

Imunidade inata da glândula mamária bovina: resposta à infecção

Innate immunity of the bovine mammary gland: response to infection

Deolinda Maria Vieira Filha Carneiro^I Paulo Francisco Domingues^{II} Adil Knackfuss Vaz^{III}

- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA -

RESUMO

A imunidade na glândula mamária pode ser classificada, assim como em outros sistemas, em inata ou inespecífica e adaptativa ou específica. A imunidade inata é a defesa predominante durante os estágios iniciais da infecção. As respostas inespecíficas estão presentes no local da infecção ou são ativadas rapidamente por numerosos estímulos e não aumentam pela exposição repetida ao mesmo agente etiológico. O primeiro obstáculo enfrentado por um patógeno para adentrar o úbere é composto pela barreira formada pelo esfíncter do teto e pelo tampão de queratina formado pelo epitélio queratinizado. Uma vez que o microrganismo tenha atravessado o canal do teto e alcançado a cisterna mamária, passam a atuar diversos fatores solúveis e celulares. Dentre os fatores solúveis, estão presentes: lactoperoxidase, sistema complemento, citocinas, lactoferrina, lisozima e NAGase. As defesas celulares inespecíficas na glândula mamária são representadas pelos neutrófilos, pelos macrófagos e pelas células natural killer. Na medida em que esses mecanismos funcionam adequadamente, a maioria dos patógenos será rapidamente eliminada antes que o sistema imune específico seja ativado, sem resultar em alterações na quantidade ou qualidade do leite produzido. Uma melhor compreensão sobre os mecanismos de defesa da glândula mamária e suas alterações durante os períodos críticos da infecção é imprescindível para o desenvolvimento de métodos mais eficazes de profilaxia e controle da mastite, a principal doença dos ruminantes leiteiros. O presente estudo revisou os principais aspectos responsáveis pelo desenvolvimento da imunidade inata na glândula mamária bovina.

Palavras-chave: mastite bovina, imunidade inata, glândula mamária.

ABSTRACT

The immunity in the mammary gland can be, as in other systems, classified in innate or adaptive immunity. The innate immunity is the predominant defense during the initial periods of infection. The non-specific answers are present or are quickly activated in the infection's site by numerous stimulations, and these answers are not enhanced by repeated exposure to the same agent. The first obstacle to be faced by the agent is the barrier represented by the teat sphincter and the keratin plug. When the pathogenic agent crosses the teat canal and reaches the teat cistern, starts to act the humoral factors and the phagocytic cells starts do act. Among the humoral mediators there are the lactoperoxidase, complement, cytokines, lactoferrin, lysozyme and NAGase. The non-specific cellular defenses are represented by neutrophils, macrophages and natural killer cells. If these mechanisms have been functioning adequately, the majority of pathogens will be eliminated in a short time, before the specific immune system be activated. The fast elimination of the microorganisms will not allow these alterations in the amount or quality of produced milk. The best understanding of the defense mechanisms of the mammary gland and its alterations during the critical periods of infection, is an useful tool in devising and developing methods to control the mastitis, the major illness of dairy ruminants. This paper overviewed the most important aspects of the innate immunity of bovine mammary gland.

Key words: bovine mastitis, innate immunity, mammary gland.

^INúcleo de Pesquisas em Mastites (NUPEMAS), Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil. E-mail: deovet@yahoo.com.br.

*Autor para correspondência.

^{II}Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, FMVZ, UNESP, Botucatu, SP, Brasil.

^{III}Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Biotecnologia, Centro Agro-Veterinário (CAV), Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Lages, SC, Brasil.

INTRODUÇÃO

Os patógenos envolvidos na mastite possuem muitos fatores de virulência que facilitam a colonização e infecção da glândula mamária. Determinados patógenos podem evadir-se às defesas do hospedeiro ao se aderirem às células epiteliais, produzindo cápsulas que dificultam a captura e destruição pelos neutrófilos, produzindo endotoxinas e exotoxinas que destroem ou inativam os leucócitos, ou podem se manter no interior das células para escapar à resposta imune.

Para prevenir o estabelecimento da doença, o hospedeiro deve responder apropriadamente ao impacto dos diferentes fatores de virulência (SORDILLO & STREICHER, 2002), mediante a elaboração de respostas imunológicas. A imunidade na glândula mamária pode ser classificada, como em outros sistemas, em inata ou inespecífica e específica (também conhecida como adaptativa ou adquirida). A imunidade inata é predominante durante os estágios iniciais da infecção e representada por barreiras anatômicas, solúveis e celulares. Tais respostas estão presentes ou são ativadas rapidamente no local da infecção por numerosos estímulos e não aumentam de intensidade pela exposição repetida ao mesmo microrganismo (VAZ, 2004; RAINARD & RIOLLET, 2006).

Para se estabelecerem na glândula mamária e iniciarem o processo infeccioso, os patógenos necessitam inicialmente escapar da resposta imune inata. A seguir são relatados alguns aspectos relacionados ao desenvolvimento da imunidade inata na glândula mamária bovina.

Barreiras Anatômicas

A manutenção da integridade da pele do teto reduz o risco de contaminações por limitar a colonização do local por microrganismos oriundos da própria pele e do ambiente. Existem evidências relacionando a presença de lesões na pele dos tetos com o aumento da ocorrência de mastite por agentes contagiosos como *Staphylococcus aureus* (FOX & CUMMING, 1996; RAINARD & RIOLLET, 2006). O próximo obstáculo a ser superado pelos patógenos é o canal do teto (CARNEIRO, 2006), pois a principal forma de infecção dos agentes causadores da mastite bovina é a via ascendente. O canal do teto encontra-se normalmente fechado devido à presença de um anel muscular no orifício do teto. No período entre ordenhas, esse anel constitui-se em uma barreira física e química. Soma-se também a importante ação de um tampão de queratina, formado pela descamação das células do epitélio estratificado da parede do canal. Os ácidos graxos

esterificados e não-esterificados, incluindo os ácidos mirístico, palmitoleico e linoléico, têm atividade bacteriostática ou bactericida (HOGAN et al., 1988). SENFT et al. (1990) relataram que o ácido láurico é o lipídio com maior efeito bactericida sobre linhagens de *S. aureus*, seguido dos ácidos mirístico e oléico. As proteínas catiônicas associadas ao tampão de queratina podem promover a inativação de bactérias ao se ligarem eletrostaticamente aos patógenos, alterando a parede celular e tornando-os mais suscetíveis à pressão osmótica (HOGAN et al., 1988).

