Já nos machos, há uma redução da produção de testosterona e, consequentemente inibição da espermatogénese. Quando a fonte exógena de GnRH é removida a sensibilidade da adenohipófise volta ao normal, bem como a produção das hormonas sexuais (Braga et al., 2020).

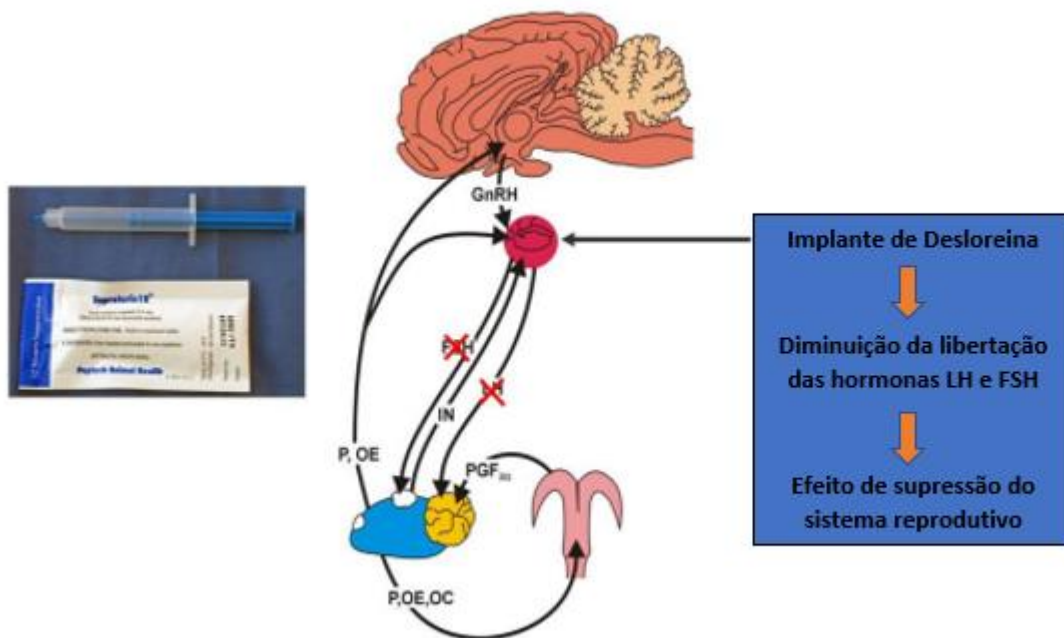


Figura 4: Representação da fisiologia da ação da Deslorelina. Ação inibitória da Deslorelina sobre as hormonas FSH e LH (X). Supressão do sistema reprodutivo em carnívoros selvagens com o implante de deslorelina de ação prolongada (Suprelorin®). Figura adaptada de Bertschinger et al. 2013.

A fase de ação de estimulação aguda tem a duração de cerca de um mês nas fêmeas e duração de cerca de dois meses nos machos, seguida posteriormente por uma fase de supressão crónica. Isto significa então que o implante não tem um efeito imediato logo após a sua colocação, por este motivo, de forma a que não ocorram falhas na contraceção, é necessário que as fêmeas recentemente implantadas sejam separadas dos machos durante 2 a 3 semanas ou os machos recentemente implantados sejam separados das fêmeas durante cerca de 2 meses. Esta discrepância de tempo deve-se ao facto de a fase estimulatória aguda ser mais prolongada nos machos, ou seja, os espermatozoides férteis podem permanecer nos testículos durante dois meses ou mais. Por esta razão os implantes são mais comumente utilizados em fêmeas (Agnew et al., 2021).

Em carnívoros implantados pela primeira vez, a fase estimulatória que ocorre 3 a 4 semanas após a implantação pode consequentemente resultar num aumento de testosterona nos machos e na indução de ovulação nas fêmeas. Nestes casos a fêmea pode manter a secreção de progesterona pós-ovulatória, o que pode ter efeitos negativo e causar patologia endometrial. (Fontaine et al., 2015). De forma a prevenir esta fase estimulatória nas fêmeas, pode-se proceder à administração oral de acetato de Megestrol (Megace® ou Ovarid®) durante 7 dias antes e 7 dias depois da colocação do implante (Agnew et al., 2021).

As formulações de Superlorin® são eficazes para um mínimo de 6 meses (nos implantes de 4,7 mg) ou 12 meses (nos implantes de 9,4 mg, onde a matriz do implante permite uma libertação mais lenta). Existem também outras formulações com 3 mg e 6 mg de Deslorelina, contudo atualmente estas dosagens estão em desuso. A duração e eficácia pode ter variações individuais, e em alguns carnívoros como os felídeos, os efeitos podem ser três vezes superiores (Agnew et al., 2021). A dosagem utilizada depende do peso do animal, do sexo, e do indivíduo, sendo que os machos necessitam de uma dosagem superior à das fêmeas para que ocorra a contraceção (Bertschinger et al., 2006). As doses e a duração de eficácia não estão bem estabelecidas para todas as espécies de animais selvagens, por este motivo são necessários mais testes e estudos sobre este tema. Para as espécies da família *Ursidae* a colocação de 2 implantes pode ser suficiente, na família *Hyaenidae* devem ser implantados 2 a 3 implantes, nos felídeos pode ser suficiente 1 implante e 2 implantes para espécies maiores, já em canídeos dois implantes podem ser suficientes, no entanto em todas as situações referidas é importante o veterinário entrar em contacto com a EAZA RMG de forma a ser possível estabelecer a dosagem adequada (Koeppel et al., 2014; Agnew et al., 2021). A duração e a eficácia aumentam com tratamentos sucessivos (McEvay et al. 2019). Num estudo feito em diversas reservas no Sul de África, 63 leões e 4 tigres fêmea foram tratadas com os implantes de Suprelorin®, sendo que este estudo concluiu que a utilização de 3 implantes de 4,7 mg ou um implante de 9,4 mg é eficaz como método contraceptivo durante 30 meses ou mais. Para mitigar a possibilidade de falha na contraceção, os autores recomendam a mudança dos implantes a cada 24 meses (Bertschinger et al., 2008).

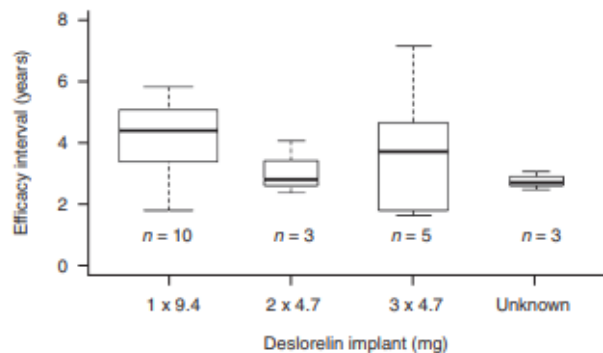


Figura 5: Dados relativos ao estudo realizado em 21 leas relativamente à eficácia das várias formulações dos implantes de Deslorelina. A utilização de três implantes de 4,7 mg de Deslorelina revelaram ter uma eficácia mais prolongada. Fonte: McEvoy et al., 2019.

Os dados indicam que a Superlorin® é uma opção contraceptiva eficaz e segura para mamíferos fêmeas, embora possa não ser eficaz em machos de algumas espécies de mamíferos (Asa e Porton, 2005).

Monitorização da eficácia:

- Ausência de comportamentos de estro ou cópula (Bertschinger & Caldwell 2016; Agnew et al., 2021);
- Ausência de produção de espermatozoides através da colheita de líquido seminal obtido por métodos de eletroejaculação (Bertschinger & Caldwell 2016);
- Concentrações sanguíneas de progesterona- as concentrações de progesterona devem ser baixas e indicativas de ausência de ciclo éstrico. As amostras devem ser analisadas de acordo com os valores de referência para cada espécie. Este método requer a recolha de uma amostra de sangue (Bertschinger et al., 2008; Agnew et al., 2021);
- Sementeira vaginal ou citologia (Bertschinger & Caldwell 2016);
- Ecografia transretal onde se deve observar o útero e os ovários- deve-se observar a inatividade dos ovários, não deve haver presença de desenvolvimento folicular ou presença de corpo lúteo (Agnew et al., 2021);
- Concentrações sanguíneas de testosterona nos machos (Agnew et al., 2021);
- Concentrações fecais de estradiol e progesterona (perfil) nas fêmeas, como indicado na figura 6, onde se observa a eficácia do implante na supressão hormonal ao longo do tempo (Bertschinger et al., 2008)

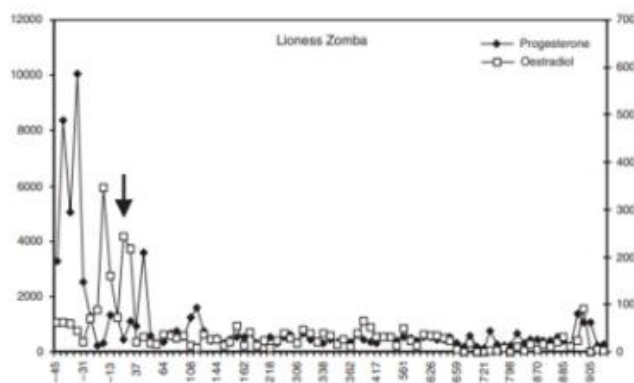


Figura 6: Medição fecal do estradiol e dos metabolitos da progesterona em uma leoa no Parque Zoológico de São Paulo. No dia 0 (seta) é implantada com 9,4 mg de Deslorelina. Após a colocação do implante há diversos picos elevados de estradiol e progesterona durante 2- 3 semanas (fase estimulatória). Depois os picos hormonais são pequenos e curtos. Após 905 dias os picos hormonais são pequenos e curtos, demonstrando a eficácia e durabilidade do implante. Fonte: Bertschinger et al., 2008.

Colocação do implante deve ser subcutâneo em regiões de pele mais fina, para facilitar a localização do implante e agilizar a sua posterior remoção. As regiões mais adequadas para a implantação são a zona interescapular, a zona interna das coxas, a zona muscular dos membros torácicos, a barbatana caudal em animais aquáticos, a zona umbilical, ou na base da orelha (Bertschinger & Caldwell 2016; Agnew et al., 2021).

De forma a ser mais fácil a localização do implante é possível fazer uma pequena marca com tinta de tatuagem, no entanto é de referir que o implante pode deslocar-se do local de implantação inicial. A ecografia pode ser utilizado para localizar os implantes para o procedimento de remoção, tal como demonstrado na Figura 7 (Moresco et al. 2014).

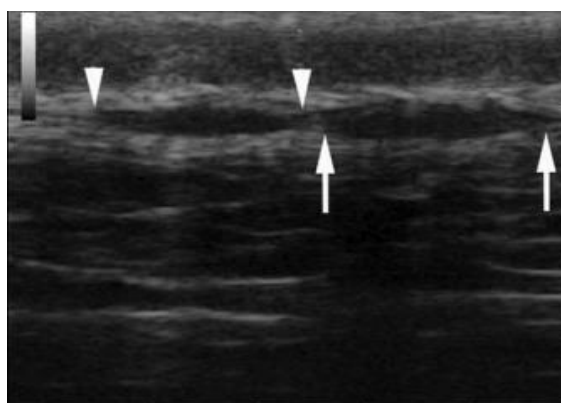


Figura 7: Imagem de ecografia do espaço subcutâneo de uma leoa africana fêmea (*Panthera leo*) onde é possível observar os dois implantes de deslorelina identificados como as pequenas estruturas hipoeecóicas ovoides rodeadas por tecido hiperecótico (entre as setas). Fonte: Moresco et al., 2014.

Vantagens:

- Muito seguro, principalmente para as fêmeas, por possuir poucos efeitos adversos. Nas fêmeas implantadas o estrogénio endógeno e a progesterona não têm efeito proliferativo sobre o endométrio e o tecido mamário, ou seja, não há risco de patologias reprodutivas (Agnew et al., 2021);
- Reduz a agressão nos machos a longo prazo (principalmente nos primatas). Embora inicialmente na fase de estimulação seja possível haver um aumento da agressão nos animais, pelo incremento de produção de testosterona, a fase de supressão crónica resulta na diminuição da agressão (Bertschinger et al., 2013);

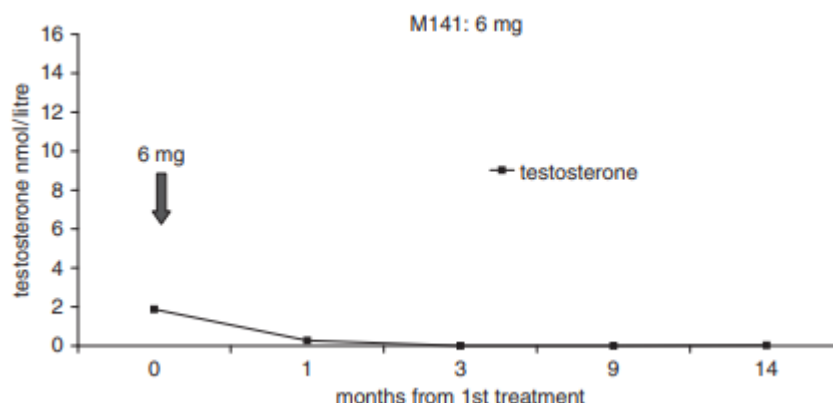


Figura 8: Diminuição da produção de testosterona num macho de cão selvagem Africano *Lycaon pictus* com a utilização de um implante de deslorelina de 6 mg. A seta indica o momento de colocação do implante. Fonte: Bertschinger et al., 2013.

- É um método contraceptivo reversível. Os implantes devem ser removidos para facilitar a reversibilidade, caso contrário a Deslorelina residual no implante pode impedir ou atrasar a ocorrência de um novo ciclo. Em um estudo com leões selvagens a concepção ocorreu com sucesso em 7 de 8 fêmeas num período de cerca de 29 meses após a remoção dos implantes (Bertschinger et al., 2008);
- Elevada eficácia em mamíferos, essencialmente em espécies de carnívoros, com taxas de falha muito baixas (Agnew et al. 2021);
- Nas espécies de aves podem ser usadas como terapia para problemas reprodutivos (postura excessiva de ovos) e diminuição de problemas comportamentais como a depena excessiva (Agnew et al. 2021);

- Os implantes não provocam aborto quando utilizados durante a gravidez (Bertschinger et al., 2008);

Desvantagens:

- A dosagem utilizada para que ocorra a contraceção pode não suprimir completamente as hormonas gonadais, ou seja, em alguns indivíduos pode ocorrer espermatogénese ou alguns picos de estradiol ou progesterona (não acompanhados de comportamento de estro e ovulação). Esta possível ocorrência de espermatogénese é uma das razões para o aparecimento de falhas na contraceção utilizando o implante de Deslorelina (Agnew et al. 2021).

