



Aspectos morfológicos, celulares e moleculares da imunidade da glândula mamária de búfalas (*Bubalus bubalis*): revisão de literatura

Morphological, cellular and molecular aspects of the immunology of the water buffalo (Bubalus bubalis) mammary gland: literature review

Douglas Kiarely Godoy de Araujo¹, Valentim Arabicano Gheller²

¹Graduando em Medicina Veterinária pela UFMG

²Professor Adjunto, Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias da Escola de Veterinária da UFMG

Correspondência: Denise@vet.ufmg.br, Douglaskiarely@yahoo.com.br

Núcleo de Bubalinocultura, Escola de Veterinária - UFMG

CEP 31270-901, Belo Horizonte, Minas Gerais

Resumo

A glândula mamária de búfalas é mais resistente à instalação de processos infecciosos do que a da vaca. Esta menor susceptibilidade se deve à maior presença de moléculas protetoras do teto, como a queratina, lactoferrina, lactoperoxidase e melanina. A contagem de células somáticas é menor no leite de búfalas do que no de vacas, mas há indícios de maior eficácia antibacteriana dos leucócitos bubalinos. O teto das búfalas possui um esfíncter muito organizado e vascularizado, vedação de queratina mais intensa e epitélio estratificado escamoso mais grosso e compacto no ducto papilar. Conclui-se que as búfalas leiteiras são mais rústicas que as vacas com mesma aptidão, e, portanto, mais estudos são necessários para verificar a aplicabilidade desta rusticidade na bubalinocultura de leite no Brasil.

Palavras-chave: imunologia, mastite, CCS, búfala

Abstract

The water buffalo mammary gland is more resistant to the installation of infectious processes than the cow's. This lower susceptibility is due to the higher amounts of teat protecting molecules present, such as keratin, lactoferrin, lactoperoxidase and melanin. Somatic cell count is smaller in water buffalo milk than in cow's, but there are signs of higher antibacterial efficacy of bubaline leukocytes. Water buffalo teats have a very organized and vessel-rich sphincter, more intense keratin closure and a thicker and tighter squamous stratified epithelium in the streak canal. It's concluded that dairy water buffaloes are more rustic than dairy cows. Thus, more studies are needed to check the applicability of this rusticity in Brazil's dairy water buffalo husbandry.

Keywords: immunology, mastitis, SCC, water buffalo

Introdução

Os bubalinos (*Bubalus bubalis*) são animais com maior capacidade de conversão de forrageiras de menor qualidade em produtos da pecuária, como leite e carne. A bubalinocultura vem crescendo no Brasil, adquirindo no sudeste um caráter principalmente leiteiro. Neste quadro, é importante conhecermos os aspectos relacionados à saúde da glândula mamária das búfalas para podermos desenvolver, estudar e aplicar técnicas mais avançadas de prevenção e controle das infecções intramamárias. Estudos anatômicos, clínicos, cirúrgicos e moleculares provêm conhecimento para taparmos lacunas que ainda existem no tocante ao conhecimento específico da medicina de búfalos, e o propósito desta revisão é descrever o estado da arte, extrapolando para as búfalas o conhecimento obtido sobre outros ruminantes quando necessário.

Imunidade molecular da glândula mamária

Anticorpos

Substâncias liberadas no canal do teto ajudam na prevenção e no controle de infecções neste sítio. Anticorpos são disponibilizados pela búfala através do leite, com mudança qualitativa através da lactação. Nas primeiras duas semanas de lactação, em búfalas egípcias, Mahran *et al.* (1997) evidenciaram o gradual aumento de proporção das imunoglobulinas classe G1 e G2, em detrimento de IgM e IgA no leite de búfalas sem sinais de mastite. No entanto, esta proporção é alterada quando da infecção experimental, segundo a revisão de Butler (1999) sobre as tentativas anteriores de atingir uma resposta humoral a antígenos da glândula mamária (em bovinos, ovinos e murinos). Em vacas, o *Streptococcus uberis* induziu uma resposta fraca de IgG1 e IgA no soro, mas a presença de IgA no leite foi mais intensa. Tanto *Staphylococcus aureus*, quanto *Brucella abortus* demonstraram elucidar uma resposta vigorosa durante toda a lactação, em vacas e ratas, respectivamente. Além

disso, a infusão local de bactérias também pode induzir a uma resposta imune com presença maior de IgM no leite. Williams e Hill (1982), citados por Butler (1999), creditam à classe IgM grande eficiência na opsonização de bactérias mastíticas.