Nas vacas em produção, apesar do efeito mecânico da lavagem com o fluxo do leite que evita a colonização por microrganismos, o processo da ordenha representa momento crucial para a manutenção dessa linha de defesa do úbere, pois provoca flacidez no esfíncter do teto, o qual requer entre uma e duas horas para retomar seu tônus muscular e tornar a se contrair o suficiente para vedar o canal (KEHRLI & HARP, 2001). Existem vários fatores que podem prejudicar o retorno do tônus do esfíncter, incluindo as lesões nos tetos (hiperqueratose) e a idade dos animais, visto que, com lactações subsequentes, o esfíncter demora mais tempo para se contrair. As lesões nos tetos aparecem como elevações esbranquiçadas que circundam o orifício e podem ter origem traumática ou infecciosa, incluindo os danos mecânicos causados pela ordenhadeira com excesso de vácuo, por pulsação excessivamente rápida, e o dano químico causado pelos desinfetantes excessivamente cáusticos (FRANCIS, 1984; VAZ, 2004).

O tampão de queratina se forma naturalmente no canal do teto após a secagem do leite, mas existe variação entre vacas no período de formação desse tampão, podendo levar vários dias (WILLIANSO et al., 1995). No momento da secagem, a estagnação do leite na glândula, provocada pela interrupção do processo de remoção do leite na ordenha, determina aumento de pressão na glândula, resultando em dilatação do canal do teto. A retenção do leite determina o desenvolvimento de processo inflamatório, enquanto que o orifício do teto aberto permite a penetração de microrganismos. Esse mecanismo explica a maior suscetibilidade à mastite observada no período de involução, processo similar ao que se desenvolve durante a colostrogênese. A formação do tampão de queratina parece ser o principal mecanismo de defesa da glândula mamária contra infecções no período seco.

Barreiras solúveis

Uma vez que o agente patogênico atravessa o canal do teto e alcança a cisterna mamária, passam a atuar os fatores solúveis e as células da imunidade inata (KOLB, 2002; RAINARD, 2003).

Diferentes fatores solúveis possuem atividade microbicida, mas destacam-se três grupos funcionais: 1) fatores que lisam a membrana celular microbiana (ex. complemento), 2) peptídeos que ligam elementos essenciais, como ferro (ex. lactoferrina), 3) enzimas hidrolíticas focadas em estruturas microbianas (ex. lisozima) (LINDE et al., 2008).

Complemento

O sistema complemento é um importante componente da imunidade inata, visto que alguns fatores estão intimamente envolvidos no processo de inflamação e participam na eliminação de microrganismos diretamente ou pela integração com células fagocíticas (KEHRLI & HARP, 2001).

Predominantemente produzidos por hepatócitos, mas em menor quantidade por macrófagos e monócitos, os fatores do sistema complemento estão presentes no leite de glândulas saudáveis. Quando há resposta inflamatória, estes fatores são mobilizados da corrente circulatória juntamente à exsudação plasmática. No leite oriundo de quartos infectados, o complemento frequentemente apresenta atividade bactericida e hemolítica, e a intensidade dessas atividades está ligada à magnitude da inflamação (RAINARD, 2003).

Segundo BARRIO et al. (2003), a via clássica de ativação do complemento não é claramente funcional na glândula mamária e a via alternativa opera com duas consequências: deposição de componentes opsonizantes na bactéria e geração de fragmentos pró-inflamatórios, ou seja, a ativação desse sistema resulta na produção dos mediadores pró-inflamatórios C4a, C3a e C5a. Sua ativação leva ainda à deposição de fragmentos de clivagem do componente C3 (C3b e C3bi) na superfície dos patógenos invasores, o que promove a aderência das bactérias às células fagocíticas pela interação com os receptores respectivos dos fagócitos, iniciando o processo de fagocitose (RAINARD & POUTREL, 2000).

Bactérias Gram-negativas são sensíveis à ação lítica do complemento, enquanto as Gram-positivas são mais resistentes; embora todas sejam sensíveis à ação opsonizante de C3 e C3bi (OVIEDO-BOYSO et al., 2007). Especificamente em linhagens de *S. aureus* isolados de mastite bovina, observa-se que a presença da cápsula polissacarídica (tipos 5 e 8) evita a deposição dos componentes do complemento e sua consequente ação opsonizadora (BARRIO et al., 2003).

C5a é o fragmento mais biologicamente ativo em recrutar células fagocíticas para o leite. Promove o aumento da permeabilidade vascular e atua como potente atrativo para neutrófilos, eosinófilos,

macrófagos e subpopulações de linfócitos. Possui capacidade também de induzir a resposta celular dessas células como modulação do receptor do fagócito a opsoninas, aumenta o metabolismo oxidativo, libera eicosanóides e enzimas digestivas e estimula a síntese de citocinas (IL-1 e IL-6) (TOMLINSON, 1993). A capacidade de produzir C5 no leite varia muito entre os animais de produção. A ativação do sistema complemento por bactérias invasoras depende da quantidade de C5 disponível e da atividade da C3/C5 convertase da via alternativa (RIOLLET et al., 2000). Nas vacas com baixa concentração de C5, o sistema complemento é pouco eficiente no recrutamento de leucócitos (RAINARD & POUTREL, 2000).

Lactoferrina

A lactoferrina (Lf) é uma glicoproteína que possui dois sítios de ligação metálica nos quais se ligam um íon férrico junto ao bicarbonato. A ligação ao ferro é diretamente relacionada ao bicarbonato e inversamente proporcional à concentração de citrato (REITER, 1985). Para a maioria das bactérias patogênicas, o íon ferro é um cofator do metabolismo. Assim, a Lf atua como bactericida ao tornar o ferro indisponível na glândula mamária.

Essa glicoproteína está localizada nos grânulos dos neutrófilos, dos quais é liberada por exocitose, e também nas células epiteliais mamárias e macrófagos (OVIEDO-BOYSO et al., 2007). É encontrada em baixas concentrações no colostro (1-2mg mL⁻¹) e menos ainda no leite (20-200µg mL⁻¹). Entretanto, está presente, em grandes concentrações, nas secreções de vacas secas (20-100mg mL⁻¹) (RAINARD & RIOLLET, 2006). Esse fato sugere que a Lf é uma das maiores defesas da glândula mamária bovina durante o período seco (ZECCONI & SMITH, 2000), visto que nesse período há redução na concentração de citrato e aumento de bicarbonato, condições mais favoráveis à atuação quelante do ferro da Lf (RAINARD & RIOLLET, 2006). A sensível diminuição da Lf na colostogênese, associada ao aumento de citrato, é um dos fatores que explicam a maior suscetibilidade da glândula às infecções nesse período (NICKERSON, 1989).