- O pico inicial de testosterona na fase inicial estimulatória pode provocar um aumento repentino da agressividade do animal e comportamentos de dominância (McEvay et al. 2019);

- Os machos precisam de doses mais elevadas para suprimir a espermatogénese. A azoospermia pode só ocorrer 6 semanas após a colocação do implante (Boutelle et al., 2010);

- Requer anestesia para a colocação dos implantes (Agnew et al. 2021);

-O efeito do implante não é imediato após a colocação, neste período de estimulação é necessário a separação dos animais ou recorrer a outros métodos contraceptivos alternativos (Bertschinger & Caldwell 2016);

- Aumento de peso em ambos os sexos. O número sucessivo de tratamentos aumenta ainda mais a probabilidade de ganho excessivo de peso e obesidade (McEvay et al. 2019);

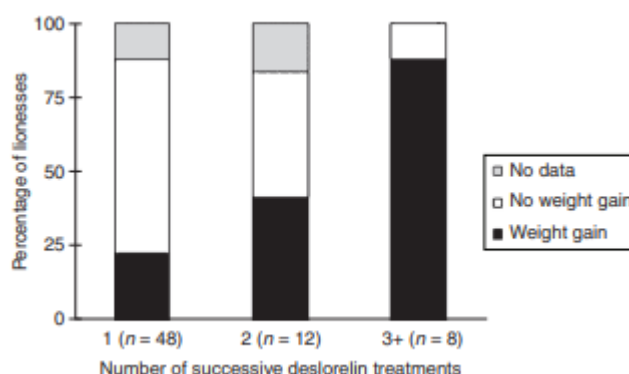


Figura 9: Gráfico representativo de uma associação entre o ganho de peso e o número sucessivo de tratamentos. Onde animais com mais de 3 tratamentos sucessivos obtiveram uma percentagem bastante elevada de ganho de peso. Fonte: McEvoy et al., 2019.

- Feminização dos machos e diminuição do tamanho testicular (Boutelle et al., 2010).

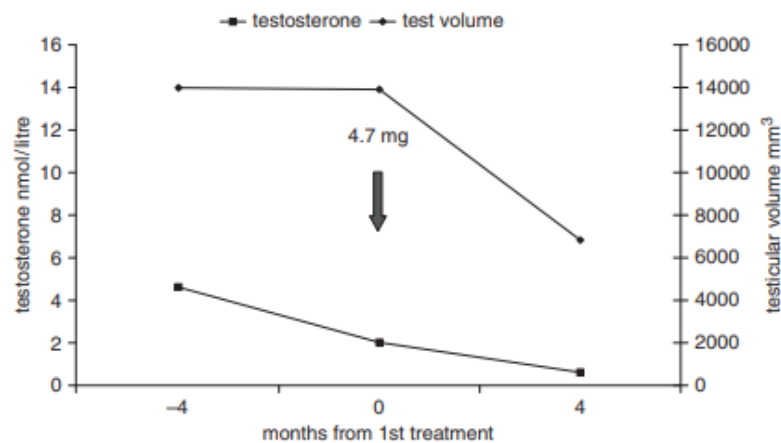


Figura 10: Diminuição do volume testicular como reflexo da diminuição da espermatogénese, em comparação com a diminuição das concentrações hormonais de testosterona num cão selvagem africano *Lycaon pictus* 4 meses após o tratamento com uma dose única do implante de Suprelorin® (4, 7 mg). A seta indica o momento da colocação do implante. Fonte: Boutelle et al., 2010.

- Requer separação dos animais no início (na fase de ação estimulante), o pode ser difícil ou impossível em algumas instalações (Moresco et al., 2014; Agnew et al. 2021);
- Não é eficaz na supressão da testosterona ou espermatogénese em bovinos machos ou em espécies marsupiais (Agnew et al. 2021);
- Diminuição das espículas penianas nas espécies de felídeos machos (Bertschinger et al. 2013);

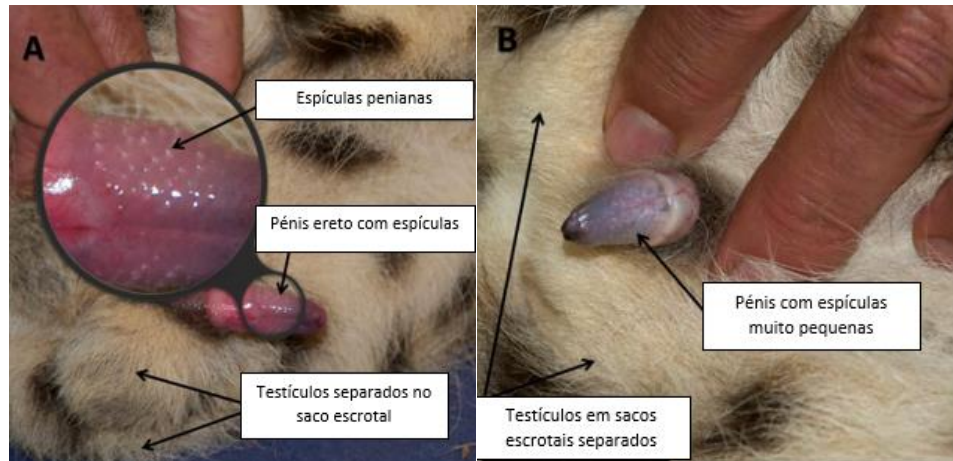


Figura 11: Pênis de uma Chita macho, com as espículas penianas presentes (Figura A). Pênis de uma Chita macho após o tratamento de um ano de Deslorelina (4,7 mg), as espículas penianas estão consideravelmente diminuídas (Figura B). Figura adaptada de Bertschinger et al. 2013.

- Embora seja um método reversível, há dados que revelam que após o tratamento com implantes de Deslorelina, o tamanho das ninhadas (número de crias nascidas) é menor do que o tamanho das ninhadas anteriores ao tratamento (McEvay et al. 2019);
- O uso de tratamentos sucessivos em animais mais velhos pode comprometer a reversibilidade (Bertschinger & Caldwell 2016; Agnew et al. 2021);
- Após a colocação do implante os animais podem apresentar edema e inflamação na região de implantação, estes efeitos secundários são apenas temporários e desaparecem de forma natural (McEvay et al. 2019);

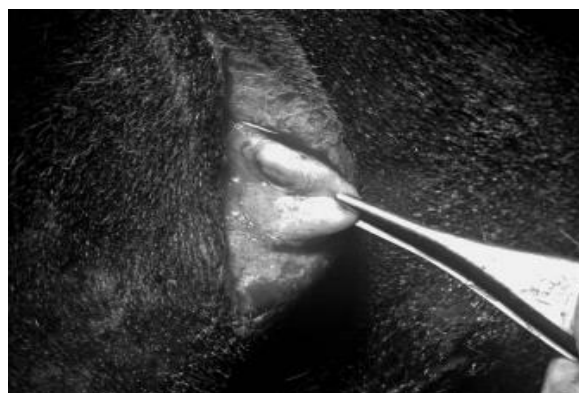


Figura 12: Remoção cirúrgica dos implantes de deslorelina do espaço subcutâneo interescapular de uma leoa africana fêmea (*Panthera leo*). Fonte: Moresco et al., 2014.

3.2.2. Acetato de Leuprolide- Lupron®

É uma hormona agonista da hormona libertadora de Gonadotrofinas. Este fármaco é frequentemente utilizado em humanos para o tratamento do cancro prostático. É muito dispendioso por ser um fármaco utilizado em humanos com patologias reprodutivas, a dosagem para os animais selvagens pode ser demasiado cara. Em animais selvagens em cativeiro é utilizado principalmente em machos para suprimir a produção de testosterona e esperma (Bertschinger & Caldwell 2016). Está disponível para ser administrada via intramuscular ou subcutâneo (Pelican et al 2006).

Por ser um agonista de GnRH a sua ação passa por uma inicial estimulação do sistema reprodutivo seguida por uma posterior supressão. Por este motivo os animais devem ser separados, num período de 3 semanas após a injeção no caso das fêmeas e dois meses no caso dos machos. O cio e a ovulação podem ocorrer em cerca de 2 semanas após a injeção, de forma a evitar a ocorrência de ovulação pode-se utilizar o tratamento suplementar de progestina durante 15 dias (7 dias antes e 8 dias após a inserção do implante) (Pelican et al 2006).

As fêmeas de espécies com ovulação induzida e também algumas espécies de canídeos podem ovular e haver a ocorrência de pseudo-gestação. Nos machos, a estimulação inicial pode ser acompanhada por um aumento da agressão ou interesse sexual (Bertschinger & Caldwell 2016).

Não está recomendado o seu uso durante a gestação, pode causar aborto (Mc Evoy et al., 2019).

3.3. Progestinas

São hormonas esteroides que através da membrana celular passam para o interior da célula, ligando-se aos recetores de progesterona PR-A e PR-B. Esta hormona funciona através do mesmo mecanismo que a progesterona endógena. A progestina atua reduzindo a frequência de secreção da hormona GnRH, inibindo a secreção de FSH e LH e consequentemente impedindo o desenvolvimento e maturação dos folículos (Conneely et al. 2003; Asa e Porton, 2005). Estas moléculas têm uma grande eficácia e reversibilidade, no entanto podem não impedir completamente o crescimento folicular e consequentemente o comportamento de estro (Bertschinger & Caldwell 2016). Em carnívoros o uso a longo termo

não é recomendado devido ao elevado risco de desenvolvimento de patologias reprodutivas (Cope et al., 2018).

O uso de progestinas exógenas está associado a uma elevada incidência de «efeitos adversos, tais como risco de hiperplasia endometrial (formação de diversos quistos de vários tamanhos acompanhados de infiltrações leucocitárias no útero), infertilidade, infeções uterinas, cancro uterino e cancro mamário em felídeos (pela hipersecreção da hormona de crescimento devido à estimulação da secreção local da hormona do crescimento pelas glândulas mamárias) (McEvoy et al., 2019). Outros possíveis efeitos colaterais são a disfunção da adrenal, hepatite, distúrbios do desenvolvimento, interrupção do trabalho de parto, alterações comportamentais e alterações cutâneas locais. Com a diminuição da concentração da progestina administrada, ocorre um aumento da secreção de prolactina que por consequência podem ser observados sinais de pseudogestação (Asa et al., 2014).

3.3.1 Acetato de melengestrol

O Acetato de melengestrol (MGA) é uma progestina sintética e foi o primeiro contraceptivo utilizado em Zoos desde 1970. A MGA pode efetuar a contraceção através do bloqueio da ovulação, causando espessamento do muco cervical, retardando o transporte do óvulo, e/ou interferindo com a fertilização ou implantação (Chassy et al 2002). Atualmente, existe sob formulações para colocar na comida ou água dos animais ou na formulação de um implante. Os implantes MGA são os mais frequentemente utilizados como método contraceptivo (Agnew et al., 2021).

É um método contraceptivo bastante eficaz, no entanto esta progestina sintética está associada a elevada incidência de efeitos secundários, tais como lesões endometriais e piómetra (Munson et al., 2002). Por este motivo, não é recomendada a utilização deste método por um período superior a 4 anos em fêmeas. Além destes efeitos secundários o melengestrol promove o aumento de peso (Mcaloose e Maydan., 2007; Chittick et al., 2011).

É fundamental começar o tratamento muito antes do aparecimento dos sinais de proestro, porque o estrogénio endógeno elevado pode exacerbar os efeitos secundários desta progestina (Kazensky e Seal, 1998).

Os implantes de MGA devem ser inseridos utilizando uma técnica cirúrgica estéril e devem ser substituídos em intervalos de 2 anos. Devem ser inseridos entre as escápulas intramuscularmente. O efeito contraceptivo não é imediato, por este motivo a separação dos

animais ou a utilização de um método contraceptivo alternativo deve ser utilizada durante pelo menos 1 a 2 semanas após a inserção (Chittick et al 2001).

Os pellets de alimentação contendo melengestrol são utilizados somente em espécies de ungulados. O produto é considerado adequado para bovinos, girafas, cervídeos, camelídeos e hipopótamos, mas não é eficaz em suínos e equídeos. A quantidade de pellet utilizada depende da espécie, do peso corporal e do seu programa de alimentação específico (Munson et al 2002).

Não é aconselhado utilizar este método em animais gestantes, pelo facto de esta substância poder suprimir as contrações uterinas necessárias para o parto (Moresco et al., 2009).

3.3.2. Acetato de Medroxiprogesterona

O Acetato de Medroxiprogesterona é um derivado sintético de progesterona. Esta hormona possui uma atividade anticoncepcional bastante elevada, sendo bastante eficaz. Esta hormona atua bloqueando a ovulação, provocando o espessamento do muco cervical, retardando o transporte do óvulo e/ou interferindo com a fertilização ou implantação. No entanto, o crescimento folicular pode continuar e ser acompanhado pela produção de estrogénio, podendo ser responsável pelo comportamento de cio. Desta forma a ovulação pode ocorrer mesmo que a gravidez não ocorra (Asa e Porton, 2005). Em determinados indivíduos, a dose pode ser mais elevada, para que o comportamento estrogénico seja evitado. Contudo, mesmo em doses mais elevadas podem não ser eficazes na supressão completa do crescimento folicular e de toda a produção de estradiol (McEvoy et al. 2019).

O medicamento contendo esta hormona aprovado como método contraceptivo para uso em animais selvagens em cativeiro é o Depo- Provera[®]. É um fármaco bastante utilizado em espécies de reprodução sazonal (exemplo ursos e pinípedes), em animais onde é difícil a aplicação de outros métodos (dificuldade nas instalações, riscos anestésicos necessários na aplicação de outros métodos). A grande vantagem deste método é poder ser administrada através de dardo (Boutelle et al., 2010).

O estudo de doses não está formulado para todas as espécies, atualmente as doses aplicadas podem variar de acordo com as diferentes espécies e de acordo com a experiência dos veterinários responsáveis (Asa e Porton, 2005). Vários estudos comprovam que a dosagem de 2-5 mg/kg de peso corporal a cada 2-3 meses é eficaz, sendo que a dose mais

elevada deve ser aplicada para espécies menores e a dose mais baixa para espécies maiores (Boutelle et al., 2010; McEvoy et al., 2019). É administrado de forma injetável por via intramuscular. Após a administração, durante o período de duas semanas, deve ser utilizado um método contraceptivo alternativo ou a separação dos animais. O tempo de reversão é variável entre indivíduos (Cope et al., 2018).

A eficácia mantém-se no mínimo durante 2 meses, mas pode durar até cerca de 2 anos. Não é recomendado utilizar este método mais do que 2 vezes consecutivas. Esta hormona não pode ser administrada em animais gestantes, com risco de gravidez prolongada e nados mortos (McEvoy et al. 2019). Para felinos, o Depo-Provera® é a última opção entre os métodos contraceptivos contendo progestinas sintéticas, dado que o uso de contraceptivos à base de progestinas não é recomendado por mais de 2 anos nestas espécies por aumentar o risco de patologias reprodutivas. Além disso, outro efeito colateral da utilização deste fármaco é o aumento de peso (Crosier et al., 2017).

3.3.3. Acetato de Megestrol

O Acetato de Megestrol é um derivado sintético da progesterona, possui uma elevada capacidade anticoncetiva e antigonadotrópica, no entanto possui efeitos anti-estrogénicos muito baixos. A semivida deste composto é curta, o que por um lado é benéfico face a outras progestinas por possuir menos efeitos secundários, no entanto a sua duração é baixa e pode não durar mais de um dia, o que para espécies selvagens e exóticas pode representar um problema por requerer uma administração diária e por isso mais manuseio em sucessivas administrações (Colon et al, 1993). Os fármacos comerciais Ovaban® e Megace® têm sido utilizados em carnívoros selvagens, e podem também ser utilizados como método de contraceção alternativo durante a fase de estimulação dos anticoncepcionais análogos da GnRH. A sua toma é oral através de comprimidos (McEvoy et al 2019). De acordo com o Centro de Maneio Reprodutivo da AZA, nas espécies exóticas a dose recomendada é de 0,5-1,0mg por kg.

