

MELHORAMENTO GENÉTICO VISANDO À RESISTÊNCIA A MASTITE EM BOVINOS LEITEIROS

BREEDING AIMING MASTITIS RESISTANCE IN DAIRY CATTLE

Jardim, J.G.^{1*}; Quirino, C.R.¹; Pacheco, A.² e Lima, G.R.S.¹

¹Laboratório de Reprodução e Melhoramento Genético Animal. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. UENF. Campos dos Goytacazes, RJ. Brasil. *jugazzoni@hotmail.com

²Departamento de Zootecnia. Universidade Federal do Oeste do Pará. UFOPA. Santarém, PA. Brasil.

PALAVRAS CHAVE ADICIONAIS

Imunidade. Parâmetros genéticos.

ADDITIONAL KEYWORDS

Immunity. Genetic parameters.

RESUMO

Com essa revisão, objetivou-se traçar a trajetória dos estudos sobre as características físicas, ambientais e genéticas de resistência à mastite. Uma característica complexa e multifatorial pode ser adquirida por traumas físicos, alterações fisiológicas e metabólicas, microrganismos patogênicos ambientais ou contagiosos e por componentes genéticos envolvidos na resposta imune. As maiores perdas estão relacionadas à diminuição da produção e qualidade do leite, menores ganhos genéticos anuais e baixa intensidade de seleção, sendo citada como a principal doença da bovinocultura leiteira.

Diante disso, novos critérios de seleção foram estabelecidos para aumentar a produção de leite e a resistência à mastite, além da melhoria do ambiente. Estudos genômicos têm sido recomendados quando há dificuldade na coleta de dados fenotípicos e a herdabilidade da característica avaliada é baixa. Além do mais, eles são utilizados como ferramenta auxiliar ao melhoramento genético clássico para aumentar a resistência genética a doenças e desenvolver soluções tecnológicas inovadoras. Muitos trabalhos foram realizados para identificar e estudar genes candidatos envolvidos na resposta de resistência à mastite que estão correlacionadas com loci de características quantitativas (QTL - Quantitative Trait Loci) em programas de seleção assistida por marcadores moleculares. Isto permite a seleção mais rápida e precisa de bovinos pelo seu valor genético genômico, estimado a partir de equações

de predição, tornando o melhoramento genético um componente de uma estratégia de longo prazo para o aumento da resistência à mastite e melhoria da qualidade do leite.

SUMMARY

This review, aimed to trace the trajectory of studies about the physical, environmental and genetic characteristics of mastitis resistance. This complex and multifactorial disease can be contracted by physical trauma, physiological and metabolic changes, environmental or infectious pathogenic microorganisms and genetic components involved in the immune response. The greatest losses are related to decreased production and quality of milk, lower annual genetic gains and low intensity selection, cited as the main disease of dairy cattle.

Thus, new selection criteria were established to increase milk production and mastitis resistance, besides improving the environment. Genomic studies have been recommended when there are difficulty in collecting phenotypic data and the heritability of the studied characteristic is low. Therefore, they are used as an auxiliary tool in classic animal breeding to increase the genetic resistance to of disease and develop innovative technological solutions. Many studies have been conducted to identify and study candidate genes involved in the mastitis resistance response that is correlated with the Quantitative Trait Loci (QTL)

in selection programs assisted by molecular markers. This can allow a faster and accurate selection of cattle for their genomic breeding value, which is estimated with prediction equations making genetic improvement a component of a long-term strategy for increasing mastitis resistance and improving the quality of the milk.

INTRODUÇÃO

Dentre todas as doenças que acometem o rebanho leiteiro e compromete a qualidade do leite, a mastite é que ocupa lugar de destaque por possuir importância econômica e para a saúde pública (Fagundes e Oliveira, 2004). Esta doença é dada pela inflamação da glândula mamária que pode ser causada por muitos fatores, sendo os agentes infecciosos, principalmente as bactérias, os mais importantes. A mastite pode ser classificada como clínica ou subclínica. A mastite clínica apresenta sinais evidentes como edema, aumento de temperatura, endurecimento, dor na glândula mamária, grumos e pus no leite, mostrando alterações das características físicas do leite. Na forma subclínica não se observam alterações macroscópicas e sim alterações na composição do leite; portanto, não apresenta sinais visíveis de inflamação da glândula mamaria (Hansen *et al.*, 2004). Pode-se afirmar que a mastite subclínica está presente em boa parte dos rebanhos leiteiros, sendo detectada pela contagem direta ou indireta de células somáticas no leite (Li *et al.*, 2014). Ela pode ser causada por agentes oriundos do ambiente e/ou do próprio animal, determinando perdas ao produtor, tanto pela redução na produção de leite das vacas quanto pelos gastos com medicamentos, principalmente, antibióticos, na tentativa de controle da doença (Lopes *et al.*, 2013). Resíduos de antibióticos no leite de consumo representam riscos à saúde pública e interferem na produção dos derivados, inviabilizando muitas vezes a produção destes (Pinto *et al.*, 2001), os quais caminham em sentido contrário ao desejo do consumidor, que intenciona ad-

quirir produtos de qualidade, sem presença de drogas e que não ofereçam risco à saúde e ao meio ambiente (Mc Cartney, 2005). Os países escandinavos foram os primeiros a considerar a saúde do úbere em seus objetivos de seleção para gado de leite, a partir dos anos 80 (Heringstad *et al.*, 2000). Mais recentemente nas últimas décadas, muitos outros países modificaram seus objetivos de seleção, as principais razões por trás dessa mudança foram a busca pela maximização da rentabilidade e redução dos custos de produção, juntamente com a deterioração da saúde e fertilidade das vacas leiteiras, em resposta a crescente preocupação do consumidor com o bem-estar animal e a qualidade dos alimentos (Miglior *et al.*, 2005).

O termo resistência a doenças implicitamente confunde infecção (invasão por um patógeno ou parasita) com doença (consequência negativa de ser infectado). Resistência é mais bem compreendido a partir de uma consideração ecológica da interação entre hospedeiro e as espécies de patógenos (Grenfell e Dobson, 1995), definida como a capacidade do hospedeiro de exercer algum grau de controle sobre o ciclo de vida do patógeno (Bishop e Stear, 2003; Bishop, 2012). Essa definição ampla abrange as muitas maneiras que espécies hospedeiras podem ser mais resistentes (por exemplo, menor probabilidade de serem infectadas, redução da proliferação do patógeno uma vez infectado ou a transmissão da infecção), e inerentemente também reconhece que a resistência é geralmente relativa e não absoluta. Isso também implica que os impactos da resistência sobre a população são alterados como um todo, enquanto alguns atributos beneficiam o hospedeiro individual, outros (tais como a redução da transmissão da infecção) beneficiam a população hospedeira. Tolerância é diferente de resistência, a tolerância pode ser definida como o impacto sobre o desempenho de um determinado nível de infecção, ou seja, a regressão de

MELHORAMENTO DA RESISTÊNCIA A MASTITE EM BOVINOS LEITEIROS

desempenho em função da carga de patógenos. Já a resiliência pode ser definida como a produtividade de um animal diante de uma infecção; a resistência implica ao hospedeiro uma influência deletéria sobre a aptidão do patógeno, os hospedeiros com uma maior tolerância são aqueles capazes de manter uma maior aptidão quando a carga do patógeno aumenta (Doeschl-Wilson *et al.*, 2012). A suscetibilidade à infecção é uma característica controlada geneticamente. Os animais que não estão infectados são os mais resistentes à infecção (em termos de suscetibilidade à infecção por si só) e, portanto, mais interessante ao melhorista. Contudo, eles não apresentam um fenótipo útil para avaliar a tolerância, apenas os animais menos resistentes fornecem informações sobre a tolerância. A tolerância, por definição, foca nos animais menos resistentes ao invés dos mais resistentes, apresentando características equivocadas dos animais ao melhorista (Bishop e Woolliams, 2014).