Os efeitos antimicrobianos são determinados diretamente pela atividade bactericida e bacteriostática e também indiretamente pela ativação de uma série de complexos e reações que determinam uma resposta imune inespecífica (VAN HOOIJDONK et al., 2000; KAI et al., 2002). Ao se ligar à membrana microbiana, determina alteração na permeabilidade desta pela dispersão dos polissacarídeos, levando à morte do organismo. Ao se ligar a lipopolissacarídeos

(LPS), a Lf reduz sua atividade biológica e desempenha, assim, atividade de detoxificação (LEGRAND et al., 2004).

Dentre as funções biológicas da Lf, está o fator de modulação de aderência e migração de neutrófilos, proteção contra radicais livres, inibição ou promoção de morte intracelular e indução da produção de citocinas, que dependem da concentração de íons ferro disponíveis (WARD et al., 2005). Além disso, possui atuação sinérgica com os neutrófilos na ação contra os patógenos (KAWAI et al., 2007). LEGRAND et al. (2004) sugerem a atividade antiinflamatória como uma das principais funções da Lf. Esse mecanismo seria importante na vigência da ligação da Lf à superfície de monócitos, provavelmente para evitar danos decorrentes da liberação de substâncias oxidativas durante o processo inflamatório.

Ao estudar a relação entre a Lf e os agentes etiológicos de mastite na glândula mamária bovina, CHANETON et al. (2008) concluíram que, enquanto agentes como *S. aureus* e *E. coli* demonstram ser suscetíveis à ação bactericida da enzima, *S. uberis* demonstrou resistência. Esses dados sugerem que diferentes espécies de microrganismos podem determinar diferentes respostas imunes da glândula mamária na produção e eficácia de ação da Lf.

Ao infectar células epiteliais mamárias *in vitro* com *S. aureus* e lipopolissacarídeos (LPS) de *E. coli*, WELLNITZ & KERR (2004) observaram aumento da secreção de Lf, demonstrando que existe relação entre o nível de agressão causada à glândula e os níveis de Lf. Entre os patógenos da mastite, *E. coli* é a mais sensível, seguida de *S. aureus*, enquanto *Streptococcus* spp. são resistentes à Lf (RAINARD, 1986).

Ao estudar a associação entre a contagem de células somáticas, a população individual de leucócitos e os componentes lácteos, LINDMARK-MANSSON et al. (2006) constataram que a Lf pode ser utilizada como parâmetro de análise da saúde do úbere.

Lisozima

Produzida pelas células epiteliais e leucócitos, a lisozima é uma proteína bactericida que hidrolisa os peptídeoglicanos da parede celular das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, resultando na lise celular (RAINARD & RIOLLET, 2000). As bactérias Gram-positivas são mais sensíveis, uma vez que a sua parede celular possui aproximadamente 90% de peptídeoglicanos, mas podem sofrer pressão de seleção para o desenvolvimento de resistência, aumentando a concentração de ácido teicóico na parede celular. Contrariamente, microrganismos Gram-negativos possuem 10% ou menos de peptídeoglicano

e são, portanto, mais resistentes à enzima (ZECCONI & SMITH, 2000). A ligação da lactoferrina ao ácido lipoteicóico torna os *Staphylococcus* spp. sensíveis à lisozima (RAINARD & RIOLLET, 2006). Essa enzima apresenta comportamento peculiar frente à infecção intramamária por *S. aureus*. A atividade nesses casos apresenta-se diminuída, o que pode ser resultado do fenômeno da exaustão precoce (ZECCONI & SMITH, 2000).

A concentração da lisozima no leite é maior nos primeiros 60 dias após o parto, mas não há alteração em seus níveis séricos de acordo com o estágio da lactação. Por não ser produzida pelos neutrófilos, a lisozima não é considerada relevante na defesa da glândula mamária bovina por determinados autores (RAINARD & RIOLLET, 2006), apesar de a sua concentração aumentar durante a mastite (NICKERSON, 1985).

NAGase (N-acetil-β-D-glucosaminidase)

Essa enzima lisossomal pode ser detectada, tanto em úberes sadios, quanto mastíticos, embora sua concentração seja maior quando há inflamação da glândula (ZECCONI & SMITH, 2000). A concentração da NAGase é maior durante os estágios iniciais e finais da lactação e no período seco (CHAGUNDA et al., 2006). Particularmente no pós-parto, a concentração é tão alta quanto na mastite clínica. A origem ainda é objeto de discussão, tendo sido associada às células, ao soro do leite e à fração lipídica. Quanto às células, os polimorfonucleares parecem ser a maior fonte, embora os macrófagos também a produzam (NAGAHATA et al., 1987). O dano tecidual induzido pelo processo inflamatório aumenta a liberação pelas células lesadas e pelo recrutamento de mais polimorfonucleares (ZECCONI & SMITH, 2000).

PICCININI et al. (2007) afirmam que os quartos mamários que apresentam altos níveis de NAGase e lisozima não desenvolvem mastite subclínica. Com efeito, os patógenos invasores somente poderiam induzir o desenvolvimento de mastite subclínica quando esses componentes se apresentassem em baixa concentração. PYORALA (2003) propõe sua quantificação como parâmetro para monitoramento de mastite subclínica, aliada à condutividade elétrica e lactose, em substituição à contagem de células somáticas.

Lactoperoxidase

A lactoperoxidase (Lp) é a enzima mais abundante no leite bovino. A função primária dessa enzima é catalisar a oxidação de certas moléculas à custa de peróxido de hidrogênio, para gerar produtos reativos

com intensa atividade antimicrobiana. A concentração no leite bovino aumenta em três a cinco dias no pós-parto e permanece alta no colostro por até duas semanas (KUSSENDRAGER & VAN HOOIJDONK, 2000).