3.4. Andrógenos

Os andrógenos são moléculas derivadas da testosterona, e podem ser administrados com o objetivo de prevenir a ocorrência de estro nas fêmeas (Asa e Porton, 2005).

A Miboleron[®] é um andrógeno sintético. Este fármaco existe na forma de preparação oral comercial (Cheque[®] Drops). O seu mecanismo de ação é caracterizado pela atividade anabólica e antigonadotrófica, conduzindo à supressão do estro. Este tratamento pode ser utilizado durante um período máximo de 2 anos, no entanto uma administração mais prolongada pode originar hepatotoxicidade. Após a interrupção do tratamento, o estro ocorre num período de 1 a 7 meses com média de 70 dias (Kutzler e Wood, 2006). Tem elevada toxicidade nos felídeos. Desta forma, este grupo de medicamentos não está aprovado para uso na Europa. É utilizado por vezes em fêmeas de canídeos. Pode aumentar a agressividade do animal, por este motivo não está recomendado para canídeos selvagens (McEvoy et al 2019).

3.5. Imunocontraceção

A Imunocontraceção consiste na indução de anticorpos dirigidos contra antígenos que desempenham um papel importante na reprodução, havendo consequentemente uma infertilidade temporária (Bertschinger & Caldwell 2016). Estes métodos contraceptivos têm uma duração limitada, dado que apenas funcionam enquanto existir um nível suficientemente elevado de anticorpos específicos em circulação sanguínea (Kawase et al, 2021). A vacinação do animal não necessita de métodos de contenção química, o que pode representar a vantagem de facilidade de administração (Figura 13).

De modo a obter uma vacina contraceptiva este método necessita da escolha do antígeno com uma imunogenicidade adequada (Max et al, 2014).



Figura 13: Vacinação de uma leoa através de treino comportamental no momento de contenção. Fonte: Kawase et al. 2021.

3.5.1. Porcine Zona Pellucida

A zona pelúcida é uma membrana glicoproteica (não celular) que cobre o oócito e tem três principais glicoproteínas, nomeadamente ZP1, ZP2 e ZP3 (com diferentes pesos moleculares). Os espermatozoides devem ligar-se à zona pelúcida para que ocorra fertilização. Os anticorpos anti zonais não permitem a fecundação, sem afetar a atividade hormonal (Bertschinger & Caldwell 2016). Nos animais carnívoros selvagens a sua eficácia e segurança está demonstrada somente nas espécies de pinípedes e ursos (Crichton et al., 2003). Em outras espécies de carnívoros, há estudos que revelam que os anticorpos anti-Porcine Zona Pellucida não se cruzam com o recetor de esperma no óvulo, ou podem causar a depleção dos oócitos nos ovários, o que pode originar gestação ectópica. A utilização deste método contraceptivo está contraindicada em espécies em que a pseudogestação é comum (Yadav et al., 2022).

3.5.2 Antígenos de GnRH

A imunização com antígenos de GnRH foi realizada para obter anticorpos específicos que se ligam à GnRH natural (Robbins et al. 2004), desta forma vão impedir a libertação da LH e da FSH. As vacinas Improvest® e Improvac® contêm um análogo incompleto do factor de libertação de gonadotrofina (GnRF). Têm como funções a castração imunológica temporária (supressão da função testicular) e a supressão temporária do estro (Bertschinger & Caldwell 2016; Kawase et al., 2021).

Num estudo realizado por Kawase et al., no ano de 2021, os efeitos contraceptivos da vacina Improvac continuaram durante um período de 246 dias, a reversibilidade foi comprovada através da ocorrência de um ciclo éstrico com duração normal no ciclo reprodutivo normal.

As vantagens deste método são a inibição do ciclo hormonal e dos comportamentos associados ao mesmo, e o facto de ser um método eficiente em ambos os géneros (Bertschinger & Caldwell 2016).

As desvantagens são as variações nas respostas individuais, a necessidade de imunizações repetidas para manter concentrações altas no organismo do indivíduo e a necessidade de um adjuvante (Yadav et al., 2022).

3.5.3 Antígenos de LH

Os antígenos recetores de LH originam a produção de anticorpos que se ligam aos recetores de LH (LH-R), o que consequentemente impede a atividade biológica da hormona luteinizante e inibe indiretamente a atividade fisiológica dos ovários (Saxena e Perkins 2002). Nos animais domésticos é utilizado LH-R bovino encapsulado num implante subdérmico, seguido de quatro injeções de reforço intramuscular de LH-R. Este procedimento resultou na formação de anticorpos LH-R com supressão subsequente da concentração sérica de progesterona e ausência de estro durante aproximadamente um ano (Saxena et al. 2003).

Contudo, não existem produtos comerciais disponíveis para utilização em espécies exóticas e selvagens, existindo uma necessidade de estudar mais sobre a concentração de anticorpos LH-R suficiente para causar infertilidade e sobre a compatibilidade em cada espécie (Asa e Porton, 2005).

3.5.4. Antígenos dos espermatozoides

A utilização de uma vacina contendo anticorpos anti-espermatozóides, pretende imunizar animais selvagens resultando numa infertilidade permanente. Estes anticorpos apresentaram resultados positivos de 75% de contraceção num estudo realizado em raposas vermelhas (*Vulpes Vulpes*), no entanto esta percentagem revela-se insuficiente no controlo

de populações em cativeiro. Por este motivo é necessário mais testes e estudos sobre a utilização desta vacina (Yadav et al., 2022).

3.6 Métodos cirúrgicos

Os métodos cirúrgicos podem ser reversíveis ou irreversíveis. Em ambos os métodos é de considerar o risco anestésico. Os procedimentos cirúrgicos irreversíveis removem o animal do fundo genético (Miller et al., 2018).

Entre os métodos cirúrgicos reversíveis temos a vasectomia nos machos e a salpingectomia nas fêmeas. A vasectomia consiste na oclusão de uma porção do ducto deferente, que é o vaso responsável por transportar o esperma a partir dos testículos, prevenindo que haja ejaculação durante a cópula. Machos vasectomizados podem ser potencialmente férteis num período de 6 a 8 semanas após a cirurgia, devido ao facto de os espermatozoides podem sobreviver no trato reprodutivo masculino durante várias semanas. As vantagens desta cirurgia são o facto de preservar a função testicular e as características sexuais secundárias, não alterando a dinâmica social do grupo, e o facto de ser um método reversível (Boutelle et al., 2010).

Já os métodos cirúrgicos não reversíveis passam pela gonadectomia, que é a remoção dos testículos e ovários. Este método pode perturbar o comportamento social (falta de comportamentos relacionados com as hormonas gonadais). Estes métodos resultam numa atenuação das características sexuais secundárias e consequentemente alteram ou impedem o ciclo sazonal (Miller et al., 2018). Em leões a gonadectomia nos machos leva à perda da juba, que nesta espécie representa a condição reprodutiva do macho e do seu estatuto hierárquico no grupo, consequentemente a sua perda pode conduzir à perda da dominância deste indivíduo no grupo, promovendo assim alterações hierárquicas indesejadas. Como resultado da remoção das gónadas sexuais há a redução do estradiol (fêmeas) ou da testosterona (machos), que são hormonas responsáveis pela estimulação da atividade física. Resultado dessa diminuição hormonal dá-se a diminuição não desejada da atividade física, consequentemente a isto há alterações na taxa metabólica dos animais e nos seus padrões de alimentação, provoca assim alterações no peso dos animais e o aparecimento de obesidade indesejável (Bertschinger, 2010). Uma vez irreversível, este método só deve ser utilizado em espécies sem valor genético ou como recurso no controlo de populações de animais com índices prolíficos elevados, como por exemplo os leões (Asa e Porton, 2005).

Em certas espécies é importante referir que após a vasectomia dos machos ou salpingectomia das fêmeas podem ocorrer repetidos ciclos inférteis, onde as cópulas ocorrem de igual forma, mas, dado que os machos são inférteis e não há gestação, as fêmeas entram repetidamente em cio. Estes períodos de exposição prolongada à progesterona endógena podem levar a hiperplasia-piometria endometrial nas fêmeas, associados à pseudogestação que se segue após a ovulação (Boutelle et al., 2010).

II. RELATÓRIO DE CASOS CLÍNICOS

Material e métodos

A seguir, são apresentados três casos clínicos sobre a utilização do método contraceptivo implante de Deslorelina-Suprelorin® 4,7 mg, que a autora acompanhou durante o estágio.

Para a recolha dos dados foram consultadas as fichas clínicas dos animais em estudo e os relatórios de casuística realizados pela autora durante o estágio.

Caso Clínico 1

No dia 13/10/2022 procedeu-se à colocação cirúrgica dos implantes de Deslorelina-Suprelorin® 4,7 mg num lobo macho *Canis Lupus Signatus* (número de ZIMS 13451), com peso 35,25 kg. O animal não possuía historia clinica prévia.

1. Plano de avaliação pré-cirúrgica

Para se proceder à colocação do contraceptivo o lobo macho *Canis Lupus Signatus*, foi capturado numa instalação pertencente às instalações interiores dos lobos. O estado de saúde do animal à data da intervenção era sem alterações. Os resultados do hemograma e das bioquímicas pedidas no momento da colocação do implante não revelaram quaisquer anomalias, estando todos os parâmetros analíticos de acordo com os valores de referência desta espécie, obtidos através da plataforma Species360 ZIMS.

O animal foi submetido a um jejum prévio de água e alimentos de no mínimo 14 horas.

2. Protocolo anestésico

Na indução anestésica do lobo macho *Canis Lupus Signatus*, foi administrada via intramuscular, com recurso a um único dardo, e realizada com a combinação dos fármacos Metadona (dose de 0,227 mg/kg; volume administrado 8mg), Ketamina lilofilizada 100% (dose de 2,837 mg/kg; volume administrado 100 mg), Ketamidor® (dose 0,567 mg/kg; volume administrado 20 mg), Medetomidina (dose 0,023 mg/kg; volume administrado 0,8mg), Midazolam (dose 0,227 mg/kg; volume administrado 8 mg). A manutenção anestésica foi feita

com Isoflurano. Aos 46 minutos, terminado o procedimento, administrou-se o reversor Atipamezole (volume administrado 0,8 mL).

O animal recuperou rapidamente da anestesia, não havendo quaisquer complicações. Durante a monitorização anestésica (Figura 14) foi utilizado pulsioxímetro obtendo-se uma saturação de oxigénio de 95%, termómetro obtendo-se uma temperatura média de 37,6°C, auscultação cardíaca obtendo-se uma média de 63 batimentos por minuto e medição da frequência respiratória obtendo-se uma média de 17-20 respirações por minuto.



Figura 14: Monitorização anestésica durante a cirurgia de colocação do implante de Deslorelina-Suprelorin® de 4,7 mg no lobo ibérico macho *Canis lupus signatus*. Fonte: Fotografia original da autora ou arquivo pessoal

3. Procedimento cirúrgico

Em todos os animais, antes de ser colocado o implante, realizou-se uma tricotomia com lâmina, na zona da face interna da coxa. Limpou-se a zona dos pelos ainda presentes e procedeu-se à desinfeção (primeiro com álcool, depois com Betadine® e novamente com álcool). Em seguida, procedeu-se à inserção do implante (Suprelorin®, 4,7 mg), tal como descrito no resumo das características do medicamento em anexo (Anexo I). No final da

inserção foi realizada a limpeza e desinfecção da região com álcool. Posteriormente foi aplicada cola de tecidos moles Histoacryl® na região de implantação.

Foram implantados cirurgicamente três implantes de Suprelorin® (4,7 mg implante sólido, VIRBAC AH, número do lote SLC538D). Aplicação subcutânea, na face interna do membro posterior esquerdo, na região caudo-medial. À data da colocação do novo implante o animal possuía um implante antigo subcutâneo, na face interna do membro posterior esquerdo, na região caudo-medial (Figura 17). O implante antigo foi localizado e removido sem complicações (Figura 18 e 19). O implante anterior tinha sido colocado à cerca de um ano no dia 9 de novembro de 2021, nesta data só foi colocado um implante de Suprelorin® (4.7 mg implante sólido, VIRBAC AH, número do lote SMB499C).



Figura 15: Localização do implante de Deslorelina-Suprelorin® na face interna da coxa do lobo ibérico macho *Canis lupus signatus*. Fonte: imagem (Fotografia) gentilmente cedida pela Doutora Vanessa Almagro.



Figura 16: Remoção cirúrgica do implante de Deslorelina-Suprelorin® de 4,7 mg na face interna da coxa do lobo ibérico macho *Canis lupus signatus*. Fonte: imagem (Fotografia) gentilmente cedida pela Doutora Vanessa Almagro.



Figura 17: Implante de Deslorelina - Superlorin® de 4,7 mg removido da face interna da coxa do lobo ibérico macho *Canis lupus signatus*. É possível observar o implante envolvido em tecido cicatricial. Fonte: imagem (Fotografia) gentilmente cedida pela Doutora Vanessa Almagro.

Caso Clínico 2

No dia 19/10/2022 procedeu-se à colocação cirúrgica dos implantes de Deslorelina-Suprelorin® 4,7 mg numa leoa, *Panthera leo* (número de ZIMS 13976), com 120 kg. Sem história clínica prévia.

1. Plano de avaliação pré-cirúrgica

Para se proceder à colocação do contraceptivo na leoa, o animal foi capturado numa instalação pertencente às instalações interiores dos leões. O estado de saúde dos dois animais à data da intervenção era sem alterações. Os resultados do hemograma e das bioquímicas pedidas no momento da colocação do implante não revelaram quaisquer anomalias, estando todos os parâmetros analíticos de acordo com os valores de referência desta espécie, obtidos através da plataforma Species360 ZIMS.

O animal foi submetido a um jejum prévio de água e alimentos de no mínimo 14 horas.

2. Protocolo anestésico

A indução anestésica da leoa *Panthera leo*, foi administrada via intramuscular, com recurso a um único dardo, e realizada com a combinação dos fármacos Butorfanol

(Torbugesic, dose de 0,15 mg/kg; volume administrado 18mg), Ketamina lilofilizada 100% (dose de 1,25 mg/kg; volume administrado 150 mg), Midazolam (dose 0,125 mg/kg; volume administrado 15 mg), Detomidina (dose 0,075 mg/kg; volume administrado 9mg). A manutenção anestésica foi feita com recurso aos fármacos Midazolam (dose 0,042 mg/kg; volume administrado 5mg) e Ketamidor® (Ketamina, 0,417 mg/kg; volume administrado 50 mg), numa única injeção intramuscular, aos 13 minutos após o início da anestesia. Após uma hora e dezoito minutos do início da anestesia, terminado o procedimento, administrou-se o reversor Atipamezole (volume administrado 5 mL).

O animal recuperou rapidamente da anestesia, não havendo quaisquer complicações. Durante a monitorização anestésica (Figura 15) foi utilizado pulsioxímetro obtendo-se uma saturação de oxigénio de 98%, termómetro obtendo-se uma temperatura média de 38°C, auscultação cardíaca obtendo-se uma média de 72 batimentos por minuto e medição da frequência respiratória obtendo-se uma média de 15-17 respirações por minuto.



Figura 18: Monitorização anestésica durante a cirurgia de colocação do implante de Deslorelina-Suprelorin® de 4,7 mg na leoa *Panthera leo*. Fonte: Fotografia original da autora ou arquivo pessoal.