A genética desempenha um papel importante na resistência à mastite, visto que em termos de rebanho algumas vacas, dividem o mesmo ambiente e manejo, raramente se tornam infectadas, devido em grande parte dos casos, à variabilidade na resposta imune do hospedeiro à infecção (Bishop, 2010). A resposta à resistência à mastite é uma característica complexa e os genes envolvidos na resposta imune têm sido indicados como fortes candidatos para determinar a resistência de animais (Ferens *et al.*, 1998; Alluwaimi *et al.*, 2003; Rambeaud *et al.*, 2003; Oviedo-Boyso *et al.*, 2007; Fonseca *et al.*, 2009). O sistema imunológico é um mecanismo específico que um animal tem para limitar infecções, sendo fundamental para a sobrevivência do animal e, por isso, precisa atuar de forma eficiente. A imunidade pode ser classificada em imunidade inata ou inespecífica, e a imunidade adquirida ou específica. A imunidade inata independe de um contato prévio com o agente patogênico, pois é pré-

existente e age da mesma maneira qualquer que seja este agente patogênico. Por outro lado, a imunidade adquirida é um processo de aprendizagem do sistema imune, voltado ao combate de um agente patogênico único. Por isso, requer um contato prévio com este agente, de forma a desencadear no organismo o processo de reconhecimento e eliminação do patógeno. Este contato pode ser uma infecção anterior, a presença do agente em outros pontos do organismo, ou a vacinação contra o agente. Em conjunto, esses sistemas contribuem para uma defesa notavelmente eficaz, garantindo que os animais apresentem resistência às enfermidades (Tizard, 2008).

A mastite caracteriza-se por uma resposta inflamatória na glândula mamária, causada por alterações metabólicas e fisiológicas, traumas, ou mais frequentemente por microrganismos patogênicos ambientais ou contagiosos, cuja rapidez e eficácia de resposta imune do hospedeiro contra o patógeno constituem um fator crucial para o estabelecimento, persistência e gravidade da infecção. Estima-se que as perdas econômicas mundiais causadas pela doença podem alcançar 35 bilhões de dólares por ano (Martins *et al.*, 2011). Progressos profiláticos consideráveis são obtidos na ação contra agentes contagiosos como *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*, mas a mastite causada por microrganismos ambientais como *Streptococcus uberis* e *Escherichia coli* é o principal desafio para a indústria leiteira moderna, parecendo assim que os meios convencionais para prevenir a mastite podem ser ineficientes (Santos, 2005). 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. Do ponto de vista do

melhoramento genético, esses problemas ainda estão relacionados com menores ganhos genéticos anuais, provocando aumentos no intervalo de gerações e, ou, diminuição da intensidade de seleção. Nesse contexto, a genética é ferramenta imprescindível para a melhoria das características de importância econômica, como a de resistência a doenças (Martins *et al.*, 2012).

Este artigo fornece uma visão abrangente da trajetória dos estudos sobre as características físicas, ambientais e genéticas de resistência à mastite e assim contribui para a construção dessa nova concepção no melhoramento genético animal.

FATORES QUE INFLUENCIAM O DESENVOLVIMENTO DA RESISTÊNCIA NA GLÂNDULA MAMÁRIA

A glândula mamária é um órgão complexo responsável pela secreção de leite necessário para alimentar o bezerro recém-nascido. Fatores imunológicos específicos e inatos associados ao úbere desempenham um papel vital na proteção da glândula contra infecções e resistência a doenças. Fatores associados ao manejo intenso das vacas podem afetar profundamente a imunidade da glândula mamária e da capacidade do hospedeiro de resistir à mastite (Sordillo, 2005).

DEFESAS ANATÔMICAS

A glândula mamaria bovina é equipada com uma barreira anatômica não imune e uma infinidade de mecanismos de defesa imuno-mediadas que incluem resposta imune inata e adaptativa (Borghesi e Milcarek, 2007). Como parte do sistema imune inato, as barreiras físicas do úbere, incluindo a pele, o esfíncter do teto e a queratina, trabalham juntos para impedir a entrada de bactérias (Thompson-Crispi *et al.*, 2014a).

O esfíncter e o canal do teto são mecanismos de defesa primários da glândula mamária, os quais possuem propriedades

defensivas como um mecanismo de oclusão relativamente eficiente, a roseta de Furtenberg, e ainda, proteínas bactericidas (Sordillo *et al.*, 1997). Um mecanismo adicional de defesa do teto é o seu revestimento por uma camada de queratina (composta por células epiteliais descamadas, ácidos graxos e proteínas catiônicas). Há evidências de que a queratina tenha função de adsorver as bactérias, prendendo-as e removendo-as juntamente com parte da camada de queratina durante o processo de ordenha. Os ácidos graxos queratinizados (láurico, mirístico e palminoleico) estão associados à resistência as infecções intramamárias, agem como bactericidas e bacteriostáticos, todavia, os ácidos esteárico, oleico e linoleico favorecem a suscetibilidade à mastite. Aos ácidos graxos queratinizados estão ligados proteínas que causam lise em algumas células bacterianas *Gram* positivas (Paulrud, 2005). Além disso, as proteínas catiônicas tem um efeito inibidor contra alguns agentes patogênicos como *S. aureus* e *S. agalactiae* (Hibbitt e Benians, 1971), semelhante à de proteínas que foram isoladas a partir de neutrófilos bovinos (Gennaro *et al.*, 1983). No entanto, a eficácia antimicrobiana de queratina é limitada (Capuco *et al.*, 1992), apesar da forte proteção física e química no canal do teto, existem várias maneiras pelas quais as bactérias podem penetrar no mesmo e causar infecção, por exemplo, a terapia incorreta de infusão intramamária ou por falhas de regulação da ordenhadeira (Nickerson, 1990). Durante a ordenha, é comum que a queratina seja *lavada* com distensão do canal do teto (Garcia-Penarrubia, 1989). Porque o esfíncter demora cerca de 2 horas, para retornar a sua posição contraída, existe a possibilidade de agentes patogênicos presentes na parte de fora entrar no canal do teto, causando danos para a queratina ou nas membranas que revestem o teto e podem ser mais suscetíveis à mastite (Erskine *et al.*, 1989; Allison *et al.*, 1991). O formato do teto tem uma moderada a alta herdabilidade. Ex-

MELHORAMENTO DA RESISTÊNCIA A MASTITE EM BOVINOS LEITEIROS

tremidades pontiagudas ou arredondadas parecem ter maior resistência à infecções intra mamárias e extremidades planas ou invertidas são menos resistentes. A Infusão intramamária reduz os mecanismos de defesa naturais do canal do teto por dilatar o mesmo, por remover parcialmente ou integralmente a queratina, levando em média 2-4 semanas para se regenerar, e empurra os microrganismos para a cisterna do teto. Uma solução para este problema seria a inserção parcial da agulha para dentro da extremidade do teto, resultando numa maior eficácia do tratamento. Isto resulta na deposição do antibiótico para o canal estriado. Além disso, durante a ordenha mecânica, os microrganismos presentes na extremidade do teto são impelidos para a cisterna através do ducto do teto. Este mecanismo é considerado o principal mecanismo de propagação de agentes patogênicos da mastite contagiosa (Capuco *et al.*, 1992; Sordillo *et al.*, 1997). Fatores que afetam a integridade da camada de queratina podem, portanto, afetar a suscetibilidade à mastite.

