



BRENDA VERIDIANE DIAS

**INTERCORRÊNCIA ENTRE A MASTITE E FALHAS NO
DESEMPENHO REPRODUTIVO DE OVELHAS LACAUNE**

**LAVRAS - MG
2019**

BRENDA VERIDIANE DIAS

**INTERCORRÊNCIA ENTRE A MASTITE E FALHAS NO
DESEMPENHO REPRODUTIVO DE OVELHAS LACAUNE**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Ciências Veterinárias, área de
concentração em Produção e
Reprodução Animal, para
obtenção do título de Mestre.

Profa. Dra. Nadja Gomes Alves
Orientadora

Prof. Dr. Geraldo Márcio da Costa
Coorientador

**LAVRAS – MG
2019**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Dias, Brenda Veridiane.

Intercorrência entre a mastite e falhas no desempenho
reprodutivo de ovelhas Lacaune / Brenda Veridiane Dias. - 2019.
55 p.

Orientador(a): Nadja Gomes Alves.

Coorientador(a): Geraldo Márcio da Costa.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2019.

Bibliografia.

1. Mastite. 2. Estro. 3. Diâmetro Folicular. I. Alves, Nadja
Gomes. II. Costa, Geraldo Márcio da. III. Título.

BRENDA VERIDIANE DIAS

**INTERCORRÊNCIA ENTRE A MASTITE E FALHAS NO
DESEMPENHO REPRODUTIVO DE OVELHAS LACAUNE**

**INTERCORRENCE BETWEEN MASTITIS AND FAILURES IN
REPRODUCTIVE PERFORMANCE OF LACAUNE SHEEP**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Ciências Veterinárias, área de
concentração em Produção e
Reprodução Animal, para
obtenção do título de Mestre.

_____ em 31 de Julho de 2019.

Prof. Dr. Geraldo Márcio da Costa UFLA

Prof. Dr. José Camisão de Souza UFLA

Prof. Dr. Rafael Fernandes Leite UFSJ

Profª. Dra. Nadja Gomes Alves
Orientadora

Prof. Dr. Geraldo Márcio da Costa
Coorientador

**LAVRAS – MG
2019**

Aos meus pais, pelo apoio em todas as etapas da vida.

À minha avó Lázara, meu grande exemplo de amor.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e à Virgem Maria por terem me proporcionado inúmeros momentos de crescimento e felicidade durante esta etapa e também por iluminarem o meu caminho.

Aos meus pais Maria Célia e Wanderlei, ao meu irmão Rafael e minha avó Lala por confiarem tanto em mim, por compreenderem a minha ausência e por serem meus maiores incentivadores. Obrigada por me fazerem acreditar que meu lar sempre esteve dentro de mim, graças a isso nunca me senti sozinha. Amo vocês!

À minha inesquecível Pipoca, que foi minha companheira em todos os momentos e hoje é meu anjo.

Ao meu namorado Rafael Lopes e toda sua família, agradeço pela companhia, apoio e carinho.

Às minhas amigas Clara e Poliana, pelo incentivo e suporte, mesmo que distante.

À Universidade Federal de Lavras, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, pela oportunidade concedida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa, fico muito grata.

À Professora Orientadora Dra. Nadja Gomes Alves, pela oportunidade, paciência, exemplo e amizade. Muito obrigada por acreditar em mim e por tornar possível a concretização desse sonho.

Ao Professor Coorientador Dr. Geraldo Marcio da Costa e aos colegas do Laboratório de Bacteriologia. Em especial à doutoranda Dircéia pelo auxílio inestimável nas análises laboratoriais.

Ao Professor Dr. Rafael Leite pela disponibilidade, paciência na condução desta pesquisa e contribuição na banca examinadora.

Ao professor Dr. Renato de Lima, por todo tempo e atenção gasto nas análises estatísticas dos dados.

Ao professor Dr. José Camisão pela contribuição na banca examinadora.

Aos colegas do Núcleo de Estudos em Nutrição e Reprodução Animal (NUTRAN). Em especial as alunas de iniciação científica, Fernanda Alves e Nara Rodrigues, pelo auxílio na condução do experimento.

A todos os estagiários que participaram do projeto, em especial ao Evandro Miguel e à Camila Merlo. A ajuda de vocês foi muito importante.

A todos os funcionários e ao proprietário da Cabanha Vida que não mediram esforços para que eu realizasse a parte de campo do trabalho.

Por fim, a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito Obrigada.

*“Ama-se mais o que se conquista com esforço.”
(Benjamim Disraeli)*

RESUMO GERAL

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da ocorrência e da etiologia da mastite subclínica (MS) sobre a involução uterina (IU), retorno ao estro e características ovarianas no pós-parto. Ovelhas leiteiras (n= 87) foram categorizadas com base na ocorrência de um ou mais eventos de MS conforme avaliação 5, 20, 35 e 50 após o parto. Animais com MS (n=49) tiveram a infecção categorizada de acordo com a etiologia em quatro grupos (Staphylococcus coagulase negativa, Staphylococcus aureus, Coliformes e outros Patógenos Gram-positivos). Animais positivos ao teste California Mastitis Test e negativos quanto ao isolamento de patógenos foram identificados como sem isolamento (SI). O grupo controle (n=38) foi formado por ovelhas que não tiveram MS em nenhuma das avaliações. A ocorrência e etiologia da MS não foram associadas à IU macroscópica, e aos 45 dias de lactação todas as ovelhas tinham atingido a IU (diâmetro dos cornos uterinos ≤ 2 cm). A detecção do estro teve início no 20º dia após o parto e até o 60º dia 57,47% (50/87) das ovelhas manifestaram estro. A probabilidade de ocorrência de estro em até 30, 45 e 60 dias após parto foi avaliada. A ocorrência da MS nos dias 5, 20, 35 e 50 após o parto não interferiu ($P>0,05$) na probabilidade de manifestação do estro ($P>0,05$). As variáveis número de folículos nas classes 3 a 5 mm, >5 mm, número de corpos lúteos, área luteal total e diâmetro dos dois maiores folículos não foram afetadas ($P>0,05$) pela MS nos dias 5, 20 e 35 após o parto. A ocorrência e a etiologia da MS no dia 50 foram associadas com o diâmetro do maior folículo ($P=0,04$), sendo que ovelhas do grupo controle e com MS causada por SCN apresentaram folículo com diâmetro maior do que ovelhas do grupo SI. Em conclusão, o menor diâmetro do maior folículo em ovelhas com MS pode indicar que o desafio imunológico/inflamatório decorrente da mastite pode perturbar o crescimento folicular, sem interferir na IU e no retorno a ciclicidade ovariana pós-parto

Palavras-chave: Diâmetro Folicular. Estro. Infecção Intramamária. Glândula Mamária. Involução Uterina.

GENERAL ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of the occurrence and etiology of subclinical mastitis (SM) on uterine involution (UI), return to estrus and postpartum ovarian characteristics. Dairy sheep (n = 87) were categorized based on the occurrence of one or more SM events according to evaluation 5, 20, 35 and 50 after calving. Animals with MS (n = 49) had the infection categorized according to etiology into four groups (coagulase negative Staphylococcus, Staphylococcus aureus, Coliform and other Gram-positive Pathogens). California Mastitis Test positive animals and pathogen isolation negative animals were identified as uninsulated (SI). The control group (n = 38) consisted of sheep that did not have SM in any of the evaluations. The occurrence and etiology of SM were not associated with macroscopic UI, and at 45 days of lactation all sheep had reached UI (uterine horn diameter \leq 2 cm). The detection of estrus began on the 20th day after calving and until the 60th day 57.47% (50/87) of the sheep manifested estrus. The probability of estrus occurrence within 30, 45 and 60 days after calving was evaluated. The occurrence of SM on days 5, 20, 35 and 50 after calving did not interfere ($P > 0.05$) in the probability of estrus manifestation ($P > 0.05$). The number of follicles in classes 3 to 5 mm, > 5 mm, number of luteal bodies, total luteal area and diameter of the two largest follicles were not affected ($P > 0.05$) by SM on days 5, 20 and 35 after calving. The occurrence and etiology of SM on day 50 were related to the diameter of largest follicle ($P = 0.04$), The control group and the SM group detected by the CNS had the largest diameter than the SI group. In conclusion, the smaller diameter of the largest follicle in MS may indicate that immune / inflammatory challenge can disrupt follicular growth without interfering with UI and return to postpartum ovarian cyclicity.

Keywords: Intramammary Infection; Uterine Involution; Estrus; Follicular Diameter.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Porcentagem de patógenos isolados e de amostras sem isolamento de patógenos em ovelhas diagnosticadas com mastite subclínica aos 5, 20, 35 e 50 dias pós-parto	44
Tabela 2 – Porcentagem de involução uterina (IU) macroscópica no dia 30 após o parto considerando a etiologia da mastite subclínica (MS) e o não isolamento de patógenos (SI) nos dias 5 e 20 após o parto.	45
Tabela 3 - Efeito da ocorrência de mastite subclínica (MS) na probabilidade de ocorrência de estro até 30, 45 e 60 dias após o parto.	45
Tabela 4 – Intervalo parto-estro e atividade ovariana em ovelhas sem mastite subclínica (controle) e com mastite subclínica (MS) nos dias 5, 20, 35 e 50 após o parto.	47
Tabela 5 - Intervalo parto-estro e atividade ovariana em ovelhas sem mastite subclínica (controle), com mastite subclínica (MS) causada por <i>Staphylococcus</i> coagulase negativa (SCN), <i>Staphylococcus aureus</i> (SAU), coliformes e outros patógenos gram-positivos (PGP) ou sem isolamento de patógenos (SI) nos dias 5, 20, 35 e 50 após o parto.....	49

LISTA DE SIGLAS

ABCOL	Associação Brasileira de Criadores de Ovinos de Leiteiros
CAMP	Christie, Atkins, Much-Peterson
CCS	Contagem de Células Somáticas
CES	Cura Espontânea
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
CFE	Caneca de Fundo Escuro
CL	Corpo Lúteo
CMT	<i>California Mastitis Test</i>
ECC	Escore de Condição Corporal
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAO	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
GnRH	Hormônio Liberador de Gonadotrofina
IA	Inseminação Artificial
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC	Intervalo de Confiança
IIM	Inflamação Intramamária
IL-1 β	Interleucina 1 β
IL-8	Interleucina 8
IU	Involução Uterina
LH	Hormônio Luteinizante
LPS	Lipopolissacarídeo
LTB4	Leucotrienos B4
MC	Mastite Clínica
MG	Minas Gerais
MS	Mastite Subclínica
P ₄	Progesterona
PGF _{2α}	Prostaglandina F _{2α}
PGP	Patógenos Gram Positivos
SAL	<i>Staphylococcus aureus</i>
SCN	<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>
TNF α	Fator de Necrose Tumoral α

LISTA DE SÍMBOLOS

±	Mais ou Menos
Kg	Quilogramas
%	Porcentagem
H	Hora
-	Negativo
+	Positivo
B	Beta
A	Alfa
L	Litros
=	Igual
®	Marca Registrada
°C	Graus Celsius
mL	Mililitro
≤	Menor ou Igual
>	Maior
Mm	Milímetro
<	Menor

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	16
1 INTRODUÇÃO	16
2 REFERENCIAL TEÓRICO	18
2.1 Panorama da ovinocultura no Brasil e no mundo.....	18
2.2 Raça Lacaune	19
2.3 Mastite.....	20
2.4 Ciclo estral e atividade ovariana	23
2.5 Involução Uterina.....	24
2.6 Relação entre a mastite e falhas reprodutivas em bovinos	25
2.7 Efeito da mastite nas falhas reprodutivas de ovinos.....	27
REFERÊNCIAS	28
SEGUNDA PARTE - ARTIGO	36
1 Introdução	39
2 Material e Métodos	39
2.1 Local e animais do experimento.....	40
2.2 Avaliação da condição corporal e da produção de leite	40
2.3 Diagnóstico da mastite e coleta de leite	41
2.4 Exame ultrassonográfico	41
2.4.1 Involução uterina.....	41
2.4.2 Atividade ovariana	42
2.5 Detecção de estros	42
2.6 Cultura microbiológica.....	42
2.7 Delineamento experimental.....	43
2.8 Análise estatística.....	43
3 Resultados	44
3.1 Resultados microbiológicos	44
3.2 Involução uterina.....	44
3.3 Probabilidade de manifestação de estro	45
3.4 Intervalo do parto ao estro e estruturas ovarianas	46
4 Discussão	50
5 Conclusão	52
Agradecimentos	52
Referências	53

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

A exploração da ovinocultura mundialmente não é uma atividade recente. No Brasil esta é considerada uma atividade em expansão, com notável potencial produtivo e econômico. O rebanho ovino brasileiro ocupa a décima oitava posição entre os países com a maior produção de ovinos do mundo, com um rebanho de aproximadamente 18,43 milhões de cabeças e com diferentes aptidões de acordo com a região do país, sendo o Sul e Sudeste regiões consideradas pólos produtivos do leite ovino (FAO, 2018).

O leite ovino é em grande parte beneficiado, portanto, os fatores que influenciam diretamente no rendimento da produção (kg de leite / kg de produto), como é o caso da qualidade do leite, devem ser controlados. A qualidade microbiológica e a contagem de células somáticas (CCS) estão diretamente ligadas às propriedades de coagulação do leite e esta por sua vez, com o rendimento da produção (BENCINI; PULINA, 1997).