Apesar da associação de Mahran *et al.* (1997) da diminuição gradual das imunoglobulinas no leite com seu aumento gradual no soro, Nashar *et al.* (1988), citados por Butler (1999), concluíram que a fonte de IgG no leite de ratas não era o soro, o que pode indicar presença de plasmócitos associados à glândula mamária. Perkins *et al.* (2002), ao analisarem a resposta de vacas com e sem restrição alimentar à mastite experimental por endotoxina, descobriram que, em ambos os grupos, os níveis de IgG e TNF- α no leite não variaram. Esses resultados sugerem que a balança energética negativa pode não ser a explicação da incidência mais alta de mastite coliformica observada em vacas periparturientes.

A presença de anticorpos no leite serve mais ao consumidor natural do leite (o bezerro bubalino) do que propriamente à búfala. Mas a concentração de anticorpos nas secreções mamárias pode ser uma medida direta da maturidade ou salubridade imune da búfala.

Lactoperoxidase

Há também substâncias não específicas no leite que ajudam na prevenção e no controle das infecções mastíticas. A lactoperoxidase é uma enzima que, na presença de tiocianato e peróxido de hidrogênio, apresenta atividade bacteriostática contra bactérias gram-positivas e bactericida para as gram-negativas, e, segundo Kumar e Bhatia (1994), apresenta atividade 23% maior no leite de búfala, quando comparado com o de vaca, o que contrasta com os resultados encontrados por Harnulv e Kandasamy (1982; citados por Kumar e Bhatia, 1994). Esta enzima, além de suas atividades de proteção do teto, é usada para aumentar a vida útil do produto lácteo nas gôndolas, e uma maior atividade da lactoperoxidase no leite bubalino pode significar possibilidade de seu uso como produto com maior vida de prateleira do que o leite de vaca.

Lactoferrina

Outra substância inespecífica que pode possuir um papel importante na defesa da glândula mamária é a lactoferrina. Esta proteína, ao quelar o ferro, não o deixa solúvel para o uso dos microorganismos. É importante notar que o ferro, não disponível (ou disponível em menor concentração) para as bactérias, ainda é passível de absorção intestinal no consumidor do leite, e, portanto, níveis maiores de lactoferrina no leite contribuem para melhor alocação do metal. Puvogel *et al.* (2005), ao analisarem vacas com alta ingestão de vitamina A, comparadas com animais com níveis normais desta vitamina, descobriram que a alta suplementação de vitamina A não alterou significativamente as concentrações de lactoferrina no plasma e no leite, mas causou maior taxa de apoptose das células epiteliais da glândula mamária do que em vacas com níveis normais da vitamina. Esses picos de apoptose estão associados com os períodos de maior concentração da lactoferrina (e IGF-I) nas secreções mamárias, que ocorrem no parto e no final da lactação. Em cabras, os níveis de lactoferrina em tetos com infecção experimental por *S. aureus* produziu um aumento de dez a cem vezes na concentração de lactoferrina no leite, com pico de concentração no quarto dia pós-inoculação e subsequente estabilização gradual, em níveis ainda altos, quando comparados com animais controle (Chen *et al.*, 2004). Estes resultados sugerem alguma relação entre a agressão da glândula mamária e a produção, pelas suas células epiteliais glandulares, de maiores níveis de lactoferrina, o que foi confirmado por Wellnitz e Kerr (2004), que relataram aumento da secreção desta proteína como reação à exposição, das células epiteliais glandulares de bovinos, a LPS de *E. coli* e a *S. aureus*. Estudos *in vitro* demonstraram que a produção desta proteína é dependente de hormônios lactogênicos (em células cultivadas de glândula mamária de vaca) (Rose *et al.*, 2002). Segundo Bhatia e Valsa (1994b), o leite bubalino possui quantidade de lactoferrina superior ao leite bovino, e essa quantidade varia durante a lactação normal, com a quantidade colostrada atingindo níveis duas vezes maiores do que os encontrados no início do período lactente, tanto em vacas com em búfalas (Bhatia e Valsa, 1994a). Esta variação possivelmente significa que o teto necessita de maior proteção antibacteriana nesse período.

Queratina

A queratina, outra substância que atua na defesa inespecífica da glândula mamária, é encontrada na cisterna do teto e no ducto papilar, tendo papel de vedação do último. Segundo Senft *et al.* (1990b), a análise da queratina de duas raças de bovinos taurinos mostrou diferenças interraciais na quantidade da proteína no ducto papilar, além de comparar o efeito bactericida contra *Staphylococcus aureus* dos vários lipídeos comumente associados a esta proteína. Os pesquisadores descobriram ser, o ácido láurico, o lipídio com maior efeito antimicrobiano, seguido dos ácidos mirístico e oléico. Senft *et al.* (1990a), ao fazerem o perfil eletroforético das proteínas associadas à queratina do ducto papilar, descobriram seis bandas, que foram testadas de suas capacidades antibacterianas. As frações que migraram para o anodo foram as que mais apresentaram capacidade de destruir colônias de *S. aureus*. Já as frações catódicas se mostraram apenas bacteriostáticas. Neste contexto, é

interessante notar que o lúmen do ducto papilar do teto da búfala apresenta camada mais grossa de queratina, quando comparada à da vaca (Uppal *et al.*, 1994). Essa propriedade das fêmeas bubalinas é crucial, pois estes animais tendem a viver em áreas alagadas ou barrentas, onde o contato de patógenos com o canal do teto é potencialmente maior.