As bactérias podem escapar dos mecanismos de defesa naturais por inoculação direta na cisterna do teto através de infusão intramamária, pela multiplicação de colônias de bactérias ao longo do canal (especialmente após a ordenha), ou por propulsão pela flutuação do vácuo no final do teto durante a ordenha (Compton *et al.*, 2007). Uma vez passada a barreira física do canal, patógenos invasores são confrontados com o sistema imunológico. Na maior parte dos tecidos, o sistema imunitário geralmente supera as bactérias. No entanto, na glândula mamária, um número de fatores pode comprometer a eficácia dos componentes imunológicos, como indicado acima.

DEFESA CELULAR

O leite de todos os mamíferos contém diferentes tipos de células, cuja origem é o próprio organismo. As células somáticas (CS) são um componente importante, naturalmente presente no leite, cuja função é

proteger a glândula mamária contra infecções, fazendo parte do sistema imune inato. As CS do leite consistem em vários tipos celulares, incluindo neutrófilos, macrófagos, linfócitos originados do sangue que migram para o úbere e uma menor percentagem de células epiteliais da glândula mamária. Quando bactérias ou outro tipo de patógeno invadem o úbere de uma vaca, ocorre de imediato uma resposta inflamatória a esta infecção. As células de defesa do sangue são transportadas para a glândula mamária com objetivo de destruir as bactérias, causando a mastite. Com isso, a consequência direta é o aumento do número de CS no leite. A contagem de células somáticas (CCS) é utilizada como um indicador da saúde do úbere e da qualidade do leite (Li *et al.*, 2014). Em uma glândula mamária saudável em lactação, a CCS total é muitas vezes menor que 20^5 CS/ml de leite. Durante uma infecção intramamária bacteriana, no entanto, a CCS total pode aumentar para mais de 10^6 CS/ml de leite dentro de poucas horas (Oviedo-Boyso *et al.*, 2007). A CCS no leite é influenciada por vários fatores, como a espécie animal, o nível de produção de leite, estágio de lactação, e também os fatores individuais e ambientais, bem como práticas de manejo (Rupp *et al.*, 2000). A severidade e duração da mastite estão relacionadas com a rapidez da resposta migratória de leucócitos e a atividade bactericida de CS no local da infecção, vacas capazes de mobilizar um grande número de células somáticas apresentam maior resistência à mastite (Hibbitt, 1983; Rainard e Riollet, 2003).

O sistema imune adaptativo utiliza diversos receptores de antígeno específicos, linfócitos B e T para regular ou eliminar um sinal provocado por eventos de reconhecimento. Além disso, a resposta imune adaptativa induzida tem a capacidade de estabelecer memória específica do antígeno para uma resposta rápida e aumentada por exposição subsequente ao mesmo antígeno (Iwasaki e Medzhitov,

2010). Os vários componentes do sistema imune que trabalham em colaboração, tanto local como sistemicamente em uma tentativa de controlar patógenos causadores de mastite específicos da glândula mamária, mas a resposta depende do estágio da infecção e da natureza do patógeno, bem como a sua interação com a genética do hospedeiro (Wellnitz e Bruckmaier, 2012). A interação entre os agentes patogênicos causadores de mastite e o sistema imune do hospedeiro é complexo, uma vez que ambos têm a capacidade de co-evoluir para reconhecer, responder, e adaptar-se ao outro. Assim, patógenos microbianos desenvolveram várias estratégias para alterar e evitar as defesas do hospedeiro para sobreviver. É importante notar que o sistema imunitário do hospedeiro também é adaptativo e tem um grande arsenal para controlar ou eliminar a ameaça microbiana. Mesmo assim, é amplamente aceito que a suscetibilidade de indivíduos de uma dada espécie diferente para o mesmo patógeno microbiano. Esta variabilidade na interação patógeno-hospedeiro é controlada pela constituição genética do hospedeiro, incluindo as respostas imunológicas inata e adaptativa, em especial a memória imunológica adquirida, assim como a natureza do agente patogênico microbiano (Hermann, 2007).

AUMENTO DA RESISTÊNCIA DOS PATÓGENOS ÀS DROGAS

Dentre as medidas adotadas para redução dos índices de infecção da glândula mamária, está a adoção de medidas higiênicas durante a ordenha, bem como a utilização de antibióticos no controle das infecções intramamárias e na eliminação de prováveis fontes de infecção nas fazendas leiteiras (Erskine, 2000). Os antimicrobianos utilizados no tratamento da mastite podem ser administrados por via sistêmica ou intramamária. A via intramamária apresenta a vantagem de atingir altas concentrações

no tecido alvo. Já a eficácia da via sistêmica depende da passagem da droga para o tecido mamário (Souza *et al.*, 2009). Fatores inerentes ao animal e ao agente podem favorecer ou prejudicar o sucesso da terapia como a duração da infecção, a presença e intensidade de edema, a CCS, o volume da mama, a produção diária de leite, o número de quartos infectados, o estágio de lactação, a idade, a frequência de ordenhas, a cepa bacteriana, a resistência a antimicrobianos, a carga bacteriana (Unidades Formadoras de Colônia/ml) e as alterações à palpação da glândula entre outros (Gehring e Smith, 2006).

Patógenos que residem em compartimentos não invasivos (leite e ductos) e não causam a formação de abscessos, devem ser preferencialmente eliminados pela terapia intramamária. Entretanto patógenos que habitam regiões mais profundas ou formam abscessos, como *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus uberis*, a terapia sistêmica pode ser indicada (Erskine *et al.*, 2003). Deve-se considerar também, a possibilidade de terapias combinadas, as interações medicamentosas entre os fármacos, como por exemplo, o efeito sinérgico entre penicilina e o neomicina contra cepas de *S. aureus* isolados de animais com mastite (Barkema *et al.*, 2006). Outro fator a ser considerado é a habilidade de certos patógenos de internalizar em células epiteliais mamárias, como *S. aureus*, *S. uberis* e *S. dysgalactiae*. Nestes casos, a utilização de antimicrobianos que conseguem atravessar membranas celulares e exercer seu efeito microbicida, como a penicilina G é recomendável (Almeida *et al.*, 2007). Dentre os principais antimicrobianos administrados ao rebanho leiteiro, encontram-se os β -lactâmicos (representados principalmente pelas penicilinas e cefalosporinas) (Bruno *et al.*, 2001), os aminoglicosídeos, o cloranfenicol, as tetraciclínas e os macrolídeos (Schenck e Callery, 1998). Estudo realizado no Brasil por Netto *et al.* (2005), aponta o grupo dos β -lactâmicos como o mais difundido entre

MELHORAMENTO DA RESISTÊNCIA A MASTITE EM BOVINOS LEITEIROS

os antibióticos utilizados no tratamento de infecções em vacas leiteiras na região Sul do País, representando 38, 22 % do total de antibióticos, seguido de aminoglicosídeos (25, 19 %), tetraciclinas (15, 41 %), macrolídeos (7, 59 %) e cefalosporinas (4, 19 %). Dentre os antimicrobianos utilizados para tratamento das infecções intra mamárias, danofloxacina, enrofloxacina e florfenicol foram aqueles que apresentaram maior efetividade *in vitro* frente aos isolados testados, fazendo destes uma opção de tratamento das mastites ocasionadas por *Staphylococcus coagulase negativa* (Santos, 2011). O tratamento intramamário com antibióticos (cefalexina 200 mg + 250 mg neomicina) foi efetivo, 45 dias antes da data prevista do parto de novilhas, além de prevenir altas CCS (Bastan *et al.*, 2010).