3. Procedimento cirúrgico

Em todos os animais, antes de ser colocado o implante, realizou-se uma tricotomia com lâmina, na zona da face interna da coxa. Limpou-se a zona dos pelos ainda presentes e procedeu-se à desinfeção (primeiro com álcool, depois com Betadine® e novamente com álcool). Em seguida, procedeu-se à inserção do implante (Suprelorin®, 4,7 mg), tal como descrito no resumo das características do medicamento em anexo (Anexo I). No final da inserção foi realizada a limpeza e desinfeção da região com álcool. Posteriormente foi aplicada cola de tecidos moles Histoacryl® na região de implantação.

Foram implantados cirurgicamente dois implantes de Suprelorin® (4,7 mg implante sólido, VIRBAC AH, número do lote SLC538D) (Figura 20). Aplicação subcutânea, na face interna do membro posterior direito, na região centro-medial. À data da colocação do novo implante o animal possuía cinco implantes antigos subcutâneos, na face interna do membro posterior esquerdo, na região centro-medial. Os implantes antigos foram localizados e removidos sem complicações.

Caso Clínico 3

No dia 19/10/2022 procedeu-se à colocação cirúrgica dos implantes de Deslorelina-Suprelorin® 4,7 mg numa leoa, *Panthera leo* (número de ZIMS 13977), com peso 110 kg. O animal não possuía história clínica prévia.

1. Plano de avaliação pré-cirúrgica

Para se proceder à colocação do contraceptivo na leoa o animal foi capturado numa instalação pertencente às instalações interiores dos leões. O estado de saúde dos dois animais à data da intervenção era sem alterações. Os resultados do hemograma e das bioquímicas pedidas no momento da colocação do implante não revelaram quaisquer anomalias, estando todos os parâmetros analíticos de acordo com os valores de referência desta espécie, obtidos através da plataforma Species360 ZIMS.

O animal foi submetido a um jejum prévio de água e alimentos de no mínimo 14 horas.

2. Protocolo anestésico

A indução anestésica da leoa *Panthera leo*, número de ZIMS 13977, foi administrada via intramuscular, com recurso a um único dardo, e realizada com a combinação dos fármacos Ketamina lilofilizada 100% (dose de 1,364 mg/kg; volume administrado 150 mg), Midazolam (dose 0,136 mg/kg; volume administrado 15 mg), Detomidina (dose 0,082 mg/kg; volume administrado 9mg). A manutenção anestésica foi feita com Isoflurano. Após uma hora e dezasseis minutos do início da anestesia, terminado o procedimento, administrou-se o reversor Atipamezole (volume administrado 5 mL).

O animal recuperou rapidamente da anestesia, não havendo quaisquer complicações. Durante a monitorização anestésica (Figura 16) foi utilizado pulsioxímetro obtendo-se uma Saturação de oxigénio de 96%, termómetro obtendo-se uma temperatura média de 37,7-38°C, auscultação cardíaca obtendo-se uma média de 68 batimentos por minuto e medição da frequência respiratória obtendo-se uma média de 15-24 respirações por minuto.



Figura 19: Monitorização anestésica durante a cirurgia de colocação do implante de Deslorelina-Superlorin® de 4,7 mg na leoa fêmea *Panthera leo*. Fonte: Fotografia original da autora ou arquivo pessoal.

3. Procedimento cirúrgico

Previamente à colocação do implante, realizou-se uma tricotomia com lâmina, na zona da face interna da coxa. Limpou-se a zona dos pelos ainda presentes e procedeu-se à

desinfecção (primeiro com álcool, depois com Betadine® e novamente com álcool). Em seguida, procedeu-se à inserção do implante (Suprelorin®, 4,7 mg), tal como descrito no resumo das características do medicamento em anexo (Anexo I). No final da inserção foi realizada a limpeza e desinfecção da região com álcool. Posteriormente foi aplicada cola de tecidos moles Histoacryl® na região de implantação.

Foram implantados cirurgicamente dois implantes de Suprelorin® (4,7 mg implante sólido, VIRBAC AH, número do lote SLC538D). Aplicação subcutânea, na face interna do membro posterior direito, na região centro-medial. À data da colocação do novo implante o animal possuía sete implantes antigos subcutâneo, na face interna do membro posterior esquerdo, na região centro-medial. Os implantes antigos foram localizados e removidos sem complicações.



Figura 20: Implantes de Suprelorin® (4,7 mg implante sólido, VIRBAC AH, número do lote SLC538D).
Fonte: arquivo pessoal ou imagem original da autora.

III. DISCUSSÃO

A contraceção em animais selvagens é uma ferramenta fundamental em instituições zoológicas. Esta permite controlar o número de animais, de maneira a evitar o descontrolo populacional resultante de nascimentos não pretendidos. O descontrolo populacional representa um problema não só a nível financeiro para a instituição, como também aumenta a probabilidade de consanguinidade e pressão social no grupo. O incremento de pressão social num grupo pode resultar no aumento da agressividade entre indivíduos (Asa e Porton 2005).

Entre os métodos contraceptivos apresentados as progestinas, embora possuam uma elevada eficácia, devem de ser evitadas dado todos os possíveis efeitos adversos consequentes do seu uso. Os andrógenos sintéticos, além de possuírem uma elevada toxicidade nos felídeos, promovem o aumento da agressividade, efeito esse indesejável em animais selvagens (McEvoy et al., 2019).

A Imunocontraceção é ainda uma ferramenta pouco explorada, cujos efeitos secundários e reversibilidade no uso a longo prazo não estão descritos. Futuramente, este método pode ser uma alternativa interessante devido à facilidade de implementação em animais selvagens, no entanto são necessários mais estudos quanto à segurança, eficácia, reversibilidade e efeitos secundários (Kawase et al, 2021).

Os métodos cirúrgicos não representam uma alternativa tão aliciante, dado que requer uma grande logística de assepsia e segurança cirúrgica para a instituição. Além disso, os métodos não reversíveis são apenas viáveis para os animais com pouco interesse genético, e destabilizam a estrutura social do grupo (Miller et al., 2018).

A separação dos animais em instalações do mesmo sexo é impraticável para determinadas instituições, além de que destrói a estabilidade social dos grupos de animais (Bertschinger & Caldwell, 2016).

Tendo em conta todos os métodos contraceptivos aqui apresentados, o implante de Deslorelina representa o melhor método a utilizar na contraceção de carnívoros selvagens em instituições Zoológicas. O implante é aparentemente efetivo e seguro, já que não estão reportados quaisquer dados de falha de contraceção ou efeitos adversos resultantes do uso do contraceptivo. É um método que a longo prazo representa a melhor alternativa de contraceção em animais com características genéticas valiosas (Agnew et al. 2021).

Até à data de 30/12/2022 não foram descritas ou observadas quaisquer complicações relacionadas com a colocação dos implantes nestes animais, a contraceção foi aparentemente bem-sucedida. Não tendo sido descritas quaisquer falhas no tratamento, sendo que, os animais em causa não revelaram comportamentos de ciclo éstrico nas fêmeas ou cópula. Este facto demonstra o sucesso na contraceção através da utilização deste método.

É importante referir que as doses utilizadas nos implantes podem ser influenciadas por fatores do próprio indivíduo tais como o metabolismo, pressões sociais dentro do grupo e

variações fisiológicas, por este motivo é fundamental que haja mais estudos sobre as dosagens a utilizar de acordo com cada espécie (Asa et al., 2021).

Para os Zoológicos, o método contraceptivo utilizando o implante de Suprelorin® representa uma opção pouco dispendiosa comparativamente com outros métodos contraceptivos, no entanto quando é pretendido um método irreversível o facto de os implantes terem de ser repetidos pode ser mais oneroso do que a cirurgia de gonadectomia (Boutelle et al., 2010).

IV. CONCLUSÃO

O controlo populacional é uma ferramenta essencial a todos os zoológicos para evitar a sobrepopulação, a consanguinidade e colmatar a falta de meios financeiros e de infraestruturas necessárias para albergar tantos animais. No Parque Zoológico de Barcelona, o método contraceptivo reversível escolhido para os carnívoros inseridos em programas de controlo reprodutivo foi a Deslorelina, análogo e agonista da GnRH.

Os implantes de Deslorelina-Suprelorin® de 4,7 mg são utilizados em todos os mamíferos, num largo leque de espécies. De acordo com os dados inseridos na plataforma ZIMS, este método foi utilizado em 183 animais do Zoo, desde o ano 2008. É assim, o método utilizado em todas as espécies de carnívoros que são sujeitos a programas de controlo reprodutivo.

Os animais em estudo, não sofreram quaisquer complicações durante a anestesia e cirurgia de colocação dos implantes. Não foram relatados quaisquer problemas no pós-cirúrgico. Isto demonstra que apesar de ser necessário anestesia, este método possui uma técnica cirúrgica minimamente evasiva, com muito poucos riscos associados.

De acordo com os dados depositados na plataforma ZIMS o tratamento com o implante possui uma longa durabilidade (por exemplo de acordo com os arquivos do Zoo, nas leoas os implantes são mudados a cada 2 anos). A elevada durabilidade deste método representa um benefício financeiro para a instituição e um benefício para os animais, de maneira que limita o número de intervenções.

Entre as vantagens este método possui facilidade de implementação, embora requeira a contenção e anestesia do animal, além de toda a preparação cirúrgica e anestésica,

não é um método tão evasivo como os métodos cirúrgicos. Revela ser um contraceptivo duradouro, seguro e eficaz. Caso não seja necessária a separação de indivíduos, este método não provoca a destruição dos grupos sociais.

Contudo, é importante ter em conta que o método apresentado não possui 100% de eficácia de contraceção, nem total garantia de reversibilidade. Por este motivo, é necessário considerar as questões de preservação genética em determinadas espécies, essencialmente as com maior interesse genético.

Sendo que desde 2008 que o Zoológico de Barcelona procede à contraceção dos mamíferos carnívoros através dos implantes de Superlorin®, e em todo este período de tempo não há qualquer reporte de falhas na contraceção, o que espelha a elevada eficácia do método. Também não há qualquer reporte de efeitos secundários associados ao uso dos implantes, além de incremento de peso, revelando que este tratamento representa um método de contraceção seguro.

As limitações deste estudo baseiam-se no facto de só terem sido observados 3 sujeitos, de apenas 2 espécies distintas. Os animais não possuíam historial clínico prévio, não foi realizada qualquer reavaliação pós-cirúrgica, sendo que os dados relativos à segurança, eficácia e durabilidade deste método baseiam-se apenas na informação reportada na plataforma ZIMS. Estes dados descritos podem estar sujeitos a diversos fatores de influência.

Os animais em estudo não foram submetidos a testes de monitorização quanto à eficácia do método, tais como medições hormonais. Os relatos dos comportamentos dos animais baseiam-se na observação dos mesmos por tratadores especializados em animais selvagens, no entanto estas observações podem estar sujeitas a variadas condicionantes, tais como a perceção individual do cuidador. Também não foi possível testar a reversibilidade do uso dos implantes. Sendo que é um fator extremamente importante nas espécies selvagens, seria relevante testar a reversibilidade deste método utilizando como objeto de estudo um dos animais da instituição que estejam sujeitos a tratamentos prolongados de Deslorelina-Suprelorin® de 4,7 mg.

Anexos

Anexo I.

Resumo das características do medicamento

1. Nome do medicamento veterinário: Suprelorin® 4,7 mg implante para cães

2. Composição qualitativa e quantitativa:

Substância ativa: Deslorelina (sob a forma de acetato de Deslorelin).....4,7mg

Excipiente (s): Para a lista completa de excipientes ver secção 6.1.

3. Forma farmacêutica: Implante cilíndrico branco a amarelo pálido.

4. Informações clínicas

4.1 Espécies – alvo: Cães (macho).

4.2 Indicações de utilização, especificando as espécies-alvo: Para a indução da infertilidade temporária em cães machos saudáveis, não castrados, com maturidade sexual.

4.3 Contraindicações: Não existem.

4.4 Interações medicamentosas e outras formas de interação: desconhecidas.

4.5 Posologia e via de administração:

Via subcutânea. A dose recomendada é de um implante por cão, independentemente do seu tamanho. A desinfecção do local de implantação deve ser efetuada antes da implantação para evitar a introdução de infeção. Se os pelos forem longos, devem ser bem cortados numa pequena área, se necessário. O medicamento veterinário deve ser implantado por via subcutânea na pele laxa do dorso entre a parte inferior do pescoço e a região lombar. Evitar injetar o implante em tecido adiposo, dado que a libertação da substância ativa pode ser alterada em zonas pouco vascularizadas.

1.Retirar a tampa *luer lock* da seringa para implantes.

2. Prender o dispositivo de administração na seringa para implantes usando a conexão *luer lock*.

3. Levantar a pele laxa situada entre as omoplatas. Introduzir por via subcutânea todo o comprimento da agulha.

4. Premir completamente o êmbolo do dispositivo de administração e, ao mesmo tempo, retirar lentamente a agulha.

5. Exercer pressão na pele no local de inserção à medida que a agulha é retirada e manter a pressão durante 30 segundos.

6. Examinar a seringa e a agulha para verificar se o implante não ficou na seringa ou na agulha e que o espaçador é visível. Pode ser possível palpar o implante *in situ*.

O implante biocompatível não necessita de ser removido. Contudo, se for necessário terminar o tratamento, os implantes podem ser removidos cirurgicamente por um médico veterinário. Os implantes podem ser localizados através de ultrassons.

5. Propriedades farmacológicas

Grupo farmacoterapêutico: hormonas libertadoras de gonadotrofinas (GnRH)

6. Informações farmacêuticas

6.1 Lista de excipientes: Óleo de palma hidrogenado, Lecitina, Acetato de sódio anidro

6.2 Incompatibilidades: Desconhecidas.

Titular da autorização de introdução no mercado Virbac s.a.

(adaptado de Virbac Portugal, 2022)

Referências bibliográficas

Agnew, M. K., Asa, C. S., Franklin, A. D., McDonald, M. M., & Cowl, V. B. (2021). Deslorelin (Suprelorin) use in North American and European zoos and aquariums: Taxonomic scope, dosing, and efficacy. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 52(2), 427–436. <https://doi.org/10.1638/2020-0217>

Allerton, F. (2020). Bsava Small Animal Formulary. British Small Animal Veterinary Association.

Andrews, C. J., Thomas, D. G., Welch, M. v., Yapura, J., & Potter, M. A. (2020). Monitoring ovarian function and detecting pregnancy in felids: A review. In *Theriogenology* (Vol. 157, pp. 245–253). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.06.036>

Ansari, A. S., & Lohiya, N. K. (2017). *Fertility control modalities in animals: An overview. Female fertility regulation View project Calcium bhasma project View project*. <https://www.researchgate.net/publication/327931156>

Araujo, G. R. de, Paula, T. A. R. de, Deco-Souza, T. de, Morato, R. G., Bergo, L. C. F., Silva, L. C. da, Costa, D. S., & Braud, C. (2018). Comparison of semen samples collected from wild and captive jaguars (*Panthera onca*) by urethral catheterization after pharmacological induction. *Animal Reproduction Science*, 195, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.12.019>

Asa C., Porton I. (2005) *Wildlife Contraception: Issues, Methods, and Applications (Zoo and Aquarium Biology and Conservation Series)*, Primeira Edição. Estados Unidos: Johns Hopkins University Press.

Asa CS., Bauman JE., Coonan TJ., Gray MM. (2007). Evidence for induced estrus or ovulation in a canid, the island fox (*Urocyon littoralis*). *Journal of Mammals*, 88:436–40.