Citocinas

As respostas às agressões envolvem um esforço coordenado na tentativa de unir forças e destruir o patógeno colonizador. As citocinas têm o importante papel de regular a resposta imune neste sentido. Segundo Wellnitz e Kerr (2004), a célula epitelial da glândula mamária de bovinos, quando agredida, auxilia na resposta inflamatória produzindo as citocinas IL-8 e TNF- α . Bannerman *et al.* (2004) encontraram diferentes padrões de produção de citocinas entre infecções com *E. coli* e *S. aureus* em bovinos: no caso de infecção com a primeira, há produção de IL-8 e TNF- α , o que não ocorre na infecção com a última. Isso explica em parte a maior capacidade da *S. aureus* de estabelecer mastites crônicas, quando comparada com coliformes.

Daley *et al.* (1993), citados por Sordillo e Daley (1995), usaram IL-1 β e IL-2 em vacas como agentes de prevenção e controle de mastite. Estas citocinas não só aumentam a quimiotaxia dos polimorfonucleares (PMN) para a região, como também causam maior taxa de ativação destas células. Este estudo demonstrou que a dose necessária para prevenção da mastite por *S. aureus* é menor do que a necessária para seu tratamento, o que pode significar que há um nível basal de atividade fagocitária, mas que esse nível, inicialmente ineficiente para lidar com este patógeno em questão, seria melhorado pelas citocinas estudadas, e essa maior atividade leucocitária seria eficiente em prevenir a infecção experimental. Nickerson (1991) demonstrou em bovinos que IL-2 aumenta a população de linfócitos e aumenta a produção de anticorpos, enquanto que G-CSF causam neutrofilia na glândula mamária e no sangue periférico, sendo ambas as substâncias importantes para o controle de infecções experimentais por *S. aureus*. Sordillo e Daley (1995) relatam ainda dados não-publicados que comparam o tratamento de mastite bovina por *S. aureus* com antibiótico e antibiótico associado a IL-1 β recombinante bovina, e foi encontrado um resultado de melhora terapêutica no segundo protocolo, o que sugere que citocinas podem atuar como coadjuvantes no tratamento de mastites, melhorando a eficácia e provavelmente diminuindo o descarte da produção leiteira pela presença de antibióticos.

Shi *et al.* (2004) clonaram e estudaram as atividades antivirais do interferon- α (IFN- α) bubalino, encontrando dois genes que, expressados em um plasmídeo, davam origem a produtos semelhantes, de 116 resíduos de aminoácidos e com homologias de 91,6% e 94,2% com subtipos de IFN bovinos previamente estabelecidos. Os autores concluíram que o IFN- α bubalino é eficiente contra herpesvírus bovino (BHV) e sugerem o uso desta substância como antiviral em bovinos. A terapia com interferons, porém, pode causar grandes efeitos colaterais advindos da ação dessa citocina, como: febre severa, fadiga, anorexia, náuseas, efeitos neurológicos e supressão da medula óssea (Tizard, 1995). Anormalidades hematológicas causadas por esta citocina devem provavelmente influenciar a qualidade (e quantidade) do leite produzido pela búfala, e a linfopenia resultante pode predispor o animal a infecções secundárias se o tratamento com interferon for mantido. Sugere-se, então, a necessidade de pesquisas que evidenciem a relação do uso terapêutico de interferon com outras substâncias de modo a minimizar os efeitos indesejados do primeiro e aumentar o efeito da segunda.

Outras citocinas, como a família dos fatores estimuladores de colônias (CSF), também atuam na regulação positiva da resposta imune celular, e são conhecidos estimuladores de infiltrado PMN, aumentando quantitativamente e qualitativamente os leucócitos recrutados no sítio inflamatório. Segundo Sordillo e Daley (1995), a contagem de células somáticas (CCS) no leite de bovinos tratados com G-CSF recombinante aumentou em 50% em relação aos níveis basais, mas este aumento não estava relacionado com alteração alguma no número de unidades formadoras de colônia de *S. aureus*. Ainda de acordo com Sordillo e Daley (1995), as citocinas clonadas com aplicação terapêutica no tratamento de mastite bovina são: IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IFN- α , IFN- β , IFN- γ , G-CSF, GM-CSF, TNF, TGF. A infusão experimental em bovinos de IL-2 ou de IFN- γ não alterou significativamente a histologia dos tecidos mamários, apesar da elevada presença de leucócitos e plasmócitos de todos isotipos (Quiroga *et al.*, 1993). É importante, no entanto, salientar a falta de estudos com relação à dosagem, interação com outras substâncias e outros aspectos farmacológicos dessas citocinas. Há necessidade, ainda, de estudos adicionais sobre a possibilidade e, mais importante, a viabilidade de tal utilização na bubalinocultura brasileira hoje.