A veiculação do antibiótico para o leite depende de uma série de fatores: dose administrada, natureza do veículo utilizado (se aquoso ou oleoso), do tipo do antibiótico e de fatores intrínsecos ao animal tratado. Calcula-se que cerca de 30 a 80 % do antibiótico aplicado diretamente na glândula mamária passem da corrente sanguínea para o leite; geralmente, as preparações aquosas persistem por três dias; as oleosas são eliminadas após cinco dias ou mais. Assim, devem-se respeitar rigorosamente os períodos de suspensão prescritos para cada tipo de medicamento administrado no período próximo à ordenha; caso contrário, todo o leite deve ser descartado (Tronco, 2008). No entanto, o uso inadequado de antibióticos no tratamento da doença pode gerar o aparecimento de cepas resistentes e comprometer a eficiência do tratamento (Barberio *et al.*, 2002). Sempre que possível, o tratamento com agentes antimicrobianos deve ser selecionado tendo em conta os resultados dos antibiogramas, que consistem em testes que determinam a sensibilidade dos agentes microbianos aos diferentes antibióticos (Costa, 2006).

Dentre os fármacos utilizados nas infecções estafilocócicas, os β -lactâmicos

são mais frequentes, limitando assim, a escolha do antibiótico para o tratamento das infecções causadas por este agente (Coelho *et al.*, 2009). A resistência estafilocócica aos antibióticos betalactâmicos deve-se principalmente a dois mecanismos distintos: a produção da enzima extracelular betalactamase, codificada pelo gene *blaZ*, geralmente alocado em plasmídeos, podendo também ser cromossomal, podendo ser constitutiva ou regulada pela presença do antibiótico, através de dois genes adjacentes, *blaI* e *blaR1*, onde o primeiro é um repressor da transcrição de *blaZ*, e o segundo, um anti-repressor (Lowy, 2003) e a produção de *penicillin binding protein* (PBP2a ou PBP2'), uma proteína ligante de penicilina de baixa afinidade, codificada pelo gene *mecA* (Kuroda *et al.*, 2001). Seu mecanismo de ação consiste na inibição de enzimas com função de transpeptidases, que atuam nas etapas finais da formação da parede celular das bactérias, conhecidas como PBP. A expressão do gene *mecA* é constitutiva ou induzida por antibióticos betalactâmicos, como a oxacilina e cefoxitina (Lowy, 2003). O gene *mecA* induz resistência à oxacilina e, também, acarreta falhas terapêuticas quando outros β -lactâmicos ou outras classes de antibióticos são utilizadas (Moon *et al.*, 2007). A transferência horizontal do gene *mecA* em *Staphylococcus spp.* contribui para a circulação mundial de clones oxacilina e tem sido apontado como mecanismo comum de resistência a fármacos (Tramper-Stranders *et al.*, 2007). Estudos apontam o envolvimento do gene *mecA* com a multirresistência bacteriana a *Staphylococcus aureus*, sendo este gene encontrado em 70 % das amostras colhidas, além de 96, 6 % das amostras de *Staphylococcus aureus* foram detectadas a produção de betalactamases. 26, 6 % das amostras foram consideradas multirresistentes para os de 4 antibióticos testados por Pribul *et al.* (2011). Dentre os isolados, 33 (28 %) foram resistentes à penicilina, 25 (21 %) à estreptomicina, 22 (18 %) à ampi-

cilina e 17 (14%) à tetraciclina. Verificaram-se índices de resistência inferiores a 5 % para as cefalosporinas, gentamicina, novobiocina, cloranfenicol, nitrofurantóina, polimixina B e para as associações de sulfametoxazol e trimetoprim e de neomicina, bacitracina e tetraciclina (Santos, 2011).

A terapia da vaca seca com antibióticos pode diminuir a incidência de infecções existentes na secagem e reduz a incidência de novas infecções durante o período seco (Lents *et al.*, 2007). Porém, deve-se estudar qual droga utilizar e ficar atento para os antibióticos mais usados na fazenda não sejam os mais resistentes, diminuindo a eficiência no tratamento, geralmente por subdosagem, má aplicação do medicamento e tempo curto de tratamento. Níveis terapêuticos dos antibióticos na secagem podem persistir em média 14 a 28 dias após a aplicação, ocorrendo, na maioria das vezes, a incapacidade de proteger o úbere durante todo o período seco (Petzer *et al.*, 2009).

O surgimento de resistência a antimicrobianos em bactérias traz grandes obstáculos a procedimentos médicos tanto em humanos quanto em animais, resultando em aumento das taxas de mortalidade e morbidade na população e dos custos de tratamento de várias enfermidades (Padilha, 2004). A melhor forma de se controlar e prevenir a mastite no rebanho é realizar o tratamento dos animais em lactação na secagem, levando em consideração as boas práticas de uso de antimicrobianos e boas práticas de ordenha, através de um bom manejo e revisão periódica dos equipamentos. O estado de saúde das vacas leiteiras deve ser controlado para que não constituam riscos para a saúde pública: o tratamento e a prevenção de doenças no rebanho devem ser feitos apenas com medicamentos veterinários autorizados e de maneira que não afete negativamente a inocuidade e idoneidade do leite (ONU/FAO, 2009).

BASES DO MELHORAMENTO ANIMAL

PARA RESISTÊNCIA À MASTITE

CRITÉRIO DE SELEÇÃO PARA SAÚDE DO ÚBERE

As vacas leiteiras especializadas são o produto de vários séculos de acasalamentos e melhoramento genético com o objetivo de aumentar a produção de leite, e, em seguida, melhorar os teores de gordura e de proteína (Santos, 2005). Nos últimos anos tem havido um crescente interesse nos países europeus em ampliar os objetivos de seleção, incluindo características de saúde e fertilidade (Miglior *et al.*, 2005). Um critério de seleção deve ser uma característica biologicamente relevante que é geneticamente bem correlacionada com a resistência à mastite, apresentar variabilidade genética suficiente e ter propriedades operacionais sendo de fácil mensuração em larga escala. A CCS é o critério mais usado para indicar a saúde do úbere, pois mede a capacidade da vaca para resistir à infecção por patógenos. Dados de CCS são rotineiramente anotados e armazenados em grandes bases de dados em muitos países. Nos países Escandinavos, como Suécia, Finlândia, Noruega e Dinamarca, por exemplo, isso já é praticado há mais de 20 anos, eles focam a mastite clínica (MC) em seus critérios de seleção para saúde do úbere e consideram a CCS (Heringstad *et al.*, 2000). Heringstad *et al.* (2007), avaliaram a resposta a seleção baseada em MC em um experimento iniciado em 1989, usando touros de inseminação artificial; depois de cinco gerações selecionando essa única característica, o autor relatou uma diminuição na frequência de MC de 15 % para menos de 5 %, demonstrando que houve uma melhoria considerável na resistência a mastite fornecida pelos dados de MC. A CCS tem uma herdabilidade mais elevada (0,08-0,19) do que a MC, permitindo o progresso genético mais eficaz (Heringstad *et al.*, 2003). Além disso, a correlação genética entre CCS e incidência de MC tem sido demonstrada relativamente elevada (0,6-0,8) e indica que o progresso pode ser feito na redução da

