

2007

Protocolos para Recolha e Análise de Amostras para Avaliação de Riscos Sanitários Inerentes à Reintrodução de Lince-ibérico



Monterroso, P. & Martinho, F.
**NYCTEA, Serviços de Natureza e
Ambiente, Lda.**

11/20/2007



Relatório entregue à Sociedade Portuguesa de Vida Selvagem, no âmbito do contrato excepcionado de investigação e desenvolvimento "Gestão Sustentável dos Recursos Biológicos da Reserva Natural da Serra da Malcata"
Protocolos para recolha e análise de amostras para avaliação de riscos sanitários inerentes à reintrodução de lince-ibérico

Entidade Responsável

Nyctea- Serviços de Natureza e Ambiente, Lda.
Avenida Elias Garcia, 15, 2º Esquerdo / Retaguarda
1000 – 147 Lisboa
Tlf. / Fax: 210 32 91 52
e-mail: geral@nyctea.eu
www.nyctea.eu

Equipa de Projecto

- **Pedro Monterroso** - Nyctea, Avenida Elias Garcia, 15, 2º Esquerdo / Retaguarda, 1000 – 147 Lisboa
- **Filipe Martinho** - Nyctea, Avenida Elias Garcia, 15, 2º Esquerdo / Retaguarda, 1000 – 147 Lisboa

O trabalho deverá ser citado como:

Monterroso, P. & Martinho, F. (2007). Protocolos para Recolha e Análise de Amostras para Avaliação de Riscos Sanitários Inerentes à Reintrodução de Lince-ibérico. Relatório não publicado para a Sociedade Portuguesa da Vida Selvagem (SPVS). NYCTEA, Lisboa.



Pedro Monterroso
(Biólogo)

Filipe Martinho
(Médico Veterinário)

Índice

	Página
Enquadramento	7
Impacto das doenças nas comunidades de carnívoros selvagens	8
Situação actual da conservação do Lince-ibérico na Península Ibérica	8
Objectivos	12
Espécies alvo	13
Canídeos	
Raposa	14
Felídeos	
Gato-bravo	15
Mustelídeos	
Texugo	16
Fuínha	17
Viverrídeos	
Geneta	18
Herpestídeos	
Saca-rabos	19
Patologias a pesquisar	21
Bacterianas	
Tuberculose	23
Leptospirose	26
Clamidiose	28
Brucelose	29
Ehrlichiose	30
Tularémia	32
Hemobartolose	36
Borreliose de Lyme	
Virais	
Peritonite Infeciosa Felina (PIF)	38
Imunodeficiência Viral Felina (FIV)	41
Leucemia Felina (FeLV)	43
Panleucopénia (FPV) e outras parvoviroses (CPV-2 ^a ;CPV-2b)	45
Rhinotraqueíte Felina (FHV)	47
Calicivirose Felina (FCV)	48
Esgana	50
Parasitárias	
Leishmaniose	54
Toxoplasmose	56
Piroplasmose	58
Citauzoonose	59
Outras parasitoses	60

Protocolos de gestão pós-captura	61
Fármacos	62
Material	63
Contenção	64
Imobilização química	64
Manipulação e monitorização	65
Procedimentos para recolha de amostras	66
Recolha, armazenamento e transporte de amostras em animais vivos	68
Bacterianas	
Tuberculose	69
Leptospirose	69
Clamidiose	70
Brucelose	70
Ehrlichiose	70
Tularémia	70
Hemobartolose	71
Borreliose de Lyme	71
Virais	
Peritonite Infeciosa Felina (PIF)	71
Imunodeficiência Viral Felina (FIV)	71
Leucemia Felina (FeLV)	72
Panleucopénia (FPV) e outras parvoviroses (CPV-2 ^a ;CPV-2b)	72
Rhinotraqueíte Felina (FHV)	72
Calicivirose Felina (FCV)	72
Esgana	72
Parasitárias	
Leishmaniose	73
Toxoplasmose	73
Piroplasmose	73
Citauzoonose	74
Recolha, armazenamento e transporte de amostras em cadáveres	75
Bacterianas	
Tuberculose	76
Leptospirose	76
Clamidiose	77
Brucelose	77
Ehrlichiose	77
Tularémia	78
Hemobartolose	78
Borreliose de Lyme	78
Virais	
Peritonite Infeciosa Felina (PIF)	79
Imunodeficiência Viral Felina (FIV)	79
Leucemia Felina (FeLV)	79
Panleucopénia (FPV) e outras parvoviroses (CPV-2 ^a ;CPV-2b)	79

Rhinotraqueíte Felina (FHV)	80
Calicivirose Felina (FCV)	80
Esgana	80
Parasitárias	
Leishmaniose	80
Toxoplasmose	81
Piroplasmose	81
Citauzoonose	81
Recolha, armazenamento e transporte de outras amostras (excrementos)	82
Referências bibliográficas	84

ENQUADRAMENTO

Impacto das doenças nas comunidades de carnívoros selvagens

Os agentes infecciosos, ocorrem naturalmente na natureza, circulando horizontal e verticalmente através das populações de hospedeiros. No entanto, os surtos epizooticos de doenças podem ter impactos severos em populações selvagens (p.e. Thorne & Williams, 1988; Laurenson *et al.*, 1997) ou serem responsáveis pelo insucesso de acções de reintrodução (p.e. Hibler & Adcock, 1971), aumentando a susceptibilidade para extinções locais. As doenças podem debilitar as populações dos hospedeiros através da morte directa do hospedeiro, ou pela supressão do tamanho ou taxa de crescimento da população, tornando-a mais susceptível à extinção por factores estocásticos (Woodroffe, 1999). Os maiores impactos, e consequentes extinções de populações de animais selvagens causados por doenças ocorrem tipicamente em populações de dimensões reduzidas e por agentes patogénicos com um largo espectro de hospedeiros (Woodroffe, 1999). Este facto torna-se especialmente preocupante em casos de reintrodução de espécies ameaçadas. Neste tipo de acções, o número de indivíduos é geralmente reduzido e poderão ser particularmente susceptíveis a doenças cujo reservatório natural é uma população com a qual vai coexistir (Viggers *et al.*, 1993).

Por outro lado, os animais sujeitos a acções de reintrodução são sujeitos a níveis de stress superiores ao normal, aumento a sua debilidade e, consequentemente, susceptibilidade a doenças. A intensidade de infecção é mínima na maioria dos animais que têm contacto com um determinado patógeno (Scott, 1988). No entanto, a imunidade adquirida através da exposição a doença, pode não ocorrer nos animais reintroduzidos, especialmente debilitados pela situação de stress em que se encontram (Viggers *et al.*, 1993).

No caso dos mamíferos carnívoros, o impacto das doenças poderá ser a dois níveis: por efeitos directos da doença ou por um surto da doença em populações da espécie presa, afectando indirectamente a população predadora. Os mamíferos carnívoros presentes na Península Ibérica ocorrem, regra geral, em densidades reduzidas o que, por um lado dificulta a disseminação das doenças, mas por outro aumenta também o risco de extinção devido ao baixo número de indivíduos nas populações (referência; Viggers *et al.*, 1993). Por outro lado, a diversidade de espécies que caracteriza as comunidades de mamíferos carnívoros ibéricas potenciam a competição inter-específica pelo espaço e por recursos (p.e. Palomares *et al.*, 1998; Monterroso *et al.*, 2006), podendo mesmo conduzir a casos de super-predação, ou seja, predação de outros predadores (e.g. Palomares *et al.*, 1996; Palomares & Caro, 1999). Estas interacções potenciam a transmissão de doenças através da comunidade de carnívoros.

Situação actual da conservação do Lince-ibérico na Península Ibérica

O Lince-ibérico (*Lynx pardinus*) é uma espécie de felino selvagem autóctone da Península Ibérica (PI) e a sua área de distribuição histórica restringe-se à região mediterrânica da PI.

O estatuto de conservação desta espécie é bastante desfavorável, sendo protegida por diversos diplomas nacionais e Europeus. Delibes *et al.* (2000) consideram o Lince como a espécie de carnívoro mais ameaçada da Europa. Nowell & Jackson (1996) fazem referência ao Lince-ibérico como a espécie de felino, mais ameaçada do planeta, sendo a espécie classificada, em 2002, como “Críticamente Ameaçada” e considerada oficialmente o felino mais ameaçado pela União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN). A justificação para a atribuição deste estatuto de conservação é que “a população decresceu para menos de metade dos 1200 estimados no início dos anos ’90, o Lince-ibérico está próximo de se tornar a primeira espécie de felino selvagem a extinguir-se pelo menos nos últimos

2000 anos. Com base nas estimativas populacionais e na distribuição geográfica (Nowell & Jackson, 1996), o total populacional de Lince-ibérico está estimado em cerca de 250 indivíduos reprodutores, com tendência populacional em decréscimo devido à perda de habitat, da presa-base e à perseguição, e nenhuma população contém mais de 50 animais maduros” (<http://www.redlist.org>).

No Seminário Internacional de Lince Ibérico, realizado em Outubro de 2002, em Andújar, foram apresentados os dados relativos à monitorização das populações espanholas de Lince-ibérico e definidas prioridades de actuação para prevenir a extinção da espécie. Uma das prioridades de conservação, em paralelo com a conservação *In-situ* foi a definição de um plano de conservação *Ex-situ*. Assim, deveria “assegurar-se que a reprodução em cativeiro garantisse a conservação da variabilidade genética, devendo ser incorporados lince provenientes não só das populações de Doñana e de Cardena-Andujar, bem como de populações marginais (...)”, bem como “impulsionar a reprodução em cativeiro de forma urgente, de acordo com o plano aprovado (...)” (Conclusões do Seminário Internacional sobre o Lince-ibérico, Andújar 29-31 de Outubro de 2002). Em 2004, foi realizado um novo seminário internacional sobre o Lince-ibérico, em Córdoba, com o objectivo de rever o estatuto das populações persistentes e de avaliar os progressos desde o primeiro seminário. Foram realizados 6 *workshops*, sobre diferentes aspectos ligados à conservação de Lince-ibérico, entre os quais, um sobre a compatibilização entre os esforços de conservação *In* e *Ex-situ*. Entre as prioridades de actuação definidas neste workshop, destacam-se a necessidade de identificar, melhorar e preparar habitat para eventuais projectos de reintrodução de Lince em Espanha e em Portugal segundo os critérios da IUCN, bem como construir instalações adequadas para a reprodução em cativeiro em extensão e número suficiente, de acordo com o protocolo estabelecido (Olszanska & Breitenmoser, 2004).

Neste sentido foi criado o “Programa de Conservación *Ex-situ* del Lince-ibérico” que consiste num esforço multidisciplinar integrado na “Estrategia Nacional para la Conservación del Lince-iberico” de Espanha. A planificação e execução das estratégias do programa de conservação *Ex-situ* são da responsabilidade do “Comité de Cria en Cautividad de Lince-ibérico” (CCCLI), que conta com representantes de instituições nacionais espanholas, instituições internacionais e com especialistas das áreas de reprodução, manejo de animais em cativeiro, genética e demografia de populações pequenas, aspectos sanitários, etologia e conservação *In-situ* (Vargas, 2004).

Os objectivos gerais do programa de reprodução em cativeiro são:

1. Conservar 85% da diversidade genética existente na natureza actualmente por um período de 30 anos;
2. Criar exemplares de Lince-ibérico adequados do ponto de vista etológico, sanitário e genético para criar novas populações em áreas de distribuição histórica ou para reforçar populações já existentes;
3. Manter um programa de conservação *Ex-situ* unificado, gerido por uma direcção executiva única e com assessoria de um comité de reprodução em cativeiro multidisciplinar, desenhado em conformidade com o modelo dos programas europeus de conservação de espécies ameaçadas (EEPs);
4. Incorporar novos centros no Programa de conservação *Ex-situ*, dando prioridade à participação de Portugal e das comunidades autónomas espanholas activamente envolvidas na protecção e conservação de habitat de lince;
5. Promover a prospecção, protecção e restauração de habitat para acolher futuras populações de lince criados em cativeiro.

No sentido de atingir os objectivos gerais de conservação propostos pelo CCCLI, deverá ser constituída uma população cativa de 60 animais reprodutores (30 macho e 30 fêmeas). Assim sendo, deverá incorporar-se 4 crias/juvenis anualmente durante um prazo de cinco anos. A fase inicial de

crescimento da população cativa é de extrema importância, devendo ser maximizado para prevenir o empobrecimento genético (Leus, 2006). No caso do Lince-ibérico, a constituição de uma população cativa é especialmente urgente para o arranque dos programas de reintrodução e reforço populacional.

Actualmente estão em actividade três centros de reprodução em Espanha. O primeiro a ser construído foi o centro de cria de Lince de “El Acebuche”, que se encontra actualmente completo. O centro de “Jerez de La Frontera”, é um centro mais especializado no acompanhamento de crias debilitadas e recuperação de lince adultos. Em Janeiro do corrente ano foi inaugurado o centro exclusivo de lince de “La Olivilla”, construído de raiz, tendo como base a experiência obtida nos centros prévios ao nível de reprodução e manejo de exemplares cativos. Actualmente a população cativa de lince conta com um total de 33 exemplares: 19 em “El Acebuche”; 3 em quarentena no centro de recuperação de espécies de “Los Villares” (Córdoba); 4 em “Jerez de La Frontera” e 6 em “La Olivilla”.

O Estado Português comprometeu-se com a construção e manutenção de um centro de reprodução exclusiva de Lince-ibérico (Serra & Sarmento, 2005), devendo este ser o terceiro centro exclusivo obrigatório para que sejam cumpridos os requisitos definidos pelo CCCLI ao nível de instalações exclusivas.

A distribuição histórica de Lince-ibérico em território nacional chegou a abranger toda a região mediterrânica de Portugal continental. No entanto, o decréscimo populacional levou a que, no final da década de '90 apenas estivessem identificadas 5 populações de lince (Serra da Malcata, Serra de S. Mamede, Vale do Guadiana, Algarve-Odemira e Vale do Sado), acolhendo 40 a 53 indivíduos (Ceia *et al.*, 1998). Num estudo mais recente (Sarmento *et al.*, 2004), verificou-se que a situação do lince em Portugal era ainda mais dramática, não sendo detectada nenhuma das populações descritas em 1998. Esta situação enfatiza a importância da participação de forma activa de Portugal na estratégia global de conservação de Lince-ibérico, nomeadamente para no que concerne à reprodução em cativeiro de animais para acções de reintrodução. A contribuição de Portugal para o programa de conservação *Ex-situ*, através da construção e manutenção de um centro exclusivo de reprodução de lince, permite consertar esforços com a estratégia de conservação *In-situ*, potenciando a recuperação da espécie na área de distribuição histórica, que abrange o território português, beneficiando da colaboração e experiência do CCCLI e Grupo de Trabalho de Lince Ibérico (GTLI).

O Instituto da Conservação da Natureza e Biodiversidade (ICNB), é a entidade governamental com a competência para “propor, acompanhar e assegurar a execução das políticas de conservação da natureza e da biodiversidade e a gestão das áreas protegidas, visando a valorização e o reconhecimento público do património natural” (Decreto-Lei n.º 136/2007, D.R. n.º 82, Série I de 2007-04-27). No exercício das suas funções, o ICNB preparou um “Plano de Acção para a Conservação do Lince-ibérico (*Lynx pardinus*) em Portugal” (ICNB, 2007), abaixo designado por PACLIP, em discussão pública entre 05 de Novembro e 05 de Dezembro de 2007. Este documento, foi desenvolvido com o principal objectivo de viabilizar a conservação da espécie em território nacional, invertendo o processo de declínio continuado das populações que conduziu à situação actual de pre-extinção.

O PACLIP, desenvolvido em com o apoio do GTLI, está dividido em quatro componentes estruturais de irrefutável importância para que o seu objectivo seja atingível: a) Programa de conservação *Ex-situ*; b) Programa de conservação *In-situ*; c) Educação, sensibilização e comunicação; e d) Investigação e monitorização.

Uma vez que o PACLIP inclui acções de reprodução em cativeiro e de reforço populacional e reintrodução, a articulação entre as componentes de conservação *Ex-situ* e *In-situ* é particularmente importante, não só para que haja um bom conhecimento e fomento das populações selvagens, como para selecção e adequação de áreas para potenciais acções de reintrodução.

Neste contexto, entre as prioridades de conservação tanto das populações existentes como para cumprir as especificações definidas pela IUCN para re-introduções (IUCN/SSC, 1995) é necessária a realização de uma prospeção das zoonoses nas áreas de potencial ocorrência da espécie bem como nas áreas de reintrodução.

Objectivos

Tendo em conta a conjuntura actual da conservação do Lince-ibérico em Portugal, foi elaborado o presente documento cujos os objectivos são:

1. Descrever a etiologia, epidemiologia, patogenia, sintomatologia e diagnóstico das doenças definidas pelo GTLI como potencialmente perigosas para a espécie;
2. Definir protocolos de amostragem e de diagnóstico para a pesquisa das referidas doenças;
3. Determinar e descrever as espécies de mamíferos carnívoros potencialmente perigosas para a transmissão de doenças ao Lince-ibérico em populações naturais;
4. Definir protocolos de captura e gestão pós-captura para as espécies acima definidas.