O sistema Lp compreende o ânion tiocianato e peróxido de hidrogênio. A concentração de tiocianato no leite depende de seus níveis séricos, os quais por sua vez dependem diretamente da dieta (SORDILLO et al., 1997). O peróxido de hidrogênio pode ser gerado endogenamente no processo de fagocitose pelos neutrófilos. A Lp catalisa a peroxidação do tiocianato, gerando produtos que podem inativar ou inibir a multiplicação de muitas espécies de microrganismos. Sob condições aeróbicas, lactobacilos, lactococos e estreptococos podem ativar o sistema Lp (KUSSENDRAGER & VAN HOOIJDONK, 2000). No entanto, a baixa tensão de oxigênio na glândula mamária pode inibir a produção de peróxido de hidrogênio, limitando a efetividade desse sistema antimicrobiano (SORDILLO & STREICHER, 2002).

Bactérias de diferentes grupos apresentam grau variável de resistência à Lp. Organismos Gram-negativos e catalase-positivos, como *Pseudomonas* spp., *Salmonella* spp. e *Shigella* spp., são inibidos ou inativados pela Lp, o que depende das condições do meio (pH, temperatura, tempo de incubação, densidade celular, etc). Bactérias Gram-positivas e catalase-negativas como *Streptococcus* spp. e *Lactobacillus* spp. são geralmente inibidas, mas não mortas pela Lp. A diferença de sensibilidade à Lp pode ser justificada pelas diferenças na estrutura da parede celular e pela capacidade de atuar como barreira (KUSSENDRAGER & VAN HOOIJDONK, 2000).

Aponta-se como vantagem da atuação da Lp o fato que ela não agride as células da glândula, além de não ser tóxica e proteger dos efeitos tóxicos do peróxido de hidrogênio. Assim, o sistema Lp pode ser considerado como sistema antimicrobiano natural e muito ativo e que não apresenta efeitos colaterais.

Citocinas

Entre os moduladores imunes secretados pela glândula mamária, as citocinas merecem atenção especial (RIOLLET et al., 2000). O termo "citocina" descreve grupo heterogêneo de proteínas naturalmente produzidas e secretadas por uma grande variedade de células pertencentes ou não ao sistema imune. Desempenham importante papel na defesa do hospedeiro, já que regulam parte da atividade das células que participam da imunidade inata e específica (TIZARD, 2002).

O papel das citocinas na patofisiologia da glândula mamária tem sido objeto de estudos,

principalmente as citocinas do tipo Interleucina (IL-1, IL-6, IL-8, IL-12) e o Fator de Necrose Tumoral- α (TNF- α) (SORDILLO et al., 1997), considerados como marcadores das defesas da glândula mamária (ALLUWAIMI & CULLOR, 2002). As súbitas e sensíveis alterações no repertório de citocinas, no úbere normal ou mastítico, encorajam seu uso no diagnóstico e prognóstico das mastites (ALLUWAIMI, 2004).

As citocinas pró-inflamatórias IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12 e TNF- α são produzidas principalmente pelas células epiteliais e pelos neutrófilos. Elas desencadeiam o processo inflamatório por alteração na permeabilidade vascular e, além de promoverem o recrutamento de leucócitos, estimulam as células endoteliais locais a expressarem adesinas aos neutrófilos, induzindo-os a se infiltrar no tecido mamário (SORDILLO et al., 1997). Além disso, ativam a capacidade fagocítica dos neutrófilos (BANNERMAN et al., 2004). Atuam, ainda, sobre a maturação das células dendríticas, controlando também a resposta imune adquirida (ALLUWAIMI & CULLOR, 2002; SORDILLO et al., 2005).

O TNF- α predomina na fase aguda da infecção e é o principal responsável pelo choque endotóxico na mastite aguda por *Escherichia coli*. Essa citocina modula muitas reações do hospedeiro aos antígenos estranhos, como fagocitose ou recrutamento de leucócitos, decorrentes de sua atividade quimiotática e da elevada expressão de moléculas de adesão nos leucócitos circulantes e nas células endoteliais (RAINARD & POUTREL, 2000; PAAPE et al., 2002).

A IL-6 está envolvida no choque séptico durante a mastite aguda ou hiperaguda causada por coliformes e *S. aureus*. Ela facilita a substituição de neutrófilos por monócitos na glândula mamária, os quais são necessários para reduzir os efeitos deletérios dos neutrófilos (OVIEDO-BOYSO et al., 2007).

A IL-8 é mais produzida na mastite por *E. coli*, mas pouco presente em mastites por *S. aureus* (HARADA et al., 1994). A IL-1 β somente é importante nos estágios iniciais das infecções por *S. aureus* (BANNERMAN et al., 2004). A IL-12 também é produzida por essas células e tem o papel de mediadora entre as imunidades inata e adaptativa (OVIEDO-BOYSO et al., 2007).

Como os níveis de citocinas sofrem variações frente ao processo infeccioso, elas são consideradas promissoras no diagnóstico e na avaliação do prognóstico da saúde do úbere (ALLUWAIMI, 2004).

Barreiras Celulares

As defesas celulares inatas da glândula mamária são representadas pelos neutrófilos, pelos macrófagos, pelas células epiteliais e pelas células *natural killer* (NK) (SORDILLO et al., 1997). Essas células são chamadas de células somáticas do leite, e a variação da sua quantificação no leite indica o grau de infecção na glândula mamária (NICKERSON, 1989).

As células do sistema imune inato apresentam receptores de reconhecimento de padrões (PRR, *pattern recognition receptors*) capazes de reconhecerem padrões moleculares conservados (com pouca probabilidade de sofrerem mutações), compartilhados por grande grupo de agentes infecciosos (prescindindo da necessidade de grande número de receptores) e claramente distinguíveis dos padrões próprios do hospedeiro expressos sobre a superfície dos patógenos (PAMPs, *pathogen-associated molecular pattern*). Os PAMPs ligados às infecções extracelulares incluem: lipídeos, lipoproteínas, proteínas e ácidos nucleicos de microrganismos invasores. Ao reconhecer os PAMPs, há aderência do microrganismo na superfície do neutrófilo ou macrófago, e o sinal resultante dá início à fagocitose (ROITT & DELVES, 2004).

Considera-se que importante grupo dos PRR são os receptores semelhantes aos Toll (TLR, *Toll-like receptors*) presentes na superfície das células fagocíticas e epiteliais. Esses receptores são considerados moléculas cruciais na detecção de patógenos invasores e na indução dos mecanismos de defesa do hospedeiro na glândula mamária bovina (WERLING et al., 2006), fato comprovado pelo aumento da expressão de TLR do tipo 2 (TLR2) e TLR4 durante a mastite bovina (GOLDAMMER et al., 2004).