MELHORAMENTO DA RESISTÊNCIA A MASTITE EM BOVINOS LEITEIROS

MC, selecionando para a redução da CCS. (Heringstad *et al.*, 2003, 2006; Nash *et al.*, 2003; Zwald *et al.*, 2006). Os casos clínicos de mastite também são tratados como uma característica de seleção no programa de melhoramento genético para a melhoria da saúde do úbere. Vacas com casos menos frequentes e menos graves de mastite são selecionados como os pais para a próxima geração. A inclusão destes registros na avaliação e seleção de touros levou a uma tendência genética reduzida para MC nesses países. Infelizmente, herdabilidade desta característica é relativamente baixa (0,01-0,15), com maior contribuição genética observada na primeira lactação (Heringstad *et al.*, 2003; Nash *et al.*, 2003; Zwald *et al.*, 2006). No entanto, estes métodos de seleção de vacas e touros com filhas que mostram capacidade fenotípica de resistir à mastite tiveram um sucesso limitado. Isto é em parte devido à natureza complexa da doença, que é causada por mais de 100 microrganismos diferentes, que diferem na maneira como eles interagem com a resposta imunitária (Pighetti e Elliott, 2011).

No Brasil tem havido certa dificuldade em obter dados sobre os índices de ocorrência de mastite e por isso centros de pesquisa, indústrias e cooperativas, como medida indireta de ocorrência de mastite (Martins *et al.*, 2011). A variação existente entre as raças europeias e zebuínas possibilita a identificação de características associadas à resistência e/ou tolerância às doenças, aos parasitas, ao calor e à qualidade dos produtos. Tal resistência é evidente em certas raças bovinas adaptadas aos trópicos, como as zebuínas e seus mestiços (Pereira, 2012). As raças bovinas leiteiras de origem europeia (*Bos taurus*) são reconhecidamente mais produtivas e também muito mais exigentes em termos de manejo e nutrição que as raças zebuínas (*Bos indicus*). Entretanto, os animais zebuínos apresentam resistência e tolerância maior com relação às doenças e ao calor, sendo, portanto, mais adaptadas às

condições tropicais. O uso de bovinos mestiços para a produção de leite, em sistema a pasto, é uma opção comum entre os produtores de leite brasileiros e em outras regiões tropicais, cerca de 70 % do leite produzido no Brasil provem de cruzamentos Holandês - Zebu (Madalena *et al.*, 2012). A maior parte dos trabalhos realizados para identificar e estudar genes envolvidos na resposta de resistência à mastite foi conduzido em raças de origem européia; por isso, a resposta de animais zebuínos e mestiços, quando comparada com a de animais europeus, ainda é pouco caracterizada e entendida (Martins *et al.*, 2011). A maior resistência poderá ser útil nos cruzamentos com raças mais especializadas e menos tolerantes ao ambiente de criação, ou como doadoras de genes para produção de animais transgênicos (Pereira, 2012). No Canadá, a *Canadian Dairy Network* (CDN), através de avaliações genéticas oficiais criaram um índice de seleção genética para as raças Holandesa, Jersey e Ayrshire, que combina dados de mastite clínica e sub-clínica. Mastite Clínica em vacas de primeira lactação, em vacas múltíparas e CCS nas três primeiras lactações. A herdabilidade de resistência à mastite foi estimada em 12 %, indicando que a seleção genética é possível. Provas de touros para resistência à mastite tiveram uma correlação desejável de 79 % com a CCS, bem como correlações de 85 % para mastite clínica na primeira lactação e 90 % para lactações posteriores. A CCS apresentou uma associação moderada desejável com mastite clínica nas primeiras e subseqüentes lactações de 44 % e 58 %, respectivamente. A média de desempenho esperada nas três primeiras lactações das filhas associadas com o índice de resistência a mastite dos touros avaliados foi de 178, 226 e 292 mil CS/ml, respectivamente. Além disso, espera-se que 92 % das filhas na primeira lactação, não tenham mastite clínica e essa percentagem diminua para 88 % nas lactações subseqüentes. Portanto, touros superiores à média da raça tiveram

um índice de resistência à mastite maior ou igual a 100 e espera-se que produzam filhas menos suscetíveis a mastite subclínica e clínica (Doormaal e Beavers, 2014).

A Seleção genética para CCS ou MC, têm herdabilidade baixa a moderada, tornando o progresso genético relativamente lento comparado a seleção para produção de leite, uma característica altamente herdável (Nash *et al.*, 2003), mas leva a um aumento da prevalência da doença na população devido a uma correlação genética positiva entre produção de leite e mastite (Fleischer *et al.*, 2001). Sendo assim, é importante estabelecer paralelamente critérios de seleção que aumentem a produção de leite e a resistência à mastite, além de melhoria do ambiente.

ABORDAGENS MOLECULARES PARA RESISTÊNCIA À MASTITE

Abordagens moleculares são destinadas a incrementar o melhoramento quando os valores de herdabilidade são baixos e a coleta de dados fenotípicos é difícil (Martins *et al.*, 2012). É possível melhorar a resistência genética para a maioria das doenças, embora obter fenótipos de resistência em condições de campo pode ser um desafio, pela necessidade de ter animais suficientes para definir genótipos resistentes e economicamente viáveis, tornando essa determinação logisticamente complexa e cara, o que prejudica a realização de levantamentos e análises genéticas para identificação e seleção de animais resistentes (Davies *et al.*, 2009). Por esta razão, características de resistência a doenças são um alvo atraente para estudos genômicos. Um grande obstáculo para a aplicação de seleção para resistência à doença é a necessidade de exposição do animal a patógenos ou parasitas, algumas vezes não aceitável por motivos de bem-estar animal. Conseqüentemente, há um forte incentivo para a identificação de marcadores de DNA para resistência a doenças, o que tem estimulado um esforço de pesquisa conside-

rável em todo o mundo (Nicholas, 2005). Para encontrar marcadores genéticos de resistência à mastite são necessárias sofisticadas ferramentas e técnicas de biologia molecular, além de colaborações entre organizações científicas, produtores e laticínios que permitam o acesso a características fenotípicas (observáveis) para associar a informação genotípica e posteriormente realizar as associações entre estes dados através da Bioinformática.

A busca de marcadores de DNA tem procedido por dois caminhos: A seleção indireta baseada no fenótipo e também a seleção direta baseada no genótipo que procura genes diretamente relacionados a característica de interesse. A inclusão de características que estão correlacionadas com *locus* de características quantitativas (QTL – *Quantitative Trait Loci*) em programas de seleção assistida por marcadores moleculares vem permitindo a seleção mais rápida e precisa de bovinos resistentes à mastite, devido ao progresso limitado na melhoria da saúde do úbere por meio características indiretas utilizadas nos processos de seleção convencionais. (Wiggans *et al.*, 2011). Existem dois tipos de marcadores que podem ser considerados: O primeiro quando não há marcadores ligados. Eles estão próximos do gene (ou QTL) no cromossomo e alelos no gene marcador e são herdados juntos. O segundo tipo de marcador é um polimorfismo funcional no gene que controla a variação da característica. Estes marcadores são chamados marcadores diretos. Uma vez que o polimorfismo funcional é conhecido é possível prever o efeito de determinados alelos numa população. Marcadores diretos são mais úteis do que marcadores ligados para prever a variação fenotípica da característica dentro da população. No entanto, a variação em características quantitativas, tais como a resistência à mastite é controlada por vários loci, cada um responsável por uma pequena quantidade da variação global. Todos os marcadores podem ser usados na seleção

MELHORAMENTO DA RESISTÊNCIA A MASTITE EM BOVINOS LEITEIROS

para a resistência à mastite empregando a seleção assistida por marcadores (Sender *et al.*, 2013).