A CCS relaciona-se diretamente com a saúde do animal e a principal causa responsável pelo aumento da CCS no leite é a mastite. A mastite é uma enfermidade conhecida por acometer ovelhas em todo o mundo (CONTRERAS et al., 2007), no entanto, em 95% dos casos os sinais clínicos não são observados, dificultando o diagnóstico da doença no rebanho (GOMÉZ-CORTES et al., 2015). Sua prevalência é afetada pela tríade: animal, meio ambiente e patógeno, e em pequenos ruminantes a prevalência média estimada para a forma subclínica da doença é de 36,3% (DOMINGUES et al., 2006). No contexto da saúde animal, a mastite é responsável por perdas econômicas que atingem toda a cadeia produtiva. A ocorrência da mastite pode levar aos casos de descarte precoce de matrizes, perda da função da glândula mamária acometida, redução na produção e qualidade do leite (GELASAKIS et al., 2015), crescimento sub-ótimo dos cordeiros (FTHENAKIS; JONES, 1990a), ansiedade e inquietação dos animais, refletindo em prejuízos ligados ao bem estar animal (FTHENAKIS; JONES, 1990b).

Além da mastite, as falhas reprodutivas estão entre os principais fatores que interferem na eficiência produtiva do rebanho. Em bovinos, a relação entre a mastite e a reprodução tem sido estudada desde a década de 1990 (MOORE et al., 1991) e é reportado impacto negativo da inflamação sobre o desempenho reprodutivo dos animais. Embora a mastite tenha sido investigada por Battaglia et al., (2002), Holásková, Blemings e Dailey (2004) e Dow et al.,

(2010), os estudos concentram-se em inflamações clínicas induzidas e mais pesquisas precisam ser desenvolvidas para elucidar a relação entre a mastite de ocorrência natural e o desempenho reprodutivo em ovelhas.

Em bovinos, a enfermidade tem sido relacionada a falhas reprodutivas que podem ser expressas pela menor probabilidade de concepção (FUENZALIDA; FRICKE; RUEGG, 2015; HERTL et al., 2014; SANTOS et al., 2004), pelo aumento no número de serviços por concepção (VILLA ARCILA et al., 2017; SANTOS et al., 2004), aumento no número de dias para concepção (FUENZALIDA; FRICKE; RUEGG, 2015; VILLA ARCILA et al., 2017), intervalo prolongado entre o parto e o estro (MOORE et al., 1991) e morte embrionária (HANSEN; SOTO; NATZKE, 2004) e Além do efeito direto da mastite sobre o desempenho reprodutivo de bovinos, a relação entre a classificação do patógeno, período de ocorrência da mastite (FUENZALIDA; FRICKE; RUEGG, 2015; HERTL et al., 2014; VILLA ARCILA et al., 2017) e severidade da inflamação (FUENZALIDA; FRICKE; RUEGG, 2015), são relacionadas com a intensidade das falhas reprodutivas.

Apesar de ser uma enfermidade de caráter mundial, os estudos sobre a prevalência e os efeitos da mastite sobre a reprodução em ovinos ainda são escassos, principalmente em relação à MS, assim como é escassa a informação relativa ao efeito de diferentes patógenos causadores de mastite na reprodução etiologia da mastite. Sendo assim, objetivou-se determinar a associação entre a ocorrência e a etiologia da MS pós-parto com a involução uterina (IU), a atividade ovariana e o retorno ao estro. Assim, levantamos a hipótese de que a ocorrência da MS no pós-parto inicial causada por microrganismos Gram-negativos retarda a IU e compromete a atividade ovariana, prolongando o intervalo do parto ao estro.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Panorama da ovinocultura no Brasil e no mundo

A ovinocultura está presente em praticamente todos os continentes com um rebanho efetivo mundial no ano de 2017 de aproximadamente 1,2 bilhão de animais, aproximadamente 29 milhões de cabeças a mais do que havia sido registrado em 2016 (FAO, 2018). Os maiores rebanhos estão nos países pertencentes à Ásia, África e Europa. Os países da Ásia e África possuem em maior número, criações extensivas e com produtividade mais baixa, ao contrário dos países da Europa, onde a criação intensiva é predominante. Entre os países com o maior efetivo de animais, a China ocupa a primeira posição seguida pelos países Austrália, Índia, Irã e Sudão (EMBRAPA, 2018).

Austrália e Nova Zelândia são países com sistemas de produção de alta produtividade e altamente tecnificados, o que torna estes países os principais “players” no mercado mundial na comercialização de carne e lã. A região mediterrânea destaca-se como a mais tradicional e significativa região produtora de leite e de queijos de ovelhas, sendo que cerca de 2/3 de todo o leite ovino do mundo é produzido nesta região. A característica principal do sistema de produção dessa região é que 60% das ovelhas são ordenhadas total ou parcialmente e cerca de 95% desse leite é transformado em derivados lácteos com conotação de qualidade típica local, tais como os queijos Feta, Roquefort, Pecorino Romano entre outros (BOYAZOGLU; MORAND-FEHR, 2001). Apesar de o mediterrâneo ser uma região tradicionalmente produtora de leite, a China é o maior produtor mundial de leite de ovelha (EMBRAPA, 2018).

No Brasil, o rebanho efetivo conta com 18,43 milhões de animais que se alojam em grande parte na região nordeste (IBGE, 2016). Dentre os estados com o maior número de animais e rebanhos, a Bahia ocupa o primeiro lugar, sendo seguida pelo Rio Grande do Sul, que ocupa o segundo lugar (IBGE, 2017). O número de animais no país cresceu em 13,09% durante um período de 10 anos (FAO, 2018), demonstrando ser uma atividade em ascensão. A produção leiteira no Brasil é recente e vem ganhando espaço, sendo que no ano de 2015 a produção de leite foi de 816 mil litros, oriundos do processamento de 19 laticínios e 25 rebanhos (ABCOL, 2015). A maior parte do leite ovino produzido é transformado em queijo e derivados (GOMÉZ-CORTES et al., 2015).

2.2 Raça Lacaune

A raça Lacaune é considerada uma raça de aptidão mista que teve origem nas regiões montanhosas ao sul da França a partir de raças locais (QUITTET; FRANCK, 1983). A raça deve seu nome aos montes Lacaune, no Tarn, e tem como origem os diversos grupos ovinos que existiam nos departamentos de L´Aveyron, Tarn e departamentos limítrofes (CASA DA OVELHA, 2015). Nos anos de 1950 e 1960 a raça era tida como de dupla aptidão, isso porque a terminação dos cordeiros até 100-120 dias permitia igualar as receitas provenientes das vendas de carne e leite (BARILLET, 2007). Na década de 1960 houve uma estagnação na produção devido à baixa produção de leite das ovelhas Lacaune e à falta de tecnologia disponível. Para suprir à demanda do mercado, a melhoria genética dos plantéis foi trabalhada e a deu-se início à mecanização da ordenha. Duas centrais foram criadas para conduzir o programa de melhoramento genético dos plantéis Lacaune (Cooperativa OVI-TEST e Confederação do Roquefort), de acordo com Baloche et al. (2014). A princípio, o intuito dos programas de melhoramento genético era manter a dupla aptidão dos animais, no entanto, após diversos resultados insatisfatórios, em 1980 a prioridade do melhoramento voltou-se para a produção de leite, triplicando o resultado produzido anteriormente (BARILLET et al., 2001).

Devido à eficiência e sofisticação do programa de seleção genética, a raça Lacaune está entre as de maior destaque na produção leiteira (THOMAS et al., 2014). Outras características relacionadas à produção leiteira da raça Lacaune que vêm recebendo maior atenção nos últimos 10 anos pelo programa de seleção é a resistência à mastite, a morfologia do úbere e a facilidade de ordenha (OVI-TEST, 2018). A melhoria genética anual para a produção de leite no Lacaune francês é estimada em 2,4% ou 5,7 kg (BARILLET, 2007), e em sistemas tradicionais na França, os animais da raça Lacaune possuem produção leiteira que ultrapassa 300 L/lactação (FREGEAT, 2017).

As ovelhas Lacaune possuem aspectos produtivos interessantes, como o menor comprometimento da produção de leite quando o intervalo de ordenhas é ampliado (CASTILLO et al., 2008) e a maior constância na produção de leite após sucessivas lactações, que torna o animal mais longevo, reduzindo a reposição de matrizes no plantel (FIGUEIRA; ALVES; FONSECA, 2018). As fêmeas têm excepcional habilidade materna e facilidade no trabalho de parto. O desmame também é mais precoce devido ao incremento do ganho de peso obtido durante a amamentação, o úbere é avantajado, com boa conformação e implantação, o

que facilita o uso da ordenhadeira mecânica. Os animais possuem pouca extensão de lã, com ausência nas regiões da cabeça, bordo inferior do pescoço e tórax, ventre, axilas, virilhas, membros e peito (ARCO, 2014).

No Brasil, a raça Lacaune foi introduzida no ano de 1992 com produção média diária de 1,3 litros por ovelha. Os primeiros animais chegaram ao Rio Grande do Sul, sendo um carneiro e dez matrizes importados da Europa (SAUERESSIG, 2010), que deram início a base dos rebanhos leiteiros especializados para produção de leite ovino. Após a implantação da raça no Rio Grande do Sul, ocorreu a disseminação da mesma para outros estados do sul (Santa Catarina e Paraná), e alguns estados do Sudeste (Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo), além do Distrito Federal. A criação da raça já está em expansão e a expectativa é que a criação de ovinos Lacaune seja cada vez mais disseminada, visto que a produção de derivados lácteos ainda busca mais espaço no Brasil (ROHENKOHL et al., 2011).

2.3 Mastite

A mastite é uma inflamação da glândula mamária, caracterizada por provocar alterações físico-químicas e microbiológicas no leite e no tecido glandular mamário, podendo comprometê-lo de forma completa ou parcial, dependendo do agente microbiano envolvido (BLOOD; RADOSTITS, 1991; LANGONI et al., 1998). A etiologia dessa doença pode ser de origem tóxica, traumática, alérgica, metabólica ou infecciosa. No entanto, a origem infecciosa é a mais predominante, podendo ser causada por fungos, protozoários, algas, vírus, e bactérias, sendo esta última a mais comum. Geralmente, os patógenos invadem o úbere pelo esfíncter do teto, se multiplicam nos alvéolos e produzem toxinas que lesam o tecido mamário (COSTA, 1991; RADOSTITS, 2002).

Com relação à manifestação da doença, a mastite pode se manifestar na forma clínica ou subclínica (MENZIES; RAMANOON, 2001). A forma clínica da mastite é variável e identificada visualmente, no momento da ordenha por testes de rotina, como o teste da caneca do fundo escuro - CFE (DELLA LIBERA et al., 2011). A visualização do leite na CFE facilita a identificação dos grumos oriundos do processo inflamatório, que com o agravamento dos sinais clínicos pode adquirir aspecto purulento e muitas vezes sanguinolento (SANTOS et al., 2007).

Nos casos de mastite clínica aguda, na maior parte verifica-se que apenas uma das glândulas mamárias é afetada, e durante a avaliação do animal é possível perceber assimetria,

edema, aumento da temperatura, vermelhidão da pele do úbere e sensibilidade ao toque (ANDERSON; HULL; PUGH, 2004; DELLA LIBERA et al., 2011; SANTOS et al., 2007). Nesta, ou na forma hiperaguda podem ser observados sinais sistêmicos como febre, apatia, anorexia e interrupção abrupta da secreção láctea. Esporadicamente, a mastite ocorre na forma gangrenosa, acarretando necrose da glândula mamária e desprendimento do tecido acometido, ou mesmo do úbere por completo (SANTOS et al., 2007). Na forma crônica, o úbere se torna firme à palpação, com a glândula afetada aumentada ou diminuída de tamanho e com presença de abscessos ou granulomas no tecido glandular. A secreção láctea pode apresentar-se purulenta, serosa ou ocorrer ausência total de secreção (MENZIES; RAMANOON, 2001).

A manifestação subclínica é caracterizada pela não apresentação de alterações aparentes no úbere e alterações macroscópicas no leite (MENZIES; RAMANOON, 2001). A forma subclínica é considerada mais importante do ponto de vista econômico, uma vez que a identificação é dificultada por não apresentar sinais clínicos visíveis (LAFFRANCHI et al., 2001) e por apresentar maior ocorrência comparativamente às formas clínicas da doença (GOMÉZ-CORTES et al., 2015).

Outra forma de classificação da mastite é pelas características do agente causador, podendo a mastite ser dividida em ambiental ou contagiosa. Dentre os principais agentes contagiosos responsáveis pela mastite clínica (MC) durante a lactação em ovelhas estão *Staphylococcus aureus* nos sistemas de produção de leite, e *Staphylococcus aureus* e *Mannheimia haemolytica*, nos sistemas de produção de carne. Quanto à mastite subclínica (MS), tem-se o *Staphylococcus* sp. coagulase negativa (SCN) como o maior responsável pela infecção nesta espécie (MENZIES; RAMANOON, 2001; WINTER, 2001), diferente da mastite em bovinos, que por sua vez possui SCN como patógenos menores que causa uma inflamação geralmente mais branda (HERTL et al., 2014; PENGOV, 2001).

Bergonier e Berthelot (2003) relataram que de 20 a 60% dos casos de MC em ovelhas leiteiras foram isolados *Staphylococcus aureus*. Nos casos de MS, de 25 a 93% dos casos, os isolados foram SCN (BERGONIER et al., 2003). Para alguns autores, *Mannheimia haemolytica* é tão importante quanto *Staphylococcus aureus* na etiologia da MC em rebanhos de corte (JONES; WATKINS, 2000; MENZIES; RAMANOON, 2001; OMALEKI et al., 2011), todavia o isolamento de *Mannheimia haemolytica* das amostras de leite de ovinos de corte no Brasil é incomum (COUTINHO et al., 2008).

Os patógenos responsáveis por causar a mastite ambiental geralmente são Gram-negativos, os mais comumente isolados incluem *Citrobacter* spp., *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Pasteurella multocida*, *Proteus* spp., *Pseudomonas aeruginosa* (LEITNER; KRIFUCKS, 2007), *Salmonella* spp., *Serratia* spp. (CONTRERAS; RODRÍGUEZ, 2011). Os patógenos ambientais representam aproximadamente 3% do total de microrganismos isolados de rebanhos ovinos leiteiros (BERGONIER et al., 2003).

