



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL NOS TRÓPICOS

**AVALIAÇÃO DE UMA ONDA FOLICULAR EM CABRAS NATURALMENTE
INFECTADAS POR *CORYNEBACTERIUM PSEUDOTUBERCULOSIS***

LAURA NICOLE FILIPIN DA COSTA

Médica Veterinária

Salvador – BA

2021

LAURA NICOLE FILIPIN DA COSTA

**AVALIAÇÃO DE UM ONDA FOLICULAR EM CABRAS NATURALMENTE
INFECTADAS POR *CORYNEBACTERIUM PSEUDOTUBERCULOSIS***

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal nos Trópicos da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal nos Trópicos.

Área de concentração: Saúde Animal

Orientador: Prof. Dr. Antônio de Lisboa Ribeiro Filho

Coorientadora: Profa. Dra. Ana Karina da Silva Cavalcante

Salvador – Ba

2021

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA),
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Filipin da Costa, Laura Nicole

Avaliação de uma onda folicular em cabras
naturalmente infectadas por *Corynebacterium*
pseudotuberculosis / Laura Nicole Filipin da Costa. --
Salvador, BA, 2021.
50 f.

Orientador: Antônio Lisboa Ribeiro Filho.

Coorientadora: Ana Karina Silva Cavalcante.

Dissertação (Mestrado - Mestrado ? Ciência Animal
nos Trópicos) -- Universidade Federal da Bahia,
Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina
Veterinária e Zootecnia, 2021.

1. Cabras. 2. Linfadenite Caseosa. 3. Reprodução
animal. I. Lisboa Ribeiro Filho, Antônio. II. Silva
Cavalcante, Ana Karina . III. Título.

“Se você acha que é possível ter uma vida perfeita, viverá em eterna frustração. Altos e baixos, alegria e tristeza, entusiasmo e decepção são partes integrantes da nossa existência. Lute sempre para melhorar e alegre-se com suas conquistas: Muitas pessoas devem a grandeza de suas vidas às dificuldades que tiveram de vencer”.

Baden Powell

“Se caí foi porque estava caminhando, e caminhar vale a pena mesmo que caias”.

Eduardo Galeano

RESUMO

Costa, L. N. F. **Avaliação de uma onda folicular em cabras naturalmente infectadas por *Corynebacterium pseudotuberculosis***. Salvador, 2021. 51p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos) – Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Federal da Bahia, 2021.

A linfadenite caseosa é uma doença de caráter crônico, caracterizada pela presença de abscessos nos linfonodos e órgãos de animais de produção, e tem como agente etiológico *Corynebacterium pseudotuberculosis*. A transmissão ocorre principalmente pelo contato direto de animais portadores da enfermidade com os sadios. As medidas de controle são a vacinação e o isolamento dos animais infectados. Como consequência dessa patologia, observa-se redução dos índices produtivos e reprodutivos dos animais. a partir dessas informações, este estudo teve como objetivo avaliar a onda folicular de cabras naturalmente infectadas por *C. pseudotuberculosis*. Para tanto, vinte e uma fêmeas caprinas, mestiças, não gestantes e em idade reprodutiva, previamente selecionadas através de teste ELISA para definição dos quatro grupos experimentais formados por cabras soropositivas e soronegativas, submetidas ou não ao controle farmacológico do ciclo estral. Em um dia aleatório do ciclo estral, denominado dia zero (D0), iniciou-se um protocolo para sincronização do ciclo para avaliação da dinâmica ovariana, por meio da inserção intravaginal de um dispositivo de progesterona. No dia nove (D9) foi realizada a retirada do dispositivo juntamente com a aplicação de 300UI de eCG e 125µg cloprostenol em todos os animais do grupo tratamento, por via intramuscular. Em seguida, para acompanhamento da dinâmica folicular, as fêmeas foram submetidas ao exame de ultrassonografia, via transretal, em modo B e *power-flow*, a cada 12 horas, à partir da hora zero da remoção do implante até 72h após, totalizando cinco avaliações, para mensurar o diâmetro folicular, diâmetro do folículo ovulatório, a taxa de crescimento folicular do D9 ao dia onze, a área da parede folicular e a área de perfusão sanguínea da parede folicular e o tempo entre a remoção do dispositivo de progesterona e a ovulação. Para o grupo controle, as fêmeas tiveram o ciclo estral sincronizado apenas utilizando implante de progesterona, para mimetizar o ciclo natural durante as avaliações da dinâmica. Após as análises, verificou-se que não houve diferenças estatísticas para as variáveis avaliadas, porém uma tendência das fêmeas soropositivas terem maiores diâmetros de folículos ovulatórios. Estes resultados pressupõem que a bactéria não exerce influência sobre o recrutamento e desenvolvimento inicial folicular de cabras submetidas ao controle farmacológico do ciclo estral, nem sobre a área de irrigação da parede dos folículos, indicando que não existe diferença na perfusão sanguínea dos animais avaliados.

Palavras-Chave: *Doppler*, Linfadenite Caseosa; Progesterona; Reprodução animal.

ABSTRACT

Costa, L. N. F. **Evaluation of a follicular wave in goats naturally infected with *Corynebacterium pseudotuberculosis***. Salvador, 2021. 51p. Dissertation (Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos) – Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Federal da Bahia, 2021.

Caseous lymphadenitis is a chronic disease, characterized by the presence of abscesses in the lymph nodes and organs of farm animals, and its etiologic agent is *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Transmission occurs mainly through direct contact between animals carrying the disease and healthy ones. Control measures are vaccination and isolation of infected animals. As a result of this pathology, there is a reduction in the productive and reproductive rates of animals. Based on this information, this study aimed to evaluate the follicular wave of goats naturally infected with *C. pseudotuberculosis*. Therefore, twenty-one goat females, crossbred, non-pregnant and of reproductive age, previously selected through ELISA test to define the four experimental groups formed by seropositive and seronegative goats, submitted or not to the pharmacological control of the estrous cycle. On a random day of the estrous cycle, called day zero (D0), a cycle synchronization protocol was started to assess ovarian dynamics, through the intravaginal insertion of a progesterone device. On day nine (D9) the device was removed along with the application of 300UI of eCG and 125µg of cloprostenol in all animals in the treatment group, by intramuscular route. Then, to monitor the follicular dynamics, the females underwent transrectal ultrasound examination, in B-mode and power-flow, every 12 hours, from the zero hour of implant removal until 72 hours later, totaling five evaluations, to measure follicular diameter, ovulatory follicle diameter, follicular growth rate from D9 to day eleven, follicular wall area and follicular wall blood perfusion area, and time between progesterone device removal and ovulation. For the control group, the females had the estrous cycle synchronized only using progesterone implant, to mimic the natural cycle during the dynamic evaluations. After the analysis, it was found that there were no statistical differences for the variables evaluated, but a trend of seropositive females to have larger diameters of ovulatory follicles. These results assume that the bacterium does not exert influence on the recruitment and initial follicular development of goats submitted to pharmacological control of the estrous cycle, nor on the irrigation area of the follicle wall, indicating that there is no difference in blood perfusion in the evaluated animals.

Keywords: *Doppler*; Caseous lymphadenitis; Progesterone; Animal reproduction.

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Eventos que ocorrem durante a onda folicular: recrutamento, seleção, dominância e ovulação	16
Figura 2. Grupos de animais que compõem o experimento: Grupo tratamento (GT1 e 2); Grupo controle (GC1 e 2)	29
Figura 3. Diagrama de atividades realizadas ao longo dos protocolos de sincronização e momento do exame ultrassonográfico, objetivando avaliar a dinâmica folicular (Etapa I)	30
Figura 4. Média do diâmetro folicular a partir da avaliação um (A1) até a última avaliação (A5) nos quatro grupos experimentais: GT1 (grupo tratamento soropositivas); GT2 (grupo tratamento soronegativas); GC1 (grupo controle soropositivas) e GC2 (grupo controle soronegativas)	36
Figura 5. Ovários de cabras mestiças soropositivas e soronegativas para <i>C. pseudotuberculosis</i> , submetidas ou não ao controle farmacológico do ciclo estral, do grupo GT1 e GT2, obtidas com ultrassom (Z5 Vet; Mindray), via transretal.	38

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Variáveis analisadas durante a dinâmica folicular ovariana (mm, cm ² , mm/hora, % e horas), avaliadas por ultrassonografia modo B nos grupos experimentais de cabras soropositivas e soronegativas, com e sem protocolo hormonal	34
Tabela 2. Efeito da utilização ou não do protocolo hormonal em cabras soropositivas e soronegativas sobre as características foliculares avaliadas por ultrassonografia modo Doppler colorido	39

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVOS	10
2.1 OBJETIVO GERAL.....	10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	10
3 HIPÓTESES	11
4 REVISÃO DE LITERATURA	12
4.1 ASPECTOS GERAIS DA DINÂMICA FOLICULAR EM CABRAS.....	12
4.1.1 Ciclo estral.....	12
4.1.2 Foliculogênese.....	12
4.1.3 Folículos pré-antrais e antrais.....	13
4.1.4 Dinâmica folicular.....	15
4.2 USO DA ULTRASSONOGRAFIA NA REPRODUÇÃO.....	17
4.2.1 Uso da ultrassonografia modo <i>Doppler</i> na avaliação da dinâmica folicular.....	18
4.3 LINFADENITE CASEOSA.....	21
4.3.1 Agente Etiológico: características, origem e fatores de virulência.....	22
4.3.2 Transmissão.....	23
4.3.3 Patogenia.....	23
4.3.4 Ocorrência de <i>C. pseudotuberculosis</i> nos órgãos reprodutivos de caprinos.....	24
4.4 Influência do <i>C. pseudotuberculosis</i> nos níveis hormonais séricos.....	25
5 MATERIAL E MÉTODOS	27
5.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	27
5.2 EXPERIMENTO.....	27
5.2.1 Local.....	27
5.2.2 Seleção e manejo dos animais.....	27
5.2.3 Execução do experimento e coleta de dados.....	29
5.2.4 Avaliações ultrassonográficas.....	30
5.2.5 Dinâmica folicular.....	31
5.2.7 Análise estatística.....	33
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
6.1 DINÂMICA FOLICULAR.....	34
6.2 ANÁLISES ULTRASSONOGRÁFICAS.....	37
6.3 VASCULARIZAÇÃO FOLICULAR.....	38
7 CONCLUSÕES	41
REFERÊNCIAS.....	42

1 INTRODUÇÃO

A importância social e econômica da criação de caprinos e ovinos no nordeste brasileiro é inegável. A região detém cerca de 10,7 milhões de caprinos, correspondendo a aproximadamente 95% do rebanho nacional e dentre os estados produtores, a Bahia ocupa primeiro lugar na produção, com um rebanho que se aproxima de 3,5 milhões de cabeças, seguida por Pernambuco e Piauí (IBGE, 2019). Contudo, apesar da expressividade e importância do rebanho, Farias et al. (2019) classificaram a produção de cabras no Nordeste como familiar e de subsistência, voltada para o consumo doméstico e comércio local, com baixos níveis tecnológicos.

No sistema de criação da caprinocultura, a sanidade do rebanho é um dos fatores que requer atenção. A Linfadenite Caseosa é a enfermidade infectocontagiosa mais importante e impactante para a caprinocultura, causada pela bactéria *Corynebacterium pseudotuberculosis*, apresentando caráter crônico, debilitante e caracterizando pela formação de abscessos em gânglios linfáticos superficiais, órgãos e linfonodos internos (FACCIOLI-MARTINS et al., 2014). É de ocorrência mundial, tem alto poder de disseminação (BLACKLAWS, 2012), sendo endêmica no Brasil (SEYFFERT et al., 2010). É responsável por inúmeros prejuízos econômicos causados desde a condenação do couro e carcaça em razão dos abscessos, até perdas na produção de carne e leite, e reprodução (DE SÁ GUIMARÃES, 2009).

Comprovou-se que a bactéria *C. pseudotuberculosis* pode atingir órgãos reprodutivos diminuindo a eficiência reprodutiva das cabras. Essa possibilidade foi comprovada, porém sem a definição do seu mecanismo de ação. A presença do agente mostrou-se ainda responsável pelo desequilíbrio nos níveis hormonais de cabras não gestantes, podendo ser esta a causa da infertilidade observada em fêmeas infectadas em um rebanho (KHUDER et al., 2012; OTHMAN et al., 2014; ABDULLAH et al., 2020).

Portanto, se faz necessário elucidar os mecanismos que levam o *C. pseudotuberculosis* a provocar as falhas reprodutivas e, desta forma, minimizar as perdas produtivas no sistema de criação.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a onda folicular de cabras naturalmente infectadas por *C. pseudotuberculosis*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Comparar a dinâmica folicular em cabras soropositivas e soronegativas para *C. pseudotuberculosis*, submetidas ou não ao controle farmacológico do ciclo estral.

Determinar a área de irrigação da parede dos folículos pré-ovulatórios destas cabras por meio de ultrassonografia em modo *Doppler* e do *software ImageJ*.

3 HIPÓTESES

Existem diferenças no desenvolvimento, vascularização dos folículos antrais em cabras soropositivas e soronegativas para *Corynebacterium pseudotuberculosis*.

O controle farmacológico do ciclo estral minimiza os efeitos deletérios sobre os índices reprodutivos causados pela presença do *C. pseudotuberculosis*.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 ASPECTOS GERAIS DA DINÂMICA FOLICULAR EM CABRAS

4.1.1 Ciclo estral

Todo o processo de alterações endócrinas e ovarianas na fêmea caprina ocorre de forma cíclica, no qual a cabra passa por períodos limitados de receptividade sexual, caracterizando assim um ciclo de forma estral (CHEMINEAU et al., 1992). Este por sua vez pode variar de 17 a 25 dias, sendo considerado uma duração média de 21 dias (BALARO et al., 2017), porém fatores fisiológicos ou ambientais, como raça, nutrição, idade, clima e latitude podem influenciar no período e duração do ciclo (FATET, 2011; URIBE-VELÁSQUES et al., 2015).