Na glândula mamária bovina, os TLR2 reconhecem os peptídeos e o ácido lipoteicoico das bactérias Gram-positivas, enquanto os TLR4 reconhecem os lipopolissacarídeos das Gram-negativas (YANG et al., 2008).

O reconhecimento de PAMPs por PRRs ativa vias de sinalização intracelulares, culminando na indução de citocinas inflamatórias, quimocinas, interferons e moléculas coestimulatórias. Portanto, a variação genética da expressão desses fatores pode influenciar a suscetibilidade à mastite (OPSAL et al., 2008).

Células Epiteliais Mamárias

As células epiteliais mamárias (CEM) estão presentes no leite devido ao processo de descamação epitelial e são predominantes em glândulas mamárias não infectadas. Essas células representam interface

entre o corpo e o meio ambiente, atuando como sentinelas e sinalizando a invasão de patógenos causadores de mastite (RAINARD & RIOLLET, 2006). Possuem grande capacidade de expressar citocinas após a estimulação com bactérias patogênicas (YANG et al., 2008). Conseqüentemente, a contribuição das CEM às defesas locais está sob crescente investigação e a sua interação com agentes causadores de mastite representa um modelo de estudos da imunidade da glândula mamária (PFAFFL et al., 2003; RAINARD & RIOLLET, 2006; WELLNITZ et al., 2006).

A secreção de citocinas pró-inflamatórias pelas CEM contribui para a atração de células imunes efectoras, como os neutrófilos, importantes na eliminação de bactérias invasoras (WELLNITZ & KERR, 2004).

Neutrófilos

Os neutrófilos (polimorfonucleares, PMN) são o tipo celular predominante nos tecidos e nas secreções mamárias no início da inflamação e podem constituir 90% do total de leucócitos na glândula, permanecendo numerosos também nos processos crônicos (PAAPE et al., 2002; SORDILLO et al., 1997). Durante a mastite ou a involução da glândula, são as primeiras células a adentrar nos alvéolos (PAAPE et al., 2000), porém atuam por curtos períodos, tendo em vista que sua meia-vida é curta (SORDILLO et al., 1997). Os neutrófilos migram da circulação sanguínea para a glândula em resposta a uma grande variedade de mediadores inflamatórios, mas principalmente em resposta às citocinas. Essas substâncias se ligam ao endotélio vascular nos locais próximos à infecção, fazendo com que os neutrófilos que apresentam receptores para essas substâncias em suas membranas se justaponham à parede interna do vaso sanguíneo. Quando a velocidade reduz-se o suficiente, os neutrófilos atravessam o endotélio e se transferem para o leite e para os sítios de infecção glandular (TARGOWSKI, 1983).

Uma vez no local de infecção, os neutrófilos fagocitam e inativam os patógenos. Exercem seu efeito bactericida mediante o fenômeno de “explosão respiratória”, que produz espécies de oxigênio reativo, proteínas antibacterianas de baixo peso molecular (como lactoferrina) e defensinas, as quais eliminam uma ampla variedade de patógenos que causam mastite (SORDILLO et al., 1997).

É importante destacar que os neutrófilos bovinos, em contraste com outras espécies animais, não são atraídos diretamente pelas bactérias ou por seus produtos, mas apenas por sinalizadores bioquímicos, e a velocidade do afluxo à glândula

depen­derá da intensidade desses sinais (RAINARD & RIOLLET, 2006). Para exercer seu potencial antimicrobiano, requerem opsoninas ou antitoxinas que reconheçam o antígeno e as citocinas que o ativem (RAINARD & RIOLLET, 2003).

Os neutrófilos do leite tendem a ser menos funcionais que os presentes na corrente sanguínea. A ingestão de caseína e glóbulos de gordura causa perda dos grânulos citoplasmáticos, exaustão de suas reservas e perda dos pseudópodes, diminuindo drasticamente sua atividade bactericida (RAINARD & RIOLLET, 2006). Tal fato é observado principalmente durante a colostrogênese e no periparto, devido ao alto teor de gordura (OLIVER & SORDILLO, 1988; NICKERSON, 1989), quando a competência funcional dos neutrófilos fica prejudicada, ocorrendo redução na quimiotaxia e efeito bactericida (PAAPE et al., 2002).

Diversos agentes patogênicos desenvolveram mecanismos para escapar dos neutrófilos. *S. aureus*, por exemplo, produz cápsula antifagocítica e leucotoxinas, que atuam, respectivamente, como mecanismo de evasão à fagocitose ou induzem apoptose precoce dos neutrófilos (O'RIORDAN & LEE, 2004).

GROMMERS et al. (1989) afirmaram que a severidade e a duração da mastite são proporcionais ao afluxo de leucócitos e à atividade bactericida das células somáticas no local da infecção. Se as células fagocíticas migrarem rapidamente do sangue e forem capazes de eliminar o estímulo inflamatório (microrganismos), o recrutamento dos leucócitos cessará, e os neutrófilos retornarão aos níveis normais. Entretanto, se os microrganismos sobreviverem à resposta imediata do hospedeiro, a inflamação continuará, resultando na persistência da migração dos neutrófilos ao lúmen alveolar (SORDILO, 2005). Embora inicialmente as lesões teciduais provocadas pelo processo inflamatório determinem aumento na permeabilidade por descontinuidade na barreira epitelial, possibilitando que componentes imunes teciduais e sanguíneos alcancem o lúmen da glândula (RAINARD & RIOLLET, 2006), o prolongamento da migração leucocitária, assim como a duração e a severidade da resposta inflamatória, podem causar danos ao parênquima mamário, resultando no declínio da qualidade e quantidade de leite produzido (SORDILO, 2005; ZHAO & LACASSE, 2008).

Macrófagos

Macrófagos são células fagocíticas presentes no tecido mamário e nas suas secreções. Possuem meia-vida longa e são capazes de desempenhar várias funções, desde a remoção de

detrítos teciduais até a remoção dos próprios patógenos da mastite. Além disso, rapidamente fagocitam os neutrófilos apoptóticos, minimizando a liberação de seu conteúdo granular, que é tóxico ao tecido mamário (RAINARD e RIOLLET, 2003).