Asa CS., Bauman JE., Coonan TJ., Gray MM. (2007). Evidence for induced estrus or ovulation in a canid, the island fox (*Urocyon littoralis*). *Journal of Mammals*, 88:436–40.

Asa, C, Boutelle, S, Bauman, K. (2021). AZA Wildlife Contraception Center Programme for Wild Felids and Canids. *Reproduction in Domestic Animals*, 47(s6):377-380.

Asa, C, Boutelle, S, Bauman, K. (2021). AZA Wildlife Contraception Center Programme for Wild Felids and Canids. *Reproduction in Domestic Animals*, 47(s6):377-380.

Asa, C. (2018). Contraception in dogs and cats. The Veterinary clinics of North America. Small animal practice. Retrieved January 24, 2022, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29685519/>

Asa, C., Boutelle, S., & Bauman, K. (2012). AZA wildlife contraception center programme for wild felids and canids. *Reproduction in Domestic Animals*, 47(SUPPL. 6), 377–380. <https://doi.org/10.1111/rda.12004>

Asa, CS., Bauman, KL., Devery, S., Zordan, M., Camilo, GR., Boutelle, S., & Moresco, A. (2014). Factors associated with uterine endometrial hyperplasia and pyometra in wild canids: implications for fertility. *Zoo Biology*, 33(1), 8-19. doi: 10.1002/zoo.21069

Asa, CS., Bauman, KL., Devery, S., Zordan, M., Camilo, GR., Boutelle, S., & Moresco, A. (2014). Factors associated with uterine endometrial hyperplasia and pyometra in wild canids: implications for fertility. *Zoo Biology*, 33(1), 8-19. doi: 10.1002/zoo.21069

Association of Zoos and Aquariums Reproduction Centre. Disponível em <http://www.stlzoo.org/contraception>. Acedido a 10/01/2023

Azevedo, A., Wauters, J., Kirschbaum, C., Serra, R., Rivas, A., & Jewgenow, K. (2020). Sex steroids and glucocorticoid ratios in Iberian lynx hair. *Conservation Physiology*, 8(1). <https://doi.org/10.1093/conphys/coaa075>

Barbosa, T. B. S., Angrimani, D. de S. R., Rui, B. R., Losano, J. D. de A., Bicudo, L. de C., Blank, M. H., Nichi, M., & Pizzutto, C. S. (2019). Functional sperm assessments of African Lion *Panthera leo* (Mammalia: Carnivora: Felidae) in field conditions. *Journal of Threatened Taxa*, 11(1), 13114–13119. <https://doi.org/10.11609/jot.4142.11.1.13114-13119>

Barone, M. A., Wildt, D. E., Byers, A. P., Roelke, M. E., Glass, C. M., & Howard, J. G. (1994). Gonadotrophin dose and timing of anaesthesia for laparoscopic artificial insemination in the puma (*Felis concolor*). *Journal of Reproduction and Fertility*, 101(1), 103–108. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.1010103>

Bauman JE., Clifford DL., Asa CS. (2008) Pregnancy diagnosis in wild canids using a comercial available relaxin assay. *Zoo Biology*, 27:406– 13.

Berky von A.G., Townsend W.L., (1993). The relationship between the prevalence of uterine lesions and the use of medroxyprogesterone acetate for canine population control. *Austr. Vet. J.* 70, 249–250.

Bertschinger, H. J., & Caldwell, P. (2016). Fertility suppression of some wildlife species in southern Africa-a review. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene*, 51 Suppl 1, 18–24. <https://doi.org/10.1111/rda.12783>

Bertschinger, H. J., Guimarães, M. A. D. B. V., Trigg, T. E., & Human, A. (2008). The use of deslorelin implants for the long-term contraception of lionesses and tigers. *Wildlife Research*, 35(6), 525–530. <https://doi.org/10.1071/WR07141>

Bertschinger, H. J., Jago, M., Nöthling, J. O., & Human, A. (2006). Repeated use of the GnRH analogue deslorelin to down-regulate reproduction in male cheetahs (*Acinonyx jubatus*). *Theriogenology*, 66(6–7), 1762–1767. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.01.040>

Boone, WR, Catlin, JC, Casey, KJ, Boone, ET, Dye, PS, Schuett, RJ, Rosenberg, JO, Tsubota, T, Bahr, JM. (1995). Bears as induced ovulators: a preliminary study. *Ursus*, 10:503-505.

Boutelle, S. M., & Bertschinger, H. J. (2010). Reproductive management in captive and wild canids: Contraception challenges. *International Zoo Yearbook*, 44(1), 109–120. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1090.2009.00107.x>

Braga, D. P. de A. F., Pizzutto, C. S., Rosenfield, D. A., Furtado, P. V., Oliveira, C. A., Corrêa, S. H. R., Jorge-Neto, P. N., & Guimarães, M. A. de B. V. (2020). Suppression of ovarian activity in a captive African Lion *Panthera leo* after deslorelin treatment. *Journal of Threatened Taxa*, 12(11), 16469–16477. <https://doi.org/10.11609/jott.5803.12.11.16469-16477>

Braun, B. C., Frank, A., Dehnhard, M., Voigt, C. C., Vargas, A., Göritz, F., & Jewgenow, K. (2009). Pregnancy diagnosis in urine of Iberian lynx (*Lynx pardinus*). *Theriogenology*, 71(5), 754–761. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.09.054>

Brown J.L., Wasser S.K., Wildt D.E., Graham L.H. (1994) Comparative Aspects of Steroid Hormone Metabolism and Ovarian Activity in Felids, Measured Noninvasively in Feces1. *Biol. Reprod.* 51(4), 776-786

Brown, J. L. (2006). Comparative endocrinology of domestic and nondomestic felids. *Theriogenology*, 66(1), 25–36. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.03.011>

Brown, J. L. (2011). Female reproductive cycles of wild female felids. *Animal Reproduction Science*, 124(3–4), 155–162. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.024>

Brown, J. L., Wasser, S. K., Wildt, D. E., & Graham, L. H. (1994). Comparative Aspects of Steroid Hormone Metabolism and Ovarian Activity in Felids, Measured Noninvasively in Feces'. In *BIOLOGY OF REPRODUCTION* (Vol. 51). <https://academic.oup.com/biolreprod/article/51/4/776/2761469>

Brown, J. L., Wildt, D. E., Graham, L. H., Byers, A. P., Collins, L., Barrett, S., & Howard, J. (1995). Natural Versus Chorionic Gonadotropin-Induced Ovarian Responses in the Clouded Leopard (*Neofelis nebulosa*) Assessed by Fecal Steroid Analysis'. In *BIOLOGY OF REPRODUCTION* (Vol. 53). <https://academic.oup.com/biolreprod/article/53/1/93/2761583>

Brown, J. L., Wildt, D. E., Wielebnowski, N., Goodrowe, K. L., Graham, L. H., Wells, S., & Howard, J. G. (2011). *Reproductive activity in captive female cheetahs (Acinonyx jubatus) assessed by faecal steroids*. *Reproduction*, 106(2), 337-346. doi: 10.1530/jrf.0.1060337

Brown, J. L., Wildt, D. E., Wielebnowski, N., Goodrowe, K. L., Graham, L. H., Wells, S., & Howard, J. G. (1996). Reproductive activity in captive female cheetahs (*Acinonyx jubatus*) assessed by faecal steroids. *Reproduction*, 106(2), 337-346. doi: 10.1530/jrf.0.1060337

Brown, J. L. (2011). Female reproductive cycles of wild female felids. *Animal Reproduction Science*, 124(3-4), 155-162. doi: 10.1016/j.anireprosci.2010.08.024

Brown, J. L. (2011). Female reproductive cycles of wild female felids. *Animal Reproduction Science*, 124(3-4), 155-162. doi: 10.1016/j.anireprosci.2010.08.024

Budithi, NRB., Neema, R., Kumar, V., Yalla, SK., Rai, U., & Umapathy, G. (2016). Non-invasive monitoring of reproductive and stress hormones in the endangered red panda (*Ailurus fulgens fulgens*). *Animal Reproduction Science*, 172, 173–181. doi:10.1016/j.anireprosci.2016.07.016

Byron, M. J., Koester, D. C., Edwards, K. L., Mozdziak, P. E., Farin, C. E., & Crosier, A. E. (2020). Immunoglobulin J chain as a non-invasive indicator of pregnancy in the cheetah (*Acinonyx jubatus*). *PLoS ONE*, 15(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225354>

Callealta, I., Ganswindt, A., & Lueders, I. (2020). Reproductive cycle stage assessment using vaginal cytology evaluation in African lions (*Panthera leo*). *Animal Reproduction Science*, 213. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106260>

Callealta, I., Ganswindt, A., Malan, M., & Lueders, I. (2019). Non-surgical artificial insemination using a GnRH analogue for ovulation induction during natural oestrus in African

lions (Panthera leo). *Theriogenology*, 139, 28–35.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.07.022>

Callealta, I., Vet, L., Lüders, I., Luther, I., Dip, N., & Ganswindt, A. (2018). *Using Positive Reinforcement Conditioning To Collect Samples From Unanaesthetized Lions (Panthera Leo) For Reproductive Studies*.

Cathey, M., & Memon, M. (2010). Nonsurgical methods of contraception in dogs and cats: Where are we now? College of Veterinary Medicine Washington State University Pullman

Chassy, L. M., Gardner, I. A., Plotka, E. D., & Munson, L. (2002). Genital Tract Smooth Muscle Tumors Are Common in Zoo Felids but Are Not Associated with Melengestrol Acetate Contraceptive Treatment. In *Vet Pathol* (Vol. 39).

Chiang, P.-J. (2017). A Review of our Current Knowledge of Clouded Leopards (*Neofelis nebulosa*). *International International Journal of Avian & Wildlife Biology*, 2(5).
<https://doi.org/10.15406/ijawb.2017.02.00032>

Chittick, E., Rotstein, D., Brown, T., & Wolfe, B. (2001). Pyometra and Uterine Adenocarcinoma in a Melengestrol Acetate-Implanted Captive Coati (*Nasua nasua*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 32(2), 245–251. doi:10.1638/1042-7260(2001)032[0245:pauaia]2.0.co;2

Chittick, E., Rotstein, D., Brown, T., & Wolfe, B. (2001). Pyometra and Uterine Adenocarcinoma in a Melengestrol Acetate-Implanted Captive Coati (*Nasua nasua*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 32(2), 245–251.

Cocchia, N., Tafuri, S., Abbondante, L., Meomartino, L., Esposito, L., & Ciani, F. (2015). Assisted Reproductive Technologies in Safeguard of Feline Endangered Species. In *New Discoveries in Embryology*. InTech. <https://doi.org/10.5772/61004>

Colon J., Kimball M., Hansen B., Concannon P.W., (1993). Effects of contraceptive doses of the gestagen megestrol acetate on luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone secretion in female dogs. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 47, 519–521.

Comizzoli, P. (2021). Advances and Challenges in Understanding and Assisting Reproduction of Wild Animal Species. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 45(4), 318–322. <https://doi.org/10.21451/1809-3000.rbra2021.041>

Comizzoli, P., Brown, J. L., & Holt, W. v. (2019). Reproductive science as an essential component of conservation biology: New edition. In *Advances in Experimental Medicine and Biology* (Vol. 1200, pp. 1–10). Springer New York LLC. https://doi.org/10.1007/978-3-030-23633-5_1

Concannon, PW, Castracane, VD, Temple, M, Montanez, A. (2009). Endocrine control of ovarian function in dogs and other carnivores. *Animal Reproduction*, 6(1):172-193.

Concannon, PW, Castracane, VD, Temple, M, Montanez, A. (2009). Endocrine control of ovarian function in dogs and other carnivores. *Animal Reproduction*, 6(1):172-193.

Conforti V.A., Bateman H.L., Schook M.W., et al. (2013) Laparoscopic Oviductal Artificial Insemination Improves Pregnancy Success in Exogenous Gonadotropin-Treated Domestic Cats as a Model for Endangered Felids. *Biol. Reprod.* 89(1), 1- 9

Conneely M.O., Mulac-Jericevic B., Lydon P.J., (2003). Progesterone-dependent regulation of female reproductive activity by two distinct progesterone receptor isoforms. *Steroids* 68, 771– 778.

Cope, H. R., Hogg, C. J., White, P. J., & Herbert, C. A. (2018). A role for selective contraception of individuals in conservation. In *Conservation Biology* (Vol. 32, Issue 3, pp. 546–558). Blackwell Publishing Inc. <https://doi.org/10.1111/cobi.13042>

Coquempot P., Linden A., Volpe R., Furthner E., Deleuze S. (2014) État des connaissances sur la physiologie de la reproduction des grands félins sauvages, sa maîtrise, et les techniques de reproduction assistée. *Ann. Med. Vét.* 158(2), 109-120

Crichton, E. G., Bedows, E., Miller-Lindholm, A. K., Baldwin, D. M., Armstrong, D. L., Graham, L. H., Ford, J. J., Gjorret, J. O., Hyttel, P., Pope, C. E., Vajta, G., & Loskutoff, N. M. (2003). Efficacy of porcine gonadotropins for repeated stimulation of ovarian activity for oocyte retrieval and in vitro embryo production and cryopreservation in Siberian tigers (*Panthera tigris altaica*). *Biology of Reproduction*, 68(1), 105–113. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.101.002204>

Crosier A.E., Comizzoli P., Koester D.C., Wildt D.E. (2017) Circumventing the natural, frequent oestrogen waves of the female cheetah (*Acinonyx jubatus*) using oral progestin (Altrenogest). *Reprod. Fertil. Dev.* 29(8), 1486-1498

Crosier, A. E., Lamy, J., Bapodra, P., Rapp, S., Maly, M., Junge, R., Haefele, H., Ahistus, J., Santiestevan, J., & Comizzoli, P. (2020). First birth of cheetah cubs from in vitro fertilization and embryo transfer. *Animals*, 10(10), 1–11. <https://doi.org/10.3390/ani10101811>

Crosier, A. E., Marker, L., Howard, J. G., Pukazhenthi, B. S., Henghali, J. N., & Wildt, D. E. (2007). Ejaculate traits in the Namibian cheetah (*Acinonyx jubatus*): Influence of age, season and captivity. *Reproduction, Fertility and Development*, 19(2), 370–382. <https://doi.org/10.1071/RD06057>

Crosier, A. E., Pukazhenthi, B. S., Henghali, J. N., Howard, J., Dickman, A. J., Marker, L., & Wildt, D. E. (2006). Cryopreservation of spermatozoa from wild-born Namibian cheetahs (*Acinonyx jubatus*) and influence of glycerol on cryosurvival. *Cryobiology*, 52(2), 169–181. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2005.10.011>

Curry, E., Wyatt, J., Sorel, LJ, MacKinnon, KM, Roth, TL. (2014) Ovulation induction and artificial insemination of a captive polar bear (*Ursus maritimus*) using fresh semen. *Journal of Zoo and Wildlife Research*, 45(3): 645-649. doi: 10.1638/2013-0055R1.1.

Daniel, JC. (1981) Delayed implantation in the northern fur seal (*Callorhinus ursinus*) and other pinnipeds. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*, 29: 35-50.

Daniel, JC. (1981) Delayed implantation in the northern fur seal (*Callorhinus ursinus*) and other pinnipeds. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*, 29: 35-50.