O ciclo estral da cabra é correspondente ao período entre dois estros, dividido em duas fases: folicular e luteínica. A fase folicular é composta por três períodos distintos: (1) proestro, inicia com o desenvolvimento do folículo; (2) estro, fêmea se torna receptiva ao macho, ao final deste período ocorre a ovulação; (3) metaestro, marcado pelo surgimento do corpo lúteo (CL) no local em que ocorreu a liberação do oócito. Por fim, irá ocorrer a segunda fase do ciclo, denominada de luteínica ou luteal, marcada pelo desenvolvimento do CL, a qual é intitulada diestro (CHEMINEAU et al., 1987).

4.1.2 Foliculogênese

A foliculogênese na maioria dos mamíferos inicia-se na vida intrauterina (VAN DEN HURK; ZAO, 2005). Durante o desenvolvimento fetal, o córtex ovariano é colonizado pelas células germinativas primordiais (SILVA, 2005) e, na vida adulta, estes atuam como reserva de oócitos durante todo o período reprodutivo da fêmea. Após o nascimento, estima-se que existam milhares de folículos ovarianos primordiais, porém, apenas 0,01% tornam-se folículos antrais durante a vida adulta de uma cabra. Estes, constituem a unidade básica funcional do ovário, cuja função é promover ao oócito um ambiente adequado para manutenção, crescimento e maturação, além de sintetizar hormônios, como o estrógeno (MARTINS et al., 2008; BINELLI et al., 2009; LEITÃO et al., 2009).

Portanto, a foliculogênese é marcada pela formação, crescimento e maturação dos folículos. Tem início com a formação do folículo primordial, até que este seja ativado e atinja o estágio pré-ovulatório ou antral. Diferentes fases de crescimento e diferenciação, que irão refletir na morfologia, visto que o folículo cresce devido ao aumento do oócito e da multiplicação e diferenciação das células que o circundam, além das alterações na responsividade endócrina do folículo que caracterizam a foliculogênese (CORTVRINDT; SMITZ, 2001; MAGALHÃES et al., 2009).

Esta pode ainda ser dividida de acordo com a fase de desenvolvimento: a) início do desenvolvimento do folículo primordial ou ativação do folículo, e formação de folículos primários; b) etapa de transição dos folículos primários para secundários; c) fase de crescimento dos folículos secundários e transformação em folículos antrais; d) última etapa que consiste no crescimento dos folículos antrais e formação dos folículos pré-ovulatórios (SILVA, 2005).

4.1.3 Folículos pré-antrais e antrais

Conforme o grau de evolução, os folículos são classificados em pré-antrais e em antrais. A fase pré-antral é marcada pela ativação dos folículos primordiais, e crescimento dos folículos primários e secundários. Enquanto que, os antrais atingem o estágio de terciários ou pré-ovulatórios (LEITÃO et al., 2009).

Os menores folículos que povoam o ovário, são denominados primordiais, estes possuem o oócito quiescente e imaturo, envolto por única camada de células achatadas da pré-granulosa, e têm diâmetro aproximado de 0,033 mm na cabra (BEZERRA et al., 1998). Assim que a reserva de folículos primordiais foi estabelecida, alguns folículos começam a crescer enquanto outros permanecem em repouso, o mecanismo por trás da ativação ainda não foi completamente elucidado. Porém, sabe-se que o desenvolvimento do folículo, incluindo a transição dos folículos primordiais para primários não depende da ação direta das gonadotrofinas, sendo regulado por fatores intraovarianos (SILVA, 2005; MAGALHÃES et al., 2009).

O desenvolvimento dos folículos primordiais inicia-se pela sua ativação, este processo dá início ao crescimento folicular. Com a ativação, ocorre a profileração das células da granulosa e mudança na sua conformação de pavimentosa para cúbica,

juntamente com o aumento gradual do diâmetro do oócito (BINELLI et al., 2009). O gatilho inicial para o crescimento ainda não foi bem elucidado, e pode surgir das células circundantes ou do próprio oócito (SILVA, 2005).

Denominam-se folículos primários, aqueles que são circundados por uma única camada de células cuboides e seu diâmetro é cerca de 0,05mm na espécie caprina, durante o seu crescimento, as células da granulosa se proliferam e o oócito aumenta seu tamanho (MAGALHÃES et al., 2009).

Os folículos secundários por sua vez, são caracterizados por um oócito totalmente cercado por uma zona pelúcida, presença de duas ou mais camadas de células da granulosa, e as células da teca podem ser distinguidas do estroma circundante, que mantém contato íntimo com o folículo, além disso, as gonadotrofinas como o FSH agem promovendo o crescimento do folículo secundário. Na cabra, esses folículos apresentam diâmetro aproximado de 0,083mm (BEZERRA et al., 1998; SILVA, 2005; BINELLI et al., 2009; MAGALHÃES et al., 2009).

Em seguida, após intensa proliferação das células da granulosa nos folículos secundários, forma-se uma cavidade preenchida por fluido, denominada de antro, a partir daí, os folículos são denominados antrais (SILVA, 2005). Na cabra, a formação do antro tem início quando os folículos atingem diâmetro médio de 0,13mm. O líquido folicular é composto por substâncias reguladoras derivadas da circulação sanguínea ou secreções das células foliculares, entre elas estão as gonadorrelinas, esteroides e fatores de crescimento. A intensificação da produção desse fluido é resultado do aumento da vascularização folicular e permeabilidade dos vasos sanguíneos por efeito do FSH e LH (VAN DEN HURK; ZHAO, 2005; MAGALHÃES et al., 2009).

A partir desse estágio, o diâmetro do folículo aumenta significativamente por conta do crescimento do oócito, decorrente da multiplicação das células da granulosa e da teca, e do aumento da cavidade do antro folicular (CORTVRINDT; SMITZ, 2001; BINELLI et al., 2009; LEITÃO et al., 2009).

Ao atingirem cerca de 3mm de diâmetro, os folículos antrais tornam-se dependentes das gonadotrofinas para dar continuidade ao seu crescimento (SILVA, 2005). Células intersticiais diferenciadas localizadas no lado externo da membrana basal, expressam receptores para LH, no lado interno da membrana basal, células da

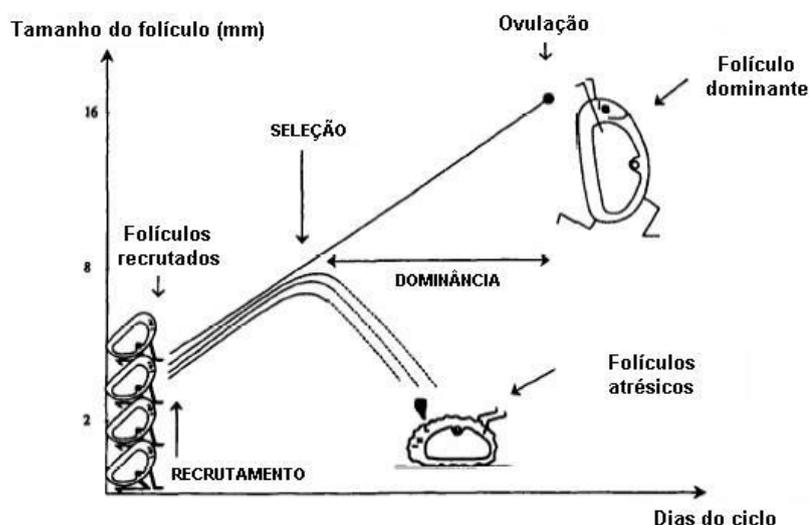
granulosa com íntima conexão com o oócito expressam receptores para o FSH. Portanto, a divergência no crescimento folicular está relacionada à redução dos níveis séricos de FSH, por meio de mecanismo de *feedback* que ocorre entre os folículos e o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal. A elevação nas concentrações de FSH na emergência ocasiona um incremento na ação de enzimas esteroidogênicas, promovendo maior concentração de estradiol. Em associação, a inibina e o estradiol fazem retroalimentação negativa na hipófise anterior, levando a redução nas concentrações de FSH. As gonadotrofinas serão então, responsáveis por provocar os mecanismos de crescimento, recrutamento, seleção e dominância folicular (BEZERRA et al., 1998; SMITZ, 2001; VAN DEN HURK; ZHAO, 2005; CORTVRINDT; FORDE et al., 2011).

4.1.4 Dinâmica folicular

O ciclo estral consiste em uma dinâmica endócrina e contínua (EVANS et al., 2001; RUBIANES et al., 2005), podendo ser definido como o intervalo entre duas manifestações de estro ou ovulações sucessivas, caracterizado pela proliferação e diferenciação das células foliculares (ARMSTRONG; WEBB, 1997; BALARO et al., 2017), regidos por hormônios esteroides, fatores de crescimento e outros hormônios relacionados com o processo de foliculogênese (URIBE-VELÁSQUEZ et al., 2015).

De acordo com Driancourt (2001), uma onda folicular é composta por uma sequência de três eventos dependentes de gonadotrofinas (Figura 1): recrutamento (FSH), seleção e dominância (predomínio LH) dos maiores folículos em relação aos seus subordinados (ESPINOZA-VILLAVICENCIO et al., 2007). Em cada onda, um grupo de folículos primordiais é recrutado e posteriormente irá crescer, inclusive na fase lútea sob domínio da progesterona (GINGTHER; KOT, 1994).

Figura 1. Eventos que ocorrem durante a onda folicular: recrutamento, seleção, dominância e ovulação.



Fonte: Adaptado de Driancourt (2001).

A emergência de uma nova onda folicular pode ser descrita no momento que um *pool* de pequenos folículos antrais, com diâmetro médio de 3mm, a partir dos quais um ou mais folículos com diâmetro maior ou igual a 5mm são selecionados para crescer (URIBE-VELÁSQUES et al., 2015). O folículo antral, por sua vez, é selecionado quando ocorre uma diminuição dos níveis de FSH a medida que se eleva a secreção pulsátil do LH, em decorrência disso, um ou mais folículos dominantes irão se desenvolver. Estes, uma vez selecionados, serão responsáveis por secretar grandes quantidades de estradiol e inibina, fazendo com que os folículos restantes se tornem subordinados e entrem em atresia (SILVA, 2005).

Para garantir a fertilização do oócito, seu funcionamento torna-se otimizado através de diversos mecanismos parácrinos e endócrinos, o folículo e seus produtos orquestram diversas funções orgânicas na cabra para potencializar a chance de êxito reprodutivo (BINELLI et al., 2009). As moléculas produzidas pelas células foliculares, originadas da circulação, são seletivamente transportadas ao oócito, e nele atuam provendo suporte ao seu desenvolvimento, uma vez que estimulam o seu crescimento e o ganho gradual de competência. Além disso, o folículo dominante faz síntese de estradiol, hormônio que desempenha papel fundamental no desenvolvimento do folículo pré-ovulatório. O estradiol é ainda responsável por estimular a secreção de prostaglandina F2-alfa pelas células endometriais, causando luteólise ao final do ciclo

estral. Com a queda na concentração de progesterona, o fluxo de LH aumenta, acelerando o crescimento final do folículo. Posteriormente, o estradiol estimula a liberação do pulso pré-ovulatório de LH, por meio de feedback positivo no eixo hipotálamo-hipófise, também é responsável pelas mudanças comportamentais associadas ao estro (BINELLI et al., 2009; MAGALHÃES et al., 2009).

Em sua revisão, Fonseca (2014) afirmou que o folículo ovulatório alcança a maturação final seguido da ovulação, oriundo da última onda de crescimento folicular, sob predomínio do hormônio estrogênico. Por fim, este folículo irá encerrar a foliculogênese pela eliminação de um oócito maduro, e todos os outros folículos, cerca de 99,9% (MAGALHÃES et al., 2009), falham em ovular e tornam-se atrésicos (CORTVRINDT; SMITZ, 2001; BINELLI et al., 2009).

Portanto, do grupo de folículos recrutados na cabra, dois ou três atingem 4mm e são selecionados para entrar na fase de dominância e desempenhar função ativa na supressão do crescimento dos folículos subordinados. Desta forma, os folículos subordinados entram em atresia pela secreção de inibina e por meio da síntese de estradiol que provoca retroalimentação negativa sobre a hipófise que por sua vez, culmina com a queda nos níveis séricos de FSH e liberação pulsátil do LH que de forma direta, atua no crescimento do folículo dominante e maturação do oócito, até atingirem o estágio pré-ovulatório de 6 a 9mm e a ovulação (FATET et al., 2011).

Apesar das gonadotrofinas FSH e LH estarem envolvidas no recrutamento, seleção e dominância do folículo antral, outros fatores de crescimento produzidos localmente como ativina, inibina, folistatina, EGF, IGFs e GDF-9, auxiliam na modulação e mediação dos efeitos de FSH e LH, que resultará em efeito inibidor ou estimulador sobre os folículos (VAN DEN HURK; ZHAO, 2005).

4.2 USO DA ULTRASSONOGRAFIA NA REPRODUÇÃO

O diagnóstico ultrassonográfico (USG) é, de acordo com Ginther (1986), o avanço tecnológico mais profundo no campo da pesquisa e da clínica reprodutiva de grandes animais, por permitir a visualização eficaz e não invasiva dos órgãos reprodutores internos (BOLLWEIN et al., 2016). Os autores Ribadu e Nakao (1999) também afirmaram que a USG é a técnica que revolucionou as pesquisas em

reprodução, responsável por elevar os conhecimentos sobre fisiologia reprodutiva, além de esclarecer inúmeros eventos como a dinâmica folicular, luteal e o desenvolvimento fetal. Além disso, a USG permitiu avaliar a eficiência dos protocolos hormonais de sincronização de estro e ovulação (URIBE-VELÁSQUEZ et al., 2010).

A USG transretal em ruminantes, possibilitou análises em tempo real e seriadas das alterações morfológicas ovarianas e uterinas durante o desenvolvimento fetal, e geraram novos conhecimentos sobre a fisiologia reprodutiva durante o ciclo estral e prenhez (MATSUI; MIYAMOTO, 2009).