ESPÉCIES ALVO

Família

CANIDAE

Espécie	<p>Raposa (<i>Vulpes vulpes</i>)</p> 
Descrição	<p>É um canídeo de porte médio. As fêmeas pesam, em média, cerca de 5,4kg e os machos 6,7kg. Apresenta pelagem de tonalidade castanho-alaranjada, com a zona inferior branco-sujo. A cauda é longa e tem a extremidade branca.</p>
Ecologia	<p>A raposa ocorre numa grande variedade de habitats por toda a europa, apresentando um comportamento muito adaptável e uma alimentação omnívora e oportunista, alimentando-se desde insectos a matéria vegetal até cadáveres.</p>
Importância para a transmissão	<p>A raposa tem uma distribuição alargada na Península Ibérica (Palomo & Gisbert, 2002; Cabral <i>et al.</i>, 2005), mantendo uma certa continuidade populacional. Neste contexto, a raposa entre em competição pelo espaço e por recursos com outras espécies de carnívoros simpátricas (Palomares <i>et al.</i>, 1996; Monterroso <i>et al.</i>, 2006).</p> <p>Entre os muitos exemplos da persistência de patogénios nas populações de raposas apresentam-se alguns:</p> <p>Davidson <i>et al.</i> (1992) detectaram elevadas prevalências muito elevadas de anticorpos contra parvovírus canino e adenovírus canino em raposas no estado de Carolina (EUA) e prevalências mais reduzidas de anticorpos contra o herpesvírus canino e parainfluenza; Damien <i>et al.</i> (2002) detectou prevalências entre os 9 e 13% de anticorpos contra a esgana em raposas no Luxemburgo; Milas <i>et al.</i> (2006) Detectaram anticorpos contra <i>Leptospira</i> em 32% das raposas analisadas na Croácia; No Parque Nacional de Doñana (Espanha), Martin-Atance <i>et al.</i> (2006) detectaram anticorpos contra <i>Mycobacterium bovis</i> em 4% das raposas analisadas; Truyen <i>et al.</i> (1998) detectaram prevalências de 13% para parvovírus, de 4,4% para esgana, 3,5% de adenovírus e de 0,4% para herpesvírus em raposas na Alemanha.</p> <p>Palomares <i>et al.</i>, 1996 e Palomares <i>et al.</i>, 1998 observaram relações de agressividade entre o Lince-ibérico e a raposa, que podem mesmo resultar na morte do último.</p>
Doenças a pesquisar	<p>Tuberculose, Leptospirose, Brucelose, Ehrlichiose, Tularémia, Borreliose de Lyme, Panleucopénia e outras parvovirose, Esgana,</p>

Leishmaniose, Toxoplasmose, Piroplasmose

Família

FELIDAE

Espécie

Gato-bravo (*Felis silvestris*)



Descrição

O Gato-bravo é um pequeno felino com cerca de 4,5kg de peso médio, sendo que as fêmeas possuem uma massa corporal ligeiramente inferior aos machos. Ao nível da pelagem o gato-bravo aproxima-se do seu conspecifico doméstico de raça “europeu”. No entanto, existem algumas características típicas da sub-espécie silvática como sejam a extremidade grossa da cauda e arredondada com uma mancha negra, antecedida de 2 a 3 anéis negros; uma linha dorsal que se estende da zona cervical e que nunca se prolonga até à extremidade da cauda; entre outras características (Ragni & Possenti, 1996; Spassov *et al.*, 1997; Kitchener *et al.*, 2005).

Ecologia

A ecologia do gato-bravo é bastante diversificada. É uma espécie essencialmente associada a áreas florestais nas regiões de clima Euro-siberiano, onde se alimenta preferencialmente de roedores (Nowell & Jackson, 1996; Lozano *et al.*, 2006). Nas regiões mediterrânicas da Península Ibérica e Itália, o gato-bravo selecciona preferencialmente áreas de mosaico entre matagais mediterrâneos e áreas abertas (Ragni, 1978; Lozano *et al.*, 2003; Monterroso *et al.*, *in prep*), onde se o coelho-bravo (*Oryctolagus cuniculus*) passa a ser o principal componente da sua dieta (Ragni, 1978; Aymerich, 1982; Malo *et al.*, 2004).

Importância para a transmissão

Apesar da descontinuidade que se observa na distribuição espacial de núcleos populacionais de gato-bravo, esta espécie tem preferências de habitat e de presas muito sobreponíveis à do Lince-ibérico nas regiões mediterrâneas (Lozano, 2003; Malo *et al.*, 2004; Palomares *et al.*, 2001), podendo levar a situações de competição directa pelo espaço e por recursos. Nas áreas até recentemente ocupadas por Lince-ibérico, revelaram um subsequente aumento da população de gato-bravo (Guzmán, *com. pess.*).

Por outro lado, o contacto frequente e potencial hibridação (Pierpaoli *et al.*, 2003; Oliveira *et al.*, *in press*) com populações de gatos domésticos/ferais favorecem a transmissão de doenças potencialmente perigosas, específicas de felinos (como a FIV ou FeLV) ou de espectro mais alargado (como a toxoplasmose ou tuberculose), das quais as

populações domésticas poderão ser o reservatório.

Entre os muitos exemplos da persistência de patógenos nas populações de gato-bravo apresentam-se alguns:

Na Escócia, onde o contacto e hibridação de gato-bravo com gato domésticos são preocupantes, Daniels *et al.* (1999) apesar de não detectarem FIV em nenhum dos animais analisados, detectaram prevalências de 13% e 26% para antigénios de FeLV e de FCV; e de 16% e 6% para anticorpos contra FHV e FcoV. Leutenegger *et al.* (1999) avaliaram a presença de doença virais em 51 gatos originários da Alemanha, França e Suíça, e detectaram prevalências de 74% e 1% para antigénios de FeLV e FcoV; e de 16%, 4% e 2% para anticorpos de FVC, FHV e FPV. Os autores não detectaram presença de antigénios ou anticorpos contra FIV.

Doenças a pesquisar

Tuberculose, Leptospirose, Clamidiose, Brucelose, Ehrlichiose, Tularémia, Hemobartolose, Borreliose de Lyme, Peritonite Infeciosa Felina, Imundeficiência Viral Felina, Leucemia Felina, Rino traqueíte Felina, Panleucopénia e outras parvovirose, Esgana, Leishmaniose, Toxoplasmose, Piroplasmose, Cytauxzoonose

Família

MUSTELIDAE

Espécie

Texugo (*Meles meles*)



Descrição

O Texugo é um mustelídeo de dimensões médias. O seu peso sofre variações acentuadas ao longo do ano, situando-se cerca dos 10 a 15kg. Apresenta um corpo robusto, com patas curtas e fortes, adaptadas à escavação. O tom da pelagem é cinzento, sendo as zona ventral mais escura. A cabeça é branca com duas riscas longitudinais que se estendem desde a nuca, atravessando as orelhas e olhos, quase até ao focinho.

Ecologia

Ao nível do habitat, o Texugo prefere zonas de florestas caducifólias com clareiras ou zonas de pastagem abertas com pequenas machas de bosque. Tpdavia, esta espécie tem uma grande tolerância à qualidade do habitat, ocorrendo também em florestas de coníferas, matos, zonas agrícolas e áresa suburbanas (Prigioni, 1999; Sarmiento *et al.*, 2000)

A alimentação deste mustelídeo é muito variada e oportunística, alimentando-se de frutos, artrópodes, cadáveres, roedores ou coelhos.

Importância para a transmissão

O Texugo apresenta uma distribuição alargada e contínua por toda a Europa, ocorrendo numa grande diversidade de habitats, nomeadamente rurais. Este facto, aliado à necrofagia que caracteriza uma parte da alimentação da espécie, faz com que seja o reservatório de variadas doenças perigosas para a comunidade de mamíferos. O texugo encontra-se especialmente relacionado com a transmissão da tuberculose, sendo variados os estudos que fazem referência à elevada prevalência deste agente nas populações do mustelídeo, bem como ao sua ameaça para a conservação de espécies selvagens (p.e. Martin-Atence, 2006; Mathews *et al.*, 2006).

A competição por recursos, em especial por coelho, em áreas onde o texugo ocorra em simpatria com o Lince-ibérico, pode conduzir a relações de competição e contacto directo entre as duas espécies.

Doenças a pesquisar

Tuberculose, Leptospirose, Brucelose, Ehrlichiose, Tularémia, Borreliose de Lyme, Panleucopénia e outras parvovirose, Esgana, Leishmaniose, Toxoplasmose, Piroplasmose

Espécie

Fuíinha (*Martes foina*)



Descrição

A fuínha é um pequeno mustelídeo, com cerca de 1 a 2,3kg de peso. Tem o corpo esguio, patas curtas e uma cauda longa, com muito pêlo. A pelagem é escura, sendo ligeiramente mais aclarada na cabeça, escurecendo para as extremidades. Possui uma “babete” branco sujo, que se estende da face inferior do focinho até à articulação dos membros anteriores.

Ecologia

A Fuínha é um mamífero carnívoro generalista, tanto ao nível da selecção do habitat como da alimentação. Ocorre numa grande diversidade de habitats e tolera a proximidade a populações humanas (IUCN, 2007). No entanto, a sua presença está relacionada com a dimensão das manchas florestais e respectiva conectividade entre as mesmas (Virgós & García, 2002).

Importância para a transmissão

Apesar de não haver muita informação disponível na literatura acerca da prevalência das doenças abaixo discriminadas, a proximidade a comunidades humanas poderá contribuir para a circulação de patógenos

para a comunidade de mamíferos carnívoros selvagens, sendo que a continuidade espacial das populações de Fuínha promovem esta espécie como potencial reservatório de algumas doenças potencialmente perigosas. Alguns estudos referem a competição por recursos entre a Fuínha e outros carnívoros, nomeadamente a raposa (Pardial *et al.*, 2002; Monterroso, *dados não publicados*). O contacto promovido pela competição inter-específica, bem como o uso das mesmas áreas, são comportamentos que promovem a disseminação e contágio das doenças pela comunidade de mamíferos carnívoros.

Doenças a pesquisar

Tuberculose, Leptospirose, Brucelose, Ehrlichiose, Tularémia, Borreliose de Lyme, Panleucopénia e outras parvovirose, Esgana, Leishmaniose, Toxoplasmose, Piroplasmose

Família

VIVERRIDAE

Espécie

Geneta (*Genetta genetta*)



Descrição

A geneta é um pequeno viverrídeo originário do norte de África que neste momento se considerada naturalizado nos ecossistemas Ibéricos. Pesa entre 1 e 2,5kg. A pelagem apresenta manchas de cor negra sobre uma matriz cinza acastanhada. Possui uma longa cauda com anéis negros.

Ecologia

Apesar de ser uma espécie generalista, ao nível do habitat a Geneta ocorre preferencialmente em áreas com coberto arbóreo (Virgós & Casanovas, 1997; Palomares & Delibes, 1994), sendo muito comum nos matagais e montados dos ecossistemas mediterrânicos ibéricos. Ao nível da selecção de presas, apesar de intrinsecamente ser uma espécie generalista, a sua alimentação situa-se entre os generalistas típicos, como a raposa ou o texugo, e os especialistas (Virgós *et al.*, 1999). O espectro alimentar desta espécie é muito alargado, mas selecciona preferencialmente micromamíferos, nomeadamente o Rato-do-campo (*Apodemus sylvaticus*).

Importância para a transmissão

Palomares *et al.* (1996) observaram relações de segregação espacial entre a Geneta e o Lince-ibérico, sendo que a primeira evita áreas preferencialmente usadas pelo felino. Os mesmos autores detectaram mesmo interações de agressividade que resultaram na morte do

viverrídeo. Por outro lado, a par do contacto físico que pode ocorrer entre estas espécies e do uso das mesmas áreas, o carácter generalista da Geneta e preferência pela predação de micromamíferos (grupo que pode funcionar como reservatório de doenças potencialmente perigosas como a Leishmaniose, Toxoplasmose ou Leptospirose) promovem a disseminação e contágio das doenças pela comunidade de mamíferos carnívoros.

Apesar do potencial risco que a Geneta apresenta como reservatório de algumas doenças na comunidade de mamíferos carnívoros, existe pouco informação disponível na literatura sobre o assunto. Sobrino *et al.* (2007) detectaram prevalências de 61,7% de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em genetas de Espanha.

Doenças a pesquisar	Tuberculose, Leptospirose, Brucelose, Ehrlichiose, Tularémia, Borreliose de Lyme, Panleucopénia e outras parvovirose, Esgana, Leishmaniose, Toxoplasmose, Piroplasmose
---------------------	--

Família **HERPESTIDAE**

Espécie	Sacarrabos <i>(Herpestes ichneumon)</i>	
---------	---	---

Descrição	O Sacarrabos é um herpestídeo oriundo de África, introduzido na Península Ibérica. A sua distribuição é essencialmente por toda a região mediterrânica da Península, mas tem-se expandido para norte atingindo actualmente a região do rio Douro em Portugal (Borralho <i>et al.</i> , 1996, Monterroso, <i>dados não publicados</i>) e perto de Léon, em Espanha (Palomo & Gisvert, 2002). Tem um peso médio de 3,6kg e apresenta uma coloração castanho acinzentada. O corpo é compacto e as patas curtas.
-----------	---

Ecologia	Esta espécie é a única espécie da comunidade de carnívoros ibéricos com hábitos maioritariamente diurnos (Palomares & Delibes, 1991). Ao nível do habitat o Sacarrabos é um generalista, ocorrendo numa grande diversidade de habitats, no entanto prefere habitats mediterrâneos, com preferência por zonas húmidas, com sub-coberto (Delibes, 1999). Alimentação do Sacarrabos é omnívora.
----------	--

Importância para a transmissão	Palomares <i>et al.</i> (1995) e Palomares <i>et al.</i> (1996) observaram relações de segregação espacial entre o Sacarrabos e o Lince-ibérico,
--------------------------------	--

sendo que a primeira evita áreas preferencialmente usadas pelo felino. Os mesmos autores detectaram mesmo interações de agressividade que resultaram na morte do viverrídeo. Por outro lado, a par do contacto físico que pode ocorrer entre estas espécies e do uso das mesmas áreas, o carácter generalista do Sacarrabos e hábitos necrófagos promovem a disseminação e contágio das doenças pela comunidade de mamíferos carnívoros.

Apesar do potencial risco que o Sacarrabos apresenta como reservatório de algumas doenças na comunidade de mamíferos carnívoros, existe pouca informação disponível na literatura sobre o assunto. Sobrino *et al.* (2007) detectaram prevalências de 59,1% de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em genetas de Espanha.

Doenças a pesquisar

Tuberculose, Leptospirose, Brucelose, Ehrlichiose, Tularémia, Borreliose de Lyme, Panleucopénia e outras parvovirose, Esgana, Leishmaniose, Toxoplasmose, Piroplasmose

PATOLOGIAS A PESQUISAR

Doenças Bacterianas

Tuberculose

Etiologia

A tuberculose (TB) é uma zoonose bacteriana crónica e progressiva, geralmente caracterizada pela formação de granulomas em diversos órgãos, causada por bacilos do género *Mycobacterium*. Actualmente, é considerada uma doença emergente em várias regiões do mundo, quer em populações humanas, que em populações animais, domésticas ou selvagens.

Epidemiologia

Apesar de ser uma patologia pouco frequente em carnívoros selvagens, a sua incidência tem vindo a aumentar. A maioria dos casos é causado por *M. bovis* e mais raramente, por *M. tuberculosis*, pelo complexo *M. avium-intracellulare* e por Micobactérias saprófitas (também designadas por atípicas).

A infecção tem sido esporadicamente detectada em várias espécies de carnívoros selvagens, livres ou em cativeiro, como *Puma concolor* (Pavlik et al 2002), *Lynx rufus* (Brunnig-Fann et al 2001), *Canis latrans* (Brunnig-Fann et al 2001), *Vulpes vulpes* (Brunnig-Fann et al 2001, Martín-Atance et al 2005), *Procyon lotor* (Brunnig-Fann et al 2001), *Ursus americanus* (Brunnig-Fann et al 2001). Casos clínicos de tuberculose foram diagnosticados em *L. pardinus* (Briones et al 2000, Aranaz et al 2004). Apesar de tudo, os casos de TB em carnívoros selvagens parecem ser essencialmente resultantes de transmissão acidental e tendem a ser não contagiosos, acreditando-se que seja difícil a persistência do agente numa dada população de carnívoros na ausência de uma fonte externa de re-infecção (Clifton-Hadley et al 2001)

A excepção será o caso dos texugos (*Meles meles*), considerados verdadeiros reservatórios silváticos da doença na Europa e capazes de manter a infecção de forma persistente nas suas populações (Corner 2006). Recentemente, foram descritos surtos de TB em Suricatas (*Suricata suricata*) e Mangusto-raiado (*Mungos mungo*), em que terá ocorrido transmissão directa entre os indivíduos afectados (Alexander et al 2002, Clifton-Hadley et al 2001)

A transmissão de TB em carnívoros selvagens pode ocorrer de diversas formas: 1) inalação de aerossóis produzidos a partir de exsudados, corrimento respiratório, fezes ou urina contaminados; 2) ingestão de carne e vísceras contaminadas; 3) vertical; 4) pseudo-vertical (através da ingestão de leite materno ou de cuidados parentais; 5) contacto directo com lesões cutâneas exsudativas (ex: lutas entre animais). As Micobactérias são relativamente resistentes no meio exterior, podendo persistir até 5 meses em ambientes frios e húmidos.

A prevalência da infecção varia bastante conforme a região em estudo, a espécie animal (depende da sua susceptibilidade natural à infecção, estrutura social e comportamento) e a técnica de diagnóstico utilizada. A taxa de mortalidade é igualmente difícil de determinar, quer pelo curso lento e insidioso da doença, quer pela dificuldade em recuperar cadáveres de

carnívoros selvagens.

Na Europa, têm sido estimadas as seguintes prevalências de infecção em carnívoros selvagens:

Espécie	Prevalência (%)	Região	Técnica diagnóstico	Referência
<i>Meles meles</i>	38	Espanha	ELISA (Acs anti- MPB70)	Martín-Atance P et al 2006
	12	Reino Unido	Cultura em meio Lowenstein-Jensen	DEFRA/OIE
<i>Vulpes vulpes</i>	11	Espanha	ELISA (Acs anti- MPB70)	Martín-Atance P et al 2006

Patogenia e sintomatologia

Independentemente da via de entrada no organismo, as micobactérias são invariavelmente fagocitadas por células do sistema reticulo-endotelial fagocitário e transportadas para o linfonodo regional, onde formam um granuloma. Estas lesões iniciais são designadas por complexo primário. São então activados diferentes componentes de imunidade celular, que levam à proliferação local de macrófagos, neutrófilos, linfócitos e tecido fibroso e libertação de citocinas, de modo a conter o foco de infecção. Dependendo do grau de virulência das micobactérias envolvidas e do estado imunitário do animal, a infecção pode ser debelada ou disseminar localmente ou através da corrente sanguínea para outros órgãos.

A sintomatologia só surge geralmente em fases avançadas da doença e inclui sinais inespecíficos como anoréxia, depressão, emaciação e mau estado da pelagem. Pode ainda ocorrer linfadenomegália com ou sem formação de fístulas para o exterior, atraso na cicatrização de feridas, alopecia localizada, opacidade da córnea ou parésia dos membros. Quando ocorre envolvimento pulmonar, os animais afectados exibem tosse, dispneia e intolerância ao exercício.