Complemento

O sistema do complemento é um importante ator na defesa da glândula mamária. Segundo Singh *et al.* (1995), citados por Pastoret *et al.* (1998), a ativação da via alternativa do complemento de bubalinos se mostrou efetiva contra *E. coli*, *S. aureus* e *Mycobacterium bovis*, apesar de ser pouco eficiente contra *Pasteurella multocida*. Este estudo não foi conduzido na glândula mamária, mas pode demonstrar ser a via alternativa do complemento um fator importante na imunidade da mama da búfala, pois ela consegue lisar importantes patógenos da glândula mamária. A ativação da via alternativa, em búfalos de 1 mês a 12 anos, se mostrou

dependente de Mg^{2+} e passível de inibição por zymosan, EGTA e aquecimento a $50^{\circ}C$ por 20 minutos (Arya e Goel; 1992; citados por Pastoret *et al.*; 1998). Já Matheswaran *et al.* (2003) demonstraram que a ativação do sistema do complemento originário do colostro de búfalas é inibida por aquecimento a $50^{\circ}C$ por 45 minutos e pelo zymosan, mas EGTA não apresentou efeito inibidor, o que pode sugerir que o ambiente lácteo (ou pelo menos o colostrado) causa melhor eficiência da via alternativa do complemento. Kehrl (2001), citado por Carvalho (2005), sugere que o fator C5a, por apresentar grande variabilidade em vacas, seria responsável pela maior resistência encontrada em algumas delas à infecção intramamária. Além disso, em bovinos, o fator C3 foi eficiente em opsonizar amostras de *Staphylococcus aureus* isolados de casos de mastite nesta espécie, apesar da presença deste fator não trazer alterações significativas na fagocitose das bactérias, o que sugere que a ligação do C3 com componentes da superfície de *S. aureus* não contribui para a defesa da glândula mamária bovina.

Imunidade celular da glândula mamária

A glândula mamária apresenta uma linha de defesa celular para manter seu meio livre de patógenos. Estas células variam qualitativamente e quantitativamente ao longo da vida da búfala, e a eficiência de seus mecanismos de combate aos patógenos é dependente de outros fatores inerentes ao manejo dos bubalinos, como estresse (Galiero e Morena, 2000) e alimentação (Rahman *et al.*, 1997). A nutrição adequada é importante, pois ingestão deficiente de vitamina E e selênio, apenas vitamina E, ou apenas selênio, contribuem para menor atividade fagocítica e bactericida de PMN do colostro, enquanto nas células presentes no leite essa propriedade só é diminuída em dietas deficitárias nos dois elementos anti-oxidantes (Rahman *et al.*, 1997). Apesar disso, suplementação de vitamina E e selênio em ovelhas fora do período de lactação causa menor CCS, não interferindo significativamente na taxa de mastite clínica e infecção intramamária (Morgante *et al.*, 1999). Como a bubalinocultura brasileira ainda é marcada pelo manejo inadequado, pode-se entender que a atividade destas células é sub-ótima, e as perdas econômicas decorrentes disso são maiores.