De acordo com Onnasch et al. (2002), embora a mastite possa ocorrer em qualquer momento da lactação, esta é mais frequente na primeira semana pós-parto e entre a quarta e a sétima semanas após o parto. Além do período de ocorrência, existe associação positiva entre o número de lactações e a prevalência de infecções intramamárias (FTHENAKIS, 1994).

Poucas propriedades realizam a inspeção do úbere para diagnóstico da mastite, sendo assim, o reconhecimento da mastite é dificultado (MENZIES; RAMANOON, 2001). O passo inicial para o diagnóstico da mastite é a realização de uma anamnese cautelosa, com levantamento do estágio da lactação, número de lactações anteriores, produção leiteira e manejo sanitário da propriedade (OLIVEIRA, 2007).

A MC pode ser facilmente detectada com o auxílio do teste da caneca de fundo escuro, que avaliará o leite quanto à sua coloração, consistência e presença de grumos (ANDERSON; HULL; PUGH, 2004). Por sua vez, o diagnóstico da MS é dificultado devido à ausência de sinais clínicos e requer o uso de testes indiretos que irão detectar o aumento do número de células somáticas e/ou presença de microrganismos (COUTINHO et al., 2006).

O método indireto mais utilizado para estimar a celularidade do leite de ovelhas é o *California Mastitis Test* (CMT) (ANDERSON; HULL; PUGH, 2004). O teste é de caráter qualitativo e associa-se positivamente com o isolamento de microrganismos causadores de mastite (ARSENAULT et al., 2008). As reações produzidas pelo CMT são classificadas em 1. Negativa (-), 2. Traço (+/-), 3. Fracamente positiva (+), 4. Positiva (++) ou 5. Fortemente positiva (+++). Quanto maior o grau de viscosidade entre a mistura do leite e o reagente CMT, maior a quantidade de células no leite, o que reflete a intensidade da inflamação (ANDERSON; HULL; PUGH, 2004; KIRK; GLENN; MASS, 1996). De acordo com Oliveira (2007), o CMT tem demonstrado boa confiabilidade quando em associação com o isolamento bacteriano e as chances de isolamento bacteriano são maiores à medida que há intensificação do score obtido na reação. Quando são consideradas amostras com score de CMT 3 ou superior as chances de isolamento bacteriano são maiores, uma vez que a

celularidade do leite ovino é mais elevada e pode resultar em diagnósticos falso-positivos (MENZIES; RAMANOON, 2001).

2.4 Ciclo estral e atividade ovariana

As ovelhas possuem ciclos estrais com duração de 17 ± 2 dias, divididos em fase luteal (14 dias) e fase folicular (3 dias, RUBIANES, 2000). Os ciclos estrais são regulados por mecanismo neuroendócrino e dependem da interação coordenada do sistema nervoso central por ação do GnRH, que estimulará a adenohipófise a secretar LH e FSH. O desenvolvimento folicular nesta espécie é caracterizado por ser um processo dinâmico, que se inicia com o crescimento de folículos que até então estavam inativos nas reservas de folículos primordiais (GORDON, 1997). Em ovinos ocorrem normalmente três ondas foliculares, mas podem apresentar duas a cinco ondas. Uma onda folicular é caracterizada pelo crescimento sincronizado de um conjunto de folículos que crescem a partir de dois a três milímetros, em um processo que recebe o nome de emergência. Destes folículos um ou mais continuam o seu crescimento até que atinjam tamanho ovulatório igual ou maior que cinco milímetros (folículos dominantes), enquanto os demais regridem (folículos subordinados, RUBIANES, 2000).

A taxa de crescimento dos folículos recrutados é de aproximadamente um milímetro por dia, até que estes alcancem o tamanho pré-ovulatório (BARTLEWSKI et al., 1998). Diferente das vacas, na ovelha a codominância é um evento passível de ocorrência, e nestas situações é possível que haja ovelhas com ovulação múltipla (GONZALES-BULNES et al., 2004).

O terço final da gestação é marcado por altas concentrações de P_4 e E_2 , que exercem sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário um *feedback* negativo, culminando na inibição da síntese do LH (PELUSO, 2006; NETT, 1987). Para que o estro pós-parto ocorra é necessário que haja recuperação do eixo hipotalâmico-hipofisário, que por sua vez culminará no reinício da atividade ovariana. No entanto, as primeiras ovulações no pós-parto podem ser seguidas por função lútea anormal, com formação de corpo lúteo (CL) de curta duração (ASCARI et al., 2013; GONZALEZ et al., 1987), que pode estar relacionada à reduzida secreção de LH e FSH (BOTHÁ; MORGHENTAL, 1980).

Dentre os fatores que podem interferir no retorno à atividade ovariana cíclica pós-parto em ovelhas, são citados com frequência a raça e sazonalidade (BICUDO et al., 2005), fatores nutricionais (SOUZA et al., 2010), amamentação (ASSIS et al., 2011; PELLETIER;

THIMONIER, 1975) condição corporal (GONZALEZ-STAGNARO, 1993) e a mastite (BATTAGLIA et al., 2007).

2.5 Involução Uterina

A involução uterina (IU) compreende uma modificação que ocorre no sistema reprodutivo no intervalo entre o parto e o primeiro estro (HAFEZ; HAFEZ, 2004). Este período é conhecido como puerpério, e é ao decorrer dele que ocorre o restabelecimento das habilidades reprodutivas da fêmea que a preparam para a retomada dos ciclos estrais (SENGER, 2003). A preparação compreende três eventos: redução no tamanho do útero, perda de tecido e reparação tecidual (GRAY et al., 2003).

São reportados na literatura intervalos de 17 (HAUSER; BOSTED, 2002) a 35 dias (ZDUNCZYK et al., 2004) para que ocorra a IU macroscópica. Caso a IU ocorra normalmente, não são relatados prejuízos para a fertilidade (KIRACOFÉ, 1980), no entanto, modificações no ambiente uterino, com conseqüente atraso na IU culminarão em atraso no retorno da atividade ovariana, podendo resultar em subfertilidade (SHELDON; DOBSON, 2004; SHELDON et al., 2006).

Dentre os fatores que podem culminar em períodos mais longos até a IU são relatados intervenções obstétricas, partos gemelares e retenção de membranas fetais (HAUSER; BOSTED, 2002). Não parece haver efeito da amamentação sobre a IU (GODFREY; GRAY; COLLINS, 1998; GONZALES-STAGNARO et al., 2002), de acordo com Zdunczyk et al. (2004) a ordem de parto também não afeta a IU, os autores avaliaram a IU em ovelhas da raça Polisg Longwool e relataram que a involução foi atingida em média aos 30 dias em ovelhas primíparas e pluríparas.

Caso o puerpério não ocorra de forma normal, infecções bacterianas podem causar alteração no tempo despendido para IU (SHELDON; DOBSON, 2004). Em condições fisiológicas normais, os mecanismos de defesa do útero são capazes de neutralizar a infecção, estes mecanismos dividem em três classes: defesa física, defesa humoral e defesa hormonal (FÖLDI et al., 2006).

A defesa física refere-se à contratilidade do miométrio após o parto e é responsável por promover a eliminação do conteúdo uterino, desfavorecendo a multiplicação bacteriana (MARTINS; BORGES, 2015). A defesa humoral está relacionada com a produção de imunoglobulinas no útero, que têm por função proteger este órgão contra a ação de bactérias e toxinas (WATSON et al., 1990). Na defesa hormonal, os principais hormônios envolvidos são

a $\text{PGF}_{2\alpha}$ e o E_2 . A $\text{PGF}_{2\alpha}$ é produzida principalmente pelo endométrio após o parto. Além de promover a destruição do CL da gestação, a $\text{PGF}_{2\alpha}$ é uma molécula pró-inflamatória que estimula a produção de citocinas, que promovem a síntese de leucotrienos B4 (LTB4). Os LTB4 são quimiotáticos, atraem neutrófilos, estimulam a fagocitose e a função dos linfócitos na superfície do endométrio (FERNANDES; FIGUEIREDO, 2007). O E_2 facilita a liberação do conteúdo uterino ao aumentar a produção de muco pelas glândulas endometriais e estimular a contração do miométrio, auxiliando na remoção dos agentes patogênicos (HORTA, 1995; SHELDON; DOBSON, 2004; FERNANDES; FIGUEIREDO, 2007).

2.6 Relação entre a mastite e falhas reprodutivas em bovinos

Dentre os responsáveis por perdas econômicas em um cenário produtivo, mastite e falhas reprodutivas ocupam os primeiros lugares, no entanto, estudos que avaliam o impacto econômico da mastite nas falhas reprodutivas só ganharam atenção na última década. A redução da fertilidade induzida pela inflamação intramamária (IIM) é relevante e causa perdas significativas às explorações leiteiras (WOLFENSON; LEITNER; LAVON, 2016).

A relação existente entre os efeitos da inflamação no úbere e os aspectos reprodutivos foi descrita pela primeira vez há duas décadas por Moore et al. (1991), que relataram que vacas holandesas com MC causada por bactérias Gram-negativas apresentaram maior intervalo de estros e menor duração da fase luteínica. Outros estudos mostraram efeitos negativos da mastite sobre a reprodução, indicando que a interação entre elas leva a disrupção dos sistemas endócrino e imunitário, resultando em anormalidades do ciclo estral, distúrbios ovarianos (ISOBE et al., 2014; ROTH et al., 2013; SKRZYPEK et al., 2007) e morte embrionária precoce (HANSEN; SOTO; NATZKE, 2004).

Dentre os principais efeitos prejudiciais causados pela mastite sobre o desempenho reprodutivo em bovinos, são listados maior número de serviço por concepção (AHMADZADEH et al., 2009; SANTOS et al., 2004; SCHRICK et al., 2001; VILLA ARCILA et al., 2017), aumento do número de dias em aberto (AHMADZADEH et al., 2009; FUENZALIDA; FRICKE; RUEGG et al., 2015; SANTOS et al., 2004; SCHRICK et al., 2001; VILLA ARCILA et al., 2017), maior incidência de perda gestacional e menor taxa de prenhez ao primeiro serviço (LOEFFLER; DE VRIES; SCHUKKEN, 1999; SANTOS et al., 2004).

O impacto na reprodução é variável em função da forma de apresentação da mastite e dos agentes etiológicos envolvidos. A forma clínica aguda de curto prazo reduz efetivamente

a taxa de concepção, no entanto, o efeito é dependente do período de ocorrência. A MS apesar de ser menos grave que a MC, possui maior duração e é amplamente disseminada em rebanhos comerciais, sendo assim, sua natureza de longo prazo causa diminuição mais pronunciada na taxa de concepção (WOLFENSON; LEITNER; LAVON, 2016).

Além da relação existente entre a forma de manifestação da mastite e falhas reprodutivas, alguns estudos afirmam que as alterações também são dependentes do agente etiológico envolvido (FUENZALIDA; FRICKE; RUEGG, 2015; HERTL et al., 2014; VILLA ARCILA et al., 2017). De acordo com Schukken et al. (2009), patógenos Gram-positivos são responsáveis por causar resposta imune mais branda, culminando em uma inflamação de leve a moderada e que influencia o desempenho reprodutivo em menor magnitude. Por outro lado, patógenos Gram-negativos estão associados ao maior impacto negativo no desempenho reprodutivo (HERTL et al., 2010), devido à produção mais pronunciada de endotoxinas que retardam a onda pré-ovulatória de LH e, conseqüentemente, a ovulação (WOLFENSON; LEITNER; LAVON, 2016).

Existem também diferenças quanto à intensidade da inflamação intramamária e o período de ocorrência da mesma, que podem determinar o impacto sobre o desempenho reprodutivo. Conforme demonstrado por Hudson et al. (2012), vacas que apresentaram casos confirmados de mastite imediatamente antes ou após a inseminação artificial (IA) apresentaram redução mais severa na probabilidade de prenhez quando comparadas com vacas que apresentaram a enfermidade em um período mais distante da IA.

Os mecanismos pelos quais a mastite pode afetar o desempenho reprodutivo de vacas leiteiras ainda não estão totalmente elucidados. Sabe-se que a IIM pode causar uma série de alterações clínicas, como: febre, maior frequência cardíaca e inflamatória e aumento da permeabilidade vascular. Quando as bactérias Gram-negativas causadoras da mastite ingressam na glândula mamária ocorre a liberação de lipopolissacarídeos (LPS), proteoglicanos e outras moléculas bioativas, que por sua vez desencadeiam a resposta imune e inflamatória, culminando no aumento de citocinas pró-inflamatórias na circulação, especialmente interleucina-1 β (IL-1 β), Interleucina-8 (IL-8) e fator de necrose tumoral- α (TNF- α). Certas citocinas pró-inflamatórias inibem diretamente as funções oocitárias e embrionárias (HANSEN; SOTO; NATZKE, 2004).

Estudos apontam associação da mastite e mudanças nas concentrações de LH (LAVON et al., 2010; HOCKETT et al., 2000; WOLFENSON; LEITNER; LAVON, 2016),

cortisol, estradiol-17 β (E₂), prolactina (HOCKETT et al., 2000; WOLFENSON; LEITNER; LAVON, 2016), PGF_{2 α} , GnRH, FSH, P₄, , imunoglobulinas, e metabólitos reativos de oxigênio (WOLFENSON; LEITNER; LAVON, 2016). O atraso para apresentação do primeiro estro observado em vacas que sofreram desafios com patógenos causadores de mastite (BARKER et al., 1998; MOORE et al., 1991) pode estar relacionado à falha da ovulação resultante de concentrações insuficientes de LH e/ou E₂, ou ainda por intervalos de estros alterados resultantes de concentrações elevadas de PGF_{2 α} (HOCKETT et al., 2000). Estes resultados indicam o papel fisiológico da mastite sobre a reprodução e a necessidade de compreender bem estes efeitos.