A elucidação de todo o processo dinâmico do crescimento folicular, só foi possível com a utilização da USG em Tempo Real (UTR) que promoveu significativos avanços nos estudos e na compreensão dos diversos eventos envolvidos na fisiologia do ciclo estral (CRUZ et al., 2008; MENDES, 2016). Ginther e Kot (1994) foram pioneiros no uso da USG transretal. Nos seus estudos, avaliaram os ovários de cinco cabras Saanen, o que lhes permitiu acompanhar o desenvolvimento dos folículos ovarianos durante quatro períodos interovulatórios e, desta forma, foi possível monitorar o crescimento e regressão dos folículos através de contínuas observações. O emprego da USG transretal nas pesquisas e observações da atividade ovariana em cabras, esclareceu o padrão de ondas no desenvolvimento folicular, podendo haver de três a quatro ondas de crescimento durante o ciclo (GINTHER; KOT, 1994).

A USG convencional no modo brilho (B, escala de cinza) ainda é a técnica ultrassonográfica mais utilizada na rotina, esta propicia em tempo real uma imagem bidimensional dos tecidos e órgãos analisados. Porém, embora a morfologia dos órgãos possa ser avaliada pelo modo B, ela não fornece informações sobre a função e vascularização do órgão. Diante disso, com o advento da USG modo Doppler colorido, a técnica tem ganhado espaço na medicina veterinária (BOLLWEIN et al., 2016; PUGLIESI et al., 2017).

4.2.1 Uso da ultrassonografia modo Doppler na avaliação da dinâmica folicular

A utilização da ferramenta Doppler associada à USG convencional permite analisar a funcionalidade dos órgãos por meio da vascularização e, portanto, pode ser

utilizada para observar a hemodinâmica do sistema reprodutivo de grandes animais (CARVALO et al., 2008; MATSUI; MIYAMOTO, 2009; PUGLIESI et. al., 2017).

Hassan (2019) afirma ainda que graças ao modo Doppler colorido, o propósito da imagiologia foi amplificado de um estudo de avaliações anatômicas para uma base de conhecimento da funcionalidade fisiológica. Aliado a isto, a implementação da técnica tem levado a novas informações sobre aspectos fisiológicos e patológicos do trato reprodutivo das fêmeas bovinas (BOLLWEIN et al., 2016).

Os fundamentos do efeito Doppler foram indentificados e descritos pelo físico Johann Doppler em 1842, e refere-se à situação na qual uma fonte de ondas (sonoras ou eletromagnéticas), que em relação a um receptor está em movimento, altera a frequência de onda durante este processo, durante a aproximação a frequência aumenta, e durante o seu distanciamento diminui (KAWAKAMA et al., 1993). Visto isso, na USG, o efeito Doppler pode ser definido como o princípio físico, no qual se observa a alteração da frequência das ondas sonoras refletidas quando o objeto (corpo) refletor se move em relação a uma fonte sonora, ou seja, as hemácias em movimento dentro do vaso sanguíneo, ao encontrarem uma onda sonora, comportam-se como corpos refletivos (CARVALHO et al., 2008).

Os pesquisadores Ginther e Utt (2004) e Pugliesi et al. (2017) explicaram que na USG Doppler o transdutor representa o referencial estático, enquanto o objeto em movimento são as hemácias que promovem uma diferença positiva (maior frequência) ou negativa (menor frequência), conforme a movimentação das células vermelhas em sentido favorável ou contrário ao transdutor.

Os aparelhos Doppler possuem três modos de avaliação da perfusão sanguínea: modo Doppler Colorido, modo Espectral e Power Doppler. Este último, é indicado para avaliar estruturas que apresentam fluxo sanguíneo muito baixo em vasos de menor calibre, como observado na parede dos folículos. O modo Power possibilita mensurar a intensidade do fluxo sanguíneo e o número de células sanguíneas se movendo no vaso por unidade de tempo, não considerando o sentido do fluxo, e emite informações unidirecionais de todo o fluxo de hemácias, fazendo com que a imagem apresentada tenha coloração dependendo da intensidade do fluxo em cada ponto da área avaliada (GINTHER, 2007; BOLLWEIN et al., 2016).

Em grandes animais, o exame ultrassonográfico modo Doppler transretal tem sido aplicado na observação da vascularização dos folículos, para uma melhor compreensão da funcionalidade do folículo pré-ovulatório, através da observação visual da hemodinâmica ovariana, em uma área limitada na parede folicular (GINTHER; UTT, 2004; ACOSTA et al., 2004).

O desenvolvimento folicular está relacionado com a formação contínua de uma rede de vasos sanguíneos na camada folicular de células tecais para suprir as crescentes necessidades metabólicas dos folículos em desenvolvimento, daí a importância da avaliação da área de irrigação, que desta forma proporciona informações sobre a viabilidade dos folículos e a maturidade oocitária (SIDDIQUI et al., 2009; GINTHER et al., 2014).

Durante o período pré-púbere e o ciclo estral, o sistema vascular ovariano sofre modificações tanto morfológicas quanto funcionais e estruturais, principalmente nos microcapilares ovarianos que fornecem o complexo luteo-folicular. Simultaneamente ao aparecimento da cavidade antral, uma rede de capilares forma-se ao redor dos folículos, proporcionando a sua nutrição e das células da granulosa (JIANG et al., 2003; AYRES; MINGOTI, 2012).

O suprimento sanguíneo é fundamental para o folículo adquirir e manter a dominância, portanto, a principal diferença histológica entre o folículo dominante e o atrésico é o aumento da vascularização na camada das células da teca. O aporte sanguíneo atrelado a um adequado desenvolvimento da rede vascular, é um fator limitante para o bom desempenho do ovário, pois garantirá o suprimento de nutrientes, oxigênio, hormônios e substratos, além da transferência das gonadotrofinas para as células-alvo (AYRES; MINGOTI, 2012; BOLLWEIN et al., 2016).

De acordo com Ayres e Mingoti (2012) a angiogênese é um processo fisiológico imprescindível para o desenvolvimento e crescimento normal dos tecidos. Jiang et al. (2003) evidenciaram o processo de angiogênese e degeneração capilar durante o crescimento do folículo ovariano, ao examinar a distribuição e mudanças na morfologia do capilar tecal, relacionadas ao crescimento folicular, com o auxílio de microscopia de varredura eletrônica em ovários bovinos. Encontraram ainda, plexos vasculares bem perfundidos em pequenos e grandes folículos antrais, mostrando que a angiogênese aumenta durante o crescimento folicular.

Ribeiro et al. (2020) avaliando CL em muare e éguas, submetidas a diferentes vias de aplicação de fármacos para sincronização da ovulação, afirma que o uso da ultrassonografia Doppler foi pertinente para a obtenção de dados do diâmetro e funcionalidade a partir do seu fluxo sanguíneo em tempo real. Bollwein (2016) concluiu em seu trabalho que por intermédio do modo Doppler, tem sido possível analisar o fluxo sanguíneo folicular durante diferentes estágios do ciclo estral. Bem como Siddiqui e Ginther (2009) atestaram a relação da perfusão da parede do folículo pré-ovulatório para a fertilização *in vitro* e desenvolvimento embrionário em novilhas, da mesma forma, Silva e Ginther (2006) demonstraram que há relação entre a vascularização do folículo pré-ovulatório (FPO) e a confirmação do diagnóstico de gestação em éguas. Por sua vez, Acosta (2004) utilizando a USG transretal modo Doppler colorido em vacas, relatou que há uma evidente diferença na vascularização da parede de folículos pré-ovulatórios quando comparados aos anovulatórios.

Em sua pesquisa, Tarso et al. (2017) evidenciaram que a vascularização do folículo dominante coordena o fluxo sanguíneo do corpo lúteo e a sintetização de P₄. Domingues e Ginther (2018) estudaram a dinâmica folicular por meio de Doppler colorido a fim de melhor compreender a correlação entre a irrigação sanguínea na parede do folículo dominante, e o fluxo sanguíneo da parede do CL em novilhas *Bos taurus*, e concluíram que o fluxo sanguíneo é mais intenso para o padrão CL e folículo dominante quando estes eram adjacentes do que quando separados, e demonstraram a correlação positiva entre a irrigação da parede do folículo dominante, irrigação do CL e posteriormente com os níveis séricos de P₄.

4.3 LINFADENITE CASEOSA

Dentre as principais enfermidades que acometem caprinos e ovinos, destaca-se a Linfadenite Caseosa (LC), uma doença infectocontagiosa de caráter crônico e debilitante. A doença é caracterizada pela formação de granulomas em gânglios linfáticos superficiais, órgãos e linfonodos internos, tem altas taxas de morbidade no rebanho e muitas vezes é subclínica. Sua ocorrência é distribuída mundialmente em rebanhos de caprinos e ovinos e no Brasil ocorre principalmente nos estados do Nordeste, mas está presente em todos os rebanhos nacionais (FACCIOLI-MARTINS et al., 2014; SÁ et al., 2018).

Uma vez acometidos, os animais podem apresentar queda na produtividade de carne, leite e lã, falhas reprodutivas, além de condenação da carcaça no abate e depreciação do couro (DORELLA et al., 2006).

4.3.1 Agente Etiológico: características, origem e fatores de virulência

A LC tem como agente etiológico o actinomiceto *Corynebacterium pseudotuberculosis*, um patógeno animal de grande relevância. Trata-se de uma bactéria intracelular facultativa, não capsulada, não esporulada, imóvel, aeróbica, parasita intracelular facultativo de macrófagos e sobrevive no ambiente por longos períodos (DORELLA et al., 2006; BAIRD; FONTAINE, 2007; SOUZA et al., 2011).

A bactéria foi isolada pela primeira vez em 1888 por Edward Nocard, bacteriologista francês que identificou o agente em uma vaca que apresentou quadro atípico de linfangite. Posteriormente, o bacilo também foi identificado pelo bacteriologista Hugo von Preisz, em abscesso encontrado no rim de uma ovelha. Anos depois, a bactéria foi nomeada *Bacillus pseudotuberculosis* (falsa tuberculose, em Grego), por dois bacteriologistas alemães, devido a semelhança das lesões clínicas com as lesões nodulares provocadas pela tuberculose. Em 1894, Preiz descreveu completamente o microrganismo e o comparou com o bacilo da difteria, devido as semelhanças na morfologia e composição de parede celular, e portanto, foi incluso no gênero *Corynebacterium*, espécie *ovis* (DORELLA et al., 2006; FACCIOLI-MARTINS et al., 2014).

Com decorrer do tempo, os sinônimos de *C. paratuberculosis* foram *Bacillus pseudotuberculosis ovis* e *Bacillus pseudotuberculosis*, devido a semelhanças de antígenos de parede celular com espécies de *Mycobacterium*, desta forma, os animais positivos para LC podem ter um resultado falso positivo ao teste de tuberculinização (WILLIANSO, 2001).

Por fim, a denominação *Corynebacterium ovis* também foi utilizada e encontrada na literatura como referência ao microrganismo. Apesar de inicialmente ter sido isolada em ovinos, o microrganismo também foi isolado em infecções purulentas e linfangites ulcerativas de outras espécies, entre elas equinos, caprinos e humanos (FACCIOLI-MARTINS et al., 2014; DORELLA et al., 2006).

Existem dois fatores de virulência conhecidos e identificados, a fosfolipase D e o ácido corinemicólico. A fosfolipase D é uma enzima capaz de causar lise e destruição na membrana das células hospedeiras, facilitando a invasão e disseminação do microrganismo no organismo hospedeiro. Portanto, a fosfolipase D foi descrita como uma exotoxina importante do patógeno e, além disso, um fator determinante na virulência e desenvolvimento da LC (FONTAINE; BAIRD 2008). Outro aspecto, trata-se de seu revestimento de parede por ácidos corinemicólicos, responsáveis por aumentar sua resistência e patogenicidade (OLIVEIRA, 2013), possuem ação citotóxica sobre as células fagocitárias e, desta forma, impedem a sua destruição e sobrevivem no meio intracelular do hospedeiro (WILLIAMSON, 2001; SOUZA et al., 2011; FACCIOLI-MARTINS et al., 2014).

4.3.2 Transmissão

Apesar de ser incapaz de se multiplicar no ambiente após ser eliminado pelo indivíduo infectado, o agente resiste por longos períodos em fômites como madeiras, feno e palha por cerca de oito semanas e em uma vasta gama de solos por até oito meses, em condições de umidade e temperaturas amenas, o que contribui para sua sobrevivência no ambiente (WILLIAMSON, 2001; DORELLA et al., 2006; BAIRD; FONTAINE, 2007; SPIER et al., 2012).

A transmissão ocorre no próprio ambiente, por meio do contato animal-animal, sendo que o exsudato oriundo da ruptura do abscesso é a maior fonte de infecção devido a alta carga infectante do conteúdo purulento, este contamina o ambiente e fômites, e o indivíduo sadio se infecta ao ter contato direto com as secreções (RIET-CORREA et al., 2011; FACCIOLI-MARTINS et al., 2014; FARIAS et al., 2019). A porta de entrada do microrganismo no hospedeiro comumente são por soluções de continuidade da pele, mucosas ou pele íntegra (WILLIAMSON, 2001).

4.3.3 Patogenia

Logo após infectar o hospedeiro, o *C. pseudotuberculosis* é fagocitado pelos macrófagos no local da infecção, porém devido as suas características de parede

celular que o protegem da fagocitose, essa resposta é ineficaz, pois a bactéria é capaz de resistir a digestão das enzimas celulares, sendo assim, permanece como um parasita intracelular facultativo de macrófagos (COLLETT et al., 1994; BAIRD; FONTAINE, 2007).

Ao invadir o sistema fagocítico, a bactéria alcança o linfonodo regional e forma múltiplos piogranulomas microscópicos, a medida que crescem se coalescem formando granulomas maiores, devido a isto denomina-se a enfermidade de LC (BAIRD; FONTAINE, 2007).