A vantagem da abordagem genômica é a capacidade de selecionar os animais baseados em seu DNA sem a necessidade de expô-los a uma infecção intramamária em um desafio imunológico, por exemplo (Nicholas, 2005). Para isso é necessário obter uma população segregante (F2 ou superior) resultante de um cruzamento entre duas populações que diferem na medida possível, em nível de resistência, a partir de seleção divergente ou de raças diferentes e um conjunto de marcadores de DNA que cobrem todas as regiões cromossômicas. A variação genética aditiva para resistência a doenças é onipresente dentro e entre as populações. Ao considerar a seleção como um meio de explorar a variação genética de resistência as doenças é importante perceber que as implicações de seleção podem ser mais amplas do que apenas o seu efeito sobre a população submetida a seleção (Nicholas, 2005). Mais comuns são as varreduras do genoma realizadas dentro de raças ou populações em que os dados de desempenho detalhados sobre a resistência a doenças estão disponíveis. Vários estudos desse tipo foram publicados (Rupp e Boichard, 2003; Lund *et al.*, 2008; Sahana *et al.*, 2013) e muitos outros estão em andamento. O resultado de varreduras do genoma para a resistência é a identificação de QTL ou SNP (*Single Nucleotide Polymorphism* – Polimorfismo de nucleotídeo único) baseados em preditores genômicos de resistência. Caso contrário, a acurácia da seleção vai depender de cada desafio imunológico ou prevalência da doença contínua no campo, para permitir o cálculo de EBVs (*Estimated Breeding Values* - Valores genéticos preditos) em fenótipos de resistência expressos na diminuição da incidência de doenças multifatoriais, como a mastite (Davies *et al.*, 2009).

Dentro deste contexto, a Seleção Genômica surge como forma de aumentar a

acurácia na seleção dos reprodutores, devido à predição do valor real da genética do animal antes mesmo da expressão fenotípica em suas filhas através da integração da informação genômica em ferramentas estatísticas. Os benefícios mais evidentes são a melhoria na eficiência para seleção de características de baixa herdabilidade, que possuem alto efeito ambiental, e assim respondem menos a seleção tradicional. A possibilidade de selecionar os animais numa fase precoce permite a definição de novas estratégias de melhoramento que visam impulsionar o progresso genético e reduzir custos (König *et al.*, 2009). Em comparação com os programas convencionais, a seleção genômica tem o potencial de melhorar o equilíbrio de ganho genético alcançado entre características funcionais, de produção e conformação. Assim, os critérios de seleção mais complexos relacionados com a saúde (resistência a doenças, distúrbios metabólicos e reprodutivos), eficiência alimentar, composição do leite, adaptação a diferentes ambientes e bem-estar animal estão sendo promovidos pela sociedade para a inclusão em programas de melhoramento genético (Boichard e Brochard, 2012).

A seleção genômica foi implementada em alguns países que utilizam a raça Holandesa nos programas de melhoramento (Pryce e Daetwyler, 2012). Esta raça foi escolhida e a mais estudada para o desenvolvimento desta metodologia, pois tem sido intensamente selecionada por décadas fortalecendo as associações estatísticas entre os marcadores e QTL. Além disso, muitos programas de melhoramento da raça holandesa foram criados em todo o mundo, facilitando a constituição de grandes populações de referência para utilização de genótipos, melhorando ainda mais a acurácia das predições genômicas (Lund *et al.*, 2011). Em outras raças leiteiras, várias dificuldades têm impedido a integração da seleção genômica em programas de melhoramento, pois, geralmente os programas são menores

do que os da raça Holandesa, o que torna mais difícil obter grandes populações de referência. Algumas iniciativas foram criadas para utilização de genótipos entre os países Nórdicos em parceria com o Inter-Genomics, por exemplo, para a raça Pardo Suíço em colaboração com programas de melhoramento de gado leiteiro nórdicos na Dinamarca, Suécia, Finlândia e Noruega (Jorjani *et al.*, 2011). No Brasil, também foi iniciado os trabalhos para o sequenciamento do genoma da raça Gir leiteiro visando o desenvolvimento de marcadores moleculares para utilização na seleção genética/genômica (Silva *et al.*, 2011; Fonseca, 2014). A seleção genômica ampla já é utilizada em programas de melhoramento na Alemanha, Irlanda, países escandinavos, França, Holanda, Estados Unidos, Canadá, Austrália e Nova Zelândia (Sender *et al.*, 2013).

DETECÇÃO E LOCALIZAÇÃO DE QTLs

Durante os últimos anos, muitos QTLs que afetam a mastite foram identificados em bovinos. Detecção de QTL não requer qualquer conhecimento prévio sobre os genes, mas exige informações sobre a estrutura familiar adequada com os pais heterozigotos para os QTLs e para o marcador ligado, e progênie com informações fenotípicas e marcadas. Vários estudos de associação do genoma têm sido realizados para identificar QTLs associados à resistência à mastite em gado leiteiro (Lund *et al.*, 2007, 2008; Sodeland *et al.*, 2011; Minozzi *et al.*, 2011; Meredith *et al.*, 2012; Wijga *et al.*, 2012; Sahana *et al.*, 2013). QTLs para CCS foram encontrados em quase todos os cromossomos em *Bos taurus autosome* (BTA) 1, 2, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 14, 15, 18, 20, 21, 23, 26 e 27 (Khatkar *et al.*, 2004, 2005; Minozzi *et al.*, 2011; Meredith *et al.*, 2012; Wijga *et al.*, 2012) e para MC nos cromossomos 2, 3, 6, 8, 9, 11, 14, 18 e 20 (Klungland *et al.*, 2001; Holmberg *et al.*, 2004; Schulman *et al.*, 2009; Mai *et al.*, 2010; Sodeland *et al.*, 2011). Porém, poucos cromossomos apresentam QTLs tanto para

CCS e MC, por exemplo, em BTA18 (mesmo loci), BTA11 e BTA14 (em locus diferentes). Em contraste, QTLs para CCS e MC no BTA9 e BTA11 estavam dentro de 20 cM um do outro em bovinos na Suécia (Klungland *et al.*, 2001; Schulman *et al.*, 2004). Uma das limitações das abordagens baseadas em QTL é a necessidade de identificar loci associados com o fenótipo de interesse (Cole *et al.*, 2009; Hayes *et al.*, 2010).

Os marcadores genéticos mais comumente utilizados no passado foram os microssatélites (Bishop *et al.*, 1994, Kappes *et al.*, 1997, Chu *et al.*, 2005). Desde que as novas ferramentas genéticas entraram em uso, os QTLs para resistência à mastite puderam ser detectados por varredura em todo o genoma. Usando esta nova ferramenta genética é possível identificar 50 000 SNPs com microarranjo. A identificação de um número grande de SNPs tem auxiliado nos estudos de associação com o genoma para detectar alelos que estão relacionados com a resistência à mastite. Isso permitiu a descoberta de diferenças no DNA entre os animais possibilitando conhecer seu valor genético genômico estimado (GEBV) para a resistência à mastite. Estes GEBV são calculados para estimar os efeitos do SNP a partir de equações de predição, derivados a partir de uma população de referência. Os procedimentos estatísticos utilizados podem estimar, no entanto, o efeito de haplótipos, para avaliar a relação entre SNPs e resistência à mastite. A partir desta informação, calcula-se o valor genético genômico e, se houver um amplo e preciso banco de dados para as características de interesse, pode ser obtida elevada acurácia e ganho genético (Scheffers e Weigel, 2012). Nenhum pedigree ou histórico familiar é necessário para estimar a resistência à mastite em um animal genotipado. As vantagens deste método são o baixo custo da estimativa dos valores genéticos em comparação com os métodos tradicionais, bem como a possibilidade de estimar a resistência à mastite para animais jovens.