2.7 Efeito da mastite nas falhas reprodutivas de ovinos

Os prejuízos decorrentes da MC e MS em ovinos devido a queda da produção de leite, atraso no desenvolvimento e mortalidade dos cordeiros, descarte de matrizes, custos com prevenção e controle, e no bem estar dos animais já foram relatados (ARSENAULT et al., 2008; MENZIES; RAMANOON, 2001; PEREIRA et al., 2011). Todavia, os efeitos da mastite na reprodução ovina não estão elucidados e nem são alvo constante de pesquisas, como é o caso desta relação em bovinos (MOORE et al., 1991).

Os estudos acerca dos efeitos da mastite ovina na reprodução concentram-se em inflamações induzidas. Holásková, Blemings e Dailey (2002) testaram o efeito da imunização contra bactérias envolvidas na mastite e relataram taxa de prenhez reduzida no grupo que foi desafiado com bactérias Gram-negativas em relação ao grupo não desafiado e ao grupo imunizado e desafiado, demonstrando assim a relação da inflamação com a taxa de prenhez. Battaglia et al. (1997) inocularam LPS em ovelhas submetidas à ovariectomia e relataram que à medida que as concentrações plasmáticas da toxina LPS aumentavam, as concentrações sanguíneas de cortisol também aumentavam e as de LH e GnRH diminuía, indicando assim que a mudança na concentração destes hormônios pode ser modificada em função da endotoxina.

REFERÊNCIAS

- ANDERSON, D. E.; HULL, B. L.; PUGH, D. G. **Enfermidades da glândula mamária.** In: PUGH, D. G. Clínica de ovinos e caprinos. Editora Roca: São Paulo, p.389-395, 2004.
- ASCARI, I. J. et al. **Nursing regimens: effects on body condition, return to postpartum ovarian cyclicity in Santa Ines ewes, and performance of lambs.** Animal Reproduction Science, v.140, p.153-163, 2013.
- ASSIS, R. M. et al. **Influência do manejo de mamada sobre o retorno ao estro em ovelhas no pós-parto.** Ciência e Agrotecnologia, v. 35, p.1009-1016, 2011.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE OVINOS - ARCO. Padrões raciais: Lacaune. Disponível em: <<http://www.arcoovinos.com.br/index.php/mn-srgo/mn-padroesraciais>>. Acesso em: 20 de jun. 2019.
- ARSENAULT, J. et al. **Risk factors and impacts of clinical and subclinical mastitis in commercial meat-producing sheep flocks in Quebec, Canada.** Preventive Veterinary Medicine, v.87, p.373-393, 2008.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE OVINOS LEITEIROS (ABCOL). **Ovinocultura de leite no Brasil, desafios, oportunidades e demandas do setor.** 2015.
- AHMADZADEH, A. **Effect of clinical mastitis and other diseases on reproductive performance of Holstein cows.** Animal Reproduction Science, v.11, p.273–282, 2009.
- BARILLET, F. et al. **The French Lacaune dairy sheep breed: use in France and abroad in the last 40 years.** Livestock Production Science, v.71, n.1, p.17-29, 2001.
- BARILLET, F. **Genetic improvement for dairy production in sheep and goats.** Small Ruminant Research, v.70, p.60-75, 2007.
- BARKER, A. R. et al. **Influence of clinical mastitis during early lactation on reproductive performance of Jersey cows.** Journal of Dairy Science, v.81, p.1285-1290, 1998.
- BALOCHE, G. et al. **Assessment of accuracy of genomic prediction for French Lacaune dairy sheep.** Journal of Dairy Science, v.97, n.2, p.1107-1116, 2014.
- BARTLEWSKI, P. M. et al. **Ovarian follicular dynamics during anoestrus in ewes.** Journal of Reproduction and Fertility, v.113, p.275- 285, 1998.
- BATTAGLIA, D. F. et al. **Endotoxin inhibits the reproductive neuroendocrine axis while stimulating adrenal steroids: a simultaneous view from hypophyseal portal and peripheral blood.** Endocrinology, v.138, p.4273–4281, 1997.
- BATTAGLIA, D. F. et al. **Endocrine alterations that underlie endotoxin-induced disruption of the follicular phase in ewes.** Biology of Reproduction. v.62, p.45–53, 2002.
- BENCINI, R.; PULINA, G. **The quality of sheep milk: a review.** Australian Journal of Experimental Agriculture, v.37, p.485-504, 1997.

- BERGONIER, D.; BERTHELOT, X. **New advances in epizootiology and control of ewe mastitis.** *Livestock Production Science*, v.79, p.1-16, 2003.
- BERGONIER, D. et al. **Mastitis of dairy small ruminants.** *Veterinary Research*, v.34, p.689-716, 2003.
- BICUDO, S. D. et al. **Aspectos peculiares da inseminação artificial em ovinos.** *Acta Scientiae Veterinariae*, v.33, p.127-130, 2005.
- BLOOD, D. C.; RADOSTITS, O. M. **Clinica Veterinária**, 7ª ed., Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1263 p., 1991.
- BOHTA, H. K.; MORGENTHAL, J. C. **The peripheral plasma progesterone concentration and luteal progesterone content in the postpartum ewe.** *South African Journal Science*, v.10, p.59-63, 1980.
- BOYAZOGLU, J; MORAND-FEHR, P. **Mediterranean dairy sheep and goat products and their quality: a critical review.** *Small Ruminant Research*, v.40, p.1-11, 2001.
- CASA DA OVELHA. **Lacaune – Conheça essa raça de ovelhas.** 2015. Disponível em: <http://casadaovelhaoficial.blogspot.com/2015/01/lacaune-conheca-essa-raca-de-ovelhas.html>
Acesso em: 21 de mar. 2018.
- CASTILLO, V. et al. **Effect of milking interval on milk secretion and mammary tight junction permeability in dairy ewes.** *Journal of Dairy Science*, v.91, n.7, p.2610-2619, 2008.
- CONTRERAS, A. et al. **Mastitis in small ruminants.** *Small Ruminant Research*, v.68, p.145-153, 2007.
- CONTRERAS, G. A.; RODRÍGUEZ, J. M. **Mastitis: comparative etiology and epidemiology.** *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, v.16, p.339-356, 2011
- COSTA, E. O. **Importância econômica da mastite infecciosa bovina.** *Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo*, v.01, p.21-26, 1991.
- COUTINHO, D. A. et al. **Etiologia e sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de bactérias isoladas de ovelhas da raça Santa Inês com mastite subclínica.** *Revista Brasileira Saúde Produção Animal*, v.07, p.139-151, 2006.
- COUTINHO, D. A. et al. **Eficácia do cefalônio anidro intramamário na secagem de ovelhas Santa Inês.** *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.15, p.469-477, 2008.
- DELLA LIBERA, A.M.M.P. et al. **Avaliação de indicadores inflamatórios no diagnóstico da mastite bovina.** *Arquivos do Instituto Biológico*, v.78, p.297-300, 2011.
- DOMINGUES, P. F. et al. **Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite subclínica em ovelhas da raça Santa Inês.** *Ars Veterinária*, v.22, p.146-152, 2006.

DOW, T. L. et al. **Tumor necrosis factor- α and acute-phase proteins in early pregnant ewes after challenge with peptidoglycan-polysaccharide.** Domestic Animals Endocrinology. 39, 147–154, 2010.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Produção mundial.** 2018. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/cim-inteligencia-e-mercado-de-caprinos-e-ovinos/producao-mundial>> Acesso em: 18 de jul. 2019.

FERNANDES, C. A. C.; FIGUEIREDO, A. C. S. **Avanços na utilização de prostaglandinas na reprodução de bovinos.** Revista Brasileira Reprodução Animal, v.31, p.406-414, 2007.

FIGUEIRA, L. M.; ALVEZ, N. G.; FONSECA, J. F. da. **Produção de leite ovino: a raça Lacaune.** 15° Workshop Produção de Caprinos na Região da Mata Atlântica, p.53-68, 2018.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **World Food and Agriculture.** 2015. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-i4691e.pdf> Acesso em: 10 de mar. 2019.

FÖLDI, J. et al. **Bacterial complications of postpartum uterine involution in cattle.** Animal Reproduction. Science, v.96, p.265-281, 2006.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **World Food and Agriculture.** 2018. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA> Acesso em: 20 de mar. 2019

FREGAT, G. Sheep milking on France. **NZFarmer.** 2017. Disponível em: <http://www.stuff.co.nz/%20business/farming/advice/90446332/gilles-fregeat-sheep-milking-in-france> Acesso em: 24 de fev.2019

FTHENAKIS, G. C.; JONES, J. E. T. **The effect of experimentally induced subclinical mastitis on milk yield of ewes and on the growth of lambs.** British Veterinary Journal, v.146, p.43-49, 1990a.

FTHENAKIS, G. C.; JONES, J. E. T. **The effect of inoculation of coagulase-negative staphylococci into the ovine mammary gland.** Journal of comparative Pathology, v.102, p.211-219, 1990b.

FTHENAKIS, G. C. **Prevalence and etiology of subclinical mastitis in ewes of southern Greece.** Small Ruminants Research, v.13, p.293-300, 1994.

FUENZALIDA, M. J.; FRICKE, P. M.; RUEGG, P. L. **The association between occurrence and severity of subclinical and clinical mastitis on pregnancies per artificial insemination at first service of Holstein cows.** Journal of Dairy Science, v.98, p.3791-3805, 2015.

GELASAKIS, A. I. et al. **Mastitis in sheep – The last 10 years and the future of research.** Veterinary Microbiology, v.181, p.136-146, 2015.

- GRAY, C. A. et al. **Postpartum uterine involution in sheep: histoarchitecture and changes in endometrial gene expression.** *Journal of Reproduction and Fertility*, v.125, p.185-198, 2003.
- GODFREY, R. W.; GRAY, M. L.; COLLINS, J.R **The effect of ram exposure on uterine involution and luteal function during the postpartum period of hair sheep ewes in the tropics.** *Journal of Animal Science*, v.76, p.3090–3094, 1998.
- GOMÉZ-CORTES, P. et al. **Alternative to decrease cholesterol in sheep milk cheeses.** *Food Chemistry*, v.188, p.325-327, 2015.
- GONZALEZ, A. et al. **Endocrinology of the postpartum period in the Pelibuey Ewe.** *Journal of Animal Science*, v.64, p.1717-1724, 1987.
- GONZALES-BULNES, A. et al. **Multiple factors affecting the efficiency of multiple ovulation and embryo transfer in sheep and goats.** *Reproduction Fertility and Development*, v.16, p.421-435, 2004.
- GONZALEZ-STAGNARO, C. **Comportamiento reproductivo de ovejas y cabras tropicales.** *Revista Científica*, v.03, p.173-196, 1993.
- GONZÁLEZ-STAGNARO, C. et al. **Uterine involution time in woolness West African tropical sheep.** *Revista Científica – Facultad de Ciencias Veterinarias*, v.12, n.5, p.329-337, 2002.
- GORDON, I. **Controlled reproduction in Sheep and Goats.** Cambridge UK: University Press, 1997.
- HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução animal.** 7. ed. São Paulo: Manole, 513p., 2004.
- HANSEN, P. J.; SOTO, P.; NATZKE, R.P. **Mastitis and fertility in cattle – possible involvement of inflammation or immune activation in embryonic mortality.** *American Journal of Reproductive Immunology*, v.51, p.294-301, 2004.
- HAUSER, B.; BOSTEDT, H. **Ultrasonographic observations of the uterine regression in the ewe under different obstetrical conditions.** *Journal of Veterinary Medicine Series A*, v.49, p.511–556, 2002.
- HERTL, J. A. et al. **Effects of clinical mastitis caused by gram-positive and gram-negative bacteria and other organisms on the probability of conception in New York State Holstein dairy cows.** *Journal of Dairy Science*, v.93, p.1551–1560, 2010.
- HERTL, J. A. et al. **Effects of pathogen-specific clinical mastitis on probability of conception in Holstein dairy cows.** *Journal of Dairy Science*, v.97, p.6942 – 6954, 2014.
- HOCKETT, M. E. et al. **Endocrine profiles of dairy cows following experimentally induced clinical mastitis during early lactation.** *Animal Reproduction Science*, v.58, p.241-251, 2000.
- HOLASKOVA I., BLEMININGS, K. P.; DAILEY, R. A. **Effect of peptidoglycan-polysaccharide complex (PG-PS) of streptococcal cell wall on reproductive efficiency and**

mastitis in sheep. American Journal of Reproduction Immunology v. 47, p.361, 2004 (abstract).

HORTA, A. E. M. **Fisiologia do puerpério na vaca.** In: VIII Jornadas internacionais de reproducción animal, Santander. Anais... Santander: AERA, p.73-84, 1995.

HUDSON, C. D. et al. **Associations between udder health and reproductive performance in United Kingdom dairy cows.** Journal of Dairy Science, v.95, p.3683-3697, 2012.

I'ANSON, H.; LEGAN, S. J. **Does the first LH surge of the breeding season initiate the first full-length ycle in the ewe?** Journal of Reproduction and Fertility, v.82, p.761-767, 1988.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção da Pecuária Municipal.** 2016. Disponível em: https://www.ibge.gov.br/media/com_materialdeapoio/arquivos/ea77821e06cad1457f9b35c1abe2137f.pdf Acesso em: 10 de dez. 2018.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Censo Agro 2017 – Maiores Rebanhos de Ovinos no Brasil.** 2017. Disponível em: https://censos.ibge.gov.br/agro/2017/templates/censo_agro/resultadosagro/pecuaria.html?localidade=0&tema=75674 Acesso em: 16 de dez. 2018.