Em carnívoros selvagens, a sintomatologia descrita inclui claudicação resultante de artrite tuberculosa num *L. pardinus* (Briones et al 2000),

Diagnóstico

O diagnóstico de TB é geralmente difícil, devido ao curso insidioso da doença, ao crescimento lento e fastidioso das micobactérias em cultura e devido à pouca importância que a imunidade humoral tem no curso da doença, tornando pouco fiáveis provas que detectem anticorpos circulantes. Apesar de tudo, a cultura e isolamento em meios específicos (Lowenstein-Jensen), é a prova *golden-standard* para o diagnóstico de TB. Cortes histológicos de tecidos, com ou sem colorações específicas (Ziehl-Nielsen ou Auramina), também podem suportar o diagnóstico da infecção, assim como a utilização de análises moleculares como PCR para detecção de sequências de DNA específicas do agente. As provas de imunidade celular são largamente usadas no diagnóstico de TB e humanos e ungulados domésticos, mas têm pouca aplicação em carnívoros; Recentemente, técnicas como LPA (Lymphocyte

Proliferation Assay), MAPIA (Multi-antigen Print Immunoassay), FPA (Fluorescent Polarization Assay) ou a medição de IFN- γ mostram-se promissoras, embora ainda em fase experimental (Cousins 2005, Lisle 2002).

As provas serológicas para detecção de anticorpos anti-micobactérias, apesar de pouco sensíveis, assentam essencialmente em provas de ELISA. Recentemente, a detecção de anticorpos anti-MPB70 (proteína de *Mycobacterium bovis*) por ELISA foi utilizada com aparente sensibilidade e especificidade em carnívoros selvagens em Espanha (Martín-Atance et al 2006).

O diagnóstico diferencial de TB deve incluir outras patologias como Actinomicose, Actinobacilose, Nocardiose, Blastomicose, Criptococose, Histoplamose, Esporotricose, outras infecções bacterianas e várias neoplasias.

Leptospirose

Etiologia

A Leptospirose é uma doença bacteriana causada por uma espiroqueta, *Leptospira interrogans*, de distribuição mundial e afectando praticamente todas as espécies de mamíferos, incluindo o Homem. Estão descritos cerca de 200 serovars, agrupados em 30 serogrupos, cuja prevalência varia geográfica e temporalmente.

Epidemiologia

As leptospiras, presentes nos túbulos renais de animais infectados, são geralmente excretadas com a urina, contaminando o solo e águas superficiais. A infecção de novos hospedeiros pode ocorrer por ingestão de água ou alimentos contaminados, inalação de aerossóis ou por contacto directo com a conjuntiva ou pele húmida ou com abrasões. Outras vias de transmissão menos importantes são a sexual, transplacentária, através de contactos directos (sociais) entre indivíduos ou através da ingestão de leite materno ou de tecidos infectados. Apesar de infectar apenas mamíferos e anfíbios, têm sido isoladas leptospiras em artrópodes, répteis e aves, podendo estes funcionar como transmissores mecânicos (Leighton 2001).

Do ponto de vista epidemiológico, os mamíferos podem ser classificados como: 1) hospedeiros de manutenção, que embora sendo altamente susceptíveis à infecção, raramente sofrem sintomatologia clínica e em que as leptospiras persistem nos túbulos renais durante longos períodos de tempo, tornando fácil e frequente a transmissão da doença pela população. 2) hospedeiros acidentais, que embora sendo menos susceptíveis à infecção (requerem maiores doses infecciosas ou estão ecologicamente separados dos hospedeiros de manutenção habituais), sofrem sintomatologia clínica de forma mais frequente e grave. Num mesmo local, os hospedeiros de manutenção e acidentais podem ir variando ao longo do tempo, dependendo da prevalência dos diferentes serovars de leptospiras.

Na Europa, a prevalência da infecção em populações de *V. Vulpes* na Croácia foi estimada em 57,6 %, sendo Serovars mais frequentes *australis*, *sejroe* e *icterohaemorrhageae* (Milas et al 2006).

Patogenia e sintomatologia

A sintomatologia pode variar desde casos inaparentes até quadros agudos graves e fatais. Os sintomas incluem: febre, anoréxia, hemorragias nas membranas mucosas, icterícia, hematúria ou hemoglobínúria, desidratação, uveíte anterior, vômito e dor abdominal. Ocasionalmente, estão descritos casos de meningite, pneumonia, insuficiência renal crónica, agaláxia, aborto e diminuição da taxa de fertilidade. Animais que sobrevivam a uma infecção desenvolvem títulos de anticorpos protectores, eliminando rapidamente o agente, embora possam permanecer subclínicamente infectados.

Apesar de ter sido descrita em praticamente todos os grupos de mamíferos, incluindo carnívoros selvagens e de algumas das populações estudadas

apresentarem títulos de anticorpos positivos, os casos de doença são raros, estando aparentemente associados aos meses de Verão e Outono, períodos de pluviosidade elevada e solos alcalinos.

Diagnóstico

Os métodos de diagnóstico incluem análises serológicas, como o teste de microaglutinação (MAT), cultura e isolamento a partir de amostras de sangue, urina ou órgãos ou por cortes histológicos de órgãos afectados como colorações argêntas específicas. Recentemente, a técnica de PCR tem vindo a ser aplicada igualmente. Apesar de ser a técnica de diagnóstico de eleição, a serologia não é muito fiável para avaliar a prevalência de infecção (número elevado de falsos-negativos e falsos-positivos, principalmente pelas reacções cruzadas entre diferentes serovars), particularmente quando se desconhecem os serovars presentes na zona em estudo. Um título de anticorpos positivo pode indicar uma infecção activa (especialmente se superior a 1:3200) ou exposição anterior ao agente.

	Clamidiose
Etiologia	<p>A clamidiose é uma doença bacteriana causada por um parasita intracelular obrigatório, de distribuição mundial, usualmente designado por <i>Chlamydia psittaci</i>, capaz de infectar Mamíferos (em particular, alguns marsupiais, felinos e o Homem) e Aves. Recentemente, foi proposto que o agente envolvido na infecção em felinos, e que ocasionalmente é transmitido ao Homem, passe a ser designado por <i>Chlamydomphila felis</i>.</p>
Epidemiologia	<p>A transmissão ocorre através de contacto directo entre indivíduos ou por inalação/contacto com a conjuntiva ocular de aerossóis de secreções respiratórias ou oculares de animais infectados.</p>
Patogenia e sintomatologia	<p>Nos felinos a sintomatologia inclui conjuntivite e rinite, podendo em alguns indivíduos imunodeprimidos, progredir para pneumonia.</p>
Diagnóstico	<p>O diagnóstico da doença pode ser feito através de citologia (utilizando colorações específicas, como Gimenez, Machiavello ou colorações citológicas de rotina Giemsa) ou PCR, preparados a partir de zaragatoas da conjuntiva ocular ou de corrimento nasal. Em alternativa, os anticorpos produzidos pelo indivíduo infectado podem ser detectados através de várias técnicas serológicas, como IFA.</p>

Brucelose

Etiologia

A Brucelose é uma doença bacteriana causada por espécies do género *Brucella*, parasitas intracelulares facultativos, de distribuição mundial. A infecção em carnívoros é geralmente causada por *B. Canis*, tendo sido identificada em algumas espécies de carnívoros selvagens na Europa como *Canis lupus*, *Vulpes vulpes*, *Lutra lutra* e *Meles meles* (Thorne 2001).

Epidemiologia

A transmissão é feita através da ingestão de alimentos ou tecidos contaminados (o agente é muito resistente no meio ambiente, podendo persistir até 6 meses em condições favoráveis), em particular a placenta, fetos e membranas anexas de animais infectados. Mais raramente, a transmissão pode ocorrer por inalação de aerossóis, através da conjuntiva ocular ou através da cópula e o agente ser excretado pela urina e leite materno.

Patogenia e sintomatologia

Em Carnívoros, a doença clínica é rara, sendo geralmente auto-limitante e sem grandes consequências para o hospedeiro. Pode, contudo, levar a diminuição da fertilidade dos indivíduos infectados e no caso das fêmeas, abortos tardios, morte prematura das crias e retenção placentária. Nos machos, pode ocorrer atrofia testicular, particularmente em infecções crónicas. Mais raramente, estão descritos casos de uveíte, discoespondilite, osteomielite e dermatite.

Diagnóstico

O diagnóstico é usualmente feito através de serologia, podendo ser detectados anticorpos anti-LPS da parede do agente (presentes a partir da 3ª à 10ª semana pós-infecção) ou anticorpos anti-citoplasma (presentes só a partir das 8-12 semanas pós-infecção). A detecção de anticorpos anti-LPS pode ser feita através de Teste Rápido em Lâmina (RSAT), Aglutinação em Tubo (TAT) ou ELISA, embora estando descritas reacções cruzadas com outras bactérias, como *Yersinia* sp., *E. coli*, *Salmonella* sp. e *Francisella tularensis*. A detecção de anticorpos anti-citoplasma é geralmente feita por Imunodifusão em Agar-Gel (AGID), que embora muito mais específica que as outras provas, é menos sensível e de realização mais complexa.

Uma certa percentagem de indivíduos infectados mas não reactivos, em que o agente se encontra retido no tecido linfóide, podem não apresentar um título de anticorpos suficiente para ser detectado pelas técnicas serológicas. Do mesmo modo, durante as primeiras 4 semanas pós-infecção os títulos de anticorpos ainda não são detectados, podendo resultar em falsos-negativos. Em alternativa, o diagnóstico da doença pode ser feito através de hemocultura e isolamento.

Ehrlichiose

Etiologia

A Ehrlichiose é uma doença bacteriana causada por Rickettsias do género *Ehrlichia*, parasitas intra-celulares obrigatórios e que afecta uma grande variedade de espécies de Mamíferos, incluindo o Homem.

Epidemiologia

A transmissão da doença é feita através da picada de carraças da família Ixodidae. Não ocorrendo transmissão trans-ovária, uma carraça não-exposta tem de se alimentar de um indivíduo infectado em fase de rickettsiemia para perpetuar a transmissão da doença. Na Europa estão identificadas, pelo menos, 4 espécies de *Ehrlichia*, cada uma com um ou mais reservatórios silváticos vertebrados preferenciais, tropismo para determinadas células do hospedeiro e transmitida principalmente por uma espécie ou género de Ixodídeos (Davidson et al 2001):

Espécie de <i>Ehrlichia</i>	Reservatórios	Tropismo celular	Hospedeiro intermediário/vector
<i>E. canis</i>	<i>Canis familiaris</i> , <i>Canis lupus</i> , <i>Vulpes vulpes</i>	Monócitos, macrófagos	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> , <i>Dermacentor</i> sp.
<i>E. platys</i>	<i>C. familiaris</i>	Plaquetas	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>
<i>E. chaffensis</i>	<i>Vulpes vulpes</i>	Monócitos, macrófagos	<i>Amblyoma</i> sp.
<i>E. (Anaplasma) phagocytophilla</i>	Homem	Granulócitos	<i>Ixodes</i> sp.

A prevalência da infecção, entre outros factores, depende da espécie hospedeira e da região em estudo; em carnívoros europeus têm sido determinados os seguintes valores:

Hospedeiro	Espécie de <i>Ehrlichia</i>	Prevalência (%)	Região	Referência
<i>Vulpes vulpes</i>	<i>E. phagocytophilla</i>	2,8	Suiça	Pusterla et al 1999
	<i>E. chaffensis</i>	7	Holanda	Groen et al 2002
<i>Lynx lynx</i>	<i>E. phagocytophilla</i>	6,7	Suécia	Ryser-Degiorgis et al 2005

Patogenia e

sintomatologia	A sintomatologia inclui na fase aguda (1 a 3 semanas pós-infecção, durando 2 a 4 semanas), febre, depressão, anoréxia, linfadenopatia, hemorragias, esplenomegália e anemia. Apesar de os animais infectados produzirem anticorpos e alguns eliminarem o agente, geralmente a infecção persiste e pode tornar-se crónica, caracterizada por anemia, linfadenopatia, poliartrite, uveíte e outras lesões oculares e alterações neurológicas.
Diagnóstico	O diagnóstico de Ehrlichiose pode ser feito através da detecção de anticorpos através de técnicas de ELISA ou IFA, embora estejam descritas reacções cruzadas com outras Rickettsias. As inclusões que os organismos criam nas células infectadas, designadas por mórulas, podem ainda ser detectados através de microscopia óptica em esfregaços sanguíneos ou citologia/biópsia de linfonodos ou medula óssea corados com Giemsa/Diff-Quick®. Contudo, esta técnica é pouco sensível, pois frequentemente o número de células infectadas é reduzido e não permite diferenciar entre as diferentes espécies de <i>Ehrlichia</i> . A técnica de PCR também pode ser utilizada para a detecção do organismo no sangue ou amostras de tecidos.

Tularémia

Etiologia

A tularémia é uma doença bacteriana causada por *Francisella tularensis*, parasita intra-celular obrigatório. Estão descritas 2 subespécies, *F. t. tularensis* (tipo A), mais virulenta, particularmente para Lagomorfos e humanos, presente principalmente na região Neártica e *F. t. palaeartica* (tipo B), menos virulenta e presente por toda a região Holártica.

Epidemiologia

Os hospedeiros susceptíveis podem ser separados em 2 grupos: I) espécies altamente susceptíveis e sensíveis (como a maioria dos Roedores, sendo os géneros *Arvicola* e *Microtus* reservatórios importantes); II) espécies susceptíveis mas pouco sensíveis (como alguns Roedores e Lagomorfos, sendo *Lepus* sp. mais susceptível à infecção que *Oryctolagus cuniculus*); III) espécies pouco susceptíveis e insensíveis à infecção (Carnívoros). Apesar de afectar principalmente Roedores e Lagomorfos, outras espécies de mamíferos, incluindo o Homem, podem ser infectados, assim como Aves, Anfíbios e alguns invertebrados (Morner e Adison 2001).

A transmissão da doença ocorre principalmente através da picada de insectos vectores (mosquitos, pulgas, carraças e dípteros da família Tabanidae). No caso das carraças, os géneros *Dermacentor*, *Ixodes* e *Rhipicephalus* são os mais implicados na transmissão de *F. tularensis*, estando igualmente descrita a transmissão trans-estadial e trans-ovária. Mais raramente, a transmissão pode ocorrer através do contacto ou ingestão de água, sangue e tecidos animais contaminados, através da pele intacta ou ferida, da conjuntiva ocular ou através da inalação de aerossóis. Os hospedeiros susceptíveis, para além de manterem o agente em circulação ou nos tecidos, podem excretá-lo para o meio ambiente através da urina ou fezes.

Patogenia e sintomatologia

A Tularémia causa geralmente uma infecção aguda e o seu curso depende da susceptibilidade do hospedeiro, da presença de imunidade adquirida e da virulência do agente. Geralmente, no local de entrada da bactéria no organismo, desenvolve-se uma área de necrose e ulceração, após o qual esta dissemina-se pela circulação sanguínea e linfática, indo criar focos de necrose e coagulação em linfonodos, fígado, baço, medula óssea e pulmões.

Os sintomas são geralmente inespecíficos (febre, depressão, anoréxia) e frequentemente, os animais infectados morrem subitamente. Na necrópsia, são geralmente identificadas alterações compatíveis com septicémia, congestão e edema pulmonar, pneumonia, pleurite, trombo-embolismo dos vasos sanguíneos e focos de necrose caseosa nos linfonodos e outros órgãos.

Diagnóstico

O diagnóstico pode ser feito através de citologia/histopatologia de órgãos

com lesões, Imunofluorescência indirecta de cortes histológicos, PCR de tecidos ou através de serologia (aglutinação em tubo, micro-aglutinação ou IFA), embora esta possa ser considerada pouco sensível, já que frequentemente os animais infectados morrem antes que o sistema imune produza anti-corpos. Apesar de ser possível identificar o agente em cultura bacteriana, o seu crescimento e isolamento é difícil e laborioso e geralmente só indicado em laboratórios com nível de bio-segurança 2 ou 3.

Hemobartolose

Etiologia

A Hemobartolose é causada por hemoplasmas (bactérias desprovidas de parede celular pertencentes ao género *Mycoplasma* com tropismo para os eritrócitos). Estão identificadas 3 espécies que afectam felinos: *M. haemofelis* (também designado até há bem pouco tempo por *Haemobartonella felis*), *M. haemominutum* e *M. turicensis*. Outras espécies de mamíferos são infectados por outras espécies de hemoplasmas, embora habitualmente não causem doença clínica.

Epidemiologia

Em felinos domésticos a infecção tem distribuição mundial, sendo mais frequente em climas mais quentes. Apesar de comum nesta espécie, a sua transmissão ainda está pouco esclarecida, sendo habitualmente associada à picada de pulgas e carraças. Outras vias possíveis de transmissão incluem dentadas entre indivíduos infectados, já que *M. haemominutum* e *M. turicensis* foram detectados na saliva de gatos infectados ou através da ingestão de presas infectadas, pois *M. turicensis* está filogeneticamente muito próximo das espécies de hemoplasmas que infectam roedores.

Em felinos selvagens a infecção foi detectada em várias espécies, quer em animais mantidos em cativeiro, quer em animais de vida livre, sendo mais frequente em *Panthera leo*, em indivíduos de vida livre e em *Felis silvestris* co-infectados com FeLV. A prevalência da infecção varia conforme a espécie hospedeira, tendo sido determinada para as espécies de felinos ocorrentes na Europa (Willi et al 2007). Estão também descritas infecções por mais de uma espécie de hemoplasma.

Hospedeiro	Prevalência (%)
<i>Lynx lynx</i>	44
<i>L. pardinus</i>	37
<i>Felis silvestris</i>	39

Patogenia e sintomatologia

A hemobartolose caracteriza-se geralmente por um quadro de anemia hemolítica. Em felinos, a sintomatologia está associada à destruição maciça de eritrócitos infectados e inclui febre, depressão, anoréxia, desidratação e icterícia, podendo ser fatal em indivíduos jovens ou imunodeprimidos. Estão descritos casos de doença em *L. pardinus*, caracterizando-se por anemia não regenerativa (Willi et al 2007).

A infecção a hemoplasmas noutras espécies de carnívoros não está descrita ou, como no caso do cão doméstico, é considerada assintomática.

Diagnóstico

Classicamente, o diagnóstico é feito através da observação de esfregaços

sanguíneos ao microscópio óptico para detecção das inclusões típicas presentes nos eritrócitos. A técnica de PCR, para além de muito mais específica e sensível, permite diferenciar entre as várias espécies de hemoplasmas.

Borreliose de Lyme

Etiologia

A Borreliose de Lyme é uma doença bacteriana causada por uma espiroqueta, *Borrelia burgdorferi*, com uma vasta diversidade de reservatórios (Mamíferos e Aves) e que no caso do Homem, é considerada a principal doença bacteriana transmitida por carraças no hemisfério Norte. Ao longo da sua vasta área de distribuição estão descritas várias estirpes.