Davidian, E., Wachter, B., Heckmann, I., Dehnhard, M., Hofer, H., & Höner, O. P. (2021). The interplay between social rank, physiological constraints and investment in courtship in male spotted hyenas. *Functional Ecology*, 35(3), 635–649. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13733>

De Cock H., Ducatelle R., Tilmant K., De Schepper J., (2002). Possible role for insulin-like growth factor-I in the pathogenesis of cystic endometrial hyperplasia pyometra complex in the bitch. *Theriogenology* 57, 2271–2287.

De Gier, J. (2011). Reproductive endocrinology of the dog - Effects of medical and surgical intervention (PhD thesis). Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University.

Dehnhard, M., Finkenwirth, C., Crosier, A., Penfold, L., Ringleb, J., & Jewgenow, K. (2012). Using PGFM (13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F2 α) as a non-invasive pregnancy marker for felids. *Theriogenology*, 77(6), 1088–1099. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.10.011>

Dehnhard, M., Kumar, V., Chandrasekhar, M., Jewgenow, K., & Umapathy, G. (2015). Non-invasive pregnancy diagnosis in big cats using the PGFM (13,14-dihydro-15-keto-PGF2 α) assay. *PLoS ONE*, 10(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0143958>

DeMatteo, KE., Porton, IJ., Kleiman, DG., & Asa, CS. (2006). The effect of the male bush dog (*Speothos venaticus*) on the female reproductive cycle. *Journal of Mammalogy*, 87(4), 723-732. doi: 10.1644/05-MAMM-A342R1.1

DeMatteo, KE., Porton, IJ., Kleiman, DG., & Asa, CS. (2006). The effect of the male bush dog (*Speothos venaticus*) on the female reproductive cycle. *Journal of Mammalogy*, 87(4), 723-732. doi: 10.1644/05-MAMM-A342R1.1

Dixon, A. (2021). The Evolution of Mating-induced and Spontaneous Ovulation. In *Mammalian Sexuality: The Act of Mating and the Evolution of Reproduction* (pp. 248-264). Cambridge: Cambridge University Press. doi:10.1017/9781108550758.013

Donoghue, A. M., Howard, J. G., Byers, A. P., Goodrowe, K. L., Bush, M., Blumer, E., Lukas, J., Stover, J., Snodgrass, K., & Wildt, D. E. (1992). Correlation of Sperm Viability with Gamete Interaction and Fertilization In Vitro in the Cheetah (*Acinonyx jubatus*)¹. In *BIOLOGY OF REPRODUCTION* (Vol. 46). <https://academic.oup.com/biolreprod/article/46/6/1047/2763239>

Donoghue, A. M., Johnston, L. A., Seal, U. S., Armstrong, D. L., Tilson, R. L., Wolf, P., Petrini, K., Simmons, L. G., Gross, T., & Wildt, D. E. (1990). In Vitro Fertilization and Embryo Development In Vitro and In Vivo in the Tiger (*Panthera tigris*)¹. In *BIOLOGY OF REPRODUCTION* (Vol. 43). <https://academic.oup.com/biolreprod/article/43/5/733/2762776>

Driancourt, M. A., & Briggs, J. R. (2020). Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH) Agonist Implants for Male Dog Fertility Suppression: A Review of Mode of Action, Efficacy, Safety, and Uses. In *Frontiers in Veterinary Science* (Vol. 7). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00483>

Durrant B.S., Olson M.A., Amodeo D., Anderson A., Russ K.D., Campos-Morales R., Gual-Sill F., Garza J.R. (2003) Vaginal cytology and vulvar swelling as indicators of impending estrus and ovulation in the giant panda (*Ailuropodamelanoleuca*). *Zoo Biology*, 22:313–321. doi: 10.1002/zoo.10110.

Durrant B.S., Olson M.A., Amodeo D., Anderson A., Russ K.D., Campos-Morales R., Gual-Sill F., Garza J.R. (2003) Vaginal cytology and vulvar swelling as indicators of impending

estrus and ovulation in the giant panda (*Ailuropodamelanoleuca*). *Zoo Biology*, 22:313–321. doi: 10.1002/zoo.10110.

Elbroch, L. M., & Harveson, P. M. (2022). It's time to manage mountain lions in Texas. *Wildlife Society Bulletin*. <https://doi.org/10.1002/wsb.1361>

Evans J.M., Sutton J.D., (1989). The use of hormones, especially gestagens, to control oestrus in bitches. *J. Reprod. Fertil. Supp.* 39, 163–173.

Fagerstone K.A., Miller L.A., Killian G., Yoder C.A., (2010). Review of issues concerning the use of reproductive inhibitors, with particular emphasis on resolving human-wildlife conflicts in North America. *Integrative Zoology* 5, 15–30.

Fernandez-Gonzalez, L., Hribal, R., Stagegaard, J., Zahmel, J., & Jewgenow, K. (2015). Production of lion (*Panthera leo*) blastocysts after invitro maturation of oocytes and intracytoplasmic sperm injection. *Theriogenology*, 83(6), 995–999. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.11.037>

Fieni F., Bruyas J.F., Battut I., Tainturier D., (2001). Clinical use of anti-progestins in the bitch. *Rec. Adv. Small Anim. Reprod. IVIS*, Ithaca, New York USA.

Finkenwirth, C., Jewgenow, K., Meyer, H. H. D., Vargas, A., & Dehnhard, M. (2010). PGFM (13,14-dihydro-15-keto-PGF₂α) in pregnant and pseudo-pregnant Iberian lynx: A new noninvasive pregnancy marker for felid species. *Theriogenology*, 73(4), 530–540. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.10.008>

Fontaine, C. (2015). Long-term contraception in a small implant: A review of Suprelorin (deslorelin) studies in cats. In *Journal of Feline Medicine and Surgery* (Vol. 17, Issue 9, pp. 766–771). SAGE Publications Ltd. <https://doi.org/10.1177/1098612X15594990>

Frederick, C., Hunt, K., Kyes, R., Collins, D., Durrant, B., Ha, J., & Wasser, S. K. (2013). Social influences on the estrous cycle of the captive sun bear (*Helarctos malayanus*). *Zoo Biology*, 32(6), 581-591. doi:10.1002/zoo.21092

Frederick, C., Hunt, K.E., Kyes, R., Collins, D., & Wasser, S.K. (2012). Reproductive timing and aseasonality in the sun bear (*Helarctos malayanus*). *Journal of Mammalogy*, 93(2), 522-531. doi: 10.1644/11-MAMM-A-108.1

Frederick, C., Hunt, K.E., Kyes, R., Collins, D., & Wasser, S.K. (2012). Reproductive timing and aseasonality in the sun bear (*Helarctos malayanus*). *Journal of Mammalogy*, 93(2), 522-531. doi: 10.1644/11-MAMM-A-108.1

Fukui, D., Nagano, M., Nakamura, R., Bando, G., Nakata, S., Kosuge, M., Sakamoto, H., Matsui, M., Yanagawa, Y., & Takahashi, Y. (2013). The Effects of Frequent Electroejaculation on the Semen Characteristics of a Captive Siberian Tiger (*Panthera tigris altaica*). In *Technology Report-Journal of Reproduction and Development* (Vol. 59, Issue 5).

Fuller, G., Margulis, S. W., & Santymire, R. (2011). The effectiveness of indigestible markers for identifying individual animal feces and their prevalence of use in North American zoos. *Zoo Biology*, 30(4), 379–398. <https://doi.org/10.1002/zoo.20339>

Gañá, N., González, R., Garde, J. J., Martínez, F., Vargas, A., Gomendio, M., & Roldan, E. R. S. (2009). Assessment of semen quality, sperm cryopreservation and heterologous IVF in the critically endangered Iberian lynx (*Lynx pardinus*). *Reproduction, Fertility and Development*, 21(7), 848–859. <https://doi.org/10.1071/RD08226>

Gañán, N., Sestelo, A., Garde, J. J., Martínez, F., Vargas, A., Sánchez, I., Pérez-Aspa, M. J., López-Bao, J. V., Palomares, F., Gomendio, M., & Roldan, E. R. S. (2010). Reproductive traits in captive and free-ranging males of the critically endangered Iberian lynx (*Lynx pardinus*). *Reproduction*, 139(1), 275–285. <https://doi.org/10.1530/REP-09-0259>

Gobello C., (2012). Effects of GnRH antagonists vs. agonists in domestic carnivores, a review. *Reprod. Domest. Anim.* 47, 373–376.

Goeritz, F., Painer, J., Jewgenow, K., Hermes, R., Rasmussen, K., Dehnhard, M., & Hildebrandt, T. B. (2012). Embryo Retrieval after Hormonal Treatment to Control Ovarian Function and Non-surgical Artificial Insemination in African Lions (*Panthera leo*). *Reproduction in Domestic Animals*, 47(SUPPL. 6), 156–160. <https://doi.org/10.1111/rda.12026>

Graham L.H., Swanson W.F., Brown J.L. (2000) Chorionic gonadotropin administration in domestic cats causes an abnormal endocrine environment that disrupts oviductal embryo transport. *Theriogenology* 54(7), 1117-1131

Graham, L. H., Byers, A. P., Armstrong, D. L., Loskutoff, N. M., Swanson, W. F., Wildt, D. E., & Brown, J. L. (2006). Natural and gonadotropin-induced ovarian activity in tigers (*Panthera tigris*) assessed by fecal steroid analyses. *General and Comparative Endocrinology*, 147(3), 362–370. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2006.02.008>

Griffin, B. (2002). *The Use of Fecal Markers to Facilitate Sample Collection in Group-Housed Cats* (Vol. 41, Issue 2).

H., Samoylova T., (2012). Generation and characterization of phage-GnRH chemical conjugates for potential use in cat and dog immunocontraception. *Reprod. Domest. Anim. Suppl* 6, 47, 406– 411.

Hampson, M. C., & Schwitzer, C. S. (2016). Effects of hand-rearing on reproductive success in captive large cats *panthera tigris altaica*, *uncia uncia*, *acinonyx jubatus* and *neofelis nebulosa*. *PLoS ONE*, 11(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155992>

Heldstab, SA., Müller, DW., Graber, SM., Bingaman Lackey, L., Rensch, E., Hatt, JM., Clauss, M. (2018). Geographical origin, delayed implantation, and induced ovulation explain reproductive seasonality in the Carnivora. *Journal of Biological Rhythms*, 33(4), 402-419. doi: 10.1177/0748730418773620

Heldstab, SA., Müller, DW., Graber, SM., Bingaman Lackey, L., Rensch, E., Hatt, JM., & Clauss, M. (2018). Geographical origin, delayed implantation, and induced ovulation explain reproductive seasonality in the Carnivora. *Journal of Biological Rhythms*, 33(4), 402-419. doi: 10.1177/0748730418773620

Henriksen, H. B., Andersen, R., Hewison, A. J. M., Gaillard, J. M., Bronndal, M., Jonsson, S., Linnell, J. D. C., & Odden, J. (2005). Reproductive biology of captive female Eurasian lynx, *Lynx lynx*. *European Journal of Wildlife Research*, 51(3), 151–156. <https://doi.org/10.1007/s10344-005-0104-1>

Holekamp, K. E., Smale, L., & Szykman, M. (1996). Rank and reproduction in the female spotted hyaena. *Journal of Reproduction and Fertility*, 108(2), 229–237. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.1080229>

Howard J.G., Roth T.L., Byers A.J., Swanson W.F., Wildt D.E. (1997) Sensitivity to exogenous gonadotropins for ovulation induction and laparoscopic artificial insemination in the cheetah and clouded leopard. *Biol. Reprod.* 56(4), 1059-1068

Howard, J. G., & Wildt, D. E. (2009). Approaches and efficacy of artificial insemination in felids and mustelids. *Theriogenology*, 71(1), 130–148. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.09.046>

Howard, J. G., Byers, A. P., Brown, J. L., Barrett, S. J., Evans, M. Z., Schwartz, R. J., & Wildt, D. E. (1996). Successful ovulation induction and laparoscopic intrauterine artificial

insemination in the clouded leopard (*Neofelis nebulosa*). *Zoo Biology*, 15(1), 55–69. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1098-2361\(1996\)15:1<55::aid-zoo6>3.0.co;2-b](https://doi.org/10.1002/(sici)1098-2361(1996)15:1<55::aid-zoo6>3.0.co;2-b)

Howard, J., Byers, A. P., Brown, J. L., Barrett, S. J., Evans, M. 2, Schwartz, R. J., & Wildt, D. E. (1996). Successful Ovulation Induction and Laparoscopic Intrauterine Artificial Insemination in the Clouded Leopard (*Neofelis nebulosa*). In *Zoo Biology* (Vol. 15).

<https://stlzoo.org/conservation/reproductive-sciences/aza-reproductive-management-center/contraception-program-of-aza-reproduction-management-center>

Acedido a dia 10/11/2022

<https://www.zoobarcelona.cat/en> . Acedido a dia 16/03/2023

<https://zims.species360.org/Login.aspx?ReturnUrl=%2f> Acedido a dia 08/11/2022

Iossa, G., Soulsbury, CD., Baker, J., & Harris, S. (2008). Sperm competition and the evolution of testes size in terrestrial mammalian carnivores. *Functional Ecology*, 22(4), 655-662. doi: 10.1111/j.1365-2435.2008.01409.x

Iossa, G., Soulsbury, CD., Baker, J., & Harris, S. (2008). Sperm competition and the evolution of testes size in terrestrial mammalian carnivores. *Functional Ecology*, 22(4), 655-662. doi: 10.1111/j.1365-2435.2008.01409.x

Jewgenow K., Painer J., Amelkina O., Dehnhard M., Goeritz F. (2014) Lynx reproduction – Long-lasting life cycle of corpora lutea in a feline species. *Reprod. Biol.* 14(2), 83-88

Jewgenow, K., Dehnhard, M., Hildebrandt, T. B., & Göritz, F. (2006). Contraception for population control in exotic carnivores. *Theriogenology*, 66(6–7), 1525–1529. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.01.027>

Johnson, AE., Freeman, EW., Colgin, M., McDonough, C., & Songsasen, N. (2014). Induction of ovarian activity and ovulation in an induced ovulator, the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*), using GnRH agonist and recombinant LH. *Theriogenology*, 82(1), 71-79.