O uso de parâmetros bovinos de CCS para a inferência de mastite em búfalas tem se mostrado inadequado, pois os valores são significativamente menores em bubalinos do que nas vacas (Amaral, 2005; Carvalho, 2005; Escrivão, 2005, Cerón-Muñoz *et al.*, 2002), e necessitam de ser padronizados em torno de novos valores. Em revisão feita por Carvalho (2005), foram relatados valores abrangendo desde 50.000 a 100.000 células/ml, até 50.000 a 375.000 células/ml, e valores médios inferiores a 20.000 células/ml. Brameley (1976), citado por Badran (1992), considera 300.000 células/ml o limite superior da CCS normal em búfalas. No entanto, esses baixos números não estão relacionados à ausência de infecção intramamária, como concluiu Carvalho (2005), ao analisar búfalas da região do Alto São Francisco (MG) não submetidas a qualquer procedimento higiênico. Deste fato, pode-se fazer algumas suposições, quando se compara a imunidade celular da búfala e da vaca: 1) o infiltrado celular das búfalas é mais efetivo em combater os patógenos do que o da vaca, necessitando, portanto, de menor contingente ativado. Esta teoria é baseada no estudo de Silva e Silva (1994), citado por Carvalho (2005), que provou serem os neutrófilos do leite de búfalas mais eficazes do que os de leite bovino; 2) há fatores (morfológicos ou não) presentes na glândula mamária bubalina que inibem a diapedese dos leucócitos para aquele sítio quando este está inflamado; 3) o manejo inadequado, ao qual as bubalinas estudadas daquela região estão submetidas comprometem o bom funcionamento do sistema imune. Amaral (2005), ao estudar búfalas da mesma região na mesma época, sugere que a CCS nestes animais é baixa devido à sua falta de aptidão para produção leiteira, o que corresponde com os achados de Patil *et al.* (1995), que observaram resultados sugestivos de mastite por estresse de produção leiteira em vacas e búfalas. A relação direta entre produção leiteira e mastite já é conhecida. Apesar da observação de Reneau (1986), Harmon (1994) e Radostitis *et al.* (2002), citados por Amaral (2005), de que a CCS não é afetada pelo estágio da lactação, ordem de parto, estação do ano e estresse em úberes não infectados (bovinos), Galiero e Morena (2000) associam inversamente a CCS com o manejo adequado das búfalas, e citam algumas medidas profiláticas para evitar taxas altas de infiltração leucocitária na glândula mamária, como manter a ordenhadeira em perfeito estado e configurá-la corretamente; aplicar as teteiras assim que os tetos forem preparados e retirá-las assim que o fluxo de leite acabar; evitar causar dor ou medo nos animais; desinfetar as tetas após a ordenha; controlar a CCS do rebanho e de búfalas individuais; fazer cultura e antibiograma do leite quando houver um quarto alterado; e eliminar alterações bruscas na dieta ou a presença de alimentos alterados ou mofados. Com relação à configuração da ordenhadeira para búfalas, Badran (1992) conclui que o nível de vácuo ajustado em 42cm/Hg com 65 pulsações/minuto consegue maior fluxo de leite, maior porcentagem de gordura no leite e um nível normal de CCS (o autor considerou como valor máximo normal de CCS 300.000 células/ml, baseado em Brameley, 1976, por ele citado). Shailja e Singh (2002) demonstraram que o pós-dipping diminui significativamente a CCS em búfalas e vacas.

Há também alterações qualitativas das células somáticas presentes no leite, como tentativa de combater o patógeno agressor. Em búfalas sadias, há divergência na literatura quanto à proporção celular encontrada no leite (Tab. 1). Segundo Guarino *et al.* (1994), os macrófagos predominam no leite, ainda com capacidade de fagocitose. De fato, os autores descreveram três tipos de macrófagos do leite: 1) células espumosas, que contém grânulos de gordura; 2) células em formato de anel, quando os glóbulos de gordura fagocitados se coalescem; e 3) monócitos comuns. Em búfalas com mastite, Dhakal *et al.* (2004) encontraram quantidade significativamente

maior de neutrófilos do que em búfalas sadias. Essa alteração é condizente com a capacidade dos PMN de atuarem em processos agudos de infecção. Apesar disso, a capacidade fagocítica e bactericida dos leucócitos na glândula mamária é sub-ótima, devido principalmente à fagocitose de lípidos, como demonstraram Paape *et al.* (2004) com material caprino. Estes mesmos autores observaram variação individual da capacidade fagocítica dos neutrófilos frente a glóbulos lipídicos, o que pode ajudar a explicar a diferença de um animal para outro com relação à susceptibilidade para mastite. De fato, talvez uma maior produção de sólidos lipídicos possa interferir na capacidade total do infiltrado celular de fagocitar patógenos. Mehrzad *et al.* (2004) provaram que, em bovinos, os neutrófilos que migram para tetos infectados com *E. coli* sobrevivem mais e se mantêm ativados por mais tempo do que aqueles que vão para tetos saudáveis. Esta propriedade pode talvez ser potencializada com o uso de estimuladores da medula óssea, mas não há dados sobre isso. Apesar da possibilidade do uso terapêutico ou preventivo dos PMN, Mehrzad *et al.* (2005b) alertam para o dano causado pelas proteases derivadas de neutrófilos para os tecidos mamários e proteínas do leite. Estas proteases clivam proteínas importantes como a lactoferrina, caseína, colágeno, e proteínas de membrana das células epiteliais da glândula mamária. Conclui-se a necessidade de posteriores estudos para verificar eficácia clínica da utilização de quimiotáticos para PMN e sua relação com danos nos tecidos adjacentes.

Tabela 1. Proporções de células no leite de búfalas sadias encontradas na literatura.

Autores	Proporção de tipos celulares no leite de búfalas sadias (%)				
	Cel. Epiteliais	Neutrófilos	Linfócitos	Macrófagos/Monócitos	Eosinófilos
Silva e Silva (1994)	5	56	28	8	1
Dhawal <i>et al.</i> (1992)	48,85	20,98	29,28	1,62	NR
Della Libera (2002)	NR	32,9	5,3	61,1	0,7

Fonte: extraído de Carvalho (2005).