ISOBE, N. et al. **Relationship between the somatic cell count in milk and reproductive function in peripartum dairy cows.** Journal of Reproduction and Development, v.60, p.433-437, 2014.

JONES J. E. T.; WATKINS G. H. **Mastitis and contagious agalactia.** In: MARTIN W. B.; AITKEN I. D. (Eds), Diseases of Sheep. 3rd ed. Blackwell Science, p.75-80, 2000.

KIRACOFÉ, G. H. **Uterine involution: it is role in regulating postpartum intervals.** Journal of Animal Science, v.51, p.16-28, 1980.

KIRK, J. H.; GLENN, J. S.; MASS, J. P. **Mastitis in a flock of milking sheep.** Small Ruminant Research, v.22, p.187-191, 1996.

LAFFRANCHI, A. et al. **Etiologia das infecções intramamárias em vacas primíparas ao longo dos primeiros quatro meses de lactação.** Ciência Rural, v.31, p.1027-1032, 2001.

LANGONI, H. **Aspectos etiológicos na mastite bovina: flora bacteriana aeróbica.** Revista Brasileira Medicina Veterinária, v.20, p.204-209, 1998.

LAVON, Y. et al. **Naturally occurring mastitis effects on timing of ovulation, steroid and gonadotrophic hormone concentrations, and follicular and luteal growth in cows.** Journal of Dairy Science, v.93, p.911-921, 2010.

LEITNER, G.; KRIFUCKS, O. **Pseudomonas aeruginosa mastitis outbreaks in sheep and goat flocks: antibody production and vaccination in a mouse model.** Veterinary Immunology and Immunopathology, v.119, p.198-203, 2007.

- LOEFFLER, S. H., DE VRIES, M. J., SCHUKKEN, Y. H. **The effects of time of disease occurrence, milk yield, and body condition on fertility of dairy cows.** *Journal of Dairy Science*, v.82, p.2589–2604, 1999.
- MARTINS, T. M.; BORGES, A. M. **Imunologia uterina e fertilidade.** *Revista Brasileira Reprodução Animal*, v.39, n.1, p.129-135, 2015.
- MENZIES P. I.; RAMANOON S. **Mastitis of sheep and goats.** *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v. 17, p. 333-358, 2001.
- MOORE, D. A., et al. **Preliminary field evidence for the association of clinical mastitis with altered interestrus intervals in dairy cattle.** *Theriogenology*, v.36, p.257-265, 1991.
- MORELLO, H. H.; CHEMINEAU, P. **Características anatômicas e funcionais do sistema reprodutor da fêmea. Reprodução ovina e caprina.** 1.ed. São Paulo: MedVet, 203p., 2008.
- NETT, T. M. **Function of the hypothalamic-hypophysial axis during the post- partum period in ewes and cows.** *Journal of Reproduction and Fertility*, v.34, p.201-213, 1987.
- OLIVEIRA, L. G. L. **Estudo clínico-epidemiológico e bacteriológico da mastite em ovelhas da raça Santa Inês no Agreste Meridional do Estado de Pernambuco.** Dissertação (Mestrado), Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 48p., 2007.
- OMALEKI, L. et al. **The role of Mannheimia species in ovine mastitis.** *Veterinary Microbiology*, v.153, p.67-72, 2011.
- ONNASCH H. et al. **A study of mastitis in Irish sheep.** *Research in Veterinary Science*, v.72, p.42, 2002.
- OVI-TEST. Cooperative. Lacaune Lait Ovi-Test. 2018. Disponível em: <http://www.lacaune-ovitest.com/fr/lacaune-lait-ovi-test.php> Acesso em: 23 de jun. 2018.
- PELUSO, J. J. **Multiplicity of progesterone's actions and receptors in the mammalian ovary.** *Biology of Reproduction*, v.75, p.2-8, 2006.
- PENGOV, A. **The role of CNS and associated SCC in the ovine mammary gland.** *Journal Dairy Science*, v.84, p.572-574, 2001.
- PELLETIER, J.; THIMONIER, J. **Interactions between ovarian steroids or progestagens and LH release.** *Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique*, v.15, p.131-146, 1975.
- PEREIRA, P. F. V. et al. **Estudo clínico epidemiológico da mastite em ovelhas de rebanho de corte do norte do Paraná.** *Veterinária e Zootecnia*, v.18, p.1068-1071, 2011.
- QUITTET, E.; FRANCK. **Races ovines en France.** 3. Ed. mise à jour. Paris: La Maison Rustique, 120 p., 1983.
- RADOSTITS, O. M. et al. **Mastite.** In: *Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, caprinos e equinos.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.541-629, 2002.

- ROHENKOHL, J. E. et al. **O agronegócio de leite de ovinos e caprinos.** Indicadores Econômicos FEE, v.39, n.2, p.97-114, 2011.
- ROTH, Z. et al. **Naturally occurring mastitis disrupts developmental competence of bovine oocytes.** Journal of Dairy Science, v.96, p.6499-6505, 2003.
- RUBIANES, E. **Nociones básicas de fisiologia reprodutiva em cabras y ovejás.** In: Simpósio sobre controle farmacológico do ciclo estral em ruminantes. São Paulo. Anais... São Paulo: FMVZ-UNESP-USP, p.255- 282, 2000.
- RUSSEL, A. J. F.; DONEY, J. M.; GUNN, R. G. **Subjective assessment of body fat in live sheep.** Journal Agricultural Science, v.72, p.451-454, 1969.
- SANTOS, R. A. et al. **Aspectos clínicos e características do leite em ovelhas com mastite induzida experimentalmente com Staphylococcus aureus.** Pesquisa Veterinária Brasileira. v.27, p.6-12, 2007.
- SANTOS, J. E. P. et al. **Effect of timing of first clinical mastitis occurrence on lactational and reproductive performance of Holstein dairy cows.** Animal Reproduction Science, v.80, p.31-45, 2004.
- SAUERESSIG, D.; **Leite ovino: produto de alto valor agregado.** 2010; Disponível em: <http://www.farmpoint.com.br/cadeia-produtiva/giro-de-noticias/leite-ovino-produto-de-alto-valor-agregado-65705n.aspx> Acesso em: 25 de jul. 2019.
- SCHRICK, F. N. et al. **Influence of subclinical mastitis during early lactation on reproductive parameters.** Journal of Dairy Science, v.84, p.1407-1412, 2001.
- SCHUKKEN, Y. H. et al. **CNS mastitis: Nothing to worry about?** Veterinary Microbiology, v.134, p.9-14, 2009.
- SENGER, P. L. **Pathways to Pregnancy and Parturition.** 2nd Ed. Washington: Current Conceptions Inc., 368p., 2003.
- SHELDON, I.M.; DOBSON, H. **Postpartum uterine health in cattle.** Animal Reproduction Science, v.82-83, p.295-306, 2004.
- SHELDON, I.M. et al. **Defining postpartum uterine disease in cattle.** Theriogenology, v.65, n.8, p.1516-1530, 2006.
- SKRZYPEK, R. et al. **The relationship between somatic cell count in milk and reproductive indicators.** Medycyna Weterynaryjna v.63, p.1247-1250, 2007.
- SOUZA, F. A. et al. **Restrição alimentar e os mecanismos endócrinos associados ao desenvolvimento folicular ovariano em vacas.** Revista Brasileira Reprodução Animal, v.33, p.61-65, 2010.
- THOMAS, D. L. et al. **Dairy sheep production research at the University of Wisconsin-Madison, USA – a review.** Journal of Animal Science Biotechnology, v.5, p.22-33, 2014.

- VILLA ARCILA, N. A. et al. **The association between subclinical mastitis around calving and reproductive performance in dairy cows in Colombia.** *Animal Reproduction Science*, v.185, p.109-117, 2017.
- ZDUNCZYK, S. **Postpartum uterine involution in primiparous and pluriparous polish longwool sheep monitored by ultrasonography.** *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, v.48, p.255–257, 2004.
- WATSON, D. L. et al. **Survey of intramammary infections in ewes on the new England tableland of New South Wales.** *Australian Veterinary Journal*, v.67, n.1, 1990.
- WATSON, C. J.; OLIVER, C. H.; KHALED, W. T. **Cytokine signaling in mammary gland development.** *Journal of Reproductive Immunology*, v.88, p.124-129, 2011.
- WINTER, A. **Mastitis in ewes.** *In Practice*, v.23, p.160-163, 2001.
- WOLFENSON, D.; LEITNER, G.; LAVON, Y. **The Disruptive Effects of Mastitis on Reproduction and Fertility in Dairy Cows.** *Italian Journal of Animal Science*, v.14, n.4, p. 650-654, 2016.

SEGUNDA PARTE - ARTIGO

ARTIGO

**RELAÇÃO DA MASTITE SUBCLÍNICA COM A REPRODUÇÃO DE
OVELHAS LACAUNE**

(VERSÃO PRELIMINAR)

Artigo segue as normas e formato do periódico Small Ruminant Research

Resumo

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da ocorrência e da etiologia da mastite subclínica (MS) no pós-parto sobre a involução uterina (IU), o retorno ao estro e a atividade ovariana. Ovelhas Lacaune (n=87) foram categorizadas com base no diagnóstico de um ou mais eventos de MS, diagnosticada nos dias 5, 20, 35 e 50 após o parto. Animais com MS (n=49) tiveram a infecção categorizada de acordo com a etiologia em quatro grupos (*Staphylococcus coagulase negativa*, *Staphylococcus aureus*, Coliformes e outros patógenos Gram-positivos). Animais positivos ao teste California Mastitis Test e negativos quanto ao isolamento de patógenos foram identificados como sem isolamento (SI). O grupo controle (n=38) foi formado por ovelhas que não tiveram MS diagnosticada em nenhuma das quatro avaliações. A involução uterina (IU) macroscópica, caracterizada pelo diâmetro dos cornos uterinos ≤ 2 cm com ausência de conteúdo no lúmen uterino, foi avaliada aos 15, 30 e 45 dias pós-parto e a detecção do estro teve início no 20º dia pós-parto. A probabilidade da ocorrência de estro em até 30, 45 e 60 dias pós-parto foi avaliada. A ocorrência e a etiologia da MS não influenciaram ($P>0,05$) a IU macroscópica e aos 45 dias pós-parto todas as ovelhas haviam atingido a IU. A ocorrência de MS nos dias 5, 20, 35 e 50 não interferiu ($P>0,05$) na probabilidade de manifestação de estro e 57,47% (50/87) das ovelhas manifestaram estro até 60 dias pós-parto. Levando em consideração o efeito da MS diagnosticada no dia 50 após o parto, o diâmetro do maior folículo não diferiu ($P>0,05$) entre as ovelhas acometidas por *Staphylococcus coagulase negativa* e as do grupo controle, no entanto, as ovelhas do grupo SI apresentaram menor diâmetro do maior folículo em comparação às demais ($P=<0,01$). O número de folículos, corpos lúteos e área luteal total não foram influenciados ($P>0,05$) pela ocorrência e etiologia da MS. Em conclusão, o menor diâmetro do maior folículo pode indicar que o desafio imunológico/inflamatório decorrente da MS pode perturbar o crescimento folicular, sem interferir na IU e no retorno a ciclicidade ovariana pós-parto.

Palavras-chave: Infecção intramamária; Involução uterina; Estro; Diâmetro folicular.

Abstract

The objective of the present study was to evaluate the effect of subclinical mastitis (SM) postpartum occurrence and etiology on uterine involution (IU), return to estrus and ovarian activity. Lacaune sheep (n = 87) were categorized based on the diagnosis of one or more SM events, diagnosed on days 5, 20, 35 and 50 postpartum. Animals with SM (n = 49) had the infection categorized according to etiology into four groups (coagulase negative *Staphylococcus*, *Staphylococcus aureus*, Coliforms and other Gram-positive pathogens). California Mastitis Test positive animals and pathogen isolation negative animals were identified as uninsulated (SI). The control group (n = 38) consisted of individuals who were not diagnosed with SM in any of the four analyzes. Macroscopic uterine involution (UI), characterized by uterine horn diameter ≤ 2 cm with no uterine content, was evaluated on 15, 30 and 45 days after calving and the detection of estrus begin on the 20th postpartum day. The probability of estrus occurrence up to 30, 45 and 60 days after calving was evaluated. The occurrence and etiology of SM do not influence ($P > 0.05$) macroscopic UI and 45 days after calving, all the sheep hit UI. The occurrence of SM on days 5, 20, 35 and 50 did not interfere ($P > 0.05$) on the probability of estrus manifestation and 57.47% (50/87) of the sheep manifested up to 60 days postpartum. Taking into account the effect of the diagnosis of SM on day 50 postpartum, the non-deferred major follicle diameter ($P > 0.05$) among sheep with negative coagulase *Staphylococcus* and the control group, however, SI group described smaller diameter of the largest follicle compared to the others ($P = <0.01$). The number of follicles, luteal bodies and total luteal area were not influenced ($P > 0.05$) by the occurrence and etiology of SM. In conclusion, the smallest diameter of the largest follicle may indicate that the immune / inflammatory challenge from SM can disrupt follicular growth without interfering with UI and return of postpartum ovarian cycling.

Keywords: Intramammary infection; Uterine involution; Estrus; Follicular diameter.

1 Introdução

A eficiência reprodutiva é um dos principais fatores associados à rentabilidade da produção leiteira em ovinos. Entre os elementos que contribuem para as falhas reprodutivas são listados o estresse por calor (Macías-Cruz et al., 2013), nutrição (Bindari et al., 2013) fatores relacionados à genética (Notter, 2012) e doenças, dentre as quais se inclui a mastite (Holásková et al., 2004). A relação entre a mastite e a reprodução foi relatada pela primeira vez em um rebanho bovino na década de 90 (Moore et al., 1991). No entanto, o interesse na relação da mastite clínica e ou subclínica (MS) com a reprodução ganhou relevância na última década.