São importantes células efetoras da imunidade inata, especializadas na apresentação de antígenos para linfócitos T, com capacidade de secretar grande variedade de mediadores inflamatórios como citocinas ou componentes derivados do ácido aracônico, o que lhe confere grande capacidade de defesa da glândula mamária (RAINARD & RIOLLET, 2003). O tecido da glândula mamária saudável e o leite contêm principalmente macrófagos, enquanto que o tecido infectado e as secreções contêm principalmente neutrófilos. Quando os macrófagos reconhecem bactérias, liberam citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α e IL-1 β , estimulando a atividade bactericida dos neutrófilos e também produzindo prostaglandinas e leucotrienos, que aumentam a reação inflamatória local (BANNERMAN et al., 2004). Sua atividade diminui durante o periparto, fato relacionado com o aumento da ocorrência da mastite nesse período (SORDILLO & STREICHER, 2002; RAINARD & RIOLLET, 2006). São altamente ativos no período de involução, quando fagocitam os restos celulares e a secreção láctea (NICKERSON, 1989).

Natural Killer

As células *Natural Killer* (NK) são linfócitos inespecíficos que têm atividade citotóxica independente do complexo de histocompatibilidade principal (MHC). São fundamentais para a eliminação de patógenos intracelulares, mediante a secreção de perforinas que promovem destruição da membrana celular (SORDILLO, 2005). São ativos contra bactérias Gram-positivas e negativas (SORDILLO, 2005) e expressam atividade bactericida frente à *S. aureus* (RAINARD & RIOLLET, 2006).

CONCLUSÃO

A mastite permanece como uma das maiores preocupações encontradas na exploração de animais de leite e é considerada a doença mais importante do rebanho leiteiro sob o ponto de vista econômico, pois, a despeito de todos os avanços tecnológicos no setor, mantém alta prevalência e resposta limitada à terapia.

A mastite é resultado da falência de uma complexa reação entre três fatores: resistência do hospedeiro, agente e meio ambiente. Progressos profiláticos consideráveis são obtidos na ação contra agentes contagiosos como *S. aureus* e *S. agalactiae*,

mas a mastite causada por patógenos chamados menores e microrganismos ambientais é o principal desafio para a indústria leiteira moderna, parecendo assim que os meios convencionais para prevenir a mastite podem ser ineficientes. Esses fatores têm estimulado a procura por novas drogas, protocolos terapêuticos e estratégias de controle alternativas. Principalmente porque o uso de antibióticos e desinfetantes, apesar de ter importante papel no controle da mastite, não pode atuar por si só, sem consorciar outros recursos como o manejo ambiental e o estímulo da resposta imune dos hospedeiros.

A resposta imune inata representa a primeira barreira contra a mastite, e apresenta características que a tornam extremamente importante na proteção da glândula mamária. Dentre estas características destacam-se a rapidez de ação, sem que haja um espaço de tempo necessário à sua estimulação como ocorre na resposta adaptativa, e a capacidade de agir sobre agentes infecciosos ainda desconhecidos do organismo. O maior conhecimento sobre a resposta inata e sobre alternativas para torná-la mais eficaz pode ter um grande impacto na prevenção da mastite, ao viabilizar procedimentos terapêuticos e de manejo alternativos para o controle desta doença. Alguns aspectos bastante investigados e que exemplificam esse fato são a estimulação da resposta imune inata da glândula mamária pela administração de citocinas, assim como a mimetização de sua ação pelo uso de selantes externos ou internos de tetos.

A biotecnologia oferece perspectivas para aumentar os mecanismos de defesa do hospedeiro e mais estudos são necessários para desenvolver aplicações clínicas que forneçam eficácia e segurança. As informações sobre a imunidade da glândula mamária bovina têm avançado significativamente na última década, mas ainda há muito a ser elucidado sobre os fatores que afetam a suscetibilidade do úbere à infecção. Estudos promissores têm sido direcionados à patofisiologia celular e molecular dos mecanismos imunes da mastite, da interação entre os microrganismos e a glândula mamária, e do desenvolvimento de imunógenos contra agentes específicos que passam a subsidiar ações práticas de controle e profilaxia dessa importante enfermidade.

REFERÊNCIAS

- ALLUWAIMI, A.M. The cytokine of bovine mammary gland: prospects for diagnosis and therapy. **Research in Veterinary Science**, v.77, p.211-222, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2004.04.006>>. Acesso em: 22 nov 07. Doi: 10.1016/j.rvsc.2004.04.006.
- ALLUWAIMI, A.M.; CULLOR, J.S. Cytokines gene expression patterns of bovine milk during middle and late stages of lactation. **Journal of Veterinary Medicine**, v.49, n.2, p.105-110, 2002. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1046/j.1439-0450.2002.00515.x>>. Acesso em: 13 mar 07. Doi: 10.1046/j.1439-0450.2002.00515.x.
- BANNERMAN, D.D. et al. Innate immune response to intramammary infection with *Serratia marcescens* and *Streptococcus uberis*. **Veterinary Research**, v.35, n.6, p.681-700, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1051/vetres:2004040>>. Acesso em 27 abr 07. Doi: 10.1051/vetres:2004040.
- BARRIO, M.B. et al. Milk complement and the opsonophagocytosis and killing of *Staphylococcus aureus* mastitis isolates by bovine neutrophils. **Microbial Pathogenesis**, v.34, n.1, p.1-9, 2003. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0882-4010\(02\)00186-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0882-4010(02)00186-9)>. Acesso em 09 jun 07. Doi:10.1016/S0882-4010(02)00186-9.
- CARNEIRO, D.M.V.F. **Efeito do uso de um selante interno de tetos na profilaxia de novas infecções intramamárias no período seco e no pós-parto**. 2006. 75p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Centro Agro-Veterinário - Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC. Lages, SC.
- CHAGUNDA, M.G.G. et al. L-lactate dehydrogenase and N-acetyl- β -D-glucosaminidase activities in bovine milk as indicators of non-specific mastitis. **Journal of Dairy Research**, v.73, n.4, p. 431-440, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1017/S0022029906001956>>. Acesso em 14 jan 07. Doi:10.1017/S0022029906001956.
- CHANETON, L. et al. Relationship between milk lactoferrin and etiological agent in the mastitic bovine mammary gland. **Journal of Dairy Science**, v.91, p.1865-1873, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2007-0732>>. Acesso em 23 jul 08. Doi:10.3168/jds.2007-0732.
- FOX, L.K.; CUMMING, M.S. Relationship between thickness, chapping and *Staphylococcus aureus* colonization of bovine teat tissue. **Journal of Dairy Research**, v.63, p.369-375, 1996.
- FRANCIS, P.G. Teat skin lesions and mastitis. **British Veterinary Journal**, v.140, p.430-436, 1984.
- GOLDAMMER, T. et al. Mastitis increases mammary mRNZ abundance of beta-defensin 5, toll-like receptor 2 (TLR2) and TLR4 but not TLR9 in cattle. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v.11, p.174-185, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1128/CDLI.11.1.174-185.2004>>. Acesso em 16 mar 07. Doi: 10.1128/CDLI.11.1.174-185.2004.
- GROMMERS, F.J. et al. Polymorphonuclear leukocyte functions: relationship between induced migration into the bovine mammary gland and in vitro cell activity. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.23, p.75-83, 1989. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/0165-2427\(89\)90111-6](http://dx.doi.org/10.1016/0165-2427(89)90111-6)>. Acesso em: 02 fev 08. Doi: 10.1016/0165-2427(89)90111-6.
- HARADA, A. et al. Essential involvement of interleukin-8 (IL-8) in acute inflammation. **Journal of Leukocyte Biology**, v.56, n.5, p.559-564, 1994.