NR: não relatado.

Imunidade anatômica da glândula mamária

A anatomia da glândula mamária em muito contribui para sua saúde. Amaral (2005), estudando a relação entre conformação do úbere e sua posição em relação à linha do jarrete, observou que búfalas com úbere do tipo “caprino”, com seu conjunto mamário localizado abaixo da linha imaginária do jarrete, apresentam maior CCS. Esta correlação, no entanto, é discutível se os animais viverem em áreas alagadas, como é o caso da bubalinocultura no norte do país, e são necessários estudos para verificar se esta correlação se mantém em tais condições, pois já existem estudos comprovando a ligação entre higiene da búfala e a contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) (Vieira *et al.*, 1994).

O estudo histológico da glândula mamária bubalina é escasso, mas há trabalhos importantes sobre o assunto. O primeiro é o de Uppal *et al.* (1994), que comparam a arquitetura tissular do teto de búfalas de vacas, e chegam aos resultados mostrados na Tab. 2. Todas as características nas quais o teto bubalino se apresenta maior, quando comparado com o da vaca, são fatores que influenciam mecanicamente na prevenção de infecção intramamária. O segundo estudo é uma avaliação por microscopia eletrônica de varredura (MEV) de glândulas mamárias de búfalas induzidas à lactação (Dang e Ludri, 2001). Os autores notaram a evolução do tecido secretor e uma redução na quantidade de tecido conjuntivo, e foram pioneiros na padronização da técnica de estudo, por MEV, do tecido mamário bubalino. A falta de sucessores neste campo da morfologia da glândula mamária é notável, ao passo que muito tem sido pesquisado sobre a imunidade celular da glândula mamária da búfala.

Tabela 2. Comparação das características histológicas do teto de búfalas e de vacas.

Característica	Búfala	Vaca
Pigmentação da pele	maior	menor
Largura do DP		igual
Grossura do epitélio do DP	maior	menor
Esfíncter do DP	mais desenvolvido	menos desenvolvido
Queratina luminal do DP	mais grosso	mais fino
Tipo de epitélio	DP RF	epitélio estratificado escamoso epitélio cuboidal / colunar

Fonte: Uppal *et al.* (1994).

DP: ducto papilar; RF: roseta de Fürstenberg).

Externamente, o teto está sujeito a agressões externas que podem abrir caminho para colonização microbiológica. A maior quantidade de melanina encontrada na pele do teto da búfala ajuda na defesa contra intempéries que lesariam este tecido. No entanto, essa prerrogativa não é verdadeira em todos os casos, pois depende de fatores externos, que são mais relacionados ao manejo dos animais.

Do lado interno, a largura do ducto papilar se mostrou semelhante estatisticamente nas duas espécies. Segundo McDonald (1975), citado por Uppal *et al.* (1994), essa característica não tem relação com a frequência de infecções intramamárias. Esse resultado talvez seja pela presença da vedação de queratina no lúmen deste canal, que o oclui totalmente quando não há passagem do leite. A camada epitelial do ducto papilar é mais grossa e mais compacta na búfala, o que pode representar nova barreira contra colonização bacteriana do teto. Atividade mitótica no estrato germinativo do epitélio foi observada em maior quantidade na búfala do que na vaca, assim como maior presença de grânulos de queratohialina no estrato granuloso do epitélio; estes grânulos podem contribuir com a queratina luminal, que possui propriedades antibacterianas e está presente em maior quantidade na búfala. O esfíncter de músculo liso presente no ducto papilar é significativamente mais grosso na búfala, e se apresenta de modo mais organizado, com vascularização e inervação mais rica (Uppal *et al.*, 1994).

Ainda segundo Uppal *et al.*, há infiltrado leucocitário nos tecidos do teto da búfala. Estas células contribuem para a fagocitose de bactérias que conseguiram adentrar a cisterna do teto. Mehrzad *et al.* (1995a) estudaram em bovinos a relação entre a quantidade pré-infecção de PMN e a severidade da mastite coliformica, e relataram que as vacas que apresentam maior número de neutrófilos residentes no teto são aquelas que demonstram menos sinais clínicos da mastite. O papel dos leucócitos presentes nos tecidos mamários é evidente, mas a maior parte das pesquisas sobre o assunto abrange a espécie bovina, e maiores estudos são necessários para que se entenda a atuação das células de defesa e sua relação com a anatomia do teto e com infecções intramamárias em búfalas.