Posteriormente, o microrganismo migra através da circulação sanguínea ou linfática (WILLIANSO, 2001), indo acometer diversos órgãos internos, como linfonodos mediastínicos, pulmões, fígado, rins, tecidos subcutâneos, glândulas mamárias e órgãos reprodutivos (OTHMAN et al., 2016), dessa forma caracterizando a LC na forma visceral. Na forma cutânea, há infecção do tecido subcutâneo e formação de abscessos nos gânglios linfáticos, que podem ser palpados externamente. Ambas as formas podem coexistir no mesmo indivíduo (BAIRD; FONTAINE, 2007; GROSSO, 2020).

4.3.4 Ocorrência de *C. pseudotuberculosis* nos órgãos reprodutivos de caprinos

Foi demonstrado que a infecção crônica por *C. pseudotuberculosis* provoca alterações patológicas nos órgãos reprodutivos, levando a infertilidade ou esterilidade nos animais acometidos (ABDULLAH JESSE et al., 2020).

Khuder et al. (2012) foram os pioneiros em relatar os efeitos da LC na concentração de hormônios reprodutivos e alterações histopatológicas nos órgãos reprodutivos, correlacionando a presença da bactéria no organismo com mudanças nas concentrações de testosterona e em menor grau, nos níveis séricos de progesterona e atribuíram esses fatos aos danos teciduais observados nos ovários, e que podem levar ao bloqueio do eixo hipotálamico-hipofisário-gonadal.

Latif et al. (2016), Othman et al. (2016) e Abdullah Jesse (2020) também observaram os efeitos patológicos de *C. pseudotuberculosis* no trato reprodutivo de cabras após a inoculação do agente. A histopatologia revelou alterações histológicas

nos ovários, útero, cornos uterinos, colo do útero, tubas, cérvix e vagina. Esses achados mostram evidências de infiltrações leucocitárias, congestão generalizada, infiltração de células estromais, degeneração, necrose e alterações vasculares nos órgãos examinados.

Segundo Khuder et al. (2012), a falta de conhecimento e estudos sobre os efeitos da cronicidade da enfermidade na reprodução contribuem para produtores e veterinários negligenciarem sua relação direta com a baixa fertilidade do rebanho.

4.4 INFLUÊNCIA DO *C. PSEUDOTUBERCULOSIS* NOS NÍVEIS HORMONAIS SÉRICOS

Othaman et al. (2014) utilizaram em seu estudo 15 cabras Boer, pré-sincronizadas e não gestantes, infectadas experimentalmente com *C. pseudotuberculosis* pela via intranasal, oral e intradérmica. Após a infecção, foram colhidas amostras de sangue para dosagem dos hormônios E2 e P₄ em dias alternados, totalizando nove avaliações. Neste estudo, os autores observaram que as cabras infectadas apresentavam níveis significativamente altos destes hormônios. As concentrações de P₄ apresentaram valores variando entre 5 e 8 ng/ml em cabras não gestantes, enquanto o grupo controle, por sua vez, apresentou valores de P₄ menores do que 1ng/ml em todas as análises. Os autores concluíram com base nessa pesquisa que o *C. pseudotuberculosis* é responsável por desequilíbrio hormonal em fêmeas caprinas e este podem ser uma causa de infertilidade, o que corrobora outro estudo que encontrou concentrações séricas de P₄ iguais a 11,694ng/mL e 4,344ng/mL cabras soropositivas e soronegativas para *C. pseudotuberculosis*, respectivamente (Comunicação pessoal, 2021¹).

Estes achados diferem dos padrões de normalidade para a concentração de P₄ estabelecidos por Jain et al. (1980), ao demonstrar que cabras sadias apresentam no dia do estro concentração média de P₄ no plasma sanguíneo de 0,25±0,15 ng/ml e esse valor atinge o pico (1,30±0,07 ng/ml) no 13º dia após a cobertura. Porém, em

¹ Costa, J. O. Dados não publicados

cabras não prenhes estes níveis permanecem abaixo de 1,5 ng/ml nos dias subsequentes, e cabras prenhes apresentaram níveis de 3 ng/ml, e a concentração de P₄ irá aumentar até atingir o máximo de 6,2±0,61ng/ml.

Em outro estudo, Othaman et al. (2016) atribuíram as mudanças hormonais às lesões histopatológicas nos órgãos reprodutivos nos quais foram observadas infiltrações leucocitárias no lúmen dos folículos ovulatórios, congestão generalizada de vasos sanguíneos e necrose das células estromais do ovário e no miométrio uterino. Este aumento anormal dos níveis de P₄, pode ser interpretado como um sinal de pseudo-gestação, o que prejudicaria assim o desenvolvimento normal dos folículos e ovulação.

Com relação ao estrógeno, Abdullah et al. (2015; 2020) identificaram aumento significativo nos níveis séricos do hormônio em seus estudos experimentais, nos quais os animais foram previamente inoculados com *C. pseudotuberculosis*, e demonstraram a capacidade do agente de elevar a secreção desse hormônio localmente ou através do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal.

Foi relatado por Othman et al. (2014) e Khuder et al. (2012), que a inflamação nos órgãos reprodutivos de cabras, decorrente da infecção por *C. pseudotuberculosis*, levaria a desequilíbrios no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, pois a enfermidade afetaria o *feedback* hormonal, necessário para regular o funcionamento do eixo. Diante disso, os autores afirmaram que a infecção bacteriana no ovário afeta a síntese da produção de P₄ e E₂, imprescindíveis para a implantação do embrião e a manutenção da gestação, podendo ocasionar abortamento precoce e infertilidade.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Todos os procedimentos referentes à manipulação dos animais foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB, processo número 23007.016893/2013-73.

5.2 EXPERIMENTO

5.2.1 Local

O experimento foi conduzido na fazenda Humaitá, localizada no município de Nova Fátima – BA, inserida na região do Centro-Norte Baiano, clima semiárido, e bioma Caatinga, segundo o IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). A área está localizada a uma latitude 11°36'26" Sul e longitude 39°37'55" Oeste, estando a uma altitude de 298 metros. Possui temperatura média de 24°C e baixo índice pluviométrico, sendo inferior a 700mm (ALCOFORADO, 2005). Durante o período a temperatura média foi de 23,43°C e umidade relativa do ar de 81,33% (INMET, 2020).

5.2.2 Seleção e manejo dos animais

O experimento foi conduzido durante os meses de maio e junho de 2020, em duas etapas (I e II). Na etapa I, um grupo de seis fêmeas soropositivas e seis fêmeas soronegativas foram submetidas à sincronização hormonal do estro e, na etapa II outro grupo de cinco fêmeas soropositivas e quatro soronegativas, foi previamente sincronizado utilizando apenas dispositivo intravaginal de P₄, totalizando 21 cabras, sendo 11 soropositivas e 10 soronegativas para *C. pseudotuberculosis*, em idade reprodutiva (2-5 anos), mestiças, pluríparas, não lactantes e com escore de condição corporal (ECC) de 2,5 a 3,0 (MORAND-FEHR; HERVIEU, 1999), mantidas em sistema de criação semi-intensivo, em piquetes rotacionados de capim predominantemente Buffel (*Cenchrus ciliaris*), suplementadas com sal mineral e água *ad libitum*. Além de dois machos reprodutores, mestiços, em idade reprodutiva, ECC de 3,0 a 3,5, mantidos sob o mesmo regime de criação.

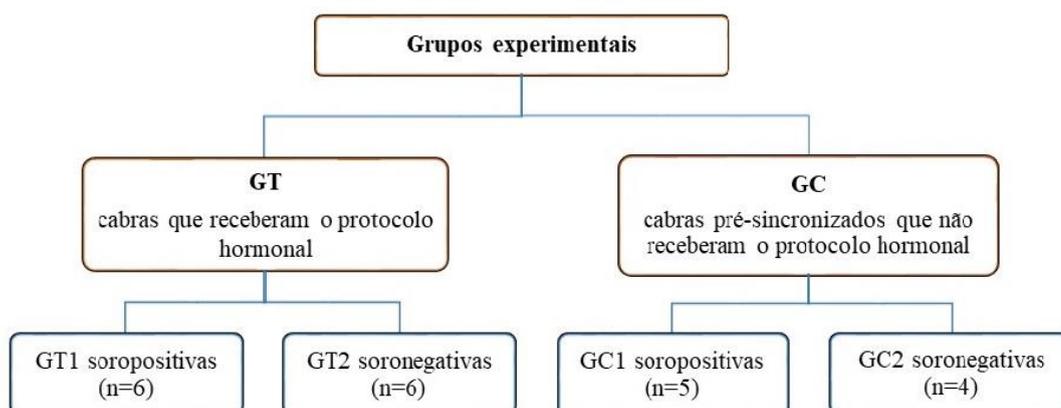
Todos os animais do experimento foram selecionados e distribuídos em grupos com base no resultado do teste sorológico que detectou ou não *C. pseudotuberculosis*. Para tanto, o método de realização escolhido para o ELISA foi o exame que utiliza as proteínas recombinantes da *C. pseudotuberculosis* PLD, CP40, padronizado por Barral et al. (2019).

Para realização do exame, foram colhidas amostras de 5ml de sangue, por meio de venopunção da jugular, em tubos tipo vacutainer sem anticoagulante. Os tubos foram devidamente identificados e acondicionados em caixa de isopor com gelo reciclável. Em seguida, o material foi conduzido ao laboratório e processado em centrífuga a 3.000 x g por 15 minutos, para obtenção do soro sanguíneo, logo após a centrifugação, o soro foi pipetado e transferido para tubos de *ependoff*, as amostras foram identificadas e armazenadas a -20°C até a realização das análises. O teste ELISA para detecção do agente *C. pseudotuberculosis* foi realizado no Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular do Instituto de Ciências da Saúde – UFBA.

Após os resultados sorológicos, os animais selecionados foram submetidos a exame ginecológico com ultrassonografia, com auxílio do aparelho de Ultrassom Veterinário Kaixin Kx2000g Vet modo B USG, com transdutor linear, por via transretal.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 2x2, variando cabras com sorologia positiva ou negativa para *C. pseudotuberculosis*, e a utilização ou não do protocolo hormonal, resultando em quatro tratamentos: grupo tratamento – GT e grupo controle – GC. Subdivididos em cabras soropositivas (1) e soronegativas (2), como descrito na Figura 2.

Figura 2. Grupos de animais que compõem o experimento: Grupo tratamento (GT1 e 2); Grupo controle (GC1 e 2).



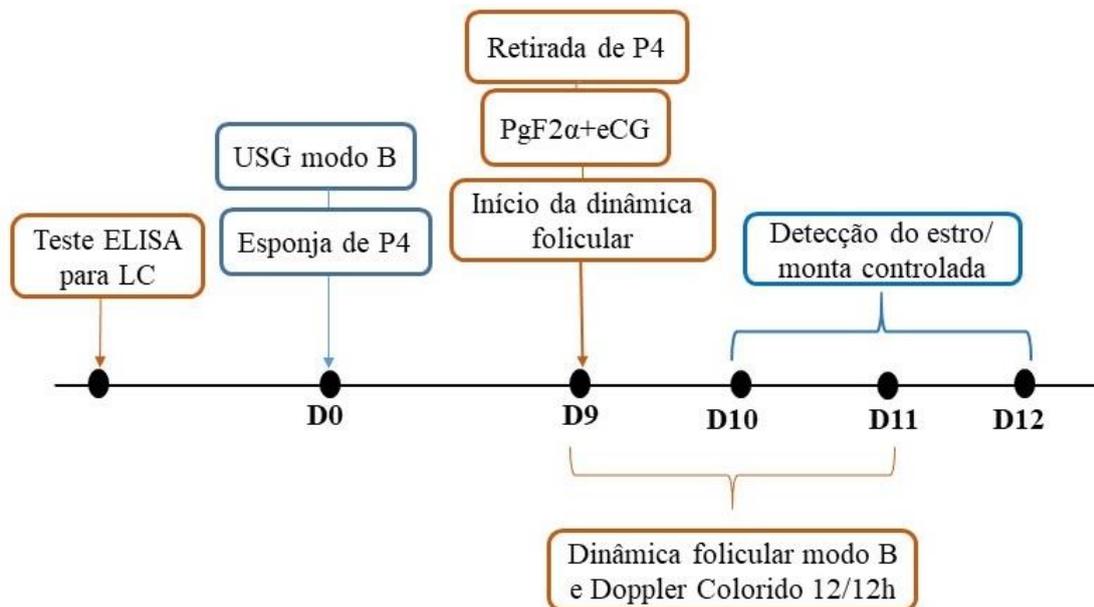
As fêmeas dos grupos GT1 e 2 foram submetidas à um controle farmacológico para realização de protocolo hormonal e monta controlada, na etapa I. Os outros dois grupos, GC1 e 2 receberam apenas dispositivo intravaginal de P₄ para pré-sincronização e placebos (solução fisiológica) para simular o manuseio dos outros grupos, na etapa II.

Para atestar a aptidão reprodutiva e o potencial de fertilidade dos reprodutores utilizados na monta controlada, foi realizado o exame andrológico prévio dos bodes (que testaram negativo para *C. pseudotuberculosis* através do teste de ELISA). Os parâmetros avaliados foram: aspecto, volume, odor, concentração espermática, motilidade de massa e motilidade progressiva, vigor e morfologia dos espermatozoides, seguindo as normas do Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (2013). Para obtenção do sêmen foi utilizado o método da vagina artificial com o estímulo da presença de uma fêmea estrogenizada como manequim, e o exame foi realizado imediatamente após a coleta.