Jorge Neto, P., Alecho Requena, L., Schilbach Pizzutto, C., & Baldassarre, H. (2018). Laparoscopic ovum pick-up (lopu): from animal production to conservation. *Spermova*, 8(1), 61–67. <https://doi.org/10.18548/aspe/0006.07>

Jorge-Neto, P. N., Luczinski, T. C., Araújo, G. R. de, Salomão Júnior, J. A., Traldi, A. de S., Santos, J. A. M. dos, Requena, L. A., Gianni, M. C. M., Deco-Souza, T. de, Pizzutto, C. S., & Baldassarre, H. (2020). Can jaguar (*Panthera onca*) ovulate without copulation? *Theriogenology*, 147, 57–61. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.02.026>

Jorge-Neto, P. N., Silva, M. C. C. da, Csermak-Júnior, A. C., Salmão-Júnior, J. A., Araújo, G. R. de, Oliveira, G. de, Leuzinger, L., Pizzutto, C. S., & Deco-Souza, T. de. (2020). Cryptorchidism in free-living jaguar (*Panthera onca*): first case report. *Animal Reproduction*, 17(4), 1–6. <https://doi.org/10.1590/1984-3143-AR2020-0555>

Kachamakova, M., & Zlatanova, D. (2014). Study and conservation of Common (Cricetus cricetus) and Romanian hamster (Mesocricetus newtoni) in Bulgaria View project Large carnivore monitoring in Osogovo mountain with local people involvement View project. In *ACTA ZOOLOGICA BULGARICA Acta zool. bulg* (Vol. 66, Issue 3). <https://www.researchgate.net/publication/266743185>

Kawase, K., Tomiyasu, J., Ban, K., Ono, R., Ando, S., Ono, A., Kimura, R., Tomisawa, K., Matsui, M., & Shiihara, S. I. (2021). Contraceptive effect of a gonadotropin-releasing hormone vaccine on a captive female african lion (*Panthera leo*): A case study. *Journal of Veterinary Medical Science*, 83(9), 1454–1458. <https://doi.org/10.1292/jvms.21-0032>

Kazensky, C. A., Munson, L., & Seal, U. S. (1998). The Effects of Melengestrol Acetate on the Ovaries of Captive Wild Felids. In *Source: Journal of Zoo and Wildlife Medicine* (Vol. 29, Issue 1). <https://about.jstor.org/terms>

Kinoshita, K., Inada, S., Seki, K., Sasaki, A., Hama, N., & Kusunoki, H. (2011). Long-term monitoring of fecal steroid hormones in female snow leopards (*panthera uncia*) during pregnancy or pseudopregnancy. *PLoS ONE*, 6(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019314>

Kinoshita, K., Ohazama, M., Ishida, R., & Kusunoki, H. (2011). Daily fecal sex steroid hormonal changes and mating success in captive female cheetahs (*Acinonyx jubatus*) in Japan. *Animal Reproduction Science*, 125(1–4), 204–210. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.02.003>

Kirberger, R. M., Schulman, M. L., & Hartman, M. J. (2011). Ultrasonographic and laparoscopic evaluation of the reproductive tract of the captive female African lion (*Panthera leo*). *Theriogenology*, 76(5), 810–818. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.04.013>

Koeppel, K., Barrows, M., & Visser, K. (2014). The use of the gonadotropin-releasing hormone analog deslorelin for short-term contraception in red pandas (*Ailurus fulgens*). *Theriogenology*, 81(2), 220–224. doi:10.1016/j.theriogenology.2013.09.003

Koeppel, K., Barrows, M., & Visser, K. (2014). The use of the gonadotropin-releasing hormone analog deslorelin for short-term contraception in red pandas (*Ailurus fulgens*). *Theriogenology*, 81(2), 220–224. doi: 10.1016/j.theriogenology.2013.09.003

Koester, D. C., Freeman, E. W., Brown, J. L., Wildt, D. E., Terrell, K. A., Franklin, A. D., & Crosier, A. E. (2015). Motile sperm output by male cheetahs (*acinonyx jubatus*) managed ex situ is influenced by public exposure and number of care-givers. *PLoS ONE*, 10(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135847>

Koester, D. C., Freeman, E. W., Wildt, D. E., Terrell, K. A., Franklin, A. D., Meeks, K., & Crosier, A. E. (2017). Group management influences reproductive function of the male cheetah (*Acinonyx jubatus*). *Reproduction, Fertility and Development*, 29(3), 496–508. <https://doi.org/10.1071/RD15138>

Koester, D. C., Wildt, D. E., Maly, M., Comizzoli, P., & Crosier, A. E. (2017). Non-invasive identification of protein biomarkers for early pregnancy diagnosis in the cheetah (*Acinonyx jubatus*). *PLoS ONE*, 12(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188575>

Kutzler M., Wood A., (2006). Non-surgical methods of contraception and sterilization. *Theriogenology* 66, 514–525.

Larivière, S., & Ferguson, S. H. (2003). Evolution of Induced Ovulation in North American Carnivores. *Journal of Mammalogy*, 84(3), 937–947. <http://www.jstor.org/stable/1383856>

Levy J.K., Friary J.A., Miller L.A., Tucker S.J., Fagerstone K.A., (2011). Long-term fertility control in female cats with GonaCon™, a GnRH immunocontraceptive. *Theriogenology* 76, 1517–1525.

Lindenfors, P., Dalèn, L., & Angerbjörn, A. (2003). The monophyletic origin of delayed implantation in carnivores and its implications. *Evolution*, 57(8), 1952-1956. doi: 10.1554/02-619

Lindenfors, P., Dalèn, L., & Angerbjörn, A. (2003). The monophyletic origin of delayed implantation in carnivores and its implications. *Evolution*, 57(8), 1952-1956. doi: 10.1554/02-619

Lu, Q., Cheng, C., Xiao, L., Li, J., Li, X., Zhao, X., Lu, Z., Zhao, J., & Yao, M. (2023). Food webs reveal coexistence mechanisms and community organization in carnivores. *Current biology* : CB, 33(4), 647–659.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2022.12.049>

Lucas, X. (2014). Clinical use of deslorelin (GnRH agonist) in companion animals: A review. In *Reproduction in Domestic Animals* (Vol. 49, Issue s4, pp. 64–71). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/rda.12388>

Lueders, I., Luther, I., Scheepers, G., & van der Horst, G. (2012). Improved semen collection method for wild felids: Urethral catheterization yields high sperm quality in African lions (*Panthera leo*). *Theriogenology*, 78(3), 696–701. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.02.026>

Maenhoudt, C., Santos, N., & Fontbonne, A. (2014). Suppression of Fertility in Adult Dogs. *Reproduction in Domestic Animals*, 49, 58-63. doi:10.1111/rda.12306.

Maly, M. A., Edwards, K. L., Farin, C. E., Koester, D. C., & Crosier, A. E. (2018). Assessing puberty in ex situ male cheetahs (*Acinonyx jubatus*) via fecal hormone metabolites and body weights. *General and Comparative Endocrinology*, 268, 22–33. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2018.07.011>

McAloose, D., Munson, L., & Naydan, D. K. (2007). Histologic features of mammary carcinomas in zoo felids treated with melengestrol acetate (MGA) contraceptives. *Veterinary pathology*, 44(3), 320–326. <https://doi.org/10.1354/vp.44-3-320>

McEvoy, O. K., Ferreira, S. M., & Parker, D. M. (2022). The impacts of management interventions on the sociality of African lions (*Panthera leo*): Implications for lion conservation. *Ecological Solutions and Evidence*, 3(2). <https://doi.org/10.1002/2688-8319.12135>

McEvoy, O. K., Miller, S. M., Beets, W., Bodasing, T., Borrego, N., Burger, A., Courtenay, B., Ferreira, S., Hanekom, C., Hofmeyr, M., Packer, C., Robertson, D., Stratford, K., Slotow, R., & Parker, D. M. (2019). The use of contraceptive techniques in managed wild African lion (*Panthera leo*) populations to mimic open system cub recruitment. In *Wildlife Research* (Vol. 46, Issue 5, pp. 398–408). CSIRO. <https://doi.org/10.1071/WR18079>

Mead, RA., Bowles, M., Starypan, G. & Jones, M. Evidence for pseudopregnancy and induced ovulation in captive wolverines (*Gulo gulo*). *Zoo Biology*, 12, 1098–2361 (1993). doi: doi.org/10.1002/zoo.1430120405

Mead, RA., Bowles, M., Starypan, G. & Jones, M. Evidence for pseudopregnancy and induced ovulation in captive wolverines (*Gulo gulo*). *Zoo Biology*, 12, 1098–2361 (1993). doi: doi.org/10.1002/zoo.1430120405

Miller E., Lamberski N., Calle P. (2018) *Fowler's Zoo Wild Animal Medicine Current Therapy*, Nona edição. Estados Unidos: Elsevier Uk

Moreira N., Monteiro-Filho E.L.A., Moraes W., et al. (2001) Reproductive steroid hormones and ovarian activity in felids of the *Leopardus* genus. *Zoo Biol.* 20(2), 103-116 Page 47

Moresco, A., Dadone, L., Arble, J., Acvr, D., Klaphake, E., Aczm, D., Abvp, D., ABVP Reptile, D., Agnew, D. W., & Acvp, D. (2014). Location and removal of deslorelin acetate implants in female african lions (*panthera leo*). In *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* (Vol. 45, Issue 2). www.stlzoo.org/contraception

Moresco, A., Munson, L., & Gardner, I. A. (2009). Naturally occurring and melengestrol acetate-associated reproductive tract lesions in zoo canids. *Veterinary Pathology*, 46(6), 1117–1128. <https://doi.org/10.1354/vp.08-VP-0293-M-FL>

Mulac-Jericevic B., Conneely O.M., (2004). Reproductive tissue selective actions of pro- gesterone receptors. *Reproduction* 128, 139–146.

Munks M.W., (2012). Progress in development of immunocontraceptive vaccines for per- manent non-surgical sterilization of cats and dogs. *Reprod. Dom. Anim.* 47, 223–227.

Munson, L. (2006). Contraception in felids. *Theriogenology*, 66(1), 126–134. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.03.016>

Munson, L., Gardner, IA., Mason, RJ., Chassy, M., & Seal, US. (2002). Endometrial hyperplasia and mineralisation in zoo felids treated with melengestrol acetate contraceptives. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*, 57, 269–273.

Munson, L., Gardner, IA., Mason, RJ., Chassy, M., & Seal, US. (2002). Endometrial hyperplasia and mineralisation in zoo felids treated with melengestrol acetate contraceptives. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*, 57, 269–273.

Nájera, F., Brown, J., Wildt, D. E., Virolle, L., Kongprom, U., Revuelta, L., & Goodrowe-Beck, K. (2015). Body mass dynamics in hand reared clouded leopard (*Neofelis*

nebulosa) cubs from birth to weaning. *Zoo Biology*, 34(3), 239–243.
<https://doi.org/10.1002/zoo.21206>

Nájera, F., Hearn, A. J., Ross, J., Ramírez Saldivar, D. A., Evans, M. N., Guerrero-Sánchez, S., Nathan, S. K. S. S., de Gaspar Simón, I., MacDonald, D. W., Goossens, B., & Revuelta Rueda, L. (2017). Chemical immobilization of free-ranging and captive sunda clouded leopards (*Neofelis diardi*) with two anesthetic protocols: Medetomidine-ketamine and tiletamine-zolazepam. *Journal of Veterinary Medical Science*, 79(11), 1892–1898.
<https://doi.org/10.1292/jvms.17-0259>

Okano, T., Nakamura, S., Nakashita, R., Komatsu, T., Murase, T., Asano, M., Tsubota, T. (2006). Incidence of Ovulation without Coital Stimuli in Captive Japanese Black Bears (*Ursus thibetanusjaponicus*) based on Serum

Painer J., Goeritz F., Dehnhard M., et al. (2014) Hormone-induced luteolysis on physiologically persisting corpora lutea in Eurasian and Iberian lynx (*Lynx lynx* and *Lynx pardinus*). *Theriogenology* 82(4), 557-562 PAZ R.C.R. da (2012) Wildlife Cats Reproductive Biotechnology. *Curr. Front. Cryobiol.* n°12, 369-388

Painer, J., Goeritz, F., Dehnhard, M., Hildebrandt, T.B., Naidenko, S.V., Sánchez, I., & Jewgenow, K. (2014). Hormone-induced luteolysis on physiologically persisting corpora lutea in Eurasian and Iberian lynx (*Lynx lynx* and *Lynx pardinus*). *Theriogenology*, 82(4), 557-562. doi: 10.1016/j.theriogenology.2014.05.004

Paz, R. C. R. (2012). Wildlife Cats Reproductive Biotechnology. In *Current Frontiers in Cryobiology*. InTech. <https://doi.org/10.5772/32464>

Pelican K.M., Spindler R.E., Pukazhenthil B.S., (2010) Progesterin Exposure Before Gonadotropin Stimulation Improves Embryo Development after In Vitro Fertilization in the Domestic Cat. *Biol. Reprod.* 83(4), 558-567

Pelican K.M., Wildt D.E., Howard J.G. (2006) GnRH agonist Lupron® (leuprolide acetate) pre-treatments prevent ovulation in response to gonadotropin stimulation in the clouded leopard (*Neofelis nebulosa*). *Theriogenology* 66(6-7), 1768-1777

Pelican K.M., Wildt D.E., Ottinger M.A., Howard J. (2008) Priming with progesterin, but not GnRH antagonist, induces a consistent endocrine response to exogenous gonadotropins in induced and spontaneously ovulating cats. *Domest. Anim. Endocrinol.* 34(2), 160-175

Pelican K.M., Wildt D.E., Pukazhenthil B., Howard J. (2006) Ovarian control for assisted reproduction in the domestic cat and wild felids. *Theriogenology*, Feline Reproduction 66(1), 37-48

Pope, C. E. (2000). Embryo technology in conservation efforts for endangered felids. *Theriogenology*, 53(1), 163–174. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00249-6](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00249-6)

Ptak, G. E., Tacconi, E., Czernik, M., Toschi, P., Modlinski, J. A., & Loi, P. (2012). Embryonic diapause is conserved across mammals. *PloS one*, 7(3), e33027. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033027>

Pukazhenthil B., Laroe, D., Crosier, A., Bush, L. M., Spindler, R., Pelican, K. M., Bush, M., Howard, J. G., & Wildt, D. E. (2006). Challenges in cryopreservation of clouded leopard (*Neofelis nebulosa*) spermatozoa. *Theriogenology*, 66(6–7), 1790–1796. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.02.020>

Putman, S. B., Brown, J. L., Franklin, A. D., Schneider, E. C., Boisseau, N. P., Asa, C. S., & Pukazhenthil B. S. (2015). Characterization of ovarian steroid patterns in female African lions (*Panthera leo*), and the effects of contraception on reproductive function. *PLoS ONE*, 10(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140373>

Putman, S. B., Brown, J. L., Saffoe, C., Franklin, A. D., & Pukazhenthil B. S. (2019). Linkage between fecal androgen and glucocorticoid metabolites, spermaturia, body weight and onset of puberty in male African lions (*Panthera leo*). *PLoS ONE*, 14(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217986>

Rahman, H. (2016). *Neofelis nebulosa*. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-1.RLTS.T14519A97215090.en>

Reichert-Stewart, J. L., Santymire, R. M., Armstrong, D., Harrison, T. M., & Herrick, J. R. (2014). Fecal endocrine monitoring of reproduction in female snow leopards (*Uncia uncia*). *Theriogenology*, 82(1), 17–26. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.02.018>

Robbins S.C., Jelinski M.D., Stotish R.L., (2004). Assessment of the immunological and biological efficacy of two different doses of a recombinant GnRH vaccine in domestic male and female cats (*Felis catus*). *J. Reprod. Immunol.* 64, 107–119.

Romagnoli S., Concannon P.W., (2003). Clinical use of progestins in bitches and queens: a review. *Rec. Adv. Small Anim. Reprod.* International Veterinary Information Service(www.ivis.org), Ithaca, New York, USA. A, 1206, 0903.