A imunidade da glândula mamária de búfalas é um assunto importante não apenas pela geração de conhecimento no meio acadêmico, mas também pela aplicação prática que lhe é (ou deveria ser) atribuída, tanto pelos médicos veterinários de campo que devem ter e fazer uso desta ferramenta, como pelos profissionais que, no cuidado diário das fêmeas, devem ter a higiene e os cuidados necessários para a obtenção de um produto lácteo de boa qualidade, para a indústria e para o consumo humano.

Referências

- Amaral FR.** *Fatores que interferem na contagem de células somáticas e constituintes do leite de búfala.* 2005. 46f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005.
- Badran, AE.** Effect of vacuum and pulsation rate on milking ability in egyptian buffaloes. *Buffalo J*, v.8, p.1-7, 1992.
- Bannerman DD, Paape MJ, Lee JW, Zhao X, Hope JC, Rainard P.** *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* elicit differential innate immune responses following intramammary infection. *Clin Diagn Lab Immunol*, v.11, p.463-472, 2004.
- Bhatia KL, Valsa C.** Changes in buffalo lactoferrin level in milk during lactation. In: World Buffalo Congress, 4, 1994, São Paulo, SP. *Proceedings...* São Paulo: Associação Brasileira de Criadores de Búfalos, 1994a. p.159-161.
- Bhatia KL, Valsa C.** Lactoferrin level in buffalo milk. In: World Buffalo Congress, 4, 1994, São Paulo, SP. *Proceedings...* São Paulo: Associação Brasileira de Criadores de Búfalos, 1994b. p.162-164.
- Butler JE.** Immunoglobulins and immunocytes in animal milks. In: Ogra PL, Mestecky J, Lamm ME, Strober W, Bienestock J, McGhee JR (Ed.). *Mucosal immunology.* New York: Academic Press, 1999. p.1531-1554.
- Carvalho LB.** *Padrão de infecção intramamária em búfalas (Bubalus bubalis) da região do Alto São Francisco – MG.* 2005. 37f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005.
- Cerón-Muñoz M, Tonhati H, Duarte J, Oliveira J, Muñoz-Berrocal M, Jurado-Gámez H.** Factors affecting somatic cell counts and their relations with milk and milk constituent yield in buffaloes. *J Dairy Sci*, v.85, p.2885-2889, 2002.
- Chen PW, Yang CB, Hsu JT, Mão CHF.** Evaluation of lactoferrin concentrations in goat milk from udder inoculated with *Staphylococcus aureus*. *Taiwan Vet J*, v.30, p.11-19, 2004.
- Dang AK, Ludri RS.** Scanning electron microscopy of the buffalo mammary gland induced into lactation. *Buffalo J*, v.17, p.277-280, 2001.
- Dhakal IP.** Normal somatic cell count and subclinical mastitis in Murrah buffaloes. *Buffalo J*, v.20, p.261-270, 2004.
- Escrivão SC.** *Avaliação morfológica, ultrassonográfica e videoteloscópica em papilas mamárias de fêmeas bubalinas mestiças.* 2005. 55f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005.
- Galiero G, Morena C.** The meaning of the Somatic Cell Count in buffalo milk. *Bubalus bubalis*, v.6, p.26-27, 2000.
- Guarino A, Baldi L, Fusco G, Landolfi MC, Russo A.** Types of cells present in buffalo's milk. In: World Buffalo Congress, 4, 1994, São Paulo, SP. *Proceedings ...* São Paulo: Associação Brasileira dos Criadores de Búfalos, 1994. p.187-189.