5.2.3 Execução do experimento e coleta de dados

As cabras foram submetidas ao protocolo de pré-sincronização da onda folicular e da ovulação, iniciado em um dia aleatório do ciclo estral denominado dia zero (D0). Para isso, todas receberam esponjas intravaginais impregnadas com 60mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) (Progespon, Zoetis, Syntex S.A., Argentina), acrescidas de 10mg de oxitetraciclina (Terramicina/L.A., Pfizer, Guarulhos, São Paulo, Brasil), por um período de 9 dias. No dia nove (D9) realizou-se a remoção das esponjas de P₄, e simultaneamente estes animais receberam por via intramuscular (IM) profunda uma dose de 125µg cloprostenol (Ciosin, MSD, Saúde Animal, São Paulo, Brasil) análogo sintético de PGF-2alfa, associado a uma dose 300UI de Gonadotrofina coriônica equina (eCG) (Novormon, Zoetis, São Paulo Brasil) IM. Em seguida, para acompanhamento do crescimento folicular, deu-se início as avaliações ultrassonográficas (Figura 3).

Figura 3. Diagrama de atividades realizadas ao longo dos protocolos de sincronização e momento do exame ultrassonográfico (Etapa I).



ELISA: Ensaio imunossorvente ligado a enzima; LC: Linfadenite Caseosa; USG: Ultrassonografia; P4: Progesterona; PgF2 α : Prostaglandina; eCG: Gonadotrofina Coriônica Equina; 12/12h: A cada doze horas.

Grupos GT1 e 2 teve início do protocolo hormonal – Às 19:00 horas (D0) procedeu-se a inserção das esponjas intravaginais impregnadas com 60mg de acetato de medroxiprogesterona (Progespon®, Zoetis, Syntex S.A.) com adição de 10mg de oxitetraciclina (Terramicina®/LA, Pfizer) e avaliação ovariana através de ultrassom (US) modo B, via transretal. Retirada da esponja de progesterona (D9) e aplicação de 300UI de gonadotrofina coriônica equina (Sincro eCG®, Ourofino, Saúde Animal) e 125 μ g de d-cloprostenol (Sincrocio®, Ourofino Saúde Animal), ambos por via IM profunda. A avaliação da dinâmica folicular por USG teve início às 19:00 horas e a cada 12 horas sucessivamente. Para os GC1 e 2, as avaliações USG foram realizadas da mesma maneira, porém, neste grupo os animais foram apenas pré-sincronizados com dispositivo de P₄ e receberam placebos (solução fisiológica) por via intramuscular, para mimetizar o manejo realizado na Etapa I.

5.2.4 Avaliações ultrassonográficas

As avaliações ultrassonográficas dos ovários foram executadas por USG em tempo real (UTR), sendo a primeira realizada no momento da retirada do dispositivo

de P₄ (hora zero) e a partir desta a cada 12 horas, totalizando cinco avaliações. Os exames foram feitos por via transretal, utilizando-se um transdutor linear preso com fita isolante a uma haste rígida, para que o transdutor pudesse ser manipulado com a mão do operador externa ao reto do animal. O transdutor estava conectado a um aparelho equipado com as funções modo B e Doppler Colorido (Mindray Z5, Shenzhen, China).

Todas as avaliações foram realizadas por um único operador. As cabras eram contidas em posição quadrupedal por um auxiliar, a ampola retal foi previamente esvaziada pela retirada das fezes e, a fim de maximizar a qualidade da imagem e o contato entre transdutor e a mucosa retal, 20ml de gel inodoro (Gel Condutor Incolor, Polímero Vinílico, Mercur S.A.), inócuo e hidrossolúvel foi inserido via intraretal, com auxílio de uma seringa de 60mL. O transdutor foi inserido cuidadosamente e manipulado no reto por controle externo da extensão. Após visualização da bexiga urinária e o colo uterino, o transdutor foi girado 45 a 90° no sentido horário e anti-horário para que fossem localizados os ovários, conforme indicado por Ginther et al. (1994).

5.2.5 Dinâmica folicular

A partir do D0, que se refere ao dia da retirada das esponjas intravaginais, a dinâmica folicular dos dois primeiros grupos experimentais (GT1 e GT2) foi monitorada em intervalos de 12 horas, iniciadas sempre às 19:00h e 07:00h, com mensuração dos maiores folículos até o momento da ovulação. Nos animais que não se detectou a ovulação, a avaliação ocorreu até 48 horas após a retirada da esponja, que ao final resultaram no total de 05 avaliações.

Primeiramente, os ovários de cada animal foram localizados e avaliados por USG em modo B. Em uma ficha individual para cada cabra, foi desenhado manualmente um mapa ovariano, como forma de registro para localizar e identificar as estruturas ovarianas ao longo da dinâmica. No modo B, empregou-se a frequência de 7,5Mhz, enquanto no modo Doppler colorido, as configurações foram ajustadas na faixa de velocidade de 6cm/s para detectar a frequência das células sanguíneas dos pequenos vasos. O modo Power-flow foi utilizado na frequência de 5,7MHz, o padrão

de ganho foi configurado entre 60 e 80%, a depender do momento da avaliação e luminosidade. Ajustou-se a frequência de repetição de pulsos (PRF) de 0,7MHz e a profundidade de avaliação de seis centímetros.

Foram escaneadas ultrassonicamente as imagens dos dois maiores folículos e congeladas para determinação do diâmetro, que foi obtido pela média da maior distância (mm) entre dois pontos da cavidade antral (média de altura e largura) dos folículos >3mm, segundo Uribe-Velásquez et al. (2015). O folículo dominante tinha o maior diâmetro e foi considerado apenas um folículo subordinado, este foi classificado como sendo um dos que apareceram juntamente com o folículo dominante, porém com menor diâmetro, de acordo com Amorim et al. (2007). As imagens obtidas pela USG modo B e Power-flow foram salvas, e posteriormente submetidas às análises objetivas no *software ImageJ* (Fiji, Versão 1.52, NIH; Rasband, Maryland, EUA, 1997-2018) conforme Vrisman et al. (2018), Brito (2019) e Counce et al. (2019).

Os parâmetros avaliados nas etapas I e II foram:

- a) Diâmetro do folículo dominante na hora zero (DFOL1, mm), 12 horas (DFOL2, mm), 24 horas (DFOL3, mm), 36 horas (DFOL4, mm) e 48 horas (DFOL5, mm) após a remoção do dispositivo de P₄.
- b) Diâmetro do folículo ovulatório (DFOL, mm), para isso mensurou-se a imagem do maior folículo antes do seu desaparecimento, decorrente da ovulação;
- c) Taxa de crescimento do folículo ovulatório (TXFOL, mm/h), obtido pela diferença entre o DFOL – hora zero e o DFOL pré-ovulatório, dividido pelo período de crescimento;
- d) Área total da parede do folículo dominante (cm²) no dia menos dois na hora zero, 12, 24, 36 e 48 horas após a remoção da P₄, por intermédio da USG modo B.
- e) Área de perfusão sanguínea da parede do folículo dominante até o momento da ovulação, para tanto, as imagens dos folículos foram salvas com recurso *power-flow* ativado e posteriormente, a área de vascularização foi calculada através da mensuração do número total de pixels coloridos dentro da parede do folículo.

- f) Percentual de vascularização da parede do folículo dominante (VPFOL), realizadas por meio da razão entre a área de perfusão sanguínea e a área total da parede do folículo.
- g) Tempo entre a remoção do dispositivo de P₄ e a ovulação em horas (MOE).

A ovulação foi determinada pelo desaparecimento do folículo pré-ovulatório presente na avaliação anterior, resultando na formação do corpo hemorrágico.

5.2.6 Análise estatística

Os dados obtidos, foram analisados por meio do pacote estatístico Statistical Analysis System versão 9.1.4 (SAS, 2004), a normalidade dos resíduos foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento Misto (PROC MIXED) para verificar a variância, a comparação de médias foi confrontada pelo teste de Tukey a 5% de significância.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 DINÂMICA FOLICULAR

As médias das variáveis da dinâmica folicular ovariana, avaliadas por meio de ultrassonografia modo B, a partir da retirada do implante de P₄, estão resumidas na

Tabela 1.

Tabela 1. Variáveis analisadas durante a dinâmica folicular ovariana (mm, cm², mm/hora, % e horas), avaliadas por ultrassonografia nos grupos experimentais de cabras soropositivas e soronegativas, nas etapas I e II.

Variáveis	Grupos Experimentais				P-valor	Média Geral (n=21)
	GT1 (n=6)	GT2 (n=6)	GC1 (n=4)	GC2 (n=5)		
DFOL1 (mm)	4,970 ^a	5,552 ^a	4,873 ^a	4,485 ^a	0,673	5,002
DFOL2 (mm)	7,264 ^a	6,021 ^a	5,685 ^a	4,117 ^a	0,096	5,859
DFOL3 (mm)	6,604 ^a	6,103 ^a	6,725 ^a	4,744 ^a	0,159	5,981
DFOL4 (mm)	7,138 ^a	5,415 ^a	7,730 ^a	5,491 ^a	0,265	6,421
DFOL5 (mm)	8,415 ^a	6,825 ^a	9,973 ^a	4,962 ^a	0,464	7,152
DFOLOV (mm)	8,066 ^a	6,443 ^a	9,091 ^a	5,765 ^a	0,089	7,324
TXF (mm/h)	0,166 ^a	0,035 ^a	0,105 ^a	0,022 ^a	0,039	0,083
APF1 (cm ²)	0,237 ^a	0,367 ^a	0,314 ^a	0,154 ^a	0,063	0,269
APF2 (cm ²)	0,423 ^a	0,260 ^a	0,409 ^a	0,188 ^a	0,211	0,318
APF3 (cm ²)	0,416 ^a	0,330 ^a	0,469 ^a	0,295 ^a	0,477	0,368
APF4 (cm ²)	0,202 ^a	0,355 ^a	0,595 ^a	0,287 ^a	0,111	0,394
APF5 (cm ²)	0,330 ^a	0,477 ^a	0,965 ^a	0,389 ^a	0,757	0,586
MOE (horas)	40 ^a	38 ^a	-	-	0,785	39,00

Médias seguidas por letras minúsculas distintas na mesma linha diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de significância. GT1 (grupo tratamento soropositivas) e GT2 (grupo tratamento soronegativas): retirada do implante de P₄, seguido da administração de 300 UI de eCG e 125µg cloprostenol no dia -2 do protocolo de sincronização, via intramuscular; GC1 (grupo controle soropositivas) e GC2 (grupo controle soronegativas): retirada do implante de P₄, e administração de um placebo de 2,5ml de solução fisiológica via intramuscular; DFOL1: Diâmetro folicular na primeira avaliação; DFOL2: Diâmetro folicular na segunda avaliação; DFOL3: Diâmetro folicular na terceira avaliação; DFOL4: Diâmetro folicular na quarta avaliação; DFOL5: Diâmetro folicular na quinta avaliação; DFOLOV: Diâmetro do folículo pré-ovulatório; TXF: Taxa de crescimento do folículo ovulatório; APF1: Área da parede folicular na avaliação um; APF2: Área da parede folicular na avaliação dois; APF3: Área da parede do folicular na avaliação três; APF4: Área da parede folicular na avaliação quatro; APF5: Área da parede folicular na avaliação cinco; MOE: Momento da observação do estro em horas.

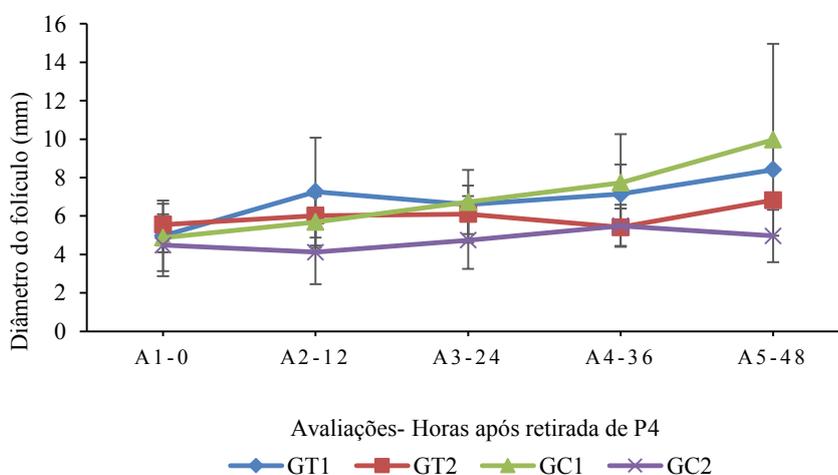
Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas ($P > 0,05$) em nenhum dos grupos avaliados nas seguintes variáveis: diâmetro folicular, diâmetro do folículo pré-ovulatório, taxa de crescimento folicular, área da parede folicular e momento da ovulação após a remoção do implante de P₄. Contudo, notou-se que os animais soropositivos alcançaram maiores diâmetros foliculares (7,138 e 7,730mm). Sabe-se que cabras com linfadenite caseosa podem apresentar baixos índices reprodutivos (ABDULLAH et al., 2020), porém não existem relatos de estudos com

controle farmacológico do ciclo estral de cabra com linfadenite caseosa, sendo a utilização desses fármacos uma opção para incrementar tais índices e otimizar a produção.

Os maiores diâmetros dos folículos ovulatórios (8,066 e 9,091mm) e maior tempo para manifestar o estro após a remoção do dispositivo de P₄ (40h) foram observados nos grupos com cabras soropositivas para *C. pseudotuberculosis* (Figura 4). Uribevelásquez et al. (2008), ao avaliaram em ovelhas o efeito da P₄ exógena sobre o desenvolvimento folicular, observaram o seu aumento na concentração plasmática, diminuição na frequência pulsátil de LH e alteração no padrão de crescimento do folículo dominante, o qual apresentou diâmetro máximo $4,0 \pm 0,47$ mm, quando comparado ao grupo controle, sem P₄ exógena, que teve o diâmetro de $5,5 \pm 0,52$ mm. Porém, uma vez que não houve diferença estatística, não se pode afirmar que esses resultados têm relação com a presença ou não da bactéria no trato reprodutivo da fêmea caprina.

Possivelmente, as fêmeas soropositivas foram mais sensíveis ao estímulo com progestágenos exógenos, desencadeando uma persistência folicular, como postulado por Othman et al. (2016) e Khuder et al. (2012) indicando que a bactéria pode causar lesões teciduais levando a um desequilíbrio hormonal, à persistência do folículo pré-ovulatório e à redução da taxa de concepção.