Epidemiologia

Na Europa, a sua prevalência aumenta de Oeste para Este e têm sido identificados vários reservatórios silváticos, entre eles Carnívoros (*Vulpes vulpes* e *Meles meles*) (Heidrich et al 1999), Insectívoros (*Erinaceus europaeus* e *Sorex minutus*), Roedores (*Scirurus vulgaris*, *Microtus agrestis*, *Apodemus sylvaticus*, *Glis glis*, *Rattus rattus* e *R. norvegicus*) e Lagomorfos (*Lepus europaeus*). Estas duas últimas Ordens são consideradas como o principal reservatório da doença na Europa (Brown e Burgess 2001).

A prevalência de infecção na Europa em *V. Vulpes* pode ser bastante elevada, variando em França entre 12,8 % em animais juvenis e 42,9 % em adultos (Doby et al 1991).

A transmissão é feita por carraças da família Ixodidae com 3 hospedeiros (cada estadio parasita uma espécie hospedeira diferente), como *Ixodes ricinus* e *I. hexagonus*, sendo a transmissão trans-ovárica considerada rara. Nos reservatórios a transmissão pode ainda ocorrer via transplacentária.

Patogenia e sintomatologia

A sintomatologia depende da susceptibilidade do hospedeiro e do seu estado imunitário, da capacidade de transmissão do vector e da virulência do agente. No local de inoculação da carraça desenvolve-se geralmente um rash cutâneo, a partir do qual o agente se dissemina pelo resto do organismo, podendo causar febre, depressão e anoréxia. Nos carnívoros, outras manifestações da doença, como artrite, lesões renais, oculares, cardíacas e neurológicas são consideradas raras.

Diagnóstico

O diagnóstico é usualmente feito por serologia, para detecção de anticorpos anti-Borrelia (ELISA, IFA, Western Blot). Um problema que pode surgir no diagnóstico da infecção em animais selvagens é a ausência de produção comercial de anticorpos espécie-específicos, tornando-se essencial a utilização de técnicas independentes da espécie animal a testar (Stobel et al 2002)

Doenças Virais

Peritonite Infeciosa Felina (FIP)

Etiologia

A Peritonite Infeciosa Felina (FIP) é causada por um *Coronavirus*, pertencente à família *Coronaviridae*. Os viriões são ss+RNA, possuem envelope e são pouco resistentes no exterior, sendo destruídos sob acção do calor e da luz.

Existem 2 biotipos virais, Vírus da Peritonite Infeciosa Felina (FIPV) e Coronavírus Entérico Felino (FECoV), morfológica e antigenicamente semelhantes mas com comportamento biológico diferente; enquanto que FIPV induz a peritonite infecciosa felina, doença progressiva e invariavelmente fatal, FECoV induz uma enterite ligeira e auto-limitante. Acredita-se hoje que FIPV seja uma mutação de FECoV, apesar de ainda não estar esclarecido que factores levem a que tal ocorra num animal infectado com FECoV.

Epidemiologia

O Coronavirus felino (FCoV) tem distribuição mundial em felinos domésticos, afectando principalmente gatis ou locais com uma grande concentração de animais. Devido à sua fragilidade no meio exterior a sua transmissão em espécies selvagens é reduzido devido às baixas densidades populacionais, poucos contactos inter e intra-específicos, ausência de insectos vectores e um espectro de hospedeiros reduzido.

Em felinos selvagens estima-se que a prevalência da infecção ronde os 2 %, embora em algumas regiões esta tenha valores bem superiores, podendo constituir uma ameaça para populações de felinos ameaçadas, como no caso de *Acinonyx jubatus* na África do Sul (Kennedy et al 2003). No entanto, crê-se que parte deste valor de prevalência seja formado por reacções cruzadas com outros coronavírus (por exemplo, coronavírus que infectem as presas e cuja formação de anticorpos ocorra após a ingestão). Grande parte das infecções a FCoV em felinos selvagens ocorre principalmente através do contacto com gatos domésticos. A prevalência da infecção a FCoV foi determinada em algumas populações de felinos selvagens existentes na Europa:

Hospedeiro	Prevalência (%)	Região	Meio de diagnóstico	Referência
<i>Felis silvestris</i>	6	Reino Unido	IFA para detecção de ACs	Daniels et al 1999
	0	Reino Unido	IFA para detecção de ACs	McOrist et al 1991
	6	França	ELISA e WB para detecção de ACs	Leutenegger et al 1999

		5	França	RT/nPCR	Leutenegger et al 1999
		0	Suiça	ELISA, WB, RT/nPCR	Leutenegger et al 1999
		0	Alemanha	ELISA, WB, RT/nPCR	Leutenegger et al 1999
		10	Arábia Saudita	ELISA para detecção de ACs	Ostrowski et al 2003

Patogenia e sintomatologia

Após a entrada no organismo pela via oro-nasal, FCoV replica-se nos tecidos da orofaringe e nos enterócitos, podendo levar ao desenvolvimento de um enterite ligeira.

Subsequentemente, a evolução desta infecção depende de uma série de factores virais e do hospedeiro. Nos indivíduos em que estão presentes os factores predisponentes para o desenvolvimento de FIP, os viriões invadem e replicam-se em macrófagos e ocorre uma disseminação da infecção por todo o organismo. Apesar de os animais infectados montarem uma resposta humoral intensa, os anticorpos produzidos não são protectores e muitas vezes, são as próprias reacções imunitárias responsáveis pelo agravamento da sintomatologia. A destruição do vírus está principalmente dependente da imunidade celular.

A infecção a FECoV leva geralmente a uma enterite auto-limitante, acompanhada de diarreia e vômitos ocasionais e que afecta principalmente animais jovens. Muitas vezes, a infecção é subclínica, não sendo acompanhada de sintomas.

Estão descritas 2 formas de FIP: 1) forma efusiva, caracterizada pela formação de ascite, efusão pleural e pericárdica e 2) forma não-efusiva, caracterizada pela formação de lesões granulomatosas em vários órgãos, como o fígado, linfonodos, rins, sistema nervoso central e olhos. Deste modo, a sintomatologia varia conforme a localização das lesões, podendo os únicos sintomas de infecção ser alterações neurológicas (atáxia, parésia, alterações comportamentais) ou lesões oculares (uveíte, coriorretinite).

Na fase inicial das 2 formas a sintomatologia é semelhante e inclui febre, depressão, anoréxia e, ocasionalmente, diarreia.

Diagnóstico

Os anticorpos anti-FCoV podem ser detectados por técnicas serológicas como ELISA, neutralização viral ou inibição da hemaglutinação. Contudo, um resultado positivo não indica que um indivíduo tenha PIF, mas sim que já sofreu exposição a FCoV.

A técnica de PCR, mais precisamente nestedPCR utilizando uma Transcriptase Reversa (RT/nPCR), permite detectar viriões de FCoV ou FIPV presentes nas fezes, em líquidos de derrame cavitário ou no sangue, em fases de virémia.

Alguns indivíduos podem apresentar serologia positiva, não se detectando

viríões nas fezes (não estão a excretar o vírus), enquanto que noutros, sendo seronegativos, é possível detectar vírus ou seu material genético nas fezes (Kennedy et al 2003).

Imunodeficiência Viral Felina (FIV)

Etiologia

A Imunodeficiência Viral Felina (FIV) é causada por um *Lentivirus*, pertencente à família *Retroviridae*, que afecta apenas felinos. Os *Retrovirus* são vírus ssRNA cujos viriões possuem uma transcriptase reversa que traduz o seu material genético para dsDNA, que é integrado no genoma da célula hospedeira.

Epidemiologia

Até à data, foram detectados anticorpos anti-FIV em 18 espécies de felinos selvagens, quer em cativeiro, quer livres, sugerindo exposição ou mesmo infecção.

Populações de *Felis silvestris* na Arábia Saudita e em França apresentavam uma prevalência de infecção de 6 % (Ostrowski et al 2003) e 7,9 % (Fromont et al 2000), respectivamente, enquanto que noutras populações de felinos selvagens como em *F. silvestris* em vários países europeus e *Lynx lynx* na Suécia, não foram detectados vírus ou anticorpos, sendo essas populações consideradas livres de infecção ou suportando uma prevalência muito reduzida, provavelmente devido à ausência de exposição a felinos domésticos ou devido aos raros contactos sociais entre os indivíduos (McOrist et al 1991, Daniels et al 1999, Leutenegger et al 1999, Ryser-Degiorgis et al 2005).

Fragments de DNA viral foram igualmente detectados noutras espécies de felinos como *P. concolor*, *P. leo* e *Octolobus manul* (Worley 2001).

A transmissão em felinos domésticos ocorre por dentadas entre indivíduos, através da cópula e da amamentação, não estando ainda comprovadas se estas mesmas vias de transmissão ocorrem em felinos selvagens.

Patogenia e sintomatologia

A infecção a FIV caracteriza-se por uma imunodeficiência, sendo a sintomatologia muito variável e dependendo das infecções secundárias e oportunistas instaladas (Calicivirose felina, sarna, toxoplasmose, micobacterioses atípicas e micoses sistémicas). Apesar de nos felinos domésticos a patogenia da infecção estar bem estudada, em espécies selvagens ainda não está completamente esclarecida a correlação entre seropositividade, ocorrência de doença clínica e alterações hematológicas. No entanto, recentemente foram descritas alterações imunológicas associadas à infecção a FIV em populações selvagens de *P. leo* e *P. concolor* (depleção de linfócitos CD4+ e CD5+ e redução do ratio CD4+/CD8+), que podem ter impactos ainda desconhecidos no estado sanitários dessas populações (Roelke et al 2006).

As lesões descritas incluem citopenia, alterações digestivas (perda das vilosidades intestinais, úlceras e necrose da mucosa e estomatite ulcerativa), hiperplasia/involução dos linfonodos e alterações neurológicas (fibrose do plexo coróide, vacuolação da matéria branca e infiltração peri-vascular por

	leucócitos).
Diagnóstico	Os anticorpos anti-FIV podem ser detectados e quantificados através de técnicas serológicas como ELISA ou Westernblot enquanto que fragmentos do DNA viral podem ser detectados por PCR.

Leucemia Felina (FIV)

Etiologia

A Leucemia Felina (FeLV) é causada por um Oncovirus (Retrovirus tipo C ainda não classificado a nível genérico) pertencente à família Retroviridae que afecta exclusivamente felinos. Os Retrovirus são vírus ssRNA cujos viriões possuem uma transcriptase reversa que traduz o seu material genético para dsDNA, que é integrado no genoma da célula hospedeira. Aí, pode permanecer de forma latente por tempo indefinido ou ser utilizado para produzir novas cópias de viriões.

Epidemiologia

FeLV tem uma distribuição mundial em felinos domésticos, sendo considerado raro noutras espécies de felinos. No entanto, foi detectado em algumas espécies selvagens mantidas em cativeiro (*Puma concolor*, *Neofelis nebulosa*, *Acinonyx jubatus*) e livres (*P. concolor* e *Felis silvestris*) (Worley M 2001). A prevalência da infecção a FeLV tem valores semelhantes para populações simpátricas de felinos domésticos e selvagens, sugerindo que esta se mantém por transmissão familiar ou através de contactos entre populações selvagens e domésticas (Daniels et al 1999). Os valores de prevalência de infecção foram determinados para algumas espécies de felinos selvagens que ocorrem na Europa:

Hospedeiro	Prevalência (%)	Região	Técnica de diagnóstico	Referência
<i>Felis silvestris</i>	10	Reino Unido	ELISA para ACs anti-p27	Daniels et al 1999
	13	Reino Unido	Isolamento viral	Daniels et al 1999
	8,7	Reino Unido	Detecção de p27	McOrist et al 1991
	76	França	Detecção de p27	Leutenegger et al 1999
	32	França	ELISA para ACs anti-gp70	Leutenegger et al 1999
	23,7	França	Detecção de p27	Fromont et al 2000
	89	Suíça	Detecção de p27 e ACs anti-gp70	Leutenegger et al 1999
	50	Alemanha	Detecção de p27	Leutenegger et al 1999
	75	Alemanha	ELISA para ACs anti-gp70	Leutenegger et al 1999
	3	Arábia Saudita	ELISA	Ostrowski et al 2003

	<p>A transmissão do vírus ocorre via horizontal, através de contacto próximo entre indivíduos (secreções oculares, respiratórias e saliva) e de dentadas, ou vertical.</p>
Patogenia e sintomatologia	<p>Em felinos domésticos a patogenia da infecção e os diferentes quadros de doença estão bem estudados, sendo FeLV reconhecido como um vírus indutor de neoplasias (linfoma, linfossarcoma), supressão da medula óssea com desenvolvimento de anemia, trombocitopenia e leucopenia, imunodepressão e desenvolvimento de doenças auto-imunes como anemia imuno-mediada e glomerulonefrite. Em felinos selvagens a patogenia e sintomatologia associadas à infecção a FeLV ainda são largamente desconhecidas.</p> <p>Foram pontualmente descritos sintomas como anorexia, emaciação, letargia, linfadenomegalia, anemia e petéquias e lesões de encefalite não supurativa, pneumonia intersticial, necrose hepatocelular, peritonite não supurativa e depleção linfóide num <i>L. rufus</i> (Sleeman et al 2001). A ocorrência de linfoma multicêntrico associado à infecção a FeLV foi também recentemente descrito em <i>A. jubatus</i> (Marker et al 2006).</p>
Diagnóstico	<p>A infecção a FeLV pode ser diagnosticada através de IFA ou ELISA, que detectam a presença do antígeno viral p27 em amostras de sangue total, soro ou plasma. Em alternativa, anticorpos anti-gp70 podem ser também detectados por estas técnicas. A técnica de PCR permitiu aumentar a especificidade e sensibilidade do diagnóstico, embora a detecção de DNA viral não indique necessariamente uma infecção persistente; material genético de FeLV tem sido detectado em indivíduos transiente e latentemente infectados, assim como em indivíduos não infectados que estejam em contacto com outros animais infectados com FeLV.</p>

Panleucopénia e outras parvovirose

Etiologia

A Panleucopénia é uma doença viral causada por um *Parvovirus* (FPV), caracterizado por viriões de pequenas dimensões e com ssDNA. FPV é muito semelhante, morfológica e antígenicamente, a outros Parvovirus que infectam outras espécies de carnívoros, como *Parvovirus* canino tipo 2 (CPV-2).

Actualmente, acredita-se que CPV tenha evoluído a partir de FPV por mutação e que espécies de carnívoros selvagens tenham tido um papel importante nessa modificação (Truyen et al 1998, Barker e Parrish 2001). Sequencialmente, CPV terá originado os sub-tipos 1, 2^a e 2b e há evidências que os felinos possam ser igualmente infectados por CPV-2^a e CPV-2b (Ikeda et al 2002)

Epidemiologia

Os viriões são excretados nas secreções de animais infectados, sendo as fezes o principal material infectante, podendo permanecer viáveis no meio ambiente durante vários meses. A transmissão ocorre via oronasal por contacto directo com um animal infectado ou através do contacto com fezes presentes no meio ambiente.

A Panleucopénia felina tem uma distribuição mundial em felinos domésticos, infectando também algumas espécies selvagens mantidas em cativeiro (Steinel et al 2001). Rastreios serológicos realizados em populações de felinos selvagens demonstraram que a exposição ao vírus é relativamente comum. A presença de FPV foi ainda detectada noutras famílias de carnívoros, como Procyonidae, Mustelidae e Canidae (Barker e Parrish 2001, Steinel et al 2001). Os subtipos CPV-2^a e CPV-2b foram também detectados em gatos domésticos, CPV-2b em *Lynx rufus* (Barker e Parrish 2001) e CPV-2^a em *Martes foina* (Steinel et al 2001).

Na Europa, a prevalência de infecções a Parvovirus tem sido estudada em algumas espécies de carnívoros selvagens (Frolich et al):

Hospedeiro	Prevalência (%)	Tipo viral	Região	Técnica diagnóstica	Referência
<i>Vulpes vulpes</i>	9	CPV	Alemanha	Inibição da hemaglutinação (detecção de ACs)	Frolich et al 2005
	5,1	CPV	Espanha	ELISA	Sobrino et al 2007
	13	CPV-2	Alemanha	Inibição da hemaglutinação	Truyen et al 1998
<i>Canis lupus</i>	62,2	CPV	Espanha	ELISA	Sobrino et al 2007
<i>Felis silvestris</i>	13	FPV	Alemanha	ELISA	Leutengger et al 1999

		<i>Martes foina</i>	31	CPV	Alemanha	Inibição da hemaglutinação (detecção de ACs)	Frolich et al 2005
Patogenia e sintomatologia	<p>Após a entrada no organismo o vírus replica-se inicialmente nos tecidos linfóides da orofaringe. Se o sistema imunitário não eliminar a infecção nesta fase, esta dissemina-se pelo organismo, afectando principalmente células de divisão rápida, como enterócitos, células da medula óssea e células dos tecidos linfóides. Um indivíduo que sobreviva à infecção desenvolve uma imunidade humoral para toda a vida.</p> <p>A Panleucopénia é geralmente caracterizada por febre, anoréxia, depressão, desidratação, diarreia sanguinolenta e vómitos. A infecção em fêmeas gestantes pode levar a aborto, reabsorção ou mumificação fetal ou outras alterações reprodutivas. Os fetos que sobrevivem à infecção intra-uterina frequentemente apresentam hipoplasia cerebelar e displasia da retina. Estão também descritos quadros de miocardite não-supurativa em canídeos com menos de 4 meses de idade.</p>						
Diagnóstico	<p>Os antígenos virais podem ser detectados nas fezes de animais infectados pela técnica de ELISA ou hemaglutinação enquanto que os anticorpos anti-FPV podem ser detectados no soro também por ELISA ou inibição da hemaglutinação.</p>						

Rinotraqueíte Felina

Etiologia

A Rinotraqueíte Felina é uma doença viral causada por *Herpesvirus Felino* tipo 1 (FHV-1), frequentemente associada à Calicivirose felina, actuando sinergicamente com infecções bacterianas secundárias para formar a síndrome coriza felina ou rinopneumonite. Os Herpesvírus são vírus dsDNA capazes de induzir infecções latentes nos seus hospedeiros.

Epidemiologia

A infecção tem distribuição mundial, podendo afectar felinos domésticos e selvagens. A transmissão é feita por contacto directo entre indivíduos, com secreções contendo viriões (corrimento ocular, nasal e saliva) ou vi intra-uterina. Os viriões podem manter-se viáveis no exterior por períodos até 30 dias.

Os animais infectados tornam-se quase invariavelmente portadores crónicos da infecção sem desenvolverem sintomatologia, eliminando intermitentemente na saliva e secreções ocular e nasal, geralmente em situações de stress.