A inflamação da glândula mamária em bovinos tem sido relacionada ao aumento no número de dias para concepção (Fuenzalida et al., 2015; Villa Arcila et al., 2017), aumento no número de serviços por concepção (Santos et al., 2004; Villa Arcila et al., 2017), intervalo prolongado do parto ao estro (Moore et al., 1991), mortalidade embrionária (Hansen et al., 2004) e menor probabilidade de concepção (Santos et al., 2004; Hertl et al., 2014; Fuenzalida et al., 2015). Além do efeito principal da mastite sobre o desempenho reprodutivo de bovinos, a relação entre a classificação do patógeno, período de ocorrência (Hertl et al., 2014; Fuenzalida et al., 2015; Villa Arcila et al., 2017) e severidade da inflamação (Fuenzalida et al., 2015) são relacionadas com a intensidade das falhas reprodutivas.

Embora a mastite ovina seja uma enfermidade conhecida em todo o mundo, seu impacto sobre o desempenho reprodutivo destes animais é pouco conhecido. Os trabalhos desenvolvidos com esta espécie relatam o efeito de inflamações induzidas por endotoxinas em aspectos isolados, como concentração de citocinas e hormônios (Karsch et al., 2002; Dow et al., 2010), no entanto, acredita-se que as implicações reprodutivas observadas em bovinos também possam ocorrer em ovinos. O objetivo deste estudo foi determinar a associação entre a ocorrência e a etiologia da MS pós-parto com a involução uterina (IU), a atividade ovariana e o retorno ao estro. Assim, levantamos a hipótese de que a ocorrência da MS no pós-parto inicial causada por microrganismos Gram-negativos retarda a IU e compromete a atividade ovariana, prolongando o intervalo do parto ao estro.

2 Material e Métodos

Os procedimentos descritos a seguir foram aprovados pela Comissão de Ética do Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Lavras (UFLA, número de protocolo 099/2018).

2.1 Local e animais do experimento

O estudo foi conduzido de novembro de 2018 a abril de 2019 em uma cabanha comercial de ovinos, localizada em Soledade de Minas (Latitude 2° 3' 36" Sul, Longitude 45° 2' 42" Oeste), na região Sul do Estado de Minas Gerais. Foram utilizadas 87 ovelhas Lacaune, primíparas e multíparas (61% primeira lactação, 7% segunda e 32% terceira ou mais), com idade $2,4 \pm 1,6$ anos, peso corporal $55,3 \pm 11,6$ kg e escore de condição corporal (ECC) ao parto $3,25 \pm 0,9$ (escala de 1 a 5, de acordo com Russel et al., 1969). As ovelhas foram acompanhadas do parto até o 60° dia após o parto. As ovelhas foram confinadas em uma única baia coletiva coberta com cama de casca de arroz, tiveram acesso *ad libitum* à água, receberam alimentação na forma de dieta total, constituída por 50% silagem de milho e 50% de concentrado (36% farelo de soja, 37% milho fubá, 22% polpa cítrica, 3% sal mineral, 1% calcário, 1% bicarbonato de sódio), fornecida três vezes ao dia. As ovelhas foram ordenhadas duas vezes ao dia, às 07h e às 13h30min.

Do total de ovelhas, 62 pariram um cordeiro e 25 tiveram partos gemelares. O número de ovelhas que tiveram natimortos, retenção de placenta e intervenções ao parto foram oito, quatro e seis, respectivamente. Até o 7° dia de vida os cordeiros permaneceram em tempo integral com as ovelhas e após este período adotou-se o sistema de amamentação controlada duas vezes ao dia, às 8h e às 15h com uma hora de permanência em cada. Todos os óbitos de cordeiros aconteceram até o 7° dia após o parto. Dezesesseis ovelhas tiveram cordeiros natimortos ou que vieram a óbito até o 7° dia, totalizando 25 cordeiros não viáveis. Das ovelhas que permaneceram com os cordeiros até o desmame, 54 permaneceram com um cordeiro e 17 permaneceram com dois cordeiros, sendo assim, os 88 cordeiros que permaneceram com as ovelhas até o desmame foram denominados cordeiros viáveis.

2.2 Avaliação da condição corporal e da produção de leite

As ovelhas foram pesadas e o ECC foi avaliado no dia do parto e nos dias 15, 30 e 45 após o parto. Foi utilizada escala de 1 a 5, com intervalos de 0,25, sendo 1= animal com baixa condição corporal, com clara sensibilidade das apófises espinhosas e 5= animal com extrema deposição de gordura, impedindo a sensibilidade das apófises (Russel et al., 1969). A avaliação do ECC foi realizada por dois avaliadores independentes e foi considerado o ECC médio. A produção de leite foi mensurada por meio de um medidor acoplado a ordenhadeira uma vez por mês, exceto nos casos em que a produção foi inferior a 200mL, volume mínimo

passível de mensuração. Foi calculada a produção média para cada animal durante o período experimental.

2.3 Diagnóstico da mastite e coleta de leite

Diariamente, foi realizado o pré-dipping (Ideal Pré® 20L – Ideal Química, MG – Brasil), secagem dos tetos com toalha de papel descartável e teste da caneca de fundo escuro (CFE) para detecção da mastite clínica. Uma ovelha positiva para o teste CFE foi retirada do experimento. O diagnóstico de MS foi realizado por meio do *California Mastitis Test* (CMT) nos dias 5, 20, 35 e 50 após o parto, antes da primeira ordenha do dia. Após a ordenha foi realizado o pós-dipping (Ideal Pós® 20L – Ideal Química, MG – Brasil).

Nos mesmos dias de realização do teste CMT foram coletadas amostras de leite das ovelhas diagnosticadas com MS. Antes da coleta de leite realizou-se a antissepsia dos óstios dos tetos com algodão embebido em álcool etílico 70% (v/v). Para cada glândula afetada foi coletada uma amostra de leite de 5 a 10 mL em tubos estéreis, tipo Falcon de 15 mL. Imediatamente após a coleta, as amostras foram congeladas a -20 °C para análises posteriores.

2.4 Exame ultrassonográfico

As avaliações ultrassonográficas foram realizadas em tempo real (Ultrassom Aloka modelo SSD500, transdutor linear de 7.5 MHz modelo UST-660, Tóquio, Japão). Os animais foram contidos em tronco apropriado, as fezes foram retiradas da ampola retal e o reto e o transdutor foram lubrificados com gel próprio para ultrassonografia. Todas as avaliações foram realizadas por um único avaliador.

2.4.1 Involução uterina

Para determinação da IU macroscópica (IU) foram realizados exames ultrassonográficos aos 15, 30 e 45 dias após o parto em todas as ovelhas. A medida dos cornos uterinos foi tomada individualmente em um corte transversal após a bifurcação dos cornos, em seu maior diâmetro. Os parâmetros para a determinação da IU foram estabelecidos conforme Hauser e Bostedt (2002), sendo considerado o ponto final da involução quando o diâmetro transversal dos cornos uterinos foi ≤ 2 cm com ausência de conteúdo no lúmen uterino.

2.4.2 Atividade ovariana

As avaliações ovarianas foram realizadas no momento da detecção do estro e em seguida a cada 12 horas até a ovulação. Após visualização da bexiga e porção caudal do útero, o transdutor foi girado 45° a 90° no sentido horário e anti-horário para localização dos ovários. Foram avaliados o número dos folículos nas classes 3 a 5 mm e >5 mm e os diâmetros do maior e do segundo maior folículos em ambos os ovários. A ovulação foi definida como o desaparecimento do maior folículo previamente identificado. No 10º dia após a ovulação, a ultrassonografia foi realizada visando à contagem dos corpos lúteos (CL) em cada ovário e mensuração da área luteal total.

2.5 Detecção de estros

A detecção de estros em todas as ovelhas foi realizada duas vezes ao dia a partir do 20º dia após o parto, com o auxílio de três machos impedidos de realizar a cópula, os quais foram revezados diariamente para que cada um pudesse ter dois dias de descanso. A detecção de estros foi realizada em grupos de seis ovelhas, as quais foram retiradas da baia onde estavam alojadas e encaminhadas para uma baia destinada a detecção de estros. Cada grupo permaneceu com o macho por aproximadamente 15 minutos. A aceitação da monta do macho foi o critério adotado para diagnosticar a ovelha em estro.

2.6 Cultura microbiológica

As amostras de leite coletadas dos animais diagnosticados com MS foram analisadas no Laboratório de Bacteriologia da UFLA. Após as amostras de leite serem descongeladas à temperatura ambiente, semeou-se uma alíquota de aproximadamente 10 µL de cada amostra em placas de petri contendo meio de ágar *trypticase* de soja, suplementado com sangue ovino desfibrinado (7%). As placas foram incubadas em estufa de cultura a 37°C por 24-48 horas.

As colônias foram submetidas a provas bioquímicas e de diferenciação bacteriana quando houve crescimento no ágar. A leitura das placas foi realizada às 24 e 48 horas de acordo com o crescimento da colônia. A primeira descrição realizada foi a macromorfologia para verificar o número e as características de crescimento das colônias. A micromorfologia da colônia foi avaliada por meio de esfregaço em lâmina e coloração pela técnica de Gram. Testes de catalase foram realizados para diferenciar *Staphylococcus* e *Streptococcus*. Reações de coagulase foram realizadas para as colônias catalase positivas. Testes de Christie, Atkins,

Much-Peterson (CAMP), esculina e bilesulina foram realizados para colônias catalase negativas para diagnóstico microbiológico final, de acordo com as diretrizes do *National Mastitis Council* (2004).

Quando dois patógenos foram isolados para uma mesma amostra ou para um mesmo animal em glândulas diferentes foi considerado o patógeno de maior virulência. Os patógenos isolados foram classificados em quatro categorias: (1) *Staphylococcus* coagulase negativa (SCN); (2) *Staphylococcus aureus* (SAU); (3) Coliformes e (4) outros patógenos gram positivos (PGP). As amostras positivas para mastite subclínica no teste CMT e que não resultaram em isolamento no diagnóstico microbiológico foram incluídas na categoria (5) denominada sem isolamento (SI), uma vez que a ocorrência de mastite pode não ser acompanhada pelo isolamento do agente etiológico em até 50% das amostras por diversas razões (Markovec; Ruegg, 2002).

2.7 Delineamento experimental

As ovelhas foram divididas em dois grupos de acordo com o resultado do CMT realizado para identificar os casos subclínicos. O grupo controle (n=38) foi formado por ovelhas que não tiveram mastite em nenhuma das quatro avaliações, e o grupo MS (n=49) formado por ovelhas que tiveram MS em pelo menos uma das avaliações.

2.8 Análise estatística

As análises foram realizadas utilizando o *software* SAS (versão 9.2, SAS institute, Inc., Cary, NC, USA). A porcentagem dos patógenos isolados e das amostras sem isolamento microbiológico foram descritas de acordo com os dias de avaliação ao CMT. O efeito da ocorrência da MS nos dias 5 e 20 sobre a IU no dia 30 foi analisado utilizando o PROC GLIMMIX considerando distribuição binomial e função de ligação *logit*. O efeito da ocorrência da MS nos dias 5, 20, 35 e 50 sobre a probabilidade de ocorrência do estro até 30, 45 e 60 dias pós-parto foi analisado utilizando o PROC GLIMMIX, considerando distribuição Bernoulli com função de ligação *logit* e o número de cordeiros viáveis como variável independente. Os efeitos da MS nos dias 5, 20, 35 e 50, dos patógenos isolados (SCN, SAU, Coliformes e PGP) e do grupo sem isolamento microbiológico em cada momento de avaliação foram considerados na análise das variáveis: intervalo do parto ao estro, diâmetro do maior e do segundo maior folículo, número de folículos nas classes 3-5 mm e > 5 mm,

número de CL e área luteal total utilizando o PROC GENMOD. Foram consideradas distribuição gama e função de ligação inversa na análise das variáveis intervalo do parto ao estro e área luteal total; distribuição normal e função de ligação identidade na análise dos diâmetros do maior e do segundo maior folículo ao estro e distribuição de *poisson* e função de ligação *log* na análise do número de folículos nas classes 3-5 mm, >5 mm e o número de corpos lúteos. Nas análises foram avaliados os efeitos dos fatores ECC, tipo de parto, ocorrência de retenção de placenta, natimortos e intervenção ao parto, além da covariável idade. Foram mantidos no modelo apenas aqueles efeitos significativos.

3 Resultados

3.1 Resultados microbiológicos

A etiologia dos casos de MS nos dias 5, 20, 35 e 50 após o parto é apresentada na Tabela 1. No dia 5 após o parto, 36,8% (32/87) das ovelhas foram positivas ao teste CMT e os patógenos isolados foram SCN, SAU e PGP. No dia 20, 35,6% (31/87) das ovelhas foram diagnosticadas com MS, tendo sido isolados coliformes, além dos patógenos identificados no dia 5. No dia 35, 25,3% (22/87) das ovelhas foram diagnosticadas com MS e os SAU não foram isolados neste dia de avaliação. Na avaliação do dia 50, 27,6% (24/87) das ovelhas foram diagnosticadas com MS, e assim como no dia 35, os SAU não foram isolados. Em todos os momentos de avaliação houve amostras de leite sem isolamento microbiológico.

Tabela 1 – Porcentagem de patógenos isolados e de amostras sem isolamento de patógenos em ovelhas diagnosticadas com mastite subclínica aos 5, 20, 35 e 50 dias pós-parto

Dia de diagnóstico	Patógenos				SI ⁴ (%)
	SCN ¹ (%)	SA ² (%)	Coliformes (%)	PGP ³ (%)	
Dia 5	61,9	28,6	-	9,5	34,5
Dia 20	62,5	6,3	12,5	18,7	48,4
Dia 35	66,7	-	8,3	25,0	45,5
Dia 50	66,7	-	6,7	26,6	37,5

¹Staphylococcus coagulase negativa (SCN); ²Staphylococcus aureus (SA); ³Outros patógenos gram-positivos (PGP); ⁴Sem isolamento (SI) .