Figura 4. Média do diâmetro folicular a partir da avaliação um (A1) até a última avaliação (A5) nos quatro grupos experimentais: GT1 (grupo tratamento soropositivas); GT2 (grupo tratamento soronegativas); GC1 (grupo controle soropositivas) e GC2 (grupo controle soronegativas).



Em relação à manifestação do estro, observou-se que no grupo tratamento (GT1 e GT2) as cabras apresentaram estro com média de 39 horas após a remoção do dispositivo de P₄, valor este que se aproxima do observado por Fonseca et al. (2008), que utilizando 200UI de eCG e aplicando prostaglandina F2-alfa no momento da remoção da esponja (D9) em cabras da raça Alpina, constataram que 88% dos animais manifestaram estro nas primeiras 36 horas.

Observou-se uma tendência de maior duração do estro, da taxa de crescimento e do diâmetro folicular com presença de folículos persistentes no GT1 (soropositivas) em relação ao GT2 (soronegativas). Para Cruz et al. (2008), que avaliaram um rebanho caprino após tratamento com progestágenos, existe uma estreita relação entre o nível de P₄ e a dinâmica folicular, uma vez que cabras que apresentaram maior número de ondas foliculares foram aquelas que mostraram maiores concentrações plasmáticas de P₄. Além disso, Menchaca; Rubianes (2001) citam que, do início ao meio da fase luteal, a concentração de P₄ interfere negativamente sobre a pulsatilidade do LH e a concentração de estradiol, ocasionando a ovulação de folículos envelhecidos, explicando o maior intervalo entre a remoção do dispositivo de progesterona e a manifestação do estro neste experimento.

Este fato também foi relatado por Abdullah et al. (2020), que atriuíram mudanças hormonais às condições patológicas observadas no ovário, demonstrando que cabras com sorologia positiva para *C. pseudotuberculosis* apresentaram níveis de P₄ elevados, ocasionando atraso no retorno ao estro e podendo este também ser um potencial fator para a infertilidade, pois este aumento anormal de P₄ pode ser traduzido pelo organismo da fêmea como uma pseudo-gestação, ocasionando prejuízos no desenvolvimento normal do folículo e a ovulação.

Othman et al. (2016) apontaram que o desequilíbrio hormonal no eixo Hipotalâmico-hipofisário-gonadal observado em cabras soropositivas pode ser um fator predisponente a infertilidade, devido a ovulação de oócitos envelhecidos, em detrimento da ocorrência de maiores concentrações séricas de P₄ (11,694ng/mL) em relação às negativas (4,344ng/mL).

Em vacas e pequenos ruminantes comprovou-se que a ovulação de folículos velhos tem como efeito negativo oócitos de má qualidade sobre a taxa de fecundação, desenvolvimento do embrião e conseqüentemente a taxa de concepção (REVAH et

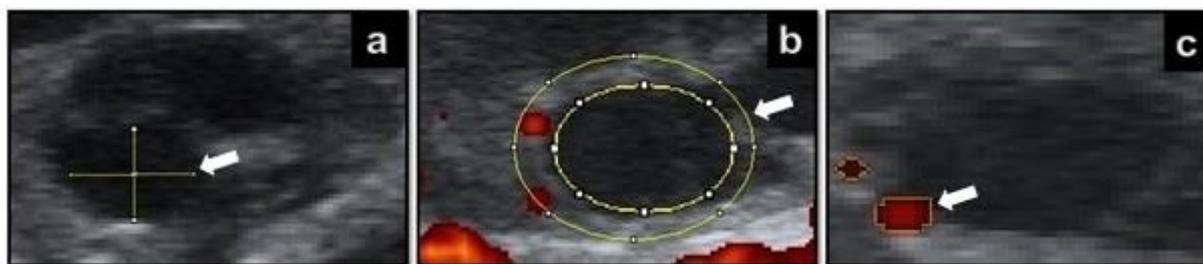
al., 1996; MENCHACA; RUBIANES, 2001; SANTOS et al., 2004). Portanto, embriões provenientes de oócitos de vacas com folículos de dominância prolongada, têm taxas de sobrevivência reduzidas. Na espécie bovina, foi demonstrado que vacas com folículos pré-ovulatórios maiores que mantêm a dominância por um período superior antes de ocorrer o pico de LH, tiveram taxas de concepção menores quando comparadas com folículos pré-ovulatórios de menor diâmetro, 36% e 91% respectivamente (BREUEL, 1993).

Nos grupos controle, apesar do crescimento folicular não ter tido diferença significativa entre os grupos tratamento, não foi observada a manifestação do estro em nenhuma cabra durante todo o período avaliado. A razão disto, pode estar ligada ao fato de não ter sido utilizado nenhum agente luteolítico ocasionando num atraso na regressão luteal e, conseqüentemente, os níveis séricos de P₄ permaneceram elevados, corroborando Brandão (2010), ao enfatizar que para haver a manifestação do estro, após o uso do tratamento com progestágenos em tempo curto, é necessário garantir a regressão luteal.

6.2 ANÁLISES ULTRASSONOGRÁFICAS

A utilização de USG com *Doppler* possibilitou determinar o desenvolvimento folicular pós-tratamento de sincronização do estro, a mensuração do maior diâmetro dos folículos e área de perfusão sanguínea na parede do folículo (Figura 5), para a avaliação da dinâmica folicular de cabras soropositivas, por meio do *software ImageJ*. De acordo com Vrisman et al. (2018) e Brito (2020), este *software* facilita a delimitação da área colorida para o cálculo do número total de pixels uma vez que amplia as imagens, sendo uma ferramenta biomédica segura e eficaz para análise dessas características e da dinâmica folicular.

Figura 5. Ovários de cabras mestiças soropositivas e soronegativas para *C. pseudotuberculosis*, submetidas ou não ao controle farmacológico do ciclo estral, do grupo GT1 e GT2, obtidas com ultrassom (Z5 Vet; Mindray), via transretal.



Mensuração do diâmetro do folículo dominante (a), área total da parede do folículo (b) e área de perfusão sanguínea na parede do folículo (c).

Assim como no presente experimento, as imagens obtidas dos folículos antrais, da espessura da parede desses folículos e da área de perfusão do fluxo sanguíneo também já foram investigadas em ovelhas submetidas ao controle farmacológico do ciclo estral por Oliveria et al. (2017), que apontam existir correlação positiva entre o fluxo sanguíneo da parede do folículo antral com o tamanho do corpo lúteo.

6.3 VASCULARIZAÇÃO FOLICULAR

Segundo Bollwein et al. (2016), o suprimento sanguíneo é essencial para a manutenção da dominância folicular, permitindo assim a chegada de gonadotrofinas e nutrientes, bem como facilitar a ruptura folicular próximo a ovulação. Ainda de acordo com os autores, em vacas a perfusão vascular é maior em ovários com a presença do folículo dominante, indicando uma associação entre o crescimento do folículo e o aporte sanguíneo ovariano. Neste experimento mensurou-se os níveis de vascularização (cm^2) e percentual de vascularização (%) na parede dos folículos ao longo do tempo e não foram encontradas diferenças estatísticas ($P > 0,05$) entre os grupos sobre estas variáveis, como observado na Tabela 2, que contém as médias e características da área de vascularização da parede folicular, avaliadas por ultrassonografia modo *Doppler* colorido nos grupos experimentais (cabras soropositivas e soronegativas) em cada avaliação.

Tabela 2. Efeito da utilização ou não do protocolo hormonal em cabras soropositivas e soronegativas sobre a vascularização folicular, avaliadas por ultrassonografia modo Doppler colorido.

Variáveis	Grupos Experimentais				P-valor	Média Geral (n=21)
	GT1 (n=6)	GT2 (n=6)	GC1 (n=4)	GC2 (n=5)		
VPFOL1 (cm ²)	0,013 ^a	0,048 ^a	0,025 ^a	0,121 ^a	0,483	0,069
VPFOL2 (cm ²)	0,083 ^a	0,210 ^a	0,295 ^a	0,053 ^a	0,434	0,146
VPFOL3 (cm ²)	0,191 ^a	0,183 ^a	0,191 ^a	0,079 ^a	0,491	0,154
VPFOL4 (cm ²)	0,066 ^a	0,211 ^a	0,094 ^a	0,135 ^a	0,705	0,128
VPFOL5 (cm ²)	0,060 ^a	0,110 ^a	0,212 ^a	0,033 ^a	0,167	0,091
PVPFOL 1 (%)	3,650 ^a	31,370 ^a	11,390 ^a	45,650 ^a	0,276	27,979
PVPFOL 2 (%)	19,700 ^a	42,610 ^a	5,730 ^a	28,570 ^a	0,297	27,838
PVPFOL 3 (%)	44,770 ^a	37,500 ^a	23,150 ^a	40,610 ^a	0,826	36,356
PVPFOL 4 (%)	32,670 ^a	16,400 ^a	16,520 ^a	21,270 ^a	0,719	19,692
PVPFOL 5 (%)	18,182 ^a	23,061 ^a	24,389 ^a	7,684 ^a	0,178	17,565

Médias seguidas por letras minúsculas distintas na mesma linha diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de significância. GT1 (grupo tratamento soropositivas) e GT2 (grupo tratamento soronegativas). VPFOL1: Vascularização da parede do folículo na avaliação um; VPFOL2: Vascularização da parede do folículo na avaliação dois; VPFOL3: Vascularização da parede do folículo na avaliação três; VPFOL4: Vascularização da parede do folículo na avaliação quatro; VPFOL5: Vascularização da parede do folículo na avaliação cinco; PVPFOL1: Percentual da área de perfusão sanguínea da parede folicular na avaliação um; PVPFOL 2: Percentual da área de perfusão sanguínea da parede folicular na avaliação dois; PVPFOL 3: Percentual da área de perfusão sanguínea da parede folicular na avaliação três; PVPFOL4: Percentual da área de perfusão sanguínea da parede folicular na avaliação quatro; PVPFOL5: Percentual da área de perfusão sanguínea da parede folicular na avaliação cinco.

Para a espécie caprina, ainda há uma escassez de trabalhos nesta área, avaliando a vascularização folicular por meio da ultrassonografia modo Doppler colorido, bem como, em cabras soropositivas para *C. pseudotuberculosis*.

A ferramenta Power Doppler permitiu examinar a vascularização da parede folicular a qual, foi obtida pela porcentagem, baseada na proporção estimada pelos pixels coloridos na parede dos mesmos. No presente trabalho, as fêmeas apresentaram valores oscilantes para o percentual de vascularização da parede dos folículos ao longo das avaliações e embora não tenha ocorrido diferença estatística entre os grupos, foi possível observar que próximo ao pico previsto do LH, após a indução farmacológica, o fluxo sanguíneo da parede do folículo dominante aumentou em ambos os grupos, alcançando valores de 44,7 e 42,6%. Porém, nesse estágio o diâmetro médio da parede do folículo dominante já está com o tamanho próximo da ovulação, isso justifica o observado no presente trabalho, no qual o fluxo sanguíneo aumenta em um ritmo maior do que a parede do folículo dominante (GINTHER et al. 2007).

Corroborando Ferraz et al. (2019a) que observaram em vacas, no período pré-ovulatório, um aumento do fluxo sanguíneo folicular proporcional ao aumento do

diâmetro do folículo ovulatório e à área de vascularização da parede, além disso, os autores também concluíram que folículos com alta porcentagem de vascularização provêm uma melhora no suprimento de substratos hormonais, metabólitos, nutrientes e na ação de fatores vasoativos importantes no processo de maturação folicular.

Ao longo do experimento, a espessura e perfusão do folículo dominante não diferiram estatisticamente em nenhum dos grupos avaliados, demonstrando que cabras saudáveis e infectadas pela bactéria *C. pseudotuberculosis* não tem alterações em nível de vascularização folicular e que, sugere-se investigar outras possíveis causas de infertilidade em cabras soropositivas para tal bactéria.

7 CONCLUSÕES

A avaliação da dinâmica folicular de cabras com linfadenite caseosa sugere que estas são capazes de responder ao controle farmacológico do ciclo estral.

Dentro das condições deste experimento, acredita-se que a onda folicular de cabras naturalmente infectadas por *C. pseudotuberculosis* submetidas ou não ao controle farmacológico do ciclo estral, não seja influenciada pela presença da bactéria nos momentos de recrutamento e desenvolvimento inicial do folículo, bem como a vascularização da parede do folículo dominante analisada por meio do *software ImageJ*.

Novas abordagens investigativas, bem como um n maior, para explicar o mecanismo de ação de *C. pseudotuberculosis* sobre a dinâmica folicular de cabras, são necessárias para melhor elucidar a relação da bactéria com a dinâmica folicular.

REFERÊNCIAS

ABDULLAH JESSE, F. F.; LATIF, N. A. A.; CHUNG, E. L. T.; AIMI, S.; SARAH, M. Z. S.; HARON, A. W.; LILA, M. A. M.; ZAKARIA, Z.; NORSIDIN, M. J. Changes in the reproductive hormones of non-pregnant does infected intradermally with *Corynebacterium pseudotuberculosis* in chronic form. **International Journal of Livestock Research**, v. 5, n. 7, p. 33-40, 2015.

ABDULLAH JESSE, F. F.; ODHAH, M. N.; ABBA, Y.; GARBA, B.; MAHMOOD, Z.; HAMBALI I. U.; HARON, A. W.; MOHD LILA, M. A.; ZAMRI-SAAD, M. Responses of female reproductive hormones and histopathology in the reproductive organs and associated lymph nodes of Boer does challenged with *Corynebacterium pseudotuberculosis* and its immunogenic corynomycolic acid extract. **Microbial Pathogenesis**, v., n. 139, p. 2020.

ACOSTA, T. J.; MIYAMOTO, A. Vascular control of ovarian function: Ovulation, corpus luteum formation and regression. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p. 127-140, 2004.