A prevalência da infecção foi determinada em algumas espécies de felinos selvagens europeus:

Hospedeiro	Prevalência (%)	Região	Teste diagnóstico	Referência
<i>Felis silvestris</i>	16	Reino Unido	Neutralização viral	Daniels et al 1999
	3	França	IFA	Leutenegger et al 1999
	13	Suiça	IFA	Leutenegger et al 1999

Patogenia e sintomatologia

Classicamente, FHV-1 é responsável de quadros de rinite, acompanhados de febre, anoréxia, espirros e corrimento muco-purulento. Frequentemente, estão presentes outros agentes infecciosos como FCV e bactérias oportunistas como *Chlamydophila* spp., *Bordetella* spp e *Mycoplasma* spp. O envolvimento ocular também é comum, caracterizando-se por conjuntivite, queratite herpética e úlceras da córnea. As fêmeas gestantes infectadas podem transmitir a infecção aos fetos e ocorrer aborto ou morte perinatal.

Diagnóstico

Os anticorpos anti-FHV-1 podem ser detectados no soro por neutralização viral. A presença do vírus em amostras de corrimento ou raspagens de conjuntiva de animais na fase aguda da infecção pode ser directamente pesquisada por isolamento viral, citologia, histologia, imunofluorescência ou PCR. No entanto, tais técnicas tornam-se infrutíferas quando aplicadas em portadores crónicos, já que a excreção do vírus para o exterior é intermitente.

Calicivirose Felina

Etiologia

A Calicivirose Felina é causada por um *Vesivirus*, pertencente à família Caliciviridae. Estes vírus ssRNA são resistentes ao calor e apresentam uma elevada taxa de mutação, o que leva a uma grande variabilidade antigénica e a uma grande possibilidade de afectar novos hospedeiros.

Epidemiologia

A Calicivirose tem uma distribuição mundial e uma elevada prevalência em felinos domésticos, sendo todas as outras espécies de felídeos consideradas susceptíveis. A infecção tem sido detectada em felinos selvagens, quer mantidos em cativeiro (*Acinonyx jubatus*, *Panthera leo* e *P. tigris*), quer livres (*P. leo* na Tanzânia, *Puma concolor* na América do Norte e *Felis iriomotensis* no Japão).

A prevalência da infecção foi determinada para algumas espécies de felinos selvagens:

Hospedeiro	Prevalência (%)	Região	Técnica diagnóstica	Referência
<i>Felis silvestris</i>	26	Reino Unido	Isolamento viral	Daniels et al 1999
	25	Arábia Saudita	IFA	Ostrowski et al 2003
	15	França	IFA	Leutenegger et al 1999
	13	Suíça	IFA	Leutenegger et al 1999
	25	Alemanha	IFA	Leutenegger et al 1999

A transmissão é feita geralmente por contacto directo entre os animais, sendo os espirros, um dos sintomas invariavelmente presentes nesta infecção, uma forma eficaz de o fazer. No caso dos felinos domésticos, a calicivirose parece infectar principalmente animais jovens, estimando-se que ao fim de 1 ano de idade a maioria dos indivíduos tenha títulos de anticorpos protectores, tornando a ocorrência de casos de doença raros a partir de então.

Patogenia e sintomatologia

Os sintomas incluem febre, depressão, anoréxia, corrimento ocular e nasal muco-purulento e espirros. O vírus afecta principalmente a cavidade oral e as vias respiratórias superiores, levando à formação de vesículas e úlceras na mucosa oral e respiratória, conjuntivite, rinite, traqueíte e, por vezes, pneumonia. Frequentemente, a calicivirose actua simultaneamente e de modo sinérgico com a rinotraqueíte felina.

Apesar da elevada morbidade a mortalidade tende a ser reduzida (cerca de

	<p>30 %, principalmente animais juvenis) e a infecção auto-limitante. No entanto, indivíduos que recuperem da infecção permanecem infectados de forma subclínica durante meses a anos, podendo transmitir o vírus a outros indivíduos susceptíveis.</p>
Diagnóstico	<p>Têm sido empregues técnicas como o isolamento viral, PCR ou serologia (neutralização viral) para diagnóstico desta infecção.</p> <p>Os principais diagnósticos diferenciais da calicivirose felina são a rinotraqueíte felina ou rinites de origem bacteriana ou fúngica.</p>

Esgana

Etiologia

A Esgana (CDV) é causada por um *Morbillivirus* pertencente à família Paramyxoviridae, subfamília Paramyxovirinae. Os viriões são muito frágeis no meio exterior, possuem envelope e contém ssRNA.

Epidemiologia

A esgana é uma doença de distribuição mundial, afectando carnívoros domésticos e selvagens, geralmente presente de forma endémica embora possa ocorrer sob a forma de surtos de proporções variáveis.

Classicamente, considerava-se que a Esgana afectava principalmente as famílias Canidae e Mustelidae; na Europa, anticorpos ou casos de doença foram detectados em *Canis lupus*, *Vulpes vulpes*, *Martes foina*, *Mustela putorius*, *Mustela nivalis* e *Meles meles* (Pavlacik et al 2007, Lopez-Peña et al 1994). Só mais recentemente é que o espectro de hospedeiros susceptíveis foi alargado a todas as famílias de Carnívoros e que foi reconhecida a ocorrência de infecção em felinos, principalmente de grande porte. Inicialmente diagnosticada em grandes felinos mantidos em cativeiro (género *Panthera*), a esgana foi posteriormente detectada em felinos selvagens como *Panthera leo* na África sub-sahariana, *Lynx rufus* na América do Norte e *Felis silvestris* na Europa. O Morbillivirus que afecta os felinos é considerado uma variante do CDV. Existem ainda relatos de esgana em *Erinaceus europaeus* (Williams 2001).

A prevalência da infecção em carnívoros europeus estima-se nos seguintes valores:

Hospedeiro	Prevalência (%)	Região	Meio de diagnóstico	Referência
<i>Vulpes vulpes</i>	9-13	Luxemburgo	ELISA e neutralização viral	Damien et al 2002
	4,4	Alemanha	Neutralização viral	Truyen et al 1998
<i>Martes foina</i>	5,6	R. Checa	IFA	Pavlacik et al 2007
<i>Meles meles</i>	5,3	R. Checa	IFA	Pavlacik et al 2007
	0	Reino Unido	Neutralização viral	Delahay 2000

A transmissão é feita principalmente através da inalação de aerossóis contendo viriões, embora possa também ocorrer através do contacto com corrimento ocular, respiratório, urina ou fezes, necessitando sempre de um contacto próximo entre os indivíduos. A transmissão transplacentária pode ocorrer, embora não estando descrita para os felinos. Neste grupo de carnívoros os mecanismos de transmissão não estão completamente estudados,

Patogenia e sintomatologia

visto a maioria das espécies não ter contactos muito próximos com indivíduos da mesma espécie. Contudo, sabe-se que as epidemias em felinos tendem a ocorrer em regiões de contacto com cães domésticos. A excreção de viriões pode ainda ocorrer em animais assintomáticos, prolongando-se até 90 dias pós infecção.

A ocorrência de esgana depende de uma série de factores, tais como densidades populacionais elevadas, susceptibilidade dos hospedeiros à infecção e comportamento intra e inter-específico (picos de incidência ocorrem durante a época de acasalamento e durante a dispersão de indivíduos juvenis após o desmame).

A gravidade da infecção depende da espécie hospedeira, da virulência do agente, do meio ambiente, da idade e estado de imunidade do hospedeiro. Estima-se que entre 25 a 75 % dos canídeos subclínicamente infectados eliminam o vírus sem exibir quadros de doença, embora a taxa de mortalidade possa variar entre 20 e 100 %, dependendo da espécie afectada.

O período de incubação varia entre 1 semana e 1 mês e a doença pode durar entre 1 e 6 semanas. Os viriões penetram geralmente o epitélio respiratório, onde são fagocitados por macrófagos; no interior destas células conseguem impedir a sua destruição, multiplicam-se e disseminam-se para outros órgãos como o fígado, intestino e linfonodos. Paralelamente é induzido um estado de imuno-depressão visto o vírus destruir macrófagos e linfócitos T e B. O resultado final da infecção depende da resposta humoral montada pelo organismo e pode variar entre a morte do hospedeiro, eliminação completa da infecção 1 semana pós-infecção e a manutenção de títulos de anticorpos protectores para toda a vida ou a manutenção do vírus no organismo em animais assintomáticos portadores.

Nos canídeos os sintomas incluem corrimento ocular-nasal muco-purulento, febre, depressão, anorexia, tosse, vômito, diarreia, hiperqueratose das almofadas plantares e narinas e várias alterações neurológicas (comportamento anormal, convulsões, mioclonias, parésia, paralisia, atáxia, cegueira, etc.). Os quadros sintomáticos em mustelídeos e felinos são, em geral, semelhantes, embora estejam ainda descritos para estes últimos quadros neurológicos agudos, anemia, linfadenopatia, emaciação, mau estado da pelagem e presença de feridas cutâneas infectadas.

As lesões são muito variáveis e incluem leucopenia e linfopenia com depleção de linfócitos nos linfonodos, conjuntivite e rinite muco-purulenta, hiperqueratose das almofadas plantares, narinas, pálpebras, orelhas e ânus, má condição física, atrofia do timo, pneumonia intersticial, enterite hemorrágica, lesões no esmalte dentário, degeneração testicular, orquite e epididimite, encefalite ou meningo-encefalite não-supurativas, necrose neuronal, demielinização e malácia focais da matéria branca, gliose, presença de corpos de inclusão nas células infectadas e ocorrência de infecções secundárias ao estado de imunodepressão (toxoplasmose, sarcocistíase, encefalitozoonose e coccidiose).

Em carnívoros selvagens estão descritos casos de doença em *M. foina*,

	<p>caracterizados por febre, apatia, desidratação, rinite e conjuntivite seromucosa, diarreia, hiperqueratose e hemorragias das almofadas plantares e sintomatologia neurológica (Pavlacik et al 2007).</p>
Diagnóstico	<p>Apesar dos sintomas e lesões serem sugestivos, a esgana deve ser diagnosticada por técnicas serológicas, como a neutralização viral ou ELISA, para detecção de anti-corpos (a serologia pode dar falsos negativos em animais na fase de incubação ou durante uma epidemia), isolamento viral ou técnicas de imunohistoquímica ou PCR em amostras de tecidos.</p> <p>O diagnóstico diferencial da esgana deve incluir a Raiva, Doença de Aujesky, Hepatite viral canina, Parvovirose, Toxoplasmose e intoxicações.</p>

Doenças Parasitárias

Leishmaniose

Etiologia

A Leishmaniose é uma zoonose parasitária causada por protozoários do género *Leishmania* (Filo Sarcomastigophora, Família Trypanosomatidae), recentemente reconhecida como uma doença emergente quer no homem, quer em animais. Na Europa, estão identificadas duas espécies de *Leishmania*, *L. infantum*, responsável pela Leishmaniose canina e *L. donovani*, afectando principalmente o homem.

Epidemiologia

A Leishmaniose é transmitida pela picada de insectos Dípteros dos géneros *Phlebotomus* (o principal vector da doença na Europa) ou *Lutzomyia* (no continente americano). O cão doméstico é geralmente considerado o reservatório da doença mas na Europa, esta tem sido igualmente isolada em *Vulpes vulpes*, *Canis lupus* e *Rattus rattus*, não estando ainda esclarecido o seu papel na epidemiologia da Leishmaniose.

Em Portugal, a prevalência da infecção no cão doméstico está relativamente beme estudada em algumas zonas do país, variando entre 3,9 % em Évora (Semião-Santos et al 1995) e 18,7 % em Vila Real (Cardoso et al 2004). Em carnívoros selvagens, a prevalência da infecção numa dada região é geralmente semelhante da prevalência em cães domésticos.

Hospedeiro	Prevalência (%)	Região	Técnica de diagnóstico	Referência
<i>Vulpes vulpes</i>	5,63	Portugal	IFA	Abranches et al 1984
	18	Itália	IFA e ELISA	Mancianti et al 1994
	40	Itália	PCR	Dipineto et al 2007
	74	Espanha	PCR	Criado-Fornelio et al 2000

Recentemente, comprovou-se que a infecção pode ocorrer em gatos domésticos (Solano-Gallego et al 2007, Rufenacht et al 2005) e em populações selvagens de *Felis margarita* (Morsy et al 1999) em regiões em que a Leishmaniose é endémica na população humana e canina.

Patogenia e sintomatologia

Após ser inoculada pelo vector no organismo, *Leishmania* é fagocitada por macrófagos, multiplicando-se no seu interior e disseminando-se por todo o organismo, onde vai infectar outras células do sistema mononuclear fagocitário. Paralelamente, ocorre uma proliferação marcada de linfócitos B, acompanhada de uma resposta humoral intensa; as grandes quantidades de anticorpos não-protectores produzidos formam complexos imunes e depositam-se em vários tecidos, sendo responsáveis por grande da sintomatologia da doença. *Leishmania* é ainda capaz de invadir a medula

óssea, sendo responsável por anemia, leucopénia e trombocitopénia.

A eliminação da infecção está dependente da imunidade celular, que raramente ocorre de forma eficaz em canídeos infectados, tornando-se estes portadores da infecção.

A sintomatologia causada pela Leishmaniose é muito variada nos cães domésticos infectados, sendo geralmente descritos perda de condição corporal, alterações cutâneas (alopécias localizadas, descamação psoriasiforme, hiperqueratose, onicogribose, feridas e nódulos), linfadenopatia generalizada, hepato e esplenomegália, lesões oculares (querato-conjuntivite, uveíte, glaucoma), claudicação devido a artrite e hemorragias.

Em gatos domésticos infectados estão descritos sinais cutâneos vagos como feridas e úlceras.

Diagnóstico

As formas amastigotas de *Leishmania* podem ser observadas directamente em esfregaços de medula óssea ou linfonodos, embora a sensibilidade destes métodos seja bastante baixa (entre 30 a 50%). É possível diagnosticar a Leishmaniose através da cultura do parasita, mas é uma técnica lenta e onerosa. Recentemente, a técnica de PCR permitiu aumentar largamente a especificidade e sensibilidade da detecção do parasita em amostras biológicas.

A detecção dos anticorpos produzidos pelo organismo podem ser feita através de fixação do complemento, hemaglutinação, aglutinação em látex, aglutinação directa, imuno-electroforese, Western-blot, imunofluorescência indirecta e ELISA (as 2 mais frequentemente utilizadas).

Toxoplasmose

Etiologia

A Toxoplasmose é causada por um protozoário, *Toxoplasma gondii* (Filo Apicomplexa, Classe Sporozoa, Sub-classe Coccidiosina, Ordem Eimeriorina, Família Toxoplasmatidae), de distribuição mundial e capaz de infectar praticamente todos os vertebrados homeotérmicos. Estima-se que uma elevada percentagem (entre 30 a 40 %) da população humana e animal apresente anticorpos anti-*T. gondii* e se encontre infectada de forma sub-clínica.

Epidemiologia

T. gondii apresenta 3 estadios de desenvolvimento: 1) Esporozoítos, presentes nos oocistos excretados nas fezes; 2) Taquizoítos, formas de multiplicação rápida e que se disseminam pelo organismo; 3) Bradizoítos, formas de multiplicação lenta ou latente, presentes em quistos nos tecidos.

Apenas os felinos completam o ciclo de vida deste parasita, sendo considerados os hospedeiros definitivos. Os oocistos são excretados nas fezes de felinos, tornando-se infectantes após 72 horas no meio exterior. Todos os hospedeiros intermediários (todos os outros vertebrados homeotérmicos) e os felinos infectam-se ao ingerir alimentos ou água contaminados com oocistos ou outros animais que contenham taquizoítos ou bradizoítos nos seus tecidos. Os oocistos esporulados podem persistir no meio ambiente durante meses a anos e as formas tecidulares mantêm-se infectantes durante toda a vida do hospedeiro.

Para além do gato doméstico, a infecção foi identificada noutras espécies de felinos, quer em cativo, quer indivíduos de vida livre, como *Leopardus pardalis*, *L. wiedii*, *Herpailurus yaguarondi*, *Panthera onca*, *Lynx rufus*, *Octolobus manul* e *Prionailurus iriomotensis* (Dubey e Odening 2001). A excreção de oocistos infectantes foi verificada em várias espécies de felinos selvagens, incluindo *Felis silvestris* (Lukesová et al 1998).

A toxoplasmose foi também detectada na Europa em *Vulpes vulpes*, *Mustela vison* e *Meles meles* e estudos de prevalência de anticorpos em carnívoros selvagens indicam valores elevados de infecção:

Hospedeiro	Prevalência (%)	Região	Referência
<i>Felis silvestris</i>	100	Reino Unido	McOrist et al 1991
<i>Lynx pardinus</i>	81,5	Espanha	Sobrino et al 2007
<i>Lynx lynx</i>	75,4	Suécia	Ryser-Degiorgis et al 2006
<i>Vulpes vulpes</i>	64,7	Espanha	Sobrino et al 2007
<i>Canis lupus</i>	46,9	Espanha	Sobrino et al 2007
<i>Meles meles</i>	70	Reino Unido	Anwar et al 2006
	70,3	Espanha	Sobrino et al 2007
<i>Martes foina</i>	85	Espanha	Sobrino et al 2007
	18	República Checa	Hejlíček et al 1997

	<i>Martes martes</i>	17	República Checa	Hejlicek et al 1997
	<i>Mustela nivalis</i>	25	República Checa	Hejlicek et al 1997
	<i>Mustela putorius</i>	33	República Checa	Hejlicek et al 1997
	<i>Genetta genetta</i>	61,9	Espanha	Sobrino et al 2007
	<i>Herpestes ichneumon</i>	59,1	Espanha	Sobrino et al 2007

Patogenia e sintomatologia

A toxoplasmose é geralmente uma infecção subclínica e assintomática. Contudo, em alguns indivíduos, pode ocorrer diarreia devido à enterite causada pela multiplicação do parasita. Mais raramente, os focos de necrose e inflamação causados pelos taquizoítos nos tecidos podem levar a sintomatologia variada, dependendo da localização das lesões e, inclusivé à morte. Os taquizoítos que invadem o sistema nervoso central podem rprovar sintomatologia neurológica, como convulsões, atáxia, parésia e alterações comportamentais.

Apesar de o organismo montar uma resposta imune que elimina os taquizoítos, os bradizoítos persistem nos tecidos durante anos, tornando a infecção persistente. Pode ocorrer reactivação de infecções latentes associada a imunodepressão

Diagnóstico

Os oocistos podem ser detectados nas fezes de felinos infectados através de uma série de técnicas coprológicas associadas à observação microscópica dos mesmos, técnicas de imunofluorescência directa ou PCR.