3.2 Involução uterina

Devido ao reduzido número de animais com IU macroscópica aos 15 dias pós-parto e ao fato de que no dia 45 todos os animais haviam completado a IU macroscópica, apenas a IU no dia 30 foi considerada para análise. No dia 15 após o parto apenas oito animais, sendo quatro do grupo controle (10,5%, 4/38) e quatro do grupo MS (8,2%, 4/49), haviam atingido a

IU macroscópica. No dia 30 após o parto, 86,2% (75/87) das ovelhas haviam completado a IU macroscópica. Não houve efeito da MS nos dias 5 ($P=0,31$) e 20 ($P=0,41$) após o parto na porcentagem de ovelhas com IU. Dos animais que foram diagnosticados com MS no dia 5 após o parto, 83,9% completaram a IU macroscópica até 30 dias pós-parto e no grupo controle essa porcentagem foi de 89,1%. Considerando o diagnóstico da MS no dia 20, a IU macroscópica foi atingida até os 30 dias pós-parto em 90,3% e 83,9% dos animais do grupo controle e MS e, respectivamente. Da mesma forma, não houve efeito do tipo de patógeno causador da mastite nos dias 5 ($P=0,83$) e 20 ($P=1,00$), como apresentado na Tabela 2.

Tabela 2 – Porcentagem de involução uterina (IU) macroscópica no dia 30 após o parto considerando a etiologia da mastite subclínica (MS) e o não isolamento de patógenos (SI) nos dias 5 e 20 após o parto.

Dia de diagnóstico	Patógenos						P valor
	Controle	SCN ¹	SAU ²	Coliformes	PGP ³	SI ⁴	
Dia 5	89,1±4,2	76,9±11,7	83,3±15,2	-	100,0±0,1	81,82±11,6	0,83
Dia 20	83,9±4,9	90,0±9,6	100,0±0,1	100,0±0,1	100,0±0,1	86,67±8,8	1,00

- sem resultado, patógeno não isolado na análise microbiológica.

¹*Staphylococcus coagulase negativa* (SCN), ²*Staphylococcus aureus* (SA), ³outros patógenos gram-positivos (PGP) e ⁴Sem isolamento (SI). As médias não diferem de acordo com o teste F.

3.3 Probabilidade de manifestação de estro

O estro foi detectado em 57,4% (50/87) das ovelhas até o 60º dia após o parto. Não houve efeito da ocorrência da MS diagnosticada nos dias 5 e 20 sobre a probabilidade de manifestação de estro até 30 dias pós-parto ($P=0,10$). Da mesma forma, a MS diagnosticada nos dias 5, 20 e 35 não influenciou a probabilidade de manifestação de estro até 45 dias pós-parto ($P=0,41$) e a ocorrência de MS nos dias 5, 20, 35 e 50 não influenciou a probabilidade de manifestação de estro até 60 dias pós-parto ($P=0,22$). (Tabela 3).

Tabela 3 - Efeito da ocorrência de mastite subclínica (MS) na probabilidade de ocorrência de estro até 30, 45 e 60 dias após o parto.

Manifestação de estro até	Ausência MS		P valor
	Ausência MS	Presença MS	
Dia 30 (15/87)	0,08±0,05	0,23±0,08	0,10
Dia 45 (32/87)	0,38±0,11	0,49±0,08	0,41
Dia 60 (50/87)	0,55±0,10	0,68±0,07	0,22

Os dados são referentes às 87 ovelhas, 38 do grupo controle e 49 do grupo MS. Na probabilidade de estro até o dia 30 foi considerado o efeito da MS diagnosticada nos dias 5 e 20 após o parto. Probabilidade de estro até o dia 45 considerou o efeito da MS diagnosticada nos dias 5, 20 e 35. Probabilidade de estro até o dia 60 levou em consideração as quatro avaliações de MS (5, 20, 35 e 50). As médias não diferem de acordo com o teste F.

3.4 Intervalo do parto ao estro e estruturas ovarianas

A ocorrência de MS nos dias 5, 20, 35 e 50 após o parto não influenciou ($P>0.05$) o intervalo do parto-estro, o número de folículos nas classes de 3 a 5 mm e > 5 mm, o diâmetro do segundo maior folículo ao estro, o número de CL e área luteal total. A ocorrência da MS nos dias 5, 20 e 35 após o parto não afetou ($P>0,05$) o diâmetro do maior folículo ao estro (Tabela 4). Contudo, ovelhas diagnosticadas com MS no 50º dia após o parto tiveram menor diâmetro do maior folículo ao estro ($P=0,04$) quando comparadas com as ovelhas que não apresentaram mastite. Do total de ovelhas que manifestaram estro e foram diagnosticadas com MS no 50º dia após o parto, 5% tiveram apenas um episódio de MS diagnosticada nas quatro avaliações, 10% tiveram dois episódios, 25% três episódios e 60% tiveram mastite diagnosticada nas quatro avaliações.

Tabela 4 – Intervalo parto-estro e atividade ovariana em ovelhas sem mastite subclínica (controle) e com mastite subclínica (MS) nos dias 5, 20, 35 e 50 após o parto.

Parâmetro	Mastite Subclínica		P valor
	Controle	Dia 5 (n=50)	
Parto-estro ¹	38,4±2,4	35,5±2,3	0,34
Nº Fol,3-5mm	4,8±0,4	4,7±0,5	0,92
Nº Fol > 5mm	1,5±0,3	1,5±0,3	0,84
Diâmetro > fol. ²	5,2±0,1	5,2±0,1	0,98
Diâmetro 2º > fol. ³	4,6±0,1	4,6±0,1	0,83
Nº CL ⁴	1,4±0,2	1,5±0,3	0,87
Área luteal total ⁵	2,4±0,2	2,9±0,3	0,23
Dia 20 (n=50)			
Parto-estro ¹	37,4± 2,3	36,57±2,3	0,78
Nº Fol,3-5mm	4,8±0,4	4,74±0,4	0,95
Nº Fol > 5mm	1,4±0,3	1,62±0,3	0,63
Diâmetro > fol. ²	5,2±0,1	5,15±0,1	0,68
Diâmetro 2º > fol. ³	4,6± 0,1	4,66±0,1	0,71
Nº CL ⁴	1,4±0,2	1,53±0,3	0,68
Área luteal total ⁵	2,5±0,3	2,74±0,3	0,51
Dia 35 (n=32)			
Parto-estro ¹	45,2±1,8	45,47±2,5	0,93
Nº Fol, 3-5mm	5,0±0,5	4,55±0,7	0,61
Nº Fol > 5mm	1,5±0,3	1,50±0,5	1,00
Diâmetro > fol. ²	5,2±0,1	4,99±0,2	0,38
Diâmetro 2º > fol. ³	4,6±0,1	4,42±0,2	0,45
Nº CL ⁴	1,4±0,3	1,43±0,5	0,96
Área luteal total ⁵	2,4±0,2	2,17±0,4	0,58
Dia 50 (n=15)			
Parto-estro ¹	56,4±1,0	55,6±1,2	0,67
Nº Fol, 3-5mm	4,7±0,7	4,7±0,9	1,00
Nº Fol > 5mm	1,5±0,4	2,0±0,8	0,57
Diâmetro > fol. ²	5,4±0,1	4,9±0,2	0,04
Diâmetro 2º > fol. ³	4,9±0,2	4,6±0,3	0,53
Nº CL ⁴	1,6±0,4	1,5±0,6	0,87
Área luteal total ⁵	2,4±0,4	2,6±0,5	0,77

¹Intervalo do parto ao estro em dias; ²Diâmetro do maior folículo em mm; ³Diâmetro do segundo maior folículo em mm; ⁴Número de corpos lúteos; ⁵Área luteal total em cm².

Os números entre parênteses correspondem ao número de ovelhas que manifestaram estro após o diagnóstico da MS no dia de referência. O P valor é conclusivo pelo teste F.

Os resultados referentes ao efeito do patógeno causador da MS e do não isolamento de patógenos são apresentados na Tabela 5. Nem todos os patógenos estavam presentes em todas as avaliações, como pode ser observado pela ausência do grupo coliformes no dia 5, do grupo SAU no dia 20 e dos grupos SAU e coliformes no dia 35 após o parto. No 50º dia após o parto apenas SCN foi isolado. O tipo de patógeno causador de MS nos dias 5, 20 e 35 após o parto não influenciou (P>0.05) o intervalo do parto ao estro, o número de folículos nas classes de 3-5 mm e > 5 mm, o diâmetro do maior e do segundo maior folículo, o número de CL e área

luteal total. Contudo, no 50º dia após o parto, maior diâmetro do maior folículo ao estro ($P=0,008$) foi observado nas ovelhas sem MS (controle) e naquelas com MS causada por SCN, enquanto menor diâmetro foi observado nas ovelhas em que a cultura microbiológica não resultou em isolamento.

Tabela 5 - Intervalo parto-estro e atividade ovariana em ovelhas sem mastite subclínica (controle), com mastite subclínica (MS) causada por *Staphylococcus* coagulase negativa (SCN), *Staphylococcus aureus* (SAU), coliformes e outros patógenos gram-positivos (PGP) ou sem isolamento de patógenos (SI) nos dias 5, 20, 35 e 50 após o parto.

Parâmetro	Controle	SCN	SAU	Coliformes	PGP	SI	P valor
	Dia 5 (n=50)						
Parto-estros ¹	38,4±2,4	36,5±3,1	35,3±4,6	-	54,0±16,0	29,4±3,7	0,24
Nº Fol, 3-5mm	4,8±0,4	4,8±0,7	4,4±0,9	-	4,0±2,0	5,0±1,0	0,99
Nº Fol >5mm	1,5±0,3	1,2±0,4	1,8±0,7	-	2,0±1,4	1,7±0,7	0,93
Diâmetro > fol. ²	5,2±0,09	5,0±0,1	5,4±0,2	-	5,8±0,5	5,1±0,2	0,47
Diâmetro 2º > fol. ³	4,6±0,1	4,3±0,2	5,0±0,3	-	5,5±0,6	4,6±0,3	0,14
Nº CL ⁴	1,4±0,2	1,5±0,4	1,6±0,5	-	2,0±1,4	1,2±0,5	0,97
Área luteal total ⁵	2,4±0,2	2,5±0,4	3,0±0,6	-	4,8±2,3	3,0±0,6	0,49
Dia 20 (n=50)							
Parto-estros ¹	38,0±2,3	38,3±3,7	-	21,6±6,8	46,9±11,4	35,5±2,9	0,46
Nº Fol, 3-5mm	4,8±0,4	4,4±0,7	-	5,0±2,2	5,0±2,2	4,9±0,6	0,99
Nº Fol, >5mm	1,4±0,3	1,7±0,5	-	2,0±1,4	-	1,5±0,4	0,93
Diâmetro > fol. ²	5,2±0,1	5,2±0,2	-	5,7±0,5	4,6±0,5	5,1±0,1	0,62
Diâmetro 2º > fol. ³	4,6±0,1	4,8±0,2	-	5,4±0,6	4,0±0,6	4,6±0,2	0,47
Nº CL ⁴	1,4±0,2	1,6±0,4	-	2,0±1,4	-	1,4±0,3	0,93
Área luteal total ⁵	2,5±0,2	2,5±0,4	-	4,2±2,1	-	2,8±0,4	0,65
Dia 35 (n=32)							
Parto-estros ¹	50,0±1,8	42,5±3,9	-	-	47,4±4,3	46,1±4,4	0,83
Nº fol, 3-5mm	5,0±0,5	4,7±1,2	-	-	4,3±1,2	4,7±1,2	0,96
Nº fol, >5mm	1,5±0,3	1,5±0,9	-	-	1,5±0,9	1,5±0,9	1,00
Diâmetro > fol. ²	5,2±0,1	5,1±0,3	-	-	5,1±0,3	4,8±0,3	0,74
Diâmetro 2º > fol. ³	4,6±0,1	4,7±0,3	-	-	4,3±0,3	4,2±0,3	0,61
Nº CL ⁴	1,4±0,3	1,3±0,7	-	-	1,5±0,9	1,5±0,9	1,00
Área luteal total ⁵	2,4±0,2	1,8±0,5	-	-	2,7±0,8	2,2±0,7	0,73
Dia 50 (n=15)							
Parto-Estros ¹	56,8±1,6	53,4±1,9	-	-	-	56,88±1,6	0,37
Nº fol, 3-5mm	4,7±0,7	4,5±1,5	-	-	-	4,75±1,1	0,99
Nº fol, >5mm	1,5±0,4	2,0±1,0	-	-	-	2,00±1,4	0,85
Diâmetro > fol. ²	5,5±0,1 ^a	5,5±0,2 ^a	-	-	-	4,70±0,2 ^b	P<0,01
Diâmetro 2º > fol. ³	4,8±0,2	5,3±0,4	-	-	-	4,27±0,3	0,13
Nº CL ⁴	1,6±0,4	2,0±1,0	-	-	-	1,00±0,7	0,70
Área luteal total ⁵	2,4±0,3	3,4±0,9	-	-	-	1,75±0,5	0,24

¹Intervalo do parto ao estro em dias; ²Diâmetro do maior folículo em mm; ³Diâmetro do segundo maior folículo em mm; ⁴Número de corpos lúteos; ⁵Área luteal total em cm². Médias seguidas por letras distintas nas linhas diferem entre si (P<0,05) pelo teste Tukey-Kramer.