ALCOFORADO, F. A. G. Os **Condicionantes do desenvolvimento do Estado da Bahia**. 2005. 415p. Tese de Doutorado, Universitat de Barcelona. Departament de Geografia Física i Anàlisi Geogràfica Regional. 2005.

AMORIM, E. A. M.; TORRES, C. A. A.; AMORIM, L. S.; FONSECA, J. H.; BRUSCHI, J. H., GUIMARÃES, J. D.; CARVALHO, G. R.; ALVES, N. G.; CECON, P. R. Dinâmica folicular em cabras da raça Toggenburg em lactação tratadas ou não com somatotropina bovina recombinante. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 6, p. 1500-1508, 2007.

ARMSTRONG, D. G.; WEBB, R. Ovarian follicular dominance: the role of intraovarian growth factors and novel proteins. **Reviews of reproduction**, v. 2, n. 3, p. 139-146, 1997.

AYRES, H.; MINGOTI, G.Z. Angiogênese, vascularização e uso do ultrassom Doppler colorido na avaliação de estruturas ovarianas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 36, p. 174-180, 2012.

BAIRD, G. J.; FONTAINE, M. C. *Corynebacterium pseudotuberculosis* and its role in ovine caseous lymphadenitis. **Journal of comparative pathology**, v. 137, n. 4, p. 179-210, 2007.

BALARO, M. F. A.; SOUZA-FABJAN, J. M. G.; CORTÊS, L. R.; MAIA, A. L. R. S.; UNGERFELD, R.; FONSECA, J. F.; BRANDÃO, F. Z. Sincronização e indução do estro em caprinos leiteiros. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 41, p. 330-339, 2017.

BARRAL, T. D.; MARIUTTI, R. B.; ARNI, R. K.; SANTOS, A. J.; LOUREIRO, D.; SOKOLONSKI, A. R.; AZEVEDO, V.; BORSUK, S.; MEYER, R.; PORTELA, R. D.

A panel of recombinant proteins for the serodiagnosis of caseous lymphadenitis in goats and sheep. **Microbial Biotechnology**. v. 12, n. 6, p. 1313-1323, 2019.

BEZERRA, M. B.; RONDINA, D.; LIMA, A. K. F.; OLIVEIRA, L. C.; CECCHI, R.; LUCCI, C. M.; FIGUEIREDO, J. R. Aspectos quantitativos e qualitativos da foliculogênese pré-natal na espécie caprina. **Ciência Animal**, v. 8, n. 2, p.47-56, 1998.

BINELLI, M; PORTELA, V. M; MURPHY, B. D. Dinâmica ovariana e eficiência reprodutiva: estado da arte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, n. 6, p. 134-139, 2009.

BLACKLAWS, B.A. Small ruminant lentiviruses: Immunopathogenesis of visna-maedi and caprine arthritis and encephalitis virus. **Comparative Immunology, Microbiology e Infectious Diseases**. v. 35, p. 259-306, 2012.

BRANDÃO, G. S. B. **Uso da dinâmica folicular ovariana a avaliação de diferentes tratamentos de sincronização de estro em cabras canindé exploradas o semiárido do nordeste do Brasil**. 2010. 94p. Dissertação (Mestrado Ciência Animal) – Universidade Federal do Vale do São Francisco. 2010.

BREUEL, K. F.; LEWIS, P. E.; SCHRICK, F. N.; LISHMAN, A. W.; INSKEEP, E. K.; BUTCHER, R. L. Factors affecting fertility in the postpartum cow: role of the oocyte and follicle in conception rate. **Biology of reproduction**, v. 48, n. 3, p. 655-661, 1993.

BRITO, L.S. **Redução da dose da gonadotrofina coriônica equina por meio da farmacopuntura em vacas mestiças leiteiras submetidas a protocolos de IA em tempo fixo**. CAP. I - Avaliação do *software ImageJ* na análise de imagens ultrassonográficas: características morfológicas foliculares e luteais de fêmeas bovinas. Salvador, 2020. 176p. Tese (Doutor em Ciência Animal nos Trópicos) – Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Federal da Bahia, 2020.

CARVALHO, C. F.; CHAMMAS, M. C.; CERRI, G.G. Princípios físicos do Doppler em ultrassonografia. **Ciência Rural**, v. 38, p. 872-879, 2008b.

CAUNCE, S.L.; DADARWAL, D.; ADAMS, G. P.; BRAR, P.; SINGH, J. Método volumétrico objetivo para avaliação do fluxo folicular ovariano e vascular lúteo por meio da ultrassonografia Doppler em cores. **Theriogenology**, v. 138, p. 66-76. 2019.

CHEMINEAU, P.; DAVEAU, A.; MAURICE, F.; DELGADILLO, J. A. Seasonality of oestrus and ovulation is not modified by subjecting female Alpine goats to a tropical photoperiod. **Small Ruminant Research**, v. 8, p. 299-312, 1992.

CHEMINEAU, P.; DAVEAU, A.; MAURICE, F.; DELGADILLO, J.A. Effects of tropical photoperiod on sexual activity of Alpine goats. In: **IV international conference on goats**. 1987. Brasília, DF. **Abstract...** Goat International Society, p. 269, 1987.

Colégio Brasileiro De Reprodução Animal. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. Belo Horizonte: CBRA, 2013.

COLLETT M. G.; BATH G.F.; CAMERON C.M. *Corynebacterium pseudotuberculosis* infections. In: infectious diseases of livestock with special reference to southern Africa. **Oxford University Press**, v. 2, p. 1387-95, 1994.

CORTVRINDT, R.; SMITZ, J. In vitro follicle growth: achievements in mammalian species. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 36, n. 1, p. 3-9, 2001.

COSENTINO, I. O.; BALARO, M. F. A.; LEAL, F. S. C.; CARVALHO, A. B. S.; DE SOUZA, P. R. C.; ARASHIRO, E. K. N.; BRANDÃO, F. Z. Accuracy of assessment of luteal morphology and luteal blood flow for prediction of early pregnancy in goats. **Theriogenology**, v. 121, p. 104-111, 2018.

CRUZ, J. F.; TEIXEIRA, D. I. A.; RONDINA, D.; FREITAS, V. J. F. Dinâmica folicular ovariana em cabras em anestro após tratamento progestágeno. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, n. 4, 2008.

DE SÁ, G. A. **Epidemiologia da linfadenite caseosa ovina no estado de Minas Gerais**. 2009. 83p. Tese de Doutorado em Ciência Animal – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. 2009.

DE SÁ, M.C. A.; ROCHA FILHO, J. T. R.; ROSA, D. S.; DE SÁ, S. A.; FREIRE, D. P.; ALCANTARA, M. E.; COSTA, M. M.; MEYER, R. Linfadenite caseosa em caprinos e ovinos: Revisão. **PUBVET**, v. 12, p. 133, 2018.

DORELLA, F. A.; PACHECO, L. G. C.; OLIVEIRA, S. C.; MIYOSHI, A.; AZEVEDO, VASCO. *Corynebacterium pseudotuberculosis*: microbiology, biochemical properties, pathogenesis and molecular studies of virulence. **Veterinary Research**, v. 37, n. 2, p. 201-218, 2006.

DRIANCOURT, M.A. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. **Theriogenology**, v. 55, p. 1211-1239, 2001.

ESPINOZA-VILLAVICENCIO, J. L.; PÉREZ, R. O.; ESPINOSA, A. P.; MÉNDEZ, J. V.; FLORES, C. F. A. Crecimiento folicular ovárico en animales domésticos: una revisión. **Interciência**, v. 32, p. 93-99, 2007.

EVANS A. O. C.; DUFFY, P.; QUINN, K. M.; KNIGHT, P. G.; BOLAND, M. P. Follicular waves are associated with transient fluctuations in FSH but not oestradiol or inhibin-A concentrations in anoestrous ewes. **Animal Science**, v. 72, p. 547-554, 2001.

FACCIOLI-MARTINS, P. Y.; ALVES, F. S. F.; PINHEIRO, R. R. Linfadenite caseosa: perspectivas no diagnóstico, tratamento e controle. **Embrapa Caprinos e Ovinos-Documentos (INFOTECA-E)**, p. 69, 2014.

FAO. FAOSTAT **Productive on live animals**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/?#data/QA/visualize>>. Acesso em: 14 Set 2020.

FARIAS, A. E. M.; ALVES J. R. A.; ALVES, F. S. F.; PINHEIRO, R. R.; FACCIOLI-MARTINS, P. Y.; LIMA, A. M. C.; AZEVEDO, S. S.; ALVES, J. C. Characterization of

goat production systems in five states of northeastern Brazil. **Embrapa Caprinos e Ovinos-Artigo em periódico indexado (ALICE)**. 2019.

FARIAS, A. E. M.; ALVES, J. R. A.; ALVES, F. S. F.; PINHEIRO, R. R.; FACCIOLI-MARTINS, P. Y.; LIMA, A. M. C.; AZEVEDO, S. S.; ALVES, C. J. Seroepidemiological characterization and risk factors associated with seroconversion to *Corynebacterium pseudotuberculosis* in goats from Northeastern Brazil. **Tropical animal health and production**, v. 51, n. 4, p. 745-752, 2019.

FATET, A.; PELLICER-RUBIO, M.T.; LEBOEUF, B. Ciclo reprodutivo de cabras. **Ciência reprodução animal**, v. 124, p. 211-219, 2011.

FEITOSA, L. F. **Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico**. 3. ed., São Paulo: ROCA 2014, p. 644.

FERRAZ, P. A.; SILVA, M. A. A.; CARÔSO, B. S.S.; ARAUJO, E. A. B.; BITTENCOURT, T. C.B.S.C.; CHALHOUB, M.; BITTENCOURT, R. F.; FILHO, A. L. R. Effect of eCG on the follicular dynamics and vascularization of crossbred cows with different circulating progesterone concentrations during synchronization of ovulation in an FTAI protocol. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 39, n. 5, p. 324-331, 2019.

FONSECA, J. F.; CRUZ, R. D. C.; OLIVEIRA, M. E. F.; SOUZA-FABJAN, J. M. G.; VIANA, J. H. M. Biotecnologias aplicadas à reprodução de ovinos e caprinos. **Embrapa Gado de Leite-Livro técnico (INFOTECA-E)**, 2014.

FONSECA, J.F.; TORRES, C.A.A.; SANTOS, A.D.F. et al. Progesterone and behavioral features when estrous is induced in Alpine goats. **Animal Reproduction Science**, v. 103, p. 366-373, 2008.

FORDE, N.; BELTMAN, M. E.; LONERGAN, P.; DISKIN, M.; ROCHE, J. F.; CROWE, M. A. Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 124, p. 163-169, 2011.

FOSTER, R. A.; ZACHARY, J. F.; McGAVIN, M. D. "Female reproductive system and mammary gland," in **Pathologic Basis of Veterinary Disease**. Eds., p. 1103, Elsevier Health Sciences, ed. 5, 2013.

GINTHER, O. J.; SIDDIQUI, M. A. R.; BALDRIGHI, J. M.; HOFFMAN, M. M. Effect of intraovarian proximity between dominant follicle and corpus luteum on dimensions and blood flow of each structure in heifers. **Theriogenology**, v. 82, n. 6, p. 875-883, 2014.

GINTHER, O. J.; SILVA, L. A.; ARAUJO, R. R.; BEG, M. A. Temporal associations among pulses of 13,14-dihydro-15-keto-PGF₂α, luteal blood flow, and luteolysis in cattle. **Biology of reproduction**, v. 76, p. 506-513, 2007.

GINTHER, O. J.; UTT, M. D. Doppler ultrasound in equine reproduction: principles, techniques, and potential. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 24, n. 12, p. 516-526, 2004.

GINTHER, O.J.; KOT, K. Follicular dynamics during the ovulatory season in goats. **Theriogenology**, v. 42, p. 987-1001, 1994.

GROSSO, F.V.; TINKLER, S.; SOLA, M.; MILLER, M.; GAN HENG, H. Radiographic and computed tomographic appearance of caseous lymphadenitis in a goat. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 61, n. 1, p. , 2020.

HALDAR, C.; GHOSH, S. Dynamics and regulation of goat reproduction. **International Journal of Current Research and Academic Review**, v. 3, p. 20-36. 2015.

HASSAN, M.; ARSHAD, U.; BILAL, M.; SATTAR, A.; AVAIS, M.; BOLLWEIN, H.; AHMAD, N. Luteal blood flow measured by Doppler ultrasonography during the first three weeks after artificial insemination in pregnant and non-pregnant *Bos indicus* dairy cows. **Journal of Reproduction and Development**, v. 65, n. 1, 2019.

IBGE. **Censo Agropecuário 2017**. Disponível em: <https://censos.ibge.gov.br/agro/2017/templates/censo_agro/resultadosagro/pecuaria.html?localidade=0&tema=75662>. Acesso em: 10 Out 2020.

INMET, Instituto Nacional de Meteorologia Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa. 2020b. Disponível em: http://www.inmet.gov.br/projetos/rede/pesquisa/gera_serie_txt_mensal.php?&mRelEstacao=83244&btnProcesso=serie&mRelDtInicio=01/01/2015&mRelDtFim=31/12/2015&mAtributos. Acesso em: 20 Ago 2020.

INSKEEP, E. K.; FIELDS, M. J.; SAND, R. S; YELICH, J. V. Factors that affect embryonic survival in the cow: application of technology to improve calf crop. In: **Factors Affecting Calf Crop: Biotechnology of Reproduction**. 1 ed. CRC Press, 2002. P. 255-279.

JAIN, G. C.; ARORA, R. C.; PAHWA, G. S.; BATRA, S. K.; PANDEY, R. S. Plasma progesterone levels following breeding in goats. **Journal of Nuclear Agriculture and Biology**, v. 9, n. 1, p. 5-7, 1980.

KAWAKAMA, J.; CERRI, G.G.; ROCHA, D.C. **Ultrassonografia abdominal**. São Paulo: Sarvier, cap.1, p.1-14, 1993.