Os anticorpos anti-*T. gondii* (IgG) podem ser detectados em qualquer hospedeiro susceptível através do teste Sabin-Feldman Dye (DT), Hemaglutinação Directa (IHAT), Imunofluorescência Indirecta (IFAT), Aglutinação Directa (MAT), Aglutinação em Látex (LAT), ELISA ou Algutinação Imuno-absorvente (IAAT).

As técnicas IFAT, IAAT e ELISA permitem ainda detectar IgM. A diferenciação entre IgG e IgM pode ter relevância paa distinguir infecções recentes de antigas; as IgM surgem no início da infecção, desaparecendo após poucas semanas, enquanto que IgG surgem mais tarde e persistem durante toda a vida do indivíduo infectado.

	Piroplasmose
Etiologia	<p>A Piroplasmose é uma doença causada por protozoários do género <i>Babesia</i>, parasitas intra-eritrocitários obrigatórios.</p>
Epidemiologia	<p>A piroplasmose é transmitida pela picada de carraçar infectadas, onde ocorre transmissão trans-ovárica e trans-estadial.</p> <p>Evidências de infecção (presença de inclusões intra-eritrocitárias ou anticorpos específicos) foram detectadas em várias espécies de carnívoros selvagens como <i>Canis latrans</i>, <i>Procyon lotor</i> e <i>Mephitis mephitis</i> (Kocan e Waldrup 2001). Na Europa, ocorrem, pelo menos, 2 espécies de <i>Babesia</i> que infectam carnívoros: <i>B. canis</i> e <i>B. gibsonii</i>.</p>
Patogenia e sintomatologia	<p>A piroplasmose provoca uma anemia hemolítica, caracterizada por febre, anoréxia, depressão, mucosas pálidas, icterícia e hemoglobínúria. Ocasionalmente, podem ocorrer alterações neurológicas, causadas pelo sequestro de eritrócitos infectados nos vasos capilares do sistema nervoso central. Estão também descritas infecções subclínicas ou assintomáticas.</p>
Diagnóstico	<p>Em esfregaços sanguíneos corados com Giemsa ou outra coloração hematológica de rotina podem ser observadas as inclusões intra-eritrocitárias características de <i>Babesia</i>. Anticorpos anti-<i>Babesia</i> podem ser detectados por ELISA ou imunofluorescência indirecta (IFA).</p>

Cytauxzoonose

Etiologia

A Cytauxzoonose é causada por um protozoário, *Cytauxzoon felis* (Filo Apicomplexa, Classe Aconoidasida, Ordem Piroplasmorida, Família Theileridae), que infecta apenas felinos.

Epidemiologia

O parasita é transmitido através da picada de carraças infectadas, onde ocorre apenas transmissão trans-estadial.

Classicamente, a cytauxzoonose estava descrita como ocorrendo principalmente nos Estados Unidos, afectando felinos domésticos e selvagens. A infecção e quadros de doença têm sido principalmente diagnosticados em *Lynx rufus* e *Puma concolor* de vida livre, mas também em felinos mantidos em cativeiro como *Acinonyx jubatus* (Koocan e Waldrup 2001)

Mais recentemente, a área de distribuição foi alargada para a Europa com a detecção do parasita em amostras de sangue de *L. pardinus* (Luaces et al 2005).

Patogenia e sintomatologia

O parasita infecta, numa primeira fase, células do sistema reticulo-endotelial fagocitário, que formam agregados no lúmen dos vasos sanguíneos e levam à obstrução do fluxo sanguíneo para os órgãos. Numa segunda fase de multiplicação, os eritrócitos são infectados, levando a uma anemia hemolítica. O período de incubação varia entre 5 a 20 dias.

A sintomatologia inclui febre, depressão, anoréxia, dispneia, mucosas pálidas, icterícia, hepato e esplenomegália, petéquias e ocasionalmente, morte súbita. Estão igualmente descritos casos de infecções subclínicas.

Diagnóstico

As formas intra-eritrocitárias típicas do parasita podem ser identificadas em esfregaços sanguíneos utilizando colorações hematológicas de rotina. A técnica de PCR também permite detectar o parasita em amostras de sangue. Os anticorpos anti-*C. felis* podem ser detectados por IFA.

Outras patologias

A recolha de amostras de material biológico (sangue, fezes, etc.) para realização das provas de diagnóstico propostas vai, adicionalmente, permitir detectar a presença de outras patologias e a sua prevalência nas populações de carnívoros selvagens em estudo. São exemplos:

Amostra	Técnica de diagnóstico	Patologia	Agente
Raspagens de pele (se lesões presentes)	Observação microscópica com lactofenol	Sarna	<i>Sarcoptes</i> spp., <i>Otodectes</i> spp., <i>Demodex</i> spp., <i>Cheyletiella</i> spp.
		Pediculose	Piolhos (ordens Malophaga e Anoplura)
Recolha directa dos parasitas	Observação microscópica	Carrças	Várias espécies
		Pulgas	Várias espécies
Sangue total	Esfregaço sanguíneo corado com Giemsa ou semelhante	Dirofilariose	<i>Dirofilaria immitis</i>
		Outras microfilárias	<i>Dipetalonema</i> spp.
		Hepatozoonose	<i>Hepatozoon canis</i>
		Tripanosomíases	<i>Trypanosoma</i> spp.
Fezes	Método de Willis ou outra técnica de concentração	Coccidiose	<i>Isospora</i> spp.
		Giardíase	<i>Giardia</i> spp.
		Equinococose	<i>Echinococcus</i> spp
		Outras helmintíases intestinais	Várias espécies
	Esfregaço fecal corado com Ziehl-Nielsen	Criptosporidiose	<i>Cryptosporidium</i> spp.

PROTOSCOLOS DE GESTÃO PÓS-CAPTURA

IMOBILIZAÇÃO QUÍMICA DE MAMÍFEROS CARNÍVOROS

Fármacos

Entre a grande diversidade de fármacos disponíveis para a anestesia e sedação de mamíferos, o hidrocloreto de quetamina, daqui em diante designado por quetamina, é um dos mais recorrentemente utilizados para a imobilização química de mamíferos carnívoros selvagens, quer isolada (p.e. Ramsden *et al.*, 1976), quer em combinação com outros fármacos como o hidrocloreto de xilazina, daqui em diante designado por xilazina, (p.e. Ferreras *et al.*, 1994; Mudappa & Chellam, 2001; Goodrich *et al.*, 2001; Grassman *et al.*, 2004) ou com hidrocloreto de medetomidina, daqui em diante designado por medetomidina (p.e. Fernandez-Moran *et al.*, 2001; Fournier-Chambrillon *et al.*, 2003; ver Jalanka *et al.*, para uma revisão).

A quetamina é um derivado das ciclohexanonas e produz um efeito anestésico dissociativo. Esta droga deprime as funções neuronais do eixo neocorticalâmico e do núcleo central do tálamo, enquanto estimula a partes do sistema límbico, incluindo o hipocampo (Nielsen, 1999). A quetamina é usada num largo espectro de espécies nomeadamente em primatas e mamíferos carnívoros. Entre as vantagens da aplicação deste fármaco, evidenciam-se a possibilidade de administração intra-muscular, o reduzido tempo de indução, uma larga margem de segurança (não exigindo uma estimativa rigorosa do peso do animal) e o facto dos seus efeitos não serem cumulativos, permitindo o reforço da dosagem (Ramsden *et al.*, 1976). Algumas desvantagens deste fármaco incluem o desenvolvimento de convulsões, catatónia, apneia, salivação em excesso e hipertermia (como resultado da catatónia). Por outro lado, a quetamina é metabolizada no fígado, sendo os metabolitos excretados pelos rins (Nielsen, 1999). Assim sendo, e como o principal metabolito resultante ainda possui algum efeito anestésico, não sendo mais degradado no caso dos felinos. Neste contexto, felinos com disfunção renal poderão manter-se num estado de anestesia por um período de tempo superior ao esperado.

Uma das características do estado induzido pela quetamina é a manutenção do tónus muscular e a recuperação do estado de anestesia pode ser um processo atribulado. No entanto, este processo pode ser controlado através da administração de tranquilizantes eou relaxantes musculares em combinação com quetamina.

Com efeito, a quetamina é geralmente administrada a mamíferos carnívoros em combinação com outras drogas (p.e. xilazina ou medetomidina). A medetomidina é um agonista alfa₂-adrenérgico altamente lipofílico, de actuação rápida e prontamente excretado em animais tratados. Este fármaco produz um efeito satisfatório de sedação, relaxamento muscular e analgésico numa grande variedade de espécies, nomeadamente espécies de mamíferos carnívoros selvagens (Jalanka *et al.*, 1990; Nielsen, 1999). A duração da sedação depende da dosagem e o efeito é reversível através da administração de um agente antagonista alfa₂-adrenérgico. O agente reversor mais utilizado é o *atipamezole*, devido à sua alta selectividade pelo receptor. A administração de uma dosagem de *atipamezole* 4 a 5 vezes superior à previamente administrada de medetomidina deverá produzir um recuperação total do efeito de sedação numa questão de minutos (Nielsen, 1999).

As características dos fármacos acima descritos, bem como uma avaliação dos resultados da sua aplicação combinada em mamíferos carnívoros selvagens disponíveis na bibliografia, sugerem que a combinação de quetamina-medetomidina, e reversão com *atipamezole* será a solução adequada para produzir um efeito rápido e seguro de imobilização química das espécies de mamíferos carnívoros presentes nos ecossistemas mediterrânicos da Península Ibérica, bem como um pronto recobro e pouco

atribulado, minimizando o stress inerente ao método de captura e reduzindo os riscos para o animal capturado.

A quetamina é disponibilizada com o nome comercial de Imalgene®, em concentração de 1 g/mL; a medetomidina é disponibilizada com o nome comercial de Domitor®, em concentração de 1,0 mg/mL; o atipamezole é disponibilizado com o nome comercial de Antisedan®, em concentração de 5,0 mg/mL

De seguida é apresentado um protocolo de gestão pós-captura de mamíferos carnívoros selvagens, aplicável às espécies supra-referidas, no qual se discriminam o material necessário, técnica de contenção, imobilização química e dosagem adequada dos fármacos a aplicar, manipulação e monitorização da condição do animal, recolha de amostras para análise e condições de recobro.

Material

Material de captura e manipulação

Seringas de insulina (1, 2, 5 e 10 mL, graduação de 0.01mL)	Estetoscópio
Agulhas 25, 23 e 18G	Balança / Pesola
Elástico (garrote)	Fita métrica
Algodão, gaze e adesivo	Termómetro
Material de sutura (agulha e fios)	Luvas de latex
Sombra e acumuladores de frio	Toalhas
Jaula de contenção	Medidor de glicémia
Pulso-oxímetro	Sistema de soro
Catéter IV 23 G	Tubo endo-traqueal c/ cuff
Catéter IV 21 G	Laringoscópio
Garrafa de O2	Ambú
Cânula nasal p/ O2	Lâminas bisturi
lanterna	Abre-bocas

Fármacos

Domitor®	Imalgene®
Antisedan®	Adrenalina e Doxapram
Betadine, água oxigenada e álcool	Soro fisiológico
Diazepam	Lidocaína
Butorfanol	Atropina
Furosemida	Metilprednisolona
Dexametasona	Bicarbonato de sódio
Cloreto de Potássio	Cloreto de Cálcio
Dopamina	Prometazina
Cimetidina	Fenobarbital
Glucosoro 50%	NaCl 0,9%
Iodopovidona	NaCl 7,5 %

Material para recolha de amostras

Tubos com EDTA (sangue completo)	Centrífuga
Tubos com activador de coagulação (soro)	Tubos falcon com e sem sílica gel (recolha de

excrementos)

Contenção

A captura de exemplares vivos tem o potencial de provocar lesões e stress nos indivíduos. No sentido de minimizar estes riscos, que podem mesmo conduzir a situações de stress extremo e miopatia de captura, o bem estar do animal deve ser mantido como prioridade em todos os passos do processo de captura e manipulação. Devem ser proporcionadas condições adequadas de insolação/ensombramento, alimentação e temperatura, bem como deverá ter sempre água à disposição até ao momento da libertação (Gannon *et al.*, 2007).

Os animais capturados nas armadilhas de caixa deverão ser prontamente transferidos para uma caixa de contenção, onde será administrada a anestesia. A transferência deverá desenrolar-se através de movimentações naturais do animal, com o mínimo de intervenção e contacto com os técnicos envolvidos. Neste contexto, considera-se que a transferência deverá seguir os seguintes passos: 1) Alinhamento caixa de contenção aberta com a armadilha de caixa, providenciando livre passagem de uma para a outra; 2) Colocação de uma manta/cobertor (utilizado para isolar a armadilha de caixa do contacto visual do animal com os técnicos) na caixa de contenção. O animal tenderá a deslocar-se naturalmente para a área escura, na caixa de contenção, que deverá ser fechada após a transferência.

A contenção do animal deverá ser efectuada deslocando a parede falsa da caixa de contenção, comprimindo-o contra a outra parede o suficiente para que os seus movimentos sejam tão reduzidos que a anestesia possa ser administrada via intra-muscular com uma seringa, sem o perigo de partir agulhas ou perder anestesia. Todo este procedimento deve ser efectuado com a caixa de contenção sempre o mais tapada possível, reduzindo o stress induzido pelo contacto visual do animal com os técnicos envolvidos no processo.

Imobilização química

Todos os mamíferos carnívoros capturados deverão ser anestesiados com uma injeção intramuscular. O anestésico utilizado deverá ser uma mistura de Domitor® e Imalgene® em proporção de 2:1. A preparação da anestesia e imobilização química do animal capturado deverá ser da responsabilidade do Médico Veterinário presente no local.

Uma vez contido o animal, o Médico Veterinário deverá observar e avaliar a possibilidade de anestésiar (preferencialmente na zona da coxa). A anestesia deverá ser administrada com as dosagens descritas abaixo.

Deverão ser preparadas duas seringas de iguais dosagens com o valor mínimo proposto para a imobilização (0.04 mL Domitor + 0.02 mL Imalgene /kg do peso estimado do animal). No entanto, numa primeira fase, apenas a dose mínima deverá ser administrada. O Médico Veterinário deverá então ir monitorizando a indução e avaliando a necessidade de administrar mais alguma anestesia (e que quantidade) já preparada na segunda seringa. Para este procedimento deverão ser utilizadas seringas de insulina (1mL, gradação de 0.01mL).

Durante todo este procedimento o barulho deverá ser o mais reduzido possível e durante a fase de indução toda a equipa se deverá afastar da caixa de contenção sendo apenas o Médico Veterinário a ir regularmente vigiar o estado do animal.

Dosagens de anestesia para imobilização química dos mamíferos carnívoros capturados:

Canídeos e Felídeos:

Mínimo: 0.04 mL Domitor + 0.02 mL Imalgene /kg do peso estimado do animal

Máximo: 0.08 mL Domitor + 0.04 mL Imalgene /kg do peso estimado do animal

Mustelídeos e Viverrídeos:

Mínimo: 0.06 mL Domitor + 0.03 mL Imalgene /kg do peso estimado do animal

Máximo: 0.10 mL Domitor + 0.05 mL Imalgene /kg do peso estimado do animal

Manipulação e monitorização

Toda esta fase deverá ser conduzida à sombra, com cuidados para manter o animal sempre com a temperatura corporal adequada (com recurso a acumuladores de frio se necessário). A cabeça do animal deverá estar coberta com uma toalha em todos os momentos e as suas mucosas e globos oculares irrigados com soro fisiológico.

Durante toda a manipulação do animal anestesiado deverão ser monitorizados as frequências cardíaca e respiratória, o tempo de repleção e a temperatura em intervalos regulares de 5 minutos ou então deverá-se optar pela utilização de um pulso-oxímetro que mantém uma monitorização constante da freq. Cardíaca e grau de saturação dos tecidos em O₂.

A primeira avaliação que deve ser efectuada é sobre o estado físico e fisiológico do animal. Nesta fase o Médico Veterinário deverá fazer um “*Check-up*” geral ao animal em causa para verificar feridas externas e outro tipo de lesões ou sintomas de outro tipo de doenças ou malformações. Todas as situações que possam prejudicar a sanidade geral do animal deverão corrigidas na medida do possível.

No tempo decorrente entre a monitorização dos sinais vitais do animal deverão ser retirados os dados e amostras desejáveis. As amostras de sangue devem ser colhidas, preferencialmente da veia basílica, sendo o sangue completo transferido de imediato para um tubo com EDTA (1mL) e de soro (1mL) para parâmetros bioquímicos. Carraças e outros parasitas encontrados também devem ser retirados e conservados para posterior identificação e análise. Amostras de pêlo e dejectos também devem ser colhidas e armazenadas de acordo com o protocolo descrito na secção – recolha, transporte e armazenamento de outras amostras (excrementos) – do presente documento.

Uma vez que se tornem visíveis os sinais de recobro por parte do animal (começa a lambar o nariz ou a querer movimentar-se) deverão ser suspensos todos os trabalhos e o animal deve ser transferido de imediato para uma jaula coberta onde fará o recobro, distante de perturbações. O recobro deverá ser monitorizado pelo Médico Veterinário.

Aquando do fim trabalhos e a não ser que o animal mostre sinais evidentes de recuperação do estado de anestesia, deverá administrar-se Antisedan® via intra-muscular (metade da dosagem aplicada de Domitor) para induzir o recobro.

Quando o animal estiver completamente recuperado da anestesia deverá ser aberta a porta da jaula de recobro para que este fuja. Todos os animais devem ser libertados na mesma zona de captura.

Procedimentos para recolha de amostras

Recolha de amostras sangue:

- a. Desinfecção da pele com álcool etílico 70 %;
- b. Recolha de 5 a 10 ml de sangue por flebotomia da veia cefálica, safena ou jugular utilizando agulhas de 21 ou 18 G acopladas a seringa de 5 ml;
- c. Hemostase por compressão do local de flebotomia.
- d. Distribuição do volume de sangue recolhido por tubos secos (obtenção de soro), EDTA (hematologia, PCR), Heparina (bioquímica sanguínea) ou tubos de hemocultura.
- e. Reservar 1 gota de sangue para realização de esfregaço sanguíneo com lâmina e lamela;
- f. Armazenamento dos tubos a 4-8° C até processamento das amostras.

Recolha de amostras urina:

- a. Recolha do volume possível por de jacto médio de urina associado ou não a suave compressão abdominal;
- b. Algáliação temporária da uretra com técnica estéril;
- c. Recolha da urina para frascos estéreis e armazenamento a 4-8°C até processamento das amostras.

Recolha de amostras urina:

- a. Recolha após defecação ou por zaragatoa estéril da ampola rectal;
- b. Colocação das amostras em frascos ou tubos secos estéreis;
- c. Armazenamento a 4-8° C até processamento das amostras.