Roth, T. L., Armstrong, D. L., Barrie, M. T., Garell, D. M., & Wildt, D. E. (1996). Seasonal effects on ovarian responsiveness to exogenous gonadotropins and successful artificial insemination in the snow leopard (*Panthera uncia*). *Theriogenology*, 45(1), 246. [https://doi.org/10.1016/0093-691x\(96\)84719-4](https://doi.org/10.1016/0093-691x(96)84719-4)

Roth, T. L., Howard, J. G., Donoghue, A. M., Swanson, W. F., & Wildt, D. E. (1994). Function and culture requirements of snow leopard (*Panthera uncia*) spermatozoa in vitro. *Journal of Reproduction and Fertility*, 101(3), 563–569. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.1010563>

Roth, T. L., Howard, J. G., Roth, T. L., Byers, A. P., Swanson, W. F., & Wildt, D. E. (1997). Sensitivity to exogenous gonadotropins for ovulation induction and laparoscopic artificial insemination in the cheetah and clouded leopard Iron Overload Disorder in Rhinos View project Semen Cryopreservation and Artificial Insemination for Conservation of Brazilian Jaguars View project Sensitivity to Exogenous Gonadotropins for Ovulation Induction and Laparoscopic Artificial Insemination in the Cheetah and Clouded Leopard'. In *Article in Biology of Reproduction* (Vol. 56). <https://www.researchgate.net/publication/14119930>

Roth, T. L., Swanson, W. F., Collins, D., Burton, M., Garell, D. M., & Wildt, D. E. (1996). Snow Leopard (*Panthera uncia*) Spermatozoa Are Sensitive to Alkaline pH, But Motility In Vitro Is Not Influenced by Protein or Energy Supplements. In *Journal of Andrology* (Vol. 17, Issue 5). <https://doi.org/10.1111/j.1939-4640.1996.tb01833.x>

São, H. C., Aquarium, P., Padilha, F., Reisfeld, L., Nacib, P., & Neto, J. (2022). *Behavioural evaluation of a meerkat Suricata suricatta group after insertion of deslorelin contraceptive implant in the dominant female Anatomy of wild animals View project Commercial in vitro embryo production in small ruminants View project SEE PROFILE*. <https://doi.org/10.19227/jzar.v10i1.613>

Savolainen, K. (2015). *Deslorelin implant to induce temporary infertility in queens Suprelorin hormone implant in female cats View project Feline uterine torsion View project*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.31955.30244>

Saxena A., Perkins S., (2002). Modulation of ovarian function in female dogs immunized with bovine luteinizing hormone receptor. *Reprod. Domest. Anim.* 37, 9–17.

Saxena B.B., Clavio A., Singh M., Rathnam P., Bukharovich E.Y., Reimers T.J. Jr, Saxena A., Perkins S., (2003). Effect of immunization with bovine luteinizing hormone receptor on ovarian function in cats. *Am. J. Vet. Res.* 64, 292–298.

Schäfer-Somi, S., Kaya, D., & Aslan, S. (2022). Prepubertal Use of Long-Term GnRH Agonists in Dogs: Current Knowledge and Recommendations. In *Animals* (Vol. 12, Issue 17). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ani12172267>

Schmidt, AM., Nadal, LA., Schmidt, MJ., & Beamer, NB. (1979). Serum concentrations of oestradiol and progesterone during the normal oestrous cycle and early pregnancy in the lion (*Panthera leo*). *Reproduction*, 57(2), 267-272. doi:doi.org/10.1530/jrf.0.0570267

Schulman, M. L., Kirberger, R. M., Tordiffe, A. S. W., Marker, L. L., Schmidt-Küntzel, A., & Hartman, M. J. (2015). Ultrasonographic and laparoscopic evaluation of the reproductive tract in older captive female cheetahs (*Acinonyx jubatus*). *Theriogenology*, 84(9), 1611–1619. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.08.011>

Schwarzenberger, F., Fredriksson, G., Schaller, K., Kolter, L.. (2004) Fecal steroid analysis for monitoring reproduction in the sun bear (*Helarctos malayanus*). *Theriogenology*, 62(9):1677-92. doi:10.1016/j.theriogenology.2004.03.007.

Seal, US., Plotka, ED., Smith, JD., Wright, FH., Reindl, NJ., Taylor, RS., & Seal, MF. (1985). Immunoreactive luteinizing hormone, estradiol, progesterone, testosterone, and androstenedione levels during the breeding season and anestrus in Siberian tigers. *Biology of Reproduction*, 32(2), 361-368. doi:10.1095/biolreprod32.2.361

Singh, G., Kumar, A., Dutt, R., Arjun, V., & Jain, V. K. (2020). Chemical Castration in Animals: An Update. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9(4), 2787–2807. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.904.329>

Songsasen, N, Nagashima, J, Thongkittidilok, C. (2017) Endocrine and paracrine controls of canine follicular development and function. *Reproduction in Domestic Animals*, 52(2):29-34. doi:10.1111/rda.12858.

Soto FR, Ferreira F, Pinheiro SR, et al., (2005): Adoption of shelter dogs in a Brazilian community: assessing the caretaker profile. *J Appl Anim Welfare Sci* 8, 105–116.

Spady TJ., Lindburg DG., Durrant B.S. (2007). Evolution of reproductive seasonality in bears. *Mammal Review*, 37:21–53.

Spanner, A., Stone, GM., & DS. (1997). Excretion profiles of some reproductive steroids in the faeces of the captive Nepalese red panda (*Ailurus fulgens fulgens*). *Reproduction, Fertility and Development*, 9, 565–570.

Spruijt, A., Kooistra, H., Oei, C., Vinke, C., Schaefers-Okkens, A., & de Gier, J. (2022). The function of the pituitary-testicular axis in dogs prior to and following surgical or chemical castration with the GnRH-agonist deslorelin. *Reproduction in Domestic Animals*. <https://doi.org/10.1111/rda.14266>

Stavisky, R. C., Whitten, P. L., Hammett, D. H., & Kaplan, J. R. (2001). Lake pigments facilitate analysis of fecal cortisol and behavior in group-housed macaques. *American Journal of Physical Anthropology*, 116(1), 51–58. <https://doi.org/10.1002/ajpa.1101>

Stempel, S., Körber, H., Reifarth, L., Schuler, G., & Goericke-Pesch, S. (2022). What Happens in Male Dogs after Treatment with a 4.7 mg Deslorelin Implant? II. Recovery of Testicular Function after Implant Removal. *Animals*, 12(19). <https://doi.org/10.3390/ani12192545>

Stewart R.A., Pelican K.M., Brown J.L., (2010) Oral progestin induces rapid, reversible suppression of ovarian activity in the cat. *Gen. Comp. Endocrinol.* 166(2), 409-416

Swanson W. (2019) Practical application of laparoscopic oviductal artificial insemination for the propagation of domestic cats and wild felids. *Reprod. Fertil. Dev.* 31, 27

Swanson W.F., Bateman H.L., Vansandt L.M. (2017) Urethral catheterization and sperm vitrification for simplified semen banking in felids. *Reprod. Domest. Anim.* 52(S2), 255-260

Swanson W.F., Graham K., Horohov D.W., Thompson D.L., Godke R.A. (1996) Ancillary follicle and secondary corpora lutea formation following exogenous gonadotropin treatment in the domestic cat and effect of passive transfer of gonadotropin-neutralizing antisera. *Theriogenology* 45(3), 561-572

Swanson W.F., Horohov D.W., Godke R. (1995) Production of Exogenous GonadotrophinNeutralizing Immunoglobulins in Cats After Repeated eCG-hCG Treatment and Relevance for Assisted Reproduction in Felids. *J. Reprod. Fertil.* 105(1), 35-41

Swanson W.F., Roth T.L., Graham K., Horohov D.W., Godke R. (1996) Kinetics of the Humoral Immune Response to Multiple Treatments With Exogenous Gonadotropins and Relation to Ovarian Responsiveness in Domestic Cats. *Am. J. Vet. Res.* 57(3), 302-7

Swanson W.F., Wolfe B.A., Brown J.L., (1997) Pharmacokinetics and Ovarian Stimulatory Effects of Equine and Human Chorionic Gonadotropins Administered Singly and in Combination in the Domestic Cat. *Biol. Reprod.* 57(2), 295-302

Tajima, H., Yoshizawa, M., Sasaki, S., Yamamoto, F., Narushima, E., Ogawa, Y., Orima, H., Tsutsui, T., Toyonaga, M., Kobayashi, M., Kawakami, E., & Hori, T. (2016). A trial of semen collection by transrectal electroejaculation method from Amur leopard cat (*Prionailurus bengalensis euptilurus*). In *Journal of Veterinary Medical Science* (Vol. 78, Issue 6, pp. 1067–1073). Japanese Society of Veterinary Science. <https://doi.org/10.1292/jvms.15-0439>

Thongphakdee, A., Sukparangsi, W., Comizzoli, P., & Chatdarong, K. (2020). Reproductive biology and biotechnologies in wild felids. *Theriogenology*, 150, 360–373. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.02.004>

Thongphakdee, A., Tipkantha, W., Punkong, C., & Chatdarong, K. (2018). Monitoring and controlling ovarian activity in wild felids. *Theriogenology*, 109, 14–21. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.12.010>

Thongtip, N., Mahasawangkul, S., Thitaram, C., Pongsopavijitr, P., Kornkaewrat, K., Pinyopummin, A., Angkawanish, T., Jansittiwate, S., Rungsri, R., Boonprasert, K., Wongkalasin, W., Homkong, P., Dejchaisri, S., Wajjwalku, W., & Saikhun, K. (2009). Successful artificial insemination in the Asian elephant (*Elephas maximus*) using chilled and frozen-thawed semen. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 7. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-7-75>

Thorel, M., Pignon, C., Arne, P., Donnelly, T. M., & Rivière, J. (2020). Clouded leopard (*Neofelis Nebulosa*) morbidity and mortality in captive-bred populations: A comprehensive retrospective study of medical data from 271 individuals in European, Asian, and Australian zoos. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 51(1), 150–158. <https://doi.org/10.1638/2019-0048>

Thuwanut P., Brown J.L., Comizzoli P., Crosier A.E. (2019) Responsiveness of the cheetah (*Acinonyx jubatus*) ovary to exogenous gonadotropins after preemptive oral progestin treatment. *Theriogenology* 138, 39-46

Thuwanut, P., Tipkantha, W., Siriaroonrat, B., Comizzoli, P., & Chatdarong, K. (2017). Beneficial effect of extracellular adenosine 5'-triphosphate treatment on the Indochinese leopard (*Panthera pardus delacouri*) sperm quality after cryopreservation. *Reproduction in Domestic Animals*, 52, 269–274. <https://doi.org/10.1111/rda.12854>

Tipkantha, W., Thuwanut, P., Maikew, U., Thongphakdee, A., Yapila, S., Kamolnorranath, S., Siriaronrat, B., Comizzoli, P., & Chatdarong, K. (2017). Successful laparoscopic oviductal artificial insemination in the clouded leopard (*neofelis nebulosa*) in thailand. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 48(3), 804–812. <https://doi.org/10.1638/2016-0287.1>

Tipkantha, W., Thuwanut, P., Siriaronrat, B., Comizzoli, P., & Chatdarong, K. (2017). Mitigation of sperm tail abnormalities using demembranation approach in the clouded leopard (*Neofelis nebulosa*). *Reproduction in Domestic Animals*, 52, 214–218. <https://doi.org/10.1111/rda.12861>

Tsutsui T., Yamane I., Hattori I., (2000) Feline Embryo Transfer during the Non-Breeding Season. *J. Vet. Med. Sci.* 62(11), 1169-1175 Page 48

Umapathy, G., Kumar, V., Wasimuddin, Kabra, M., & Shivaji, S. (2013). Detection of pregnancy and fertility status in big cats using an enzyme immunoassay based on 5 α -pregnan-3 α -ol-20-one. *General and Comparative Endocrinology*, 180(1), 33–38. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2012.10.009>

Umapathy, G., Sontakke, S. D., Srinivasu, K., Kiran, T., Kholkute, S. D., & Shivaji, S. (2007). Estrus behavior and fecal steroid profiles in the Asiatic lion (*Panthera leo persica*) during natural and gonadotropin-induced estrus. *Animal Reproduction Science*, 101(3–4), 313–325. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.09.014>

Van der Weyde, LK., Martin, GB., Blackberry, MA., Gruen, V., Harland, A., & Paris, MCJ. (2015). Reproductive hormonal patterns in pregnant, pseudopregnant and acyclic captive African wild dogs (*Lycaon pictus*). *Animal Reproduction Science*, 156, 75-82. doi: 10.1016/j.anireprosci.2015.03.003

Van der Weyde, LK., Martin, GB., Blackberry, MA., Gruen, V., Harland, A., & Paris, MCJ. (2015). Reproductive hormonal patterns in pregnant, pseudopregnant and acyclic captive African wild dogs (*Lycaon pictus*). *Animal Reproduction Science*, 156, 75-82. doi:10.1016/j.anireprosci.2015.03.003

Viau, P., Rodini, D. C., Sobral, G., Martins, G. S., Morato, R. G., & de Oliveira, C. A. (2020). Puberty and oestral cycle length in captive female jaguars *Panthera onca*. *Conservation Physiology*, 8(1). <https://doi.org/10.1093/conphys/coaa052>

Virbac Portugal (2022). *Suprelorin, resumo das características do medicamento*. Acedido em dezembro, 2, 2022, disponível em <http://www.virbac.pt/>

Watts, H. E., & Holekamp, K. E. (2009). Ecological determinants of survival and reproduction in the spotted hyena. *Journal of Mammalogy*, 90(2), 461–471. <https://doi.org/10.1644/08-MAMM-A-136.1>

Watts, H. E., Scribner, K. T., Garcia, H. A., & Holekamp, K. E. (2011). Genetic diversity and structure in two spotted hyena populations reflects social organization and male dispersal. *Journal of Zoology*, 285(4), 281–291. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.2011.00842.x>

Wielebnowski, N., & Brown, J. L. (1998). Behavioral Correlates of Physiological Estrus in Cheetahs. In *Zoo Biology* (Vol. 17).

Wildt D.E., Chan S.Y.W., Seager S.W.J., Chakraborty P.K. (1981) Ovarian Activity, Circulating Hormones, and Sexual Behavior in the Cat. I. Relationships During the Coitus Induced Luteal Phase and the Estrous Period Without Mating. *Biol. Reprod.* 25(1), 15-28

Wildt, D. E., Howard, J. G., Hall, L. L., & Bush³, M. (1986). Reproductive Physiology of the Clouded Leopard: I. Electroejaculates Contain High Proportions of Pleiomorphic Spermatozoa throughout the Year¹. In *BIOLOGY OF REPRODUCTION* (Vol. 34). <https://academic.oup.com/biolreprod/article/34/5/937/2764264>

Wildt, D. E., Platz, C. C., Seager³, S. W. J., & Busi⁴, M. (2020). *Induction of Ovarian Activity in the Cheetah (Acinonyx jubatus)*. <https://academic.oup.com/biolreprod/article/24/1/217/2767010>

Yadav, P., Kumar, J., & Kumar Yadav, D. (2018). *Immuno-contraception: an approach of reproduction control in stray/feral animals. Expression profile of cytokines and TLRs in cattle and buffalo with natural tropical theileriosis* View project Sugarcane tops silage View project. <https://www.researchgate.net/publication/358999876>

Zainuddin, Z. Z., Tarmizi, M. R. M., Yap, K. C., Pierre, C., & Sipangkui, S. (2020). First evaluations and cryopreservation of semen samples from sunda clouded leopards (*Neofelis diardi*). *Animals*, 10(6), 1–13. <https://doi.org/10.3390/ani10061072>

Zambelli D., Bini C., Küster D.G., Molari V., Cunto M. (2015) First deliveries after estrus induction using deslorelin and endoscopic transcervical insemination in the queen. *Theriogenology* 84(5), 773-778

Zambelli D., Cunto M. (2005) Vaginal and cervical modifications during the estrus cycle in the domestic cat. *Theriogenology* 64(3), 679-684