KHUDER, Z.; OSMAN, A. Y.; JESSE, F. F.; HARON, A. W.; SAHAREE, A. A.; SABRI, J.; YUSOFF, R.; ABDULLAH, R. Sex hormone profiles and cellular changes of reproductive organs of mice experimentally infected with *C. pseudotuberculosis* and its exotoxin phospholipase D (PLD). **IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science**, v. 1, n. 3, p. 24-29, 2012.

LATIF, N. A. A.; ABBA, Y.; JESSE, F. F. A.; CHUNG, E. L. T.; ZAMRI-SAAD, M.; SAHAREE, A. A.; ZAKARIA, Z.; HARON, A. W.; MOHD-LILA, M. A. Histopathological assessment of chronic *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in the reproductive tract and iliac lymph node of Katjang does. **Comparative Clinical Pathology**, v. 26, n. 1, p. 147-154, 2016.

- LEITÃO, C. C. F.; BRITO, I. R.; FROTA, I. M. A.; SILVA, J. R. V.; Importância dos fatores de crescimento locais na regulação da foliculogênese ovariana em mamíferos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 37, n. 3, p. 215-224, 2009.
- MACHADO, G.; GRESSLER, L. T.; KIRINUS, J. K.; HERRMANN, G. P. Linfadenite caseosa em ovinos abatidos sob inspeção federal no estado do Rio Grande do Sul-estimativas de perdas. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 39, n. 2, p. 1-5, 2011.
- MAGALHÃES, D. M.; FERNANDES, D. D.; ARAUJO, V. R.; ALMEIDA, A. P.; MATOS, M. H. T.; FIGUEIREDO, J. R. Papel do Hormônio Folículo Estimulante na foliculogênese in vivo e in vitro. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 33, p. 171-182, 2009.
- MAHMOOD, Z. K.; JIN, Z. A. M.; JESSE, F. F.; SAHAREE, SABRI, J.; YUSOFF, R.; HARON, A. W. Relationship between the *Corynebacterium pseudotuberculosis*, phospholipase D inoculation and the fertility characteristics of crossbred Boer bucks. **Livestock Science**, v. 191, p. 12-21, 2016.
- MARTINS, F. S.; SILVA, J. R. V.; RODRIGUES, A. P. R.; FIGUEIREDO, J. R. Fatores reguladores da foliculogênese em mamíferos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 32, n. 1, p. 36-49, 2008.
- MATSUI, M.; MIYAMOTO, A. Evaluation of ovarian blood flow by colour Doppler ultrasound: practical use for reproductive management in the cow. **The Veterinary Journal**, v. 181, n. 3, p. 232-240, 2009.
- MEDAN, M. S.; WATANABE, G.; SASAKI, K.; SHARAWY, S.; GROOME, N. P.; TAYA, K. Ovarian dynamics and their associations with peripheral concentrations of gonadotropins, ovarian steroids, and inhibin during the estrous cycle in goats. **Biology of Reproduction**, v. 69, p. 57-63, 2003.
- MENCHACA, A.; RUBIANES, E. Effect of high progesterone concentrations during the early luteal phase on the length of the ovulatory cycle of goats. **Animal Reproduction Science**, v.68, p.69-76, 2001.
- MENDES, C. S. **Resposta folicular ovariana e produção oocitária de cabras submetidas a protocolos de estimulação ovariana**. 2016. 51p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2016.
- MORAND-FEHR, P.; HERVIEU, J. Apprécier l'état corporel des chèvres: Intérêt et méthod. **Reussir La Chevre**, v. 231. p. 22-34, 1999.
- NOGUEIRA FILHO, A.; YAMAMOTO, A.; FIGUEIREDO JÚNIOR, C. A. Panorama atual da caprino-ovinocultura nordestina. **Informe Rural ETENE**, v. 2, n. 10, p., 2008.
- OLIVEIRA, D. M. ***Mycobacterium tuberculosis* e a resistência do bacilo de Koch**. 2013. 53p. Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, 2013.
- OLIVEIRA, M. E. F.; BARTLEWSKI, P. M.; JANKOWSKI, N.; PADILHA-NAKAGHI, L. C.; OLIVEIRA, L. G.; BICUDO, S. D.; FONSECA, J. F.; VICENTE, W. R. R.

Relationship of antral follicular blood flow velocity to superovulatory responses in ewes. **Animal reproduction science**, v. 182, p. 48-55, 2017.

OLIVEIRA, M. E. F.; FELICIANO, M. A. R.; D'AMATO, C. C.; OLIVEIRA, L. G.; BICUDO, S. D.; FONSECA, J. F.; WILTER, R.R.; VICENTEA, E. V.; BARTLEWSKI, P. M. Correlações entre o fluxo sanguíneo folicular ovariano e as respostas superovulatórias em ovelhas. **Animal Reproduction Science**, v. 144, p. 30-37, 2014.

OTHMAN, A. M. I.; ABBA, Y.; JESSE, F. F. A.; IYYAASU, Y. M.; SAHAREE, A. A.; HARON, A. W.; LILA, M. A. M. Reproductive pathological changes associated with experimental subchronic *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in nonpregnant boer does. **Journal of Pathogens**, v. 2016, p., 2016.

OTHMAN, A. M.; JESSE, F. F. A.; ADAMU, L.; ABBA, Y.; ADZA RINA, M. N.; SAHAREE, A. A.; WAHID, A. H.; ZAMRI- SAAD, M. Changes in serum progesterone and estrogen concentrations in non-pregnant boer does following experimental infection with *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **Journal of Veterinary Advances**, v. 4, n. 5, p. 524-528, 2014.

PINHEIRO, R.R.; XIMENES, L. J. F.; PINHEIRO, A. A.; TEIXEIRA, M. F. S. Lentivírus de pequenos ruminantes: diagnóstico, prevenção e vacinas. **Embrapa Caprinos e Ovinos-Capítulo em livro científico (ALICE)**, cap.10, p. 24, 2009.

PUGLIESI, G.; REZENDE, R. G.; SILVA, J. C. B.; LOPES, E.; NISHIMURA, T. K.; BARUSELLI, P. S. Uso da ultrassonografia Doppler em programas de IATF e TETF em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 41, n. 1, p. 140-150, 2017.

RAJA-KHALIF, R. I. A.; RAHMAN, M. M.; WAN-KHADIJAH. W. E.; ABDULLAH, R. B. Pregnancy diagnosis in goats by using two different ultrasound probes. **Journal of Animal and Plant Sciences**, v. 24, n. 4, p. 1026-1031, 2014.

REVAH, I.; BUTLER, W. R. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 106, p. 39-47, 1996.

RIBADU, A.Y; NAKAO, T. Bovine Reproductive Ultrasonography: A Review. **Journal of Reproduction and Development**, v. 45, p. 13-28, 1999.

RIBEIRO, M. G.; BELOTTA, A. F.; FERNANDES, M. C.; GUENA, R.; JÚNIOR, G. N.; LARA, G. H. B.; GIUFFRIDA, R.; ZAMPROGNA, T. O. Citologia aspirativa no diagnóstico da linfadenite em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 10, p. 839-843, 2011.

RIBEIRO, M. O.; BITTENCOURT, R. F.; FELICIANO, M. A. R.; SANTANA, A. L. A.; ANDRADE, M. A.; FELIZ, M. D.; SANTANA, L. R.; BARBOSA, L. P. Subdose of human chorionic gonadotropin applied at the Hou Hai acupoint on follicular dynamics and luteal development in donkeys. **Animal Reproduction (AR)**, v. 17, n. 4, p. 0-0, 2020.

RIBEIRO, M.O.; SILVA, M. A. A.; MAGGITTI JUNIOR, L.D.P.; BEZERRA, P. A.; BITTENCOURT, R. F; FELICIANO, M. A. R.; SANTANA, A. L. A.; SILVA, P. D. A.;

BARBOSA, L. P. Effect of the subdose of human chorionic gonadotropin applied in the Hou Hai acupoint on ovulation induction in mares. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 72, n. 6, p. 2027-2035, 2020

RIBEIRO, S. D. A. **Caprinocultura**: Criação racional de caprinos. São Paulo: Nobel, 1997. p. 124.

RUBIANES, E.; UNGERFELD, R.; MENCHACA, A. Bases fisiológicas del ciclo estral y algunas técnicas de manejo reproductivo. In: CONGRESO INTERNACIONAL DE OVINOS Y CAPRINOS, 2. Bogotá, Colombia. **Anais...** Bogotá. CD-Rom, 2005.

SANTOS, G. R. A.; MENDONÇA, R. C.; SILVA, M. A.; QUEIROZ, L. O. Caracterização da caprinocultura na bacia leiteira sergipana. **Scientia Plena**, v. 10, n. 11, p., 2014.

SANTOS, J. E. P.; THATCHER, W. W.; CHEBEL, R. C.; CERRI, R. L. A.; GALVÃO, K. N. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. **Animal Reproduction Science**, v. 82, p. 513-535, 2004.

SAS INSTITUTE.SAS/STATuser'sguide. Versão 9.1.3. Cary: 2004. (CD-ROM).

SEYFFERT, N.; GUIMARÃES, A. S.; PACHECO, L. G.; PORTELA, R. W.; BASTOS, B. L.; DORELLA, F. A.; HEINEMANN, M. B.; LAGE, A. P.; GOUVEIA, A. M.; MEYER, R.; MIYOSHI, A.; AZEVEDO, V. High seroprevalence of caseous lymphadenitis in Brazilian goat herds revealed by *Corynebacterium pseudotuberculosis* secreted proteins-based ELISA. **Research in Veterinary Science**, v., n. 1, p. 50-55, 2010.

SHELDON, M.; CRONIN, J.; GOETZE, L.; DONOFRIO, G.; SCHUBERTH, H.-J. Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 81, n. 6, p. 1025-1032, 2009.

SIDDIQUI, M. A. R.; ALMAMUN, M.; GINTHER, O. J. Blood flow in the wall of the preovulatory follicle and its relationship to pregnancy establishment in heifers. **Animal Reproduction Science**, v.113, p. 287-292, 2009a.

SIDDIQUI, M. A.; GASTAL, E. L.; GASTAL, M. O.; ALMAMUN, M.; BEG, M. A.; GINTHER, O. J. Relationship of vascular perfusion of the wall of the preovulatory follicle to in vitro fertilisation and embryo development in heifers. **Reproduction**, v. 137, n. 4, p. 689-697, 2009b.

SILVA, J. R. V. **Fatores de crescimento em ovários de cabra e o papel da ativina-A no desenvolvimento de folículos em estágio inicial**. 2005. 143p. Tese de Doutorado. Utrecht University, Faculty of Veterinary Medicine.

SILVA, L. A.; GASTAL, E. L.; BEG, M. A.; GINTHER, O. J. Changes in vascular perfusion of the endometrium in association with changes in location of the embryonic vesicle in mares. **Biology of Reproduction**, v. 72, n. 3, p. 755-761, 2005.

SMITH, M.F.; MCINTUSHI, E.W.; SMITH, G.W. Mechanism associated with corpus luteum development. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 1857-1872, 1994.

SOUZA, F.M.; CARVALHO, A. Q.; JÚNIOR, F. G.; RIET-CORREA, F. Linfadenite caseosa em ovinos deslançados abatidos em um frigorífico da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 31, n. 3, p. 224-230, 2011.

SOUZA, N. J. de. Características gerais da caprinocultura leiteira no estado de Pernambuco. Sobral: **EMBRAPA** – CNPC, 1987. Boletim n. 4.

SOUZA, R. S.; BARBOSA, L. P.; AGUIAR, C. S.; FIGUEREDO JÚNIOR, J.; RIBEIRO, M. O.; MENDES, C. S.; ALMEIDA, V. F.; ARAÚJO, R. C. S. A.; PINHEIRO, A. M.; MARQUES, J. A. Sincronização da ovulação utilizando FSH em substituição à eCG em cabras. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 3, 2011.

URIBE-VELÁSQUEZ, L. F.; LENZ SOUZA, M. I.; NARVÁEZ-SOLARTE, W. Follicular development in Alpine goats during the mating season. **Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia**, v. 10, p. 38-44, 2015.

URIBE-VELÁSQUEZ, L. F.; OBA, E.; SOUZA, M. I. L. Efeitos da progesterona exógena sobre o desenvolvimento folicular em ovelhas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, p. 58-65, 2008.

URIBE-VELÁSQUEZ, L. F.; SOUZA, M. I. L.; OSORIO, J. H. Resposta ovariana de cabras submetidas a implantes de progesterona seguidos de aplicações de gonadotrofina coriônica equina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 6, p. 1214-1222, 2010.

VAN DEN HURK, R.; ZHAO, J. Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation, and maturation within ovarian follicles. **Theriogenology**, v. 63, p. 1717-1751, 2005.

VAN DER HURK, R.; ZHAO, J. Regulation of mammalian oocyte growth and maturation. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 31, p. 188-205, 2003.

VRISMAN, D.P.; BASTOS, N. M.; ROSSI, G. F.; RODRIGUES, N. N.; BORGES, L. P. B.; TAIRA, A.R.; PAZ, C. C. P.; NOGUEIRA, G. P.; TEIXEIRA, P. P. M.; MONTEIRO, F. M.; OLIVEIRA, M. E. F. Dinâmica do corpo lúteo após indução da ovulação com ou sem exposição prévia à progesterona em novilhas Nelore pré-púberes. **Theriogenology**, v. 106, p. 60-68, 2018.

WILLIAMSON, L. H. Caseous lymphadenitis in small ruminants. **Veterinary clinics of North America: Food animal practice**, v. 17, n. 2, p. 359-371, 2001.

YOTOV, S. A.; VELISLAVOVA, D. V.; DIMOVA, L. R. Pregnancy rate in Bulgarian White milk goats with natural and synchronized estrus after artificial insemination by frozen semen during breeding season. **Asian Pacific Journal of Reproduction**, v. 5, n. 2, p. 144-147, 2016.