Recolha de amostras de Pêlos e raspagens cutâneas:

- a. Recolha de pêlos e/ou raspagens cutâneas, especialmente se acompanhadas de lesões dermatológicas (alopécia, eritema, descamação);

- b. Colocação das amostras em tubos secos e armazenamento a 4-8° C até processamento;

Recolha de amostras com zaragatoas oculares:

- a. Humedecimento de zaragatoa estéril com soro fisiológico estéril;
- b. Passagem da zaragatoa com movimentos rotativos suaves no saco conjuntival. Usar outra zaragatoa para o outro olho;
- c. Colocação das zaragatoas em tubos secos estéreis e armazenamento a 4-8° C até processamento das amostras.

Recolha de ectoparasitas:

- a. Recolha de carraças com pinça e colocação em tubo seco, juntamente com um fragmento de vegetação;
- a. Armazenamento dos tubos a 4-8° C até processamento das amostras.

RECOLHA, ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS DE ANIMAIS VIVOS

A recolha de amostras para pesquisa das doenças seleccionadas em animais vivos deverá ser recolhida aquando de acções de captura de animais, seguindo os protocolos definidos na secção anterior – Protocolos de Gestão pós-captura - do presente documento ou em animais acolhidos para recuperação na rede nacional de centros de recuperação de fauna selvagem do ICNB.

Nesta secção são discriminadas as amostras necessárias, veículo e condições de armazenamento e respectiva prova diagnóstico para a pesquisa da presença do agente (ou resposta imunitária ao mesmo) nos indivíduos capturados infeccioso.

DOENÇAS BACTERIANAS

Tuberculose

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Zaragatoa nasal/feridas cutâneas (se lesões presentes)	Lâmina de microscópio fixada ao ar	Caixa de transporte de lâminas; temperatura ambiente	Coloração Ziehl-Nielsen/Auramina
	Tubo seco	4 ⁰ C	PCR 2 fases
PAAF linfonodos retrofaríngeos	Lâmina de microscópio fixada ao ar	Temperatura ambiente	Coloração Ziehl-Nielsen/Auramina
	Tubo seco	4 ⁰ C	PCR 2 fases
	Meio de transporte	4 ⁰ C	Cultura e isolamento em meio Lowenstein-Jensen
Soro	Tubo seco	4 ⁰ C	ELISA para detecção Acs anti-MPB70

Leptospirose

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Soro	Tubo seco	4 ⁰ C	MAT*
			ELISA (detecção de IgM + IgG)

*os antígenos utilizados nesta prova devem incluir as serovars presentes na região, informação obtida através dos dados de cultura e isolamento obtidos ou através de dados de diagnósticos realizados em humanos ou animais domésticos. Adicionalmente, devem ser incluídos os antígenos descritos para a espécie hospedeira em estudo.

Clamidiose

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Zaragatoa conjuntiva ocular (se corrimento presente)	Tubo seco	4 ^o C	PCR
	Lâmina microscópio fixada ao ar	Temp. Ambiente	Citologia com coloração Giemsa
Soro	Tubo seco	4 ^o C	IFA

Brucelose

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Soro	Tubo seco	4 ^o C	Aglutinação directa
Sangue total	Tubos hemocultura	4 ^o C	Cultura e isolamento

Ehrlichiose

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Soro	Tubo seco	4 ^o C	Imunofluorescência indirecta (IgM + IgG)
Esfregaço sanguíneo	Lâmina de microscópio fixada ao ar	Caixa de transporte; temp. Ambiente	Fixação com metanol e coloração Giemsa/Diff-Quick®
Carraças (se presentes)	Tubo seco com fragmento de vegetação	Temp. Ambiente	PCR

Tularémia

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Soro	Tubo seco	4 ^o C	Microaglutinação

Hemobartolose

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Esfregaço sanguíneo	Lâmina microscópio fixada ao ar	Temp. Ambiente	Coloração Giemsa/Diff-quick® para detecção de inclusões nos eritrócitos
Sangue total	Tubo c/ EDTA	4° C	PCR (detecção do agente)

Borreliose De Lyme

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Soro	Tubo seco	4° C	ELISA para detecção de Acs anti-B. Burgdorferi

DOENÇAS VIRAIS

Peritonite Infecciosa Felina (Pif)

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Soro	Tubo seco	4° C	ELISA para detecção de Acs anti-FCoV
Fezes/zaragatoa rectal	Tubo seco	4° C	PCR para detecção de FCoV

Imunodeficiencia Viral Felina (Fiv)

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Soro	Tubo seco	4° C	ELISA para detecção de Acs anti-FIV

Leucemia Felina (Felv)

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Soro	Tubo seco	4 ⁰ C	ELISA para detecção de Acs anti-gp70 de FIV
			ELISA para detecção de Ag p27

Panleucopénia E Outras Parvoviroses

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Soro	Tubo seco	4 ⁰ C	ELISA para detecção de Acs anti-FPV, anti-CPV-2a e CPV-2b

Rinotraqueíte Felina

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Soro	Tubo seco	4 ⁰ C	Neutralização Viral

Calicivirose Felina

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Soro	Tubo seco	4 ⁰ C	Neutralização Viral

Esgana

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Soro	Tubo seco	4 ⁰ C	Neutralização Viral
Zaragatoa oculo-nasal (se corrimento presente)	Tubo seco	4 ⁰ C	Imunofluorescência directa

DOENÇAS PARASITÁRIAS

Leishmaniose

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Soro	Tubo seco	4 ⁰ C	Imunofluorescência indirecta IgM + IgG

Toxoplasmose

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Soro	Tubo seco	4 ⁰ C	MAT (detecção de IgG)
			ELISA (detecção de IgM)

Piroplasmose

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Soro	Tubo seco	4 ⁰ C	ELISA
Esfregaço sanguíneo	Lâmina DE microscópio fixada ao ar	4 ⁰ C	Coloração Giemsa ou semelhante (detecção formas intra-eritrocitárias)

Cytauzoonose

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Soro	Tubo seco	4 ^o C	IFA
Esfregaço sanguíneo	Lâmina microscópio fixada ao ar	4 ^o C	Coloração Giemsa ou semelhante (detecção formas intra-eritrocitárias)

RECOLHA, ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS DE ANIMAIS VIVOS

A recolha de amostras para pesquisa das doenças seleccionadas em cadáveres deverá ser recolhida de animais mortos por atropelamento outro tipo de sinistralidade não direccionada ou em acções relacionadas com a actividade cinegética (raposas e sacarrabos).

Nesta secção são discriminadas as amostras necessárias, veículo e condições de armazenamento e respectiva prova diagnóstico para a pesquisa da presença do agente (ou resposta imunitária ao mesmo) nos indivíduos capturados infeccioso.

DOENÇAS BACTERIANAS

Tuberculose

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Amostra de pool de tecidos (linfonodos, fígado, rins, baço, pulmão)	Tubo seco	4 ⁰ C	PCR 2 fases
	Meio de transporte	4 ⁰ C	Cultura e isolamento em meio Lowenstein-Jensen
Imprints de lesões em órgãos	Lâmina microscópio fixada ao ar	Caixa transporte lâminas; 4 ⁰ C	Coloração Ziehl-Nielsen/Auramina

Leptospirose

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Soro (punção cardíaca)	Tubo seco	4 ⁰ C	MAT*
			ELISA (detecção de IgM + IgG)
Amostras de tecidos (rins, fígado)	Meio de transporte líquido ou BSA 1% contendo 100-200 µg/ml 5-fluorouracil	4 ⁰ C	Cultura e isolamento em meio semi-sólido contendo BSA de 0,4 a 1% de soro de coelho incubado a 29° C durante 26 semanas

BSA - Albumina Séria Bovina

Clamidiose

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Soro	Tubo seco	4 ⁰ C	IFA

Brucelose

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Amostras de tecidos (linfonodos, fígado, baço, próstata, placenta, fetos)	Tubo seco	4 ⁰ C	Cultura
Soro	Tubo seco	4 ⁰ C	Aglutinação directa

Ehrlichiose

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Amostras de tecidos (linfonodos, medula óssea)	Lâmina de microscópio fixada ao ar	Caixa de transporte; temperatura Ambiente	Fixação com metanol e coloração Giemsa/Diff- Quick ®
	Tubo seco	4 ⁰ C	PCR
soro	Tubo seco	4 ⁰ C	Imunofluorescência indirecta (IgM + IgG)

Tularémia

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Amostras de tecidos (linfonodos, baço, fígado, medula óssea)	Tubo seco	4 ⁰ C	PCR

Hemobartolense

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Fragmentos de órgãos (baço)	Tubo seco	4 ⁰ C	PCR (detecção do agente)

Borreliose De Lyme

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Fragmentos de órgãos (miocárdio, baço, fígado)	Tubo seco	4 ⁰ C	PCR (detecção do agente)
Soro	Tubo seco	4 ⁰ C	ELISA para detecção de Acs anti-B. Burgdorferi

DOENÇAS VIRAIS

Peritonite Infecciosa Felina (Pif)

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Soro (punção cardíaca)	Tubo seco	4 ^o C	ELISA para detecção de Acs anti-FCoV
Fragmentos de órgãos (intestino, fezes, líquido de derrame cavitário)	Tubo seco	4 ^o C	PCR para detecção de FcoV

Imunodeficiência Viral Felina (Fiv)

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Soro (punção cardíaca)	Tubo seco	4 ^o C	ELISA para detecção de Acs anti-FIV

Leucemia Felina (Felv)

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Soro (punção cardíaca)	Tubo seco	4 ^o C	ELISA para detecção de Acs anti-gp70 de FIV
			ELISA para detecção de Ag p27

Panleucopénia E Outras Parvoviroses

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Soro (punção cardíaca)	Tubo seco	4 ^o C	ELISA para detecção de Acs anti-FPV, anti-CPV-2a e CPV-2b

Rinotraqueíte Felina

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Soro (punção cardíaca)	Tubo seco	4 ⁰ C	Neutralização Viral

Calicivirose Felina

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Soro (punção cardíaca)	Tubo seco	4 ⁰ C	Neutralização Viral

Esgana

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Soro (punção cardíaca)	Tubo seco	4 ⁰ C	Neutralização Viral

DOENÇAS PARASITÁRIAS

Leishmaniose

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Soro (punção cardíaca)	Tubo seco	4 ⁰ C	Imunofluorescência indirecta IgM + IgG

Toxoplasmose

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Soro (punção cardíaca)	Tubo seco	4 ⁰ C	MAT (detecção de IgG)
Amostras de tecidos (SNC, músculo esquelético, fígado)			ELISA (detecção de IgM)
			Histopatologia e/ou imunohistoquímica

Piroplasmose

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Soro	Tubo seco	4 ⁰ C	ELISA

Cytauxzoonose

Amostra	Veículo	Armazenamento	Prova diagnóstico
Soro	Tubo seco	4 ⁰ C	IFA

RECOLHA, ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DE OUTRAS AMOSTRAS (EXCREMENTOS)

A recolha de amostras não-invasivas, como os excrementos, exige um procedimento rigoroso de manuseamento (Piggott & Taylor, 2003). As condições atmosféricas às quais estão expostos no campo reduzem drasticamente a qualidade do DNA que possuem (Foran *et al.*, 1997). Assim, estas amostras são muito susceptíveis a contaminações, o que implica cuidados adicionais na sua recolha e conservação, para que seja possível dar seguimento às análises genéticas subsequentes e pesquisa de agentes infecciosos (Taberlet *et al.*, 1999).

Um excremento detectado no campo ou obtido numa situação de captura de um animal, deverá ser recolhido para sacos plásticos “Zip lock” com o auxílio de luvas de látex (para prevenir a contaminação da amostra com DNAs), que deverão ser trocadas entre amostras, ou com recurso aos próprios sacos plásticos “Zip lock”, que deverão ser invertidos de modo a evitar o uso de luvas e o contacto do técnico com o excremento. Os excrementos assim recolhidos deverão ser devidamente identificados, sendo a data de recolha um dado importante. As amostras mais frescas deverão ser acomodadas de modo a manterem a sua forma e a camada superficial, o mais intacta possível. Posteriormente, num local de maior facilidade de manipulação, os excrementos deverão ser transferidos para frascos plásticos herméticos (Santini *et al.*, 2007) com Sílica Gel (Type II; Sigma S-7500), para que se promova a desidratação do excremento (Godoy, *com. pess.*), no entanto, na falta deste reagente para a dessecção do excremento poderá ser usado Etanol 96% (Kurose *et al.*, 2005). Durante este procedimento, todos os cuidados acima mencionados deverão ser tidos em conta e em caso de necessidade do uso de pinças, para a mudança do excremento do saco, para o recipiente plástico haverá a necessidade de recorrer à desinfecção da pinça em Etanol 96% e posterior passagem da mesma pela chama de uma lamparina, ou outra fonte de ignição. Todos os frascos deverão ser devidamente identificados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abranches P, Conceição-Silva FM, Silva-Pereira & Kala-azar (1984) The sylvatic cycle in the enzootic endemic focus of Arrabida in Portugal. *V J Trop Med Hyg*, 87:197-200.
- Alexander KA, Pleydell E, Williams MC, Lane EP, Nyange JFC & Michel AL (2002) *Mycobacterium tuberculosis*: an emerging disease of free-ranging wildlife. *Emerging Infectious Diseases*, 8:598-601.
- Anwar A, Knaggs J, Service KM, McLaren GW, Rjordan P, Newman C, Delahay RJ, Cheesman C & Macdonald DW (2006) Antibodies to *Toxoplasma gondii* in Eurasian badgers. *Journal of Wildlife Diseases*, 42:179-181.
- Aranaz A, Juan L, Montero N, Sánchez C, Galka M, Delso C, Álvarez J, Romero B, Bezos J, Vela AI, Briones V, Mateos A & Domínguez L (2004) Bovine tuberculosis (*Mycobacterium bovis*) in wildlife in Spain. *Journal of Clinical Microbiology*, 42:2602-2608.
- Barker IK & Parrish CR (2001) Parvovirus infections *in Infectious Diseases of Wild Mammals 2nd Edition*, Iowa State University press.
- Borrvalho R, Rego F, Palomares F & Hora A (1996) The distribution of the Egyptian mongoose *Herpestes ichneumon* (L.) in Portugal. *Mammal Review*, 26(1): 1-8.
- Briones V, Juan L, Sánchez C, Vela AI, Galka M, Montero N, Goyache J, Aranaz A, Mateos A & Domínguez L (2000) Bovine tuberculosis and the endangered iberian lynx, *Emerging Infectious Diseases* 6:189-191
- Brown RN & Burgess EC (2001) Lyme Borreliosis *in Infectious Diseases of Wild Mammals 2nd Edition*, Iowa State University press.
- Bruning-Fann CS, Schmitt SM, Fitzgerald SD, Fierke JS, Friedrich PD, Kaneeme JB, Clarke KA, Butler KL, Payeur JB, Whipple DL, Cooley TM, Miller JM, Muzo DP, Bovine tuberculosis in free-ranging carnivores from Michigan, *Journal of Wildlife Diseases* 37:58-64 2001
- Cardoso L, Rodrigues M, Santos H, Schoone G.J, Carreta P, Varejão E, van Benthem B, Afonso MO, Alves-Pires C, Semião-Santos SJ, Rodrigues J & Schallig HD (2004) Sero-epidemiological study of canine *Leishmania* spp. infection in the municipality of Alijó (Alto Douro, Portugal). *Veterinary Parasitology*, 7; 121(1-2): 21-32.
- Ceia H, Castro L, Fernandes M & Abreu P (1998) Lince-ibérico em Portugal. Bases para a sua conservação. Relatório final do Projecto "Conservação do lince-ibérico". ICN/LIFE programme. Unpublished report. ICN, Instituto da Conservação da Natureza, Portugal.
- Clifton-Hadley RS, Sauter-Louis CM, Lugton IW, Jackson R, Durr PA & Wilesmith JW (2001) *Mycobacterium bovis* infections in *Infectious Diseases of Wild Mammals 2nd Edition*, Iowa State University press.

Corner LAL (2006) The role of wild animal populations in the epidemiology of tuberculosis in domestic animals: how to assess the risk. *Veterinary Microbiology*, 112:303-12.

Cousins DV & Florisson N (2005) A review of tests available for use in the diagnosis of tuberculosis in non-bovine species. *Rev Sci Tech Off Int Epiz*, 24:1039-59.

Criado-Fornelio A, Gutierrez-Garcia L, Rodriguez-Caabeiro F, Reus-Garcia E, Roldan-Soriano MA & Dias-Sanchez MA (2000) A parasitological survey of wild red foxes (*Vulpes vulpes*) from the province of Guadalajara, Spain. *Veterinary parasitology*, 92:245-251.

Damien BC, Martina BEE, Losch S, Mossong J, Osterhaus, ADME & Muller CP (2002) Prevalence of antibodies against canine distemper virus among red foxes in Luxembourg. *Journal of wildlife diseases*, 38:856-59.

Daniels MJ, Golder MC, Jarrett O & MacDonald DW (1999) Feline viruses in wildcats in Scotland, *Journal of Wildlife Diseases*, 35:121-24.

Daniels MJ, Golder MC, Jarrett O & MacDonald DW (1999) Feline Viruses in Wildcats from Scotland. *Journal of Wildlife Diseases*, 35(1): 121–124

Davidson WR, Dawson JE & Ewing SA (2001) Ehrlichioses in Infectious Diseases of Wild Mammals 2nd Edition, Iowa State University press.

Decreto-Lei n.º 136/2007, D.R. n.º 82, Série I de 2007-04-27

Delahay R & Frolich K (2000) Absence of antibodies against distemper virus in free-ranging populations of the european badger in Great Britain. *Journal of Wildlife Diseases*, 36:576-579.

Delibes M (1999) *Herpestes ichneumon* In A.J. Mitchell-Jones, Amori G, Bogdanowicz W, Krystufek B, Reijnders PJH, Spitzenberger F, Stubbe M, Thissen JBM, Vohralík V & Zima J (eds), *The Atlas of European Mammals*. Academic Press, London.

Delibes M, Rodríguez A & Ferreras P (2000). Action Plan for the conservation of the Iberian lynx (*Lynx pardinus*) in Europe. WWF – Mediterranean program.

Dipineto L, Manna L, Baiano A, Gala M, Fioretti A, Gravino AE & Menna LF (2007) Presence of *Leishmania infantum* in red foxes (*Vulpes vulpes*) in southern Italy. *Journal of Wildlife Diseases*, 43:518-520.