- Kumar R, Bhatia KL.** Lactoperoxidase activity in buffalo milk and whey *In: World Buffalo Congress, 4, 1994, São Paulo, SP. Proceedings...* São Paulo: Associação Brasileira de Criadores de Búfalos, 1994. p.168-170.
- Mahrán GA, El-Alamy HA, Mahfouz MB, Hegazi AG, El-Loly MM, El-Kholy AF.** Immunoglobulins of buffaloes' milk. *In: World Buffalo Congress, 5, 1997, Caserta, Itália. Proceedings...* Caserta: [s.n.], 1997. p.13-16.
- Matheswaran K, Raj GD, Nachimuthu K.** Demonstration of alternative and classical complement pathway activity in colostrum from buffalo (*Bubalus bubalis*). *Vet Res Comm.*, v.27, p.445-452, 2003
- Mehrzaad J, Duchateau L, Burvenich C.** High milk neutrophil chemiluminescence limits the severity of bovine coliform mastitis. *Vet Res*, v.36, p.101-116, 2005a.
- Mehrzaad J, Duchateau L, Burvenich C.** Viability of milk neutrophils and severity of bovine coliform mastitis. *J Dairy Sci*, v.87, p.4150-4162, 2004.
- Mehrzaad J, Desrosiers C, Lauzon K, Robitaille G, Zhao X, Lacasse P.** Proteases involved in mammary tissue damage during endotoxin-induced mastitis in dairy cows. *J Dairy Sci*, v.88, p.211-222, 2005b.
- Morgante M, Beghelli D, Pauselli M, Dall'ara P, Capuccella M, Ranucci S.** Effect of administration of vitamin E and selenium during the dry period on mammary health and milk cell counts in dairy ewes. *J Dairy Sci*, v.82, p.623-631, 1999.
- Nickerson SC.** Effect of cytokines on bovine mammary gland immunity. *SAAS Bull Biochemistry Biotechnol*, v.4, p.60-67, 1991.
- Paape MJ, Contreras A, Ledbetter TK.** Variation among goats in the ability of their polymorphonuclear neutrophils leukocytes and mammary secretions to support phagocytosis: inhibitory effects of milk fat globules. *Small Rum Res*, v.54, p.183-189, 2004.
- Pastoret PP et al.** *Handbook of vertebrate immunology*. San Diego: Academic Press, 1998.
- Patil NA, Harapanahalli MD, Mulia JA, Hosmani SV, Pugashetti BK.** Comparative study on prevalence and diagnosis of subclinical mastitis in cows and buffaloes. *Indian J Dairy Sci*, v.48, p.478-479, 1995.
- Perkins KH, VandeHaar MJ, Burton JL, Liesman JS, Erskine RJ, Elsasser TH.** Clinical responses to intramammary endotoxin infusion in dairy cows subjected to feed restriction. *J Dairy Sci*, v.85, p.1724-1731, 2002.
- Puvogel G, Baumrucker CR, Sauerwein H, Ruhl R, Ontsouka E, Hammon HM, Blum JW.** Effects of an enhanced vitamin A intake during the dry period on retinoids, lactoferrin, IGF system, mammary gland epithelial cell apoptosis, and subsequent lactation in cows. *J Dairy Sci*, v. 88, p.1785-1800, 2005
- Quiroga GH, Nickerson SC, Adkinson RW.** Histologic response of the heifer mammary gland to intramammary infusion of Interleukin-2 or Interferon- γ . *J Dairy Sci*, v.76, p.2913-2924, 1993
- Rahman ZU, Rahman SU, Haq IU.** Effect of antioxidants on immune response of polymorphonuclear cells of blood, colostrums and milk of buffaloes. *In: World Buffalo Congress, 5, 1997, Caserta, Itália. Proceedings...* Caserta: [s.n.], 1997. p.249-253
- Rose MT, Aso H, Yonekura S, Komatsu T, Hagino A, Ozutsumi K, Obara Y.** In vitro differentiation of a cloned bovine mammary epithelial cell. *J Dairy Res*, v.69, p.345-355, 2002.
- Shailja, Singh M.** Post milking teat dip effect on somatic cell count, milk production and composition in cows and buffaloes. *Asian Austr J Anim Sci*, v.15, p.1517-1522, 2002.
- Senft B, Meyer F, Hartmann ML.** Die Bedeutung der Proteine des Strichkanalkeratins im Abwehrsystem der bovinen Milchdrüse. *Milchwissenschaft*, v.45, p.295-298, 1990a.
- Senft B, Meyer F, Romer R.** Die Bedeutung der Lipide des Strichkanalkeratins im Abwehrsystem der bovinen Milchdrüse. *Milchwissenschaft*, v.45, p.18-21, 1990b.
- Shi XJ, Xia C, Wang M.** Cloning and expression of water buffalo IFN-alpha genes and its antiviral activities. *J Agric Biotechnol*, v.12, p.288-293, 2004.
- Sordillo LM, Daley MJ.** Role of cytokines in the prevention and treatment of mastitis. *In: Meyers MJ, Murtaugh MP (Ed.). Cytokines in animal health and disease*. New York: M Dekker, 1995. p.389-419.
- Tizard IR.** Interferons. *In: Meyers MJ, Murtaugh MP (Ed.). Cytokines in animal health and disease*. New York: M Dekker, 1995. p.1-57.
- Uppal SK, Singh KB, Roy KS, Nauriyal DC, Bansal BK.** Natural defense mechanism against mastitis: a comparative histomorphology of buffalo and cow teat canal. *Buffalo J*, v.10, p.125-131, 1994.
- Vieira LC, Lourenço Junior JB, Hunh S, Batista HAM, Hantani AK.** Microbiology of buffalo milk under different hygienic conditions. *In: World Buffalo Congress, 4, 1994, São Paulo, SP. Proceedings...* São Paulo: Associação Brasileira dos Criadores de Búfalos, 1994. p.174-176.
- Wellnitz O, Kerr DE.** Cryopreserved bovine mammary cells to model epithelial response to infection. *Vet Immunol Immunopathol*, v.101, p.191-202, 2004.