- HOGAN, J.S. et al. Growth responses of environmental mastitis pathogens to long-chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v.71, n.1, p.249-249, 1988.
- KAI, K. et al. Lactoferrin stimulates a *Staphylococcus aureus* killing activity of bovine phagocytes in the mammary gland. **Microbiology and Immunology**, v.46, n.3, p.187-194, 2002.
- KAWAI, K. ET al. Antibacterial activity of bovine lactoferrin hydrolysate against mastitis pathogens and its effect on superoxide production of bovine neutrophils. **Zoonosis Public Health**, v.54, p.160-164, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1863-2378.2007.01031.x>>. Acesso em 17 nov 07. Doi: 10.1111/j.1863-2378.2007.01031.x.
- KEHRLI, M.E.; HARP, J.A. Immunity in the mammary gland. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.17, n3, p.495-516, 2001.
- KOLB, A.F. Engineering immunity in the mammary gland. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v.7, n.2, p.123-134, 2002. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1023/A:1020395701887>>. Acesso em 29 set 07. Doi: 10.1023/A:1020395701887.
- KUSSENDRAGER, K.D.; VAN HOOIJDONK, A.C.M. Lactoperoxidase: physico-chemical properties, occurrence, mechanism of action and applications. **British Journal of Nutrition**, v.84, p.19-25, 2000. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1017/S0007114500002208>>. Acesso em 03 out 07. Doi: 10.1017/S0007114500002208.
- LEGRAND, D. et al. Lactoferrin and host defence: an overview of its immuno-modulating and anti-inflammatory properties. **Biomaterials**, v.17, n.3, p.225-229, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1023/B:BIOM.0000027696.48707.42>>. Acesso em 19 set 07. Doi: 10.1023/B:BIOM.0000027696.48707.42.
- LEITNER, G. et al. Immune cell differentiation in mammary gland tissues and milk of cows chronically infected with *Staphylococcus aureus*. **Journal of Veterinary Medicine**, v.50, n.1, p.45-52, 2003. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1046/j.1439-0450.2003.00602.x>>. Acesso em 14 set 07. Doi:10.1046/j.1439-0450.2003.00602.x.
- LINDE, A. et al. Innate immunity and host defense peptides in Veterinary Medicine. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.22, n.2, p.247-265, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-1676.2007.0038.x>>. Acesso em 05 mai 08. Doi: 10.1111/j.1939-1676.2007.0038.x.
- LINDMARK-MANSSON, H. et al. Relationship between somatic cell count, individual leukocyte populations and milk components in bovine udder quarter milk. **International Dairy Journal**, v.16, n.7, p.717-727, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.07.003>>. Acesso em 05 mar 08. Doi: 10.1016/j.idairyj.2005.07.003.
- NAGAHATA, H. et al. Changes in N-Acetyl- β -D-glucosaminidase and β -glucuronidase activities in milk during bovine mastitis. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.51, p.126-134, 1987.
- NICKERSON, S.C. Immune mechanism of the bovine udder: An overview. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.187, p.41-45, 1985.
- NICKERSON, S.C. Immunological aspects of mammary involution. **Journal of Dairy Science**, v.72, p.1665-1678, 1989.
- OLIVER, S.P.; SORDILLO, S.P. Udder health in the periparturient period. **Journal of Dairy Science**, v.71, p.2584-2602, 1988.
- OPSAL, M.A. et al. Association analysis of the constructed linkage maps covering TLR2 and TLR4 with clinical mastitis in Norwegian Red cattle. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v.125, p.110-118, 2008. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0388.2007.00704.x>>. Acesso em 12 jul 2008. Doi 10.1111/j.1439-0388.2007.00704.x.
- O'RIORDAN, K.; LEE, J.C. *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharides. **Clinical Microbiology Reviews**, v.17, n.1, p.218-34, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1128/CMR.17.1.218-234.2004>>. Acesso em 06 ago 07. Doi: 10.1128/CMR.17.1.218-234.2004.
- OVIEDO-BOYSO, J. et al. Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. **Journal of Infection**, v.54, n.4, p.399-409, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jinf.2006.06.010>>. Acesso em: 04 abr 08. Doi:10.1016/j.jinf.2006.06.010.
- PAAPE, M.J. et al. The bovine neutrophil: Structure and function in blood and milk. **Veterinary Research**, v.34, p.597-627, 2003. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1051/vetres:2003024>>. Acesso em 09 out 07. Doi: 10.1051/vetres:2003024.
- PAAPE, M.J. et al. Defense of bovine mammary gland by polymorphonuclear neutrophil leukocytes. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v.7, n.2, p.109-121, 2002. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1023/A:1020343717817>>. Acesso em 14 mar 08. Doi: 10.1023/A:1020343717817.
- PAAPE, M.J. et al. Immune surveillance of mammary tissue by phagocytic cells. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v.480, p.259-277, 2000.
- PFAFFL, M.W. et al. Gene expression of immunologically important factors in blood cells, milk cells, and mammary tissue of cows. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.2, p.538-545, 2003.
- PICCININI, R. et al. Evaluation of milk components during whole lactation in healthy quarters. **Journal of Dairy Research**, v.74, n.2, p.226-232, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1017/S0022029906002317>> Acesso em 27 fev 07. Doi:10.1017/S0022029906002317.
- PYORALA, S. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. **Veterinary Research**, v.34, n.5, p.565-578, 2003. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1051/vetres:2003026>>. Acesso em 07 jul 07. Doi:10.1051/vetres:2003026.
- RAINARD, P. Bacteriostatic activity of bovine milk lactoferrin against mastitic bacteria. **Veterinary Microbiology**, v.11, n.4, p.387-392, 1986. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/0378-1135\(86\)90068-4](http://dx.doi.org/10.1016/0378-1135(86)90068-4)>. Acesso em 08 jul 07. Doi:10.1016/0378-1135(86)90068-4.