4 Discussão

O principal fator responsável por retardar a IU é a presença de doenças uterinas, que no geral, são mais comuns em bovinos do que em outros ruminantes, como as ovelhas (Sheldon et al., 2002). A relação entre a mastite e a IU em ovelhas não é descrita na literatura de forma direta, no entanto, para que o processo de IU ocorra de forma eficaz é necessário que as bactérias presentes no lúmen uterino sejam removidas por meio de uma série de mecanismos de defesa (Sheldon; Dobson, 2004; Sheldon et al., 2008). Estes mecanismos são prejudicados caso haja um comprometimento do estado imunológico, o que ocorre em casos de mastite (Mehrzaad et al., 2010). Evidências indicam que a função imune prejudicada predispõe a infecção e esta por sua vez poderia retardar o processo de involução uterina até que o sistema imune fosse novamente regulado por meio do tratamento da infecção (LEWIS, 1997). Por se tratar de um caso de MS de curta duração, é provável que o sistema imune do animal não tenha sido comprometido a ponto de predispor o animal a outras doenças que retardariam a IU de forma direta.

Os estudos com casos de mastite e manifestação de estro em ovelhas são escassos, especialmente tratando-se de MS de ocorrência natural. Battaglia et al. (2002) induziram MS com lipopolissacarídeo (LPS) em ovelhas Suffolk e observaram que as ovelhas com mastite induzida tiveram atraso no pico de LH e no comportamento de estro. Outros pesquisadores estudaram o efeito do estresse inflamatório ou imunológico induzido pela administração intravenosa ou intra-uterina de LPS em vacas (Peter et al., 1989; Suzuki et al. 2001) durante a fase folicular e observaram secreção pulsátil de LH suprimida e pico de LH pré-ovulatório retardado ou bloqueado. O LPS é um componente da parede celular das bactérias gram-negativas e é considerado a endotoxina de maior potencial imunoestimulador dentre os componentes de paredes celulares conhecidos (Akira et al., 2006). Neste estudo, a MS não afetou a manifestação do estro até os 60 dias pós-parto, no entanto, é importante ressaltar a diferenças existentes entre os agentes etiológicos causadores da mastite, uma vez que o tipo de agente determina a resposta imune envolvida na inflamação (Albenzio et al., 2012). As bactérias gram-negativas isoladas neste trabalho foram classificadas como parte do grupo coliformes e representaram apenas 6,2% dos patógenos isolados nos quatro momentos de avaliação. Por se tratar de uma avaliação no início da lactação, quando a mastite por coliformes é menos severa, com potencial de cura espontânea (Burvenich et al., 2003), e

considerando ainda o fato que a inflamação não evoluiu para um quadro clínico, é possível que a severidade da infecção não tenha sido suficiente para retardar a IU e prolongar o intervalo parto-estro.

O principal patógeno isolado nos casos de mastite subclínica ovina é SCN (Queiroga, 2017). Os SCN representaram 64,1% dos patógenos isolados nos quatro momentos de avaliação. A ocorrência da MS nas ovelhas no 50º dia após o parto foi relacionada ao menor diâmetro do maior folículo ao estro. Contudo, considerando o efeito do patógeno causador de MS, o diâmetro do maior folículo não diferiu entre animais acometidos por SCN e os do grupo controle, mas foi menor no grupo SI, indicando que este grupo pode ter sofrido uma inflamação por microrganismos que comprometeram o desenvolvimento do folículo e a inflamação foi contida pelo próprio animal. Mansour et al. (2017) também demonstraram haver relação entre a mastite e o diâmetro do maior folículo ao estro em búfalos, sendo o menor diâmetro observado nos animais acometidos pela mastite. Contudo, os autores não avaliaram o efeito do microrganismo envolvido na mastite. O efeito da mastite no comprometimento do crescimento folicular pode ser explicado por uma possível redução na secreção de LH. Hansen et al. (2004) associaram a ocorrência de mastite com a secreção de citocinas que podem reduzir a secreção de LH, resultando em comprometimento do desenvolvimento folicular e oocitário. Em vacas, Hockett et al. (2005) e Lavon et al. (2008; 2011) verificaram que a mastite clínica induzida antes da ovulação culminou em baixa concentração de estradiol e atraso no pico de LH e na ovulação. Sendo assim, de forma geral, os mecanismos sugeridos para explicar a influência da mastite sobre o desempenho reprodutivo incluem redução da liberação pulsátil de LH, que resulta em menor estímulo gonadotrófico para crescimento folicular. Desta forma, pode haver comprometimento da secreção de estradiol, da expressão do estro e do pico pré-ovulatório de LH, culminando assim em falha da ovulação (Siatka et al., 2018).

Nesse estudo, a área luteal total não foi reduzida em decorrência da mastite. Os aumentos de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e, possivelmente, $\text{TNF}\alpha$ decorrentes da mastite foram relacionados à regressão do CL em bovinos com mastite induzida (Malinowski; Gajewski, 2010) e ao menor diâmetro e função do CL em búfalos com mastite natural (Mansour et al., 2016). Entretanto, evidências de comprometimento da função luteal devido à mastite são escassas (Wolfenson et al., 2016), principalmente devido às diferentes abordagens nos estudos, como

efeitos da mastite induzida ou natural, clínica ou subclínica, causada por patógenos gram-positivos ou gram-negativos. Estudos adicionais em animais afetados pela mastite de ocorrência natural são necessários para compreender os efeitos da mastite na função reprodutiva, uma vez que os trabalhos disponíveis com ovelhas são escassos e tratam da mastite induzida.

5 Conclusão

Em conclusão, a ocorrência e a etiologia da MS nos dias 5, 20 e 35 pós-parto não influenciaram a IU, a atividade ovariana e o retorno ao estro de ovelhas Lacaune. A observação de menor diâmetro do maior folículo ao estro em ovelhas acometidas por MS no dia 50 pós-parto sugere que o desafio imunológico/inflamatório decorrente da MS pode perturbar o crescimento folicular . Houve alta prevalência de MS e a maioria dos eventos de mastite ocorreu devido a *Staphylococcus* coagulase negativa, que é um patógeno comumente isolado de ovelhas de leite.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à fazenda Cabanha Vida pelo fornecimento dos animais para condução deste trabalho.

Referências

- Akira, S., Uematsu, S., Takeuchi, O. 2006. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*. 124, 783-801.
- Albenzio, M., Santillo, A., Caroprese, M., Ruggieri, D., Ciliberti, M., Sevi, A. 2012. Immune competence of the mammary gland as affected by somatic cell and pathogenic bacteria in ewes with subclinical mastitis. *J. Dairy Sci.* 95, 3877–3887.
- Battaglia, D. F., Krasa, H. B., Padmanabhan, V., Viguie, C., Karsch, F. J. 2002. Endocrine alterations that underlie endotoxin-induced disruption of the follicular phase in ewes. *Biol. Reprod.* 62, 45–53.
- Bindari, Y. R., Shrestha, S., Shrestha, N., Gaire, T. N. 2013. Effects of nutrition on reproduction – A review. *Adv. Appl. Sci. Res.* 4, 421-429.
- Burvenich C., Van Merris, V., Mehrzad, J., Diez-Fraile, A., Duchateau, L. 2003. Severity of *E. coli* mastitis is mainly determined by cow factors. *Vet. Res.* 34, 521–564.
- Dow, T. L., Rogers-Nieman, G., Holásková, I., Elsasser T. H., Dailey, R. A. 2010. Tumor necrosis factor- α and acute-phase proteins in early pregnant ewes after challenge with peptidoglycan-polysaccharide. *Domestic Anim. Endocrinol.* 39, 147–154.
- Fuenzalida, M. J., Fricke, P. M., Ruegg, P. L. 2015. The association between occurrence and severity of subclinical and clinical mastitis on pregnancies per artificial insemination at first service of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 98, 1–15.
- Hansen, P.J., Soto, P., Natzke, R.P., 2004. Mastitis and fertility in cattle—Possible involvement 357 of inflammation or immune activation in embryonic mortality. *Am. J. Reprod. Immunol.* 51, 294–301.
- Hauser, B., Bostedt, H. 2002. Ultrasonographic observations of the uterine regression in the ewe under different obstetrical conditions. *J. vet. med. A.* 49, 511–556.
- Hertl, J. A., Schukken, Y. H., Welcome, F. L., Tauer, L. W., Gröhn, Y. T. 2014. Effects of pathogen-specific clinical mastitis on probability of conception in Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 97, 6942–6954.
- Hockett, M. E., Almeida, R. A., Rohrbach, N. R., Oliver, S. P., Dowlen, H. H., Schrick, F. N. 2005. Effects of induced clinical mastitis during preovulation on endocrine and follicular function. *J. Dairy Sci.* 88, 2422–2431.
- Holásková, I., Lewis, G. S., Elliot, M., Blemings, K. P., Dailey, R. A. 2004. Effect of

- peptidoglycan–polysaccharide complex on reproductive efficiency in sheep. *Am. J. Reprod. Immunol.* 52, 197-203.
- Karsch, F. J., Battaglia, D. F., Breen, K. M., Debus, N., Harris, T. G. 2002. Mechanisms for ovarian cycle disruption by immune/inflammatory stress. *Stress.* 5, 101-12.
- Lavon, Y., Leitner, G., Goshen, T., Braw-Tal, R., Jacoby, S., Wolfenson, D., 2008. Exposure to endotoxin during estrus alters the timing of ovulation and hormonal concentrations in cows. *Theriogenology.* 70, 956–967.
- Lavon, Y., Leitner, G., Klipper, E., Moalle, U., Meidan, R., Wolfenson, D., 2011. Subclinical, chronic intramammary infection lowers steroid concentrations and gene expression in bovine preovulatory follicles. *Domest Anim Endocrinol.* 40, 98–109.
- Lewis, G. S. 1997. Uterine health and disorders. *J. Dairy Sci.* 80, 984-994.
- Macías-Cruz U., Ponce-Covarrubias J.L., Álvarez-Valenzuela F.D., Correa-Calderón A., Meza-Herrera C.A., Avendaño-Reyes L. 2013. Reproductive efficiency of Pelibuey and Romanov × Pelibuey ewes synchronized with synthetic progesterone and low doses of PMSG under a hot environment . *Czech J. Anim. Sci.*, 58: 546-553.
- Malinowski, E., Gajewski, Z., 2010. Mastitis and fertility disorders in cows. *Pol. J. Vet.Sci.* 13, 555-560.
- Mansour, M. M., Hindawy A. O., Zeitoun M. M. 2016. Effect of mastitis on luteal function and pregnancy rates in buffaloes. *Theriogenology.* 86, 1189–1194.
- Mansour, M. M., Zeitoun, M. M., Hussein, F. M. 2017. Mastitis outcomes on pre-ovulatory follicle diameter, estradiol concentrations, subsequent luteal profiles and conception rate in Buffaloes. *Anim. Reprod. Sci.* 181, 159-166.
- Markovec, J. A., Ruegg, P. L. 2002. Characteristics of milk samples submitted for culture in Wiscosin from 1994-2000. *Int. J. of Dairy Sci.* 85, 85.
- Mehrzad, J., Paape, M., Burvenich, C. 2010 Role of neutrophils in protection of udder from infection in high yielding dairy cows. *Iran J Vet Res.* 11, 102-118.
- Moore, D. A., Cullor, J. S., Bondurant, R. H., Sischo, W. M. 1991. Preliminary field evidence for the association of clinical mastitis with altered interestrus intervals in dairy cattle. *Theriogenology.* 36, 257-265.
- National Mastitis Council (NMC). Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection and determination of milk quality. 4^a Edição. 47p. 2004.

- Notter, D.R. 2012. Genetic improvement of reproductive efficiency of sheep and goats. *Anim. Reprod. Sci.* 130, 147-151.
- Peter, A. T., Bosu, W. T., DeDecker, R. J. 1989. Suppression of preovulatory luteinizing hormone surges in heifers after intrauterine infusions of *E. coli* endotoxin. *Am. J. Vet. Res.* 50, 368-373.
- Queiroga, M. C. 2017. Prevalence and etiology of sheep mastitis in Alentejo region of Portugal. *Small Ruminant. Res.* 153, 123-130.
- Russel, A. J. F., Doney, J. M., Gunn, R. G. 1969. Subjective assessment of body fat in live sheep. *J. Agric. Sci.* 72, 451-454.
- Santos, J. E., Cerri, R. L., Ballou, M. A., Higginbotham, G. E., Kirk, J. H. 2004. Effect of timing of first clinical mastitis occurrence on lactational and reproductive performance of Holstein dairy cows. *Anim Reprod Sci.* 80, 31-45.
- Sheldon, I. M., Noakes, D. E., Rycroft, A. N., Dobson, H., 2002. Effect of postpartum manual examination of the vagina on uterine bacterial contamination in cows. *Vet. Rec.* 151, 531–534.
- Sheldon, I. M., Dobson, H. Postpartum uterine health in cattle. 2004. *Anim. Reprod. Sci.* 82, 296-306.
- Sheldon, I. M., Williams, E. J., Miller, A. N., Nash, D. M., Herath, S. 2008. Uterine diseases in cattle after parturition. *Vet J.* 176, 115-121.
- Siatka, K., Sawa, A., Krężel-Czopek, S. 2018. Effect of postpartum endocrine function, metabolism, and mastitis on fertility in high-yielding cows – a review. 18, 351-359.
- Susuki, C., Yoshioka, K., Iwamura, S., Hirose, H. 2001. Endotoxin induces delayed ovulation following endocrine aberration during the proestrous phase in Holstein heifers. *Domest. Anim. Endocrin.* 20, 267-278.
- Villa-Arcila, N. A., Sanchez, J., Ratto, M. H., Rodriguez-Lecompte, J. C., Duque-Madrid, P. C., Sanchez-Arias, S., Ceballos-Marquez, A. 2017. The association between subclinical mastitis around calving and reproductive performance in dairy cows in Colombia. *Anim. Reprod. Sci.* 185, 109-117.
- Wolfenson, D., Leitner, G., Lavon, Y. 2016. The disruptive effects of mastitis on reproduction and fertility in dairy cows. *Ital. J. Anim. Sci.* 14, 650-654.