Doby JM, Betremieux C, Barrat J & Rolland C (1991) Tick spirochetosis by *Borrelia burgdorferi* in wild carnivores in France. Results of serologic tests in 372 foxes. *Bull Soc Pathol Exo*, 84:46-53

- Dubey JP & Odening K (2001) Toxoplasmosis and related infections *in* Parasitic Diseases of Wild Mammals 2nd Edition, Iowa State University press.
- Fernandez-Moran J, Perez E, Sanmartin M, Saavedra D & Manteca-Vilanova X (2001) Reversible immobilization of eurasian otters with a combination of ketamine and medetomidine. *Journal of Wildlife Diseases*, 37(3): 561-565.
- Ferreras P, Aldama JJ, Beltrán JF & Delibes M (1994) Immobilization of the endangered Iberian lynx with xylazine- and ketamine-hydrochloride. *Journal of Wildlife Diseases*, 30(1):65-68.
- Foran D, Crooks K & Minta S (1997) Species identification from scat: an unambiguous genetic method. *Wildlife Society Bulletin*. 25: 835-839.
- Fournier-Chambrillon C, Chusseau JP, Dupuch J, Maizeret C & Fournier P (2003) Immobilization of free-ranging European mink (*Mustela lutreola*) and polecat (*Mustela putorius*) with medetomidine-ketamine and reversal by atipamezole. *Journal of Wildlife Diseases*, 39(2): 393-399.
- Frolich K, Streich WJ, Fickel J, Jung S, Truyen U, Hentschke J, Dedek J, Prager D & Latz N (2005) Epizootiologic investigations of parvovirus infections in free-ranging carnivores in Germany. *Journal of Wildlife Diseases*, 41:231-235.
- Fromont E, Sager A, Léger F, Borguemestre F, Jouquelet E, Stahl P, Pontier D & Artois M, (2000) Prevalence and pathogenicity of retroviruses in wildcats in France. *Veterinary Record*, 146:317-319.
- Godoy JA, Estación Biologica Doñana.
- Goodrich JM, Kerley LL, Schleyer BO, Miquelle DG, Quigley KS, Smirnov YN, Nikolaev IG, Quigley HB & Hornocker MG (2001) Capture and chemical anesthesia of Amur (Siberian) tigers. *Wildlife Society Bulletin*, 29 (2): 533-542.
- Grassman Jr. LI, Austin SC, Tewes ME & Silvy NJ (2004) Comparative Immobilization of Wild Felids in Thailand. *Journal of Wildlife Diseases*, 40(3): 575-578.
- Groen J, Koraka P, Nur YA, Avsic-Zupanc T, Goessens WH, Ott A & Osterhaus AD (2002) Serologic evidence of ehrlichiosis among humans and wild animals in The Netherlands. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 21:46-9.
- Heidrich J, Schonberg A, Steuber S, Nockler K, Schulze P, Voigt WP & Schein E (1999) Investigation of skin samples from red foxes (*Vulpes vulpes*) in eastern Brandenburg (Germany) for the detection of *Borrelia burgdorferi* s. l.. *Zentralbl Bakteriologie*, 289:666-72.

Hejlícek K, Literák I & Nezval J (1997) Toxoplasmosis in wild mammals from the Czech Republic. *Journal of Wildlife Diseases*, 33:480-485.

Ikeda Y, Nakamura K, Miyazawa T, Tohya Y, Takahashi E & Mochizuki M (2002) Feline host range of parvovirus: recent emergence of new antigenic types in cats. *Emerging Infectious Diseases*, 8:341-346.

Instituto da Conservação da Natureza e Biodiversidade (2007). Preparação de um diploma de aprovação do Plano de Acção para a Conservação do Lince-ibérico (*Lynx pardinus*) em Portugal. Disponível em: http://portal.icnb.pt/NR/rdonlyres/ADD69793-F401-4748-B329-87AAB0B42C91/1715/PA_Lince_30Out2007.pdf

Jalanka HH & Roecken BO (1990) The use of Medetomidine, Medetomidine-Ketamine combinations, and Atipamezole in nondomestic mammals: a review. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 21 (3):259-282.

Kennedy M, Kania S, Stylianides E, Bertschinger H, Keet D & Vuuren M (2003) Detection of feline coronavirus in southern African nondomestic felids, *Journal of Wildlife Diseases* 39:529-535

Kocan AA & Waldrup KA (2001) Piroplasms (*Theileria* spp., *Cytauxzoon* spp. and *Babesia* spp.) in *Parasitic Diseases of Wild Mammals* 2nd Edition, Iowa State University press.

Kurose N, Masuda R & Tataru M (2005) Fecal DNA analysis for identifying species and sex of sympatric carnivores: a noninvasive method for conservation on the Tsushima Islands, Japan. *Journal of Heredity*, 96(6):688–697.

Leighton FA & Kuiken T (2001) *Leptospirosis in Infectious Diseases of Wild Mammals* 2nd Edition, Iowa State University press.

Leutenegger CM, Hofmann-Lehmann R, Riols C, Liberek M, Worel G, Lups P, Fehr D, Hartmann M, Weilenmann P & Lutz H (1999) Viral infections in free-living populations of the European wild cat. *Journal of Wildlife Diseases*, 35:678-686.

Lisle GW, Bengis RG, Schmitt SM & O'Brien DJ (2002) Tuberculosis in free-ranging wildlife: detection, diagnosis and management. *Rev Sci Tech Off Int Epiz*, 21:317-34

Lopez-Peña M, Quiroga MI, Vázquez S & Nieto JM (1994) Detection of canine distemper viral antigen in foxes (*Vulpes vulpes*) in northwestern Spain. *Journal of Wildlife Diseases*, 30(1):95-98.

Lozano J, Moleón M & Virgós E (2006) Biogeographical patterns in the diet of the wildcat, *Felis silvestris* Schreber, in Eurasia: factors affecting the trophic diversity. *Journal of Biogeography*, 33 (6): 1076-1085.

Lozano J, Virgós E, Malo AF, Huertas DL & Casanovas JG (2003) Importance of scrub-pastureland mosaics for wild-living cats occurrence in a Mediterranean area: implications for the conservation of the wildcat (*Felis silvestris*). *Biodiversity and Conservation*, 12(5): 921-935.

- Luaces I, Aguirre E, García-Montijano M, Velarde J, Tesouro MA, Sánchez C, Galka M, Fernández P & Sainz A (2005) First report of an intraerythrocytic small piroplasm in wild iberian lynx (*Lynx pardinus*), *Journal of Wildlife Diseases* 41:810-815
- Lukesová D & Literák I (1998) Shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts by Felidae in zoos in the Czech Republic. *Veterinary Parasitology*, 74:1-7.
- Malo AF, Lozano J, Huertas DL, & Virgós E (2004) A change of diet from rodents to rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). Is the wildcat (*Felis silvestris*) a specialist predator? *Journal of Zoology*, 263: 401-407.
- Mancianti F, Mignome W & Galastri F (1994) Serologic survey for leishmaniosis in free-living red foxes (*Vulpes vulpes*) in Italy. *Journal of Wildlife Diseases*, 30:454-456.
- Marker L, Munson L, Basson PA & Quackenbush S (2003) Multicentric T-cell lymphoma associated with feline leukaemia virus infection in a captive Namibian cheetah (*Acinocyx jubatus*). *Journal of Wildlife Diseases*, 39:690-695.
- Martín-Atance P, León-Vizcaíno L, Palomares F, Revilla E, González-Candela M, Calzada J, Cubero-Pablo MJ & Delibes M (2006) Antibodies to *Mycobacterium bovis* in wild carnivores from Doñana National Park (Spain). *Journal of Wildlife Diseases*, 42:704-8.
- Martín-Atance P, Palomares F, González-Candela M, Revilla E, Cubero MJ, Calzada J & León-Vizcaíno L (2005) Bovine tuberculosis in a free ranging red fox (*Vulpes vulpes*) from Doñana National Park (Spain). *Journal of Wildlife Diseases*, 41:435-436.
- Mathews F, Macdonald DW, Taylor GM, Gelling M, Norman RA, Honess PE, Foster R, Gower CM, Varley S, Harris A, Palmer S, Hewinson G & Webster JP (2006) Bovine tuberculosis (*Mycobacterium bovis*) in British farmland wildlife: the importance to agriculture. *Proc. R. Soc. B*, 273: 357–3.
- McOrist S, Boid R, Jones TW, Easterbee N, Hubbard AL & Jarrett O (1991) Some viral and protozoal diseases in the European wild cat (*Felis silvestris*). *Journal of Wildlife Diseases*, 27:693-696.
- Milas Z, Turk N, Janicki Z, Slavica A, Staresina V, Barbic L, Lojkic M & Modric Z (2006) Leptospiral antibodies in red foxes (*Vulpes vulpes*) in northwest Croatia. *Veterinarski Arhiv*, 76 (suppl.):51-57.
- Morner T & Addison E (2001) *Tularemia in Infectious Diseases of Wild Mammals* 2nd Edition, Iowa State University press.
- Morsy TA, Al-Dakhil MA & El-Bahrawy AF (1999) Natural *Leishmania* infection in sand cats captured in Riyadh district. Saudi Arabia, *J Egypt Soc Parasitol* 29:69-74.

- Mudappa D, Chellam R (2001) Capture and immobilization of wild brown palm civets in Western Ghats. *Journal of Wildlife Diseases*, 37(2):383-6.
- Nielsen L (1999) *Chemical Immobilization of Wild and Exotic Animals*. First edition. Iowa State University Press. 342pp.
- Nowell K & Jackson P (1996) *Wild Cats - Status survey and conservation action plan*. IUCN, SSC Cat Specialist Group. Cambridge, U.K., Burlington Press. 383pp.
- OIE (2006) *Wildlife diseases in the UK reported in the year 2006*, Report to the department of environment, food and rural affairs (Defra) and the Office international des Epizooties (OIE).
- Oliveira R, Godinho R, Randi E, Ferrand N & Alves PC (*in press*) Molecular analysis of hybridization between wild and domestic cats (*Felis silvestris*) in Portugal: Implications for conservation. *Conservation Genetics*. doi 10.1007/s10592-007-9297.
- Olszanska A & Breitenmoser U (2004) II International Seminar and Workshop on the Conservation of the Iberian Lynx, 15-17 Dec 2004, Córdoba, Spain. Meeting report. International Union for the Conservation of Nature – Cat Specialist Group – Species Survival Commission (CSG SSC UICN).
- Ostrowski S, Vuuren MV, Lenain DM & Durand A (2003) A serologic survey of wild felids from Central West Saudi Arabia. *Journal of Wildlife Diseases*, 39:696-701.
- Padiál JM, Avila E & Sanchez JM (2002) Feeding habits and overlap among red fox (*Vulpes vulpes*) and stone marten (*Martes foina*) in two Mediterranean mountain habitats. *Mammalian Biology*, 67(3): 137-146.
- Palomares F & Delibes M (1991) Ecología comparada de la Gineta *Genetta genetta* (L.) y el Meloncillo *Herpestes ichneumon* (L.) (Mammalia, Viverridae) en Doñana (SO de la Península Ibérica). *Bol. R. Esp. Hist. Nat. (Sec. Biol.)*, 87: 1-4.
- Palomares F & Delibes M (1994) Spatio-Temporal Ecology and Behavior of European Genets in Southwestern Spain. *Journal of Mammalogy*, 75(3): 714-724.
- Palomares F (2001) Vegetation structure and prey abundance requirements of the Iberian lynx: implications for the design of reserves and corridors. *Journal of Applied Ecology*, 38(1): 9-18.
- Palomo L & Gisbert J (2002) *Atlas de los mamíferos de España*. Dirección General de Conservación de la Naturaleza - SECEM - SECEMU, Madrid.
- Pavlacik L, Celer V, Koubek P & Literak I (2007) Prevalence of canine distemper virus in wild mustelids in the Czech Republic and a case of canine distemper in young stone martens. *Veterinarni Medicina*, 52:69-73.

Pavlik I, Machackova M, Ayele WY, Lamka J, Parmova I, Melicharek I, Hanzlikova M, Kormendy B, Nagy G, Cvetnic Z, Ocepek M & Lipiec M (2002) Incidence of bovine tuberculosis in wild and domestic animals other than cattle in six central European countries during 1990-1999. *Vet Med – Czech*, 47:122-31.

Pierpaoli M, Birò ZS, Herrmann M, Hupe K, Fernandes M, Ragni B, Szemethy L & Randi E (2003) Genetic distinction of wildcat (*Felis silvestris*) populations in Europe, and hybridization with domestic cats in Hungary. *Molecular Ecology*, 12(10): 2585-2598.

Piggott MP & Taylor AC (2003) Remote collection of animal DNA and its applications in conservation management and understanding the population biology of rare and cryptic species. *Wildlife Research*: 30: 1-13.

Prigioni C (1999) *Meles meles* In: A.J. Mitchell-Jones, G. Amori, W. Bogdanowicz, B. Krystufek, P.J.H. Reijnders, F. Spitzenberger, M. Stubbe, J.B.M. Thissen, V. Vohralík, and J. Zima (eds), *The Atlas of European Mammals*. Academic Press, London.

Pusterla N, Deplazes P, Braun U & Lutz H (1999) Serological evidence of infection with *Ehrlichia* spp. in red foxes (*Vulpes vulpes*) in Switzerland. *Journal of Clinical Microbiology* 37:1168-69.

Ragni B (1978) Observations on the ecology and behavior of the wild cat (*Felis silvestris* Schreber, 1777) in Italy. *Carnivore Genetics Newsletter*, 3, 270-274.

Ramsden R, Coppin P & Johnson D (1976) Clinical observations on the use of ketamine hydrochloride in wild carnivores. *Journal of Wildlife Diseases*, 12: 221-225.

Roelke ME, Pecon-Slattery J, Winterbach C, Winterbach H, Brown M, Cunningham M, Smith CD, Packer C, VandeWoude S & O'Brien SJ (2006) Wild African lions and Florida pumas infected with FIV reveal distortions in their T-lymphocyte profiles with significant CD4 cell depletion: clinical & pathological consequences, 8th International Feline Retrovirus Research Symposium.

Rufenacht S, Sager H, Muller N, Schaerer V, Heier A, Welle MM & Roosje PJ (2005) Two cases of feline leishmaniosis in Switzerland. *Veterinary Record*, 156:542-545.

Ryser-Degiorgis MP, Hofmann-Lehmann R, Leutenegger CM, Sagerstad CH, Morner T, Mattsson R & Lutz H (2005) Epizootiologic investigations of selected infectious disease agents in free-ranging eurasian lynx from Sweden. *Journal of Wildlife Diseases*, 41:58-66.

Ryser-Degiorgis MP, Jakubek EB, Segerstad CH, Brojer C, Morner T, Jansson DS, Lunden A & Uggla A (2006) Serological survey of *Toxoplasma gondii* infection in free-ranging Eurasian lynx (*Lynx lynx*) from Sweden. *Journal of Wildlife Diseases*, 42:182-187.

- Santini A, Luchini V, Fabbri E & Randi E (2007) Ageing and environmental factors affect PCR success in wolf (*Canis lupus*) excremental DNA samples. *Molecular Ecology Notes*, doi: 10.1111/j.1471-8286.2007.01829.x
- Sarmiento P, Cruz J, Monterroso P, Tarroso P, Ferreira C & Negrões N (2004) The Iberian lynx conservation in Portugal. Dilemmas and solutions. *Wildlife Biology in Practice*, 1(2): 156-162.
- Sleeman JM, Keane JM, Johnson JS, Brown RJ & Woude SV (2001) Feline leukaemia virus in a captive bobcat. *Journal of Wildlife Diseases*, 37:194-200.
- Sobrino R, Arnal MC, Luco DF & Gortázar C (2008) Prevalence of antibodies against canine distemper virus and canine parvovirus among foxes and wolves from Spain. *Veterinary Microbiology*, 126(1-3): 251-256.
- Sobrino R, Cabezón O, Milián J, Pabón M, Arnal MC, Luco DF, Gortázar C, Dubey JP & Almeria S (2007) Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in wild carnivores from Spain. *Veterinary parasitology*, 148 (3-4): 187-192.
- Solano-Gallego L, Rodríguez-Cortés A, Iniesta L, Quintana J, Pastor J, Espada Y, Portús M & Alberola J (2007) Cross-sectional serosurvey of feline leishmaniasis in ecoregions around the northwestern Mediterranean. *Am J Trop Med Hyg* 76:676-680.
- Steinel A, Parrish CR, Bloom ME & Truyen U (2001) Parvovirus infections in wild carnivores. *Journal of Wildlife Diseases*, 37:594-607.
- Stobel K, Schonberg A & Staak C (2002) A new non-species dependent ELISA for detection of antibodies to *Borrelia burgdorferi* s.l. in zoo animals. *International Journal of Medical Microbiology*, 33:88-99.
- Taberlet P, Waits L & Luikart G (1999) Noninvasive genetic sampling: look before you leap. *Tree*, 4(8): 323-327.
- Thorne ET (2001) *Brucellosis in Infectious Diseases of Wild Mammals 2nd Edition*, Iowa State University press.
- Truyen U, Muller T, Heidrich R, Tackmann K & Carmichael LE (1998) Survey on viral pathogens in wild red foxes (*Vulpes vulpes*) in Germany with emphasis on Parvovirus and analysis of a DNA sequence from a red fox Parvovirus. *Epidemiol Infect*, 121:433-440.
- Vargas A (2004) Programa de Conservación Ex-Situ del Lince Ibérico: Organización, Planificación Y Situación Actual. II International Seminar and Workshop on the conservation of the Iberian Lynx.
- Virgós E & García FJ (2002) Patch occupancy by stone martens *Martes foina* in fragmented landscapes of central Spain: the role of fragment size, isolation and habitat structure. *Acta Oecologica*, 23: 231-237.

Virgós E, Llorente M & Cortés Y (1999) Geographical variation in genet (*Genetta genetta* L.) diet: a literature review. *Mammal Review*, 29(2): 117–126.

Virgós E, Casanovas JG (1997) Habitat selection of genet *Genetta genetta* in the mountains of central Spain. *Acta Theriologica*, 42 (2): 169-177.

Willi B, Filoni C, Catão-Dias JL, Cattori V, Meli ML, Vargas A, Martínez F, Roelke ME, Ryser-Degiorgis MP, Leutenegger CM, Lutz H & Hofmann-Lehmann R (2007) Worldwide occurrence of feline hemoplasma infections in wild felid species. *Journal of Clinical Microbiology*, 45:1159-66.

Williams ES (2001) Canine Distemper in *Infectious Diseases of Wild Mammals* 2nd Edition, Iowa State University press.

Worley M (2001) Retrovirus infections in *Infectious Diseases of Wild Mammals* 2nd Edition, Iowa State University press.