- RAINARD, P. The complement in milk and defense of the bovine mammary gland against infections. **Veterinary Research**, v.34, p. 647-670, 2003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1051/vetres:2003025>>. Acesso em 07 jul 07. Doi: 10.1051/vetres:2003025.
- RAINARD, P.; POUTREL, B. Generation of complement fragment C5a in milk is variable among cows. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.5, p.945-951, 2000.
- RAINARD, P.; RIOLLET, C. Innate immunity of the bovine mammary gland. **Veterinary Research**, v.37, n.3, p.369-400, 2006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1051/vetres:2006007>>. Acesso em 24 abr 08. Doi: 10.1051/vetres:2006007
- RAINARD, P.; RIOLLET, C. Mobilization of neutrophils and defense of the bovine mammary gland. **Reproduction Nutrition Development**, v.43, n.5, p.439-457, 2003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1051/rnd:2003031>>. Acesso em 15 mar 07. Doi: 10.1051/rnd:2003031.
- REITER, B. The biological significance and Exploitation of the Non-Immunological Protective Proteins in Milk: Lysozyme, Lactoferrin, Lactoperoxidase, Xanthine Oxydase. **Bulletin of the International Dairy Federation**, v.191, p.2-35, 1985.
- RIOLLET, C. et al. Differential induction of complement fragment C5a and inflammatory cytokines during intramammary infections with *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v.7, n.2, p.161-167. 2000.
- ROITT, I.M.; DELVES, P.J. **Fundamentos de imunologia**. 10.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 489p.
- SENFT, B. et al. Die bedeutung der lipide des strichkanalckeratins im abwehrsystem der bovinen milchdruse. **Milchwissenschaft**, v.45, p.18-21, 1990.
- SORDILLO, L.M. Factor affecting mammary gland immunity and mastitis susceptibility. **Livestock Production Science**, v.98, p.89-99, 2005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.livprodsci.2005.10.017>>. Acesso em 18 mar 08. Doi: 10.1016/j.livprodsci.2005.10.017.
- SORDILLO, L.M. et al. Immunobiology of the mammary gland. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.8, p.1851-1865, 1997.
- SORDILLO, L.M.; STREICHER, K.L. Mammary gland immunity and mastitis susceptibility. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v.7, n.2, p.135-146, 2002. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1023/A:1020347818725>>. Acesso em 22 mar 07. Doi: 10.1023/A:1020347818725.
- TARGOWSKI, S.P. Role of immune factors in protection of mammary gland. **Journal of Dairy Science**, v.66, n.8, p.1781-1789, 1983.
- TOMLINSON, S. Complement defense mechanisms. **Current Opinion in Immunology**, v.5, n.1, p.83-89, 1993. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/0952-7915\(93\)90085-7](http://dx.doi.org/10.1016/0952-7915(93)90085-7)>. Acesso em 05 jan 08. Doi: 10.1016/0952-7915(93)90085-7.
- TIZARD, I.R. **Imunologia veterinária – Uma introdução**. 6.ed. São Paulo: Roca, 2002. 532p.
- VAN HOOIJDONK, A.C.M. et al. In vivo antimicrobial and antiviral activity of components in bovine milk and colostrum involved in non-specific defence. **British Journal of Nutrition**, v.84, p. 127-134, 2000.
- VAZ, A.K. Imunidade da glândula mamária. **Conselho Brasileiro de Qualidade do Leite em Revista**, v.1, n.5, p.16-19, 2004.
- WARD, P.P. et al. Multifunctional roles of lactoferrin: a critical overview. **Cellular And Molecular Life Sciences**, v.62, n.22, p.2540-2548, 2005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00018-005-5369-8>>. Acesso em 07 mai 08. Doi: 10.1007/s00018-005-5369-8.
- WELLNITZ, O.; KERR, D.E. Cryopreserved bovine mammary cells to model epithelial response to infection. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.101, p.191-202, 2004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetimm.2004.04.019>>. Acesso em 26 ago 2006. Doi:10.1016/j.vetimm.2004.04.019.
- WELLNITZ, O. et al. Immune relevant gene expression of mammary epithelial cells and their influence on leukocyte chemotaxis to different mastitis pathogens. **Veterinary Medicine**, v.51, p.125-132. 2006.
- WERLING, D. et al. Expression of TOLL-like receptors (TLR) by bovine antigen-presenting cells – potencial role in pathogen discrimination? **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.112, p.2-11, 2006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetimm.2006.03.007>>. Acesso em 9 mai 08. Doi:10.1016/j.vetimm.2006.03.007.
- WILLIAMSON, J.H.; et al. The prophylactic effect of a dry cow antibiotic against *Streptococcus uberis*. **New Zealand Veterinary Journal**, v.43, p.228-234, 1995.
- YANG, W. et al. Bovine TLR2 and TLR4 properly transducer signals from *Staphylococcus aureus* and *E. coli*, but *S. aureus* fails to both activate NF- κ B in mammary epithelial cells and to quickly induce TNF α and interleukin-8 (CXCL) expression in the udder. **Molecular Immunology**, v.45, n.5, p.1385-1397, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molimm.2007.09.004>>. Acesso em 30 nov 08. Doi: 10.1016/j.molimm.2007.09.004.
- ZECCONI, A.; SMITH, K.L. (Eds.) International Dairy Federation Position paper on ruminant mammary gland immunity. In: SYMPOSIUM ON IMMUNOLOGY OF RUMINANT MAMMARY GLAND, 2000, Stresa. **Proceedings...** Stresa: Università Degli Studi di Milano, 2000. 119p.
- ZHAO, X.; LACASSE, P. Mammary tissue damage during bovine mastitis: causes and control. **Journal of Animal Science**, v.86, n.1, p.57-65, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2527/jas.2007-0302>>. Acesso em 29 ago 08. Doi:10.2527/jas.2007-0302.