MELHORAMENTO DA RESISTÊNCIA A MASTITE EM BOVINOS LEITEIROS

Este método de seleção não testa genes específicos, nem necessita identificar qual gene está influenciando a característica (Bouquet e Juga, 2013). Informações sobre haplótipos associados com resistência à mastite são confidenciais, mas as empresas estão muito interessadas na implementação desta tecnologia de marcadores em seus atuais e futuros programas de melhoramento (Sender *et al.*, 2013).

BUSCA POR GENES CANDIDATOS

Genes candidatos são genes cuja função conhecida sugere um possível papel na característica de interesse, tendo como objetivo a identificação de um polimorfismo funcional no gene que controla a variação da característica. Para características mal definidas, como a resistência à mastite, é difícil selecionar genes candidatos que possam controlar a característica, devido ao grande número de agentes patogênicos e mecanismos fisiológicos que contribuem para a variação observada. Apesar disso, Ogorevc *et al.* (2009) desenvolveram um extenso banco de dados de genes candidatos e marcadores genéticos para características relacionados a mastite usando diferentes abordagens, incluindo QTL, estudos de associação e genes candidatos (Hayes *et al.*, 2010).

Nos anos 30 foram identificados em ratos, o gene Nramp I, atualmente chamado de Slc11a1, a partir de observações em gerações segregantes de cruzamentos entre linhagens resistentes e suscetíveis (Nicholas, 2005). O gene BoLA (*Bovine Lymphocyte Antigen*) tem sido amplamente estudado nos últimos 20 anos em razão de sua influência sobre as características produtivas e às relacionadas à saúde animal, localiza-se no Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC – *Major Histocompatibility Complex*) do genoma bovino e que são altamente polimórficos, estão envolvidos nos processos celulares de resistência ou suscetibilidade à mastite (Rupp *et al.*, 2007), CCS (Pashmi *et al.*, 2009; Chu *et al.*, 2012),

e resposta imunitária (Thompson-Crispi *et al.*, 2014a).

Durante os últimos 10 anos, os genes associados com a resposta imune têm sido investigados para a presença de SNP associados com características relacionadas com a resistência ou suscetibilidade à mastite, incluindo TLR4 (Pant *et al.*, 2008), interleucina 10 (IL-10) (Verschoor *et al.*, 2009), osteopontina (Alain *et al.*, 2009), interleucina 8 (IL-8) e do seu receptor CXCR1 (Verbeke *et al.*, 2012), CCL2 e o seu receptor (Leyva-Baca *et al.*, 2007), bem como uma variedade de outros genes (Pighetti *et al.*, 2011). Sodeland *et al.* (2011), descobriram, com base em um estudo de associação genômica, SNPs altamente associado com MC, ambos próximos dos genes que codificam a IL-8 em BTA6 e os genes que codificam para os dois receptores de IL-8 sobre BTA2. Outras moléculas importantes na defesa do hospedeiro contra agentes patogênicos causadores de mastite, como β -defensinas foram identificadas e sua complexa regulação genética está começando a ser compreendida (Meade *et al.*, 2014). Análise da secreção do gene fosfoproteína 1 (SPP1) revelou quatro SNPs associados com a CCS EBV na terceira lactação. Um SNP localizado na região promotora do gene SPP1 foi significativamente associado com CCS EBV em todas as três lactações em filhas de touros canadenses da raça Holandesa (Quirion *et al.*, 2009). Os genes da Kappa-caseína (κ -CN) e da β -lactoglobulina (β -LG) possuem alelos e genótipos correlacionados positivamente para maiores produções de leite, bem como conteúdos de proteína, e observa-se nestes genes candidatos características desejáveis no rebanho, visando à melhoria da qualidade e produtividade dos constituintes do leite produzido pelos animais (Martins *et al.*, 2012). A viabilidade de melhoramento para resistência baseada em um SNP ou uma combinação de SNP depende do grau de variação de cada SNP explicada na resistência à mastite. Uma vez

que a mastite é uma característica genética complexa e poligênica, onde muitos genes são responsáveis pela resistência à mastite. No entanto, certos genes podem ter contribuição mais benéfica do que outros, logo, é importante que estes sejam elucidados.

A Lactoferrina bovina (bLF) é um gene membro da família de transferrina, que desempenha um papel importante como antibacteriano, anti-inflamatório, anti-oxidante, antifúngico, antiviral e atividades imunomoduladoras atuando na resposta imune inata. Pode desempenhar um papel na resistência à mastite, através de mecanismos de splicing alternativo, um mecanismo celular para determinar a diversidade de animais e regulação da expressão gênica (Huang *et al.*, 2011). Estudos recentes estão começando a descobrir informações sobre as influências epigenéticas em genes da resposta imune de bovinos (Karrow *et al.*, 2011), indicando que as alterações epigenéticas estão envolvidas na regulação das respostas imunitárias tipo I e II de mamíferos (Wilson *et al.*, 2009), incluindo os perfis de citocina de vacas leiteiras durante o período de parto, quando o risco de mastite é maior (Paibomesai *et al.*, 2013). Modificações epigenéticas também têm demonstrado desempenhar um papel nas respostas imunitárias inatas de bovinos para estimulação do reconhecimento de lipopolissacarídeo (LPS), proteína que está associada com a produção de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-8, normalmente associadas à mastite causada por *E. coli*. Além disso, microRNA foram encontrados para ser diferencialmente expressos após o desafio com patógenos causadores de mastite, sugerindo que o microRNA tenha um papel na regulação da resposta imune do hospedeiro à mastite (Jin *et al.*, 2014). De fato, muitos estudos têm demonstrado que a resposta imunológica de bovinos está sob controle genético e epigenético. Uma nova metodologia foi criada para identificar indivíduos com alta resposta imune, ou seja, vacas, bezerras e

touros apresentam uma quantidade de anticorpos equilibrada e ótima resposta imune mediada por células (Thompson-Crispi *et al.*, 2014b). A resposta imune adaptativa tem herdabilidade média de 0,25-0,35 (Heriazon *et al.*, 2013), consideravelmente maior do que as estimativas para resistência a mastite clínica ou subclínica. A herdabilidade da resposta imune é semelhante ao que foi encontrado por Pritchard *et al.* (2013) para características de produção de leite (0,14-0,30), indicando que seria possível fazer ganho genético significativo, dependendo de como a saúde do úbere é ponderada dentro do índice de seleção. A Semex Alliance utiliza essa tecnologia de alta resposta imune, denominado Immunity+™, as filhas de touros Immunity+™ tiveram uma redução de 44% na mastite em um grande rebanho em os EUA, logo, as vacas com respostas imunes adaptativas superiores, apresentaram menor ocorrência de mastite (Thompson-Crispi *et al.*, 2014b).

As soluções ideais para melhorar a resistência à mastite sugeridas por Thompson-Crispi *et al.* (2014b) seriam provavelmente aquelas que incidem sobre um grande número de genes, usando informações de estudos de associação genômica ampla (GWAS - *Genome-wide association studies*) ou seleção baseada em valores genéticos de respostas imunes, que levam em conta as interações genéticas complexas entre os mecanismos de defesa a inata e adaptativa do hospedeiro, sem a necessidade de conhecer cada gene individualmente. Usando índices de seleção também oferece a vantagem de ajustar facilmente os pesos indicados para várias características. Estas duas abordagens podem ser mais adequadas para ajudar a reduzir a incidência de mastite.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O tratamento da mastite é a causa mais comum de resíduos de antibióticos no leite,

MELHORAMENTO DA RESISTÊNCIA A MASTITE EM BOVINOS LEITEIROS

entrando em discussão a capacidade que esses resíduos apresentam, quando consumidos, de induzir resistência a antimicrobianos em humanos. A seleção genômica é o que há de mais moderno na área de genética animal. Os marcadores moleculares já estão disponíveis para a utilização na seleção de rebanhos em vários países e algumas empresas já se interessam em implementar esta tecnologia em seus programas de melhoramento. Porém, para que ganhos em acurácia na seleção de touros com alto mérito genético sejam aumentados, deve haver uma boa colaboração das

associações de criadores, indústria, instituições de pesquisa para que um número razoável de animais e raças sejam genotipadas e características de difícil mensuração possam ser selecionadas mais facilmente e incluídas nos objetivos de seleção. Deve-se ressaltar, portanto, que mesmo um programa de controle preventivo, não sendo a melhor e mais eficaz forma de resolver problemas de mastite e qualidade do leite no curto prazo, o melhoramento genético pode ser um componente de uma estratégia de longo prazo para aumentar a resistência à mastite e a qualidade do leite.

BIBLIOGRAFIA

- Alain, K.; Karrow N.A.; Thibault, C.; St-Pierre, J.; Lessard, M. e Bissonnette, N. 2009. Osteopontin: an early innate immune marker of *Escherichia coli* mastitis harbors genetic polymorphisms with possible links with resistance to mastitis. *BMC Genomics*, 10: 444.
- Allison, J.P. and Harvan, W.L. 1991. The immunobiology of T cells with invariant gamma delta antigen receptors. *Annu Rev Immunol*, 9: 679.
- Alluwaimi, A.M.; Leutenegger, C.M.; Farver, T.B.; Rossitto, P.V.; Smith, W.L. and Cullor, J.S. 2003. The cytokine markers in *Staphylococcus aureus* mastitis of bovine mammary gland. *J Vet Med*, 50: 105-111.
- Almeida, F.S.; Nakano, V. and Avila-Campos, M.J. 2007. Occurrence of enterotoxigenic and nonenterotoxigenic *Bacteroides fragilis* in calves and evaluation of their antimicrobial susceptibility. *FEMS Microbiol Letters*, 272: 15-21.
- Barberio A.; Gietl H. e Dalvit P. 2002. *In vitro* sensibilidade aos antimicrobianos de *Staphylococcus aureus* e coliformes isolados de mastite bovina na região de Veneto, Itália no período de 1996-1999. *Revista Napgama*, 5:10.
- Barkema, H.W.; Schukken, Y.H. and Zadoks, R.N. 2006. Invited review: The role of cow, pathogen, and treatment regimen in the therapeutic success of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis. *J Dairy Sci*, 89: 1877-1895.
- Bastan, A.; Cengiz, M.; Cengiz, S.; Polat, B.; Colak, A.; Akan, M.; Darbaz, I. and Duygu B. 2010. Effects of precalving antibiotic treatment on mastitis and individual somatic cell count in heifers. *J Anim Vet Adv*, 9: 1245-1249.
- Bishop, M.D.; Kappes, S.M.; Keele, J.W.; Stone, R.T.; Sunden, S.L.; Hawkins, G.A.; Toldo, S.S.; Fries, R.; Grosz, M.D. and Yoo, J. 1994. A genetic linkage map for cattle. *Genetics*, 136: 619-639.
- Bishop, S.C. and Woolliams, J.A. 2014. Genomics and disease resistance studies in livestock. *Livest Sci*, 166: 190-198.
- Bishop, S.C. 2010. Disease resistance: Genetics In: Pond, W.G. and Bell, A.W. Encyclopedia of animal science. Marcel Dekker, Inc. New York. pp. 288-290.
- Bishop, S.C. 2012. A consideration of resistance and tolerance for ruminant nematode infections. *Front Livest Genomics*, 3: 168.
- Bishop, S.C. and Stear, M.J. 2003. Modeling of host genetics and resistance to infectious diseases: understanding and controlling nematode infections. *Vet Parasitol*, 115: 147-166.
- Boichard, D. and Brochard, M. 2012. New phenotypes for new breeding goals in dairy cattle. *Animal*, 6: 544-550.
- Borghesi, L. and Milcarek, C. 2007. Innate versus adaptive immunity: a paradigm past its prime? *Cancer Res*, 67: 3989-3993.
- Bouquet, A. and Juga, J. 2013. Integrating genomic selection into dairy cattle breeding programmes: a review. *Animal*, 7: 705-713.

- Bruno, F.; Curini, R.; Di Corcia, A.D.; Nazzari, M. and Samperi, R. 2001. Solid-phase extraction followed by liquid chromatography-mass spectrometry for trace determination of β -lactam antibiotics in bovine milk. *J Agric Food Chem*, 49: 3463-3470.
- Capuco, A.V.; Bright, S.A.; Pankey, J.W.; Wood, D.L.; Miller, R.H. and Bitman, J. 1992. Increased susceptibility to intramammary infection following removal of teat canal keratin. *J Dairy Sci*, 75: 2126-2130.
- Chu, M.X.; Yand, S.C.; Qiao, L.; Wang, J.X.; Feng, T.; Huang, D.W.; Cao, G. L.; Di, R.; Fang, L. and Chen, G.H. 2012. Polymorphism of exon 2 of BoLA-DRB3 gene and its relationship with somatic cell score in Beijing Holstein cows. *Mol Biol Rep*, 39: 2909-2914.
- Chu, M.X.; Zhou, G.L.; Jin, H.G.; Shi, W.H.; Cao, F.C.; Fang, L.; Ye, S.C. and Zhu, Y. 2005. Study on relationships between seven microsatellite loci and somatic cell score in Beijing Holstein cows. *Yi Chuan Xue Bao*, 32: 471-475.
- Coelho, S.M.O.; Reinoso, E.; Pereira, I.A.; Soares, L.C.; Demo, M.; Bogni, C. and Souza, M.M.S. 2009. Virulence factors and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Rio de Janeiro. *Pesq Vet Bras*, 29: 369-374.
- Cole, J.B.; Van Raden, P.M.; O'Connell, J.R.; Van Tassell, C.P.; Sonstegard, T.S.; Schnabel, R.D., Taylor, J.F. and Wiggans, G.R. 2009. Distribution and location of genetic effects for dairy traits. *J Dairy Sci*, 92: 2931-2946.
- Compton, C.W.R.; Heuer, C.; Parker, K.I. and McDougall, S. 2007. Epidemiology of mastitis in pasture-grazed peripartum dairy heifers and its effects on productivity. *J Dairy Sci*, 90: 4157-4170.
- Costa, E.O. 2006. Uso de antimicrobianos na mastite. En: H.S. Spinosa; S.L. Górnica e Bernardi, M.M. (Eds.). *Farmacologia aplicada à medicina veterinária*. 4ª ed. Editora Guanabara Koogan S.A. Rio de Janeiro. pp. 501-515.
- Davies, G.; Genini, S.; Bishop, S.C. and Giuffra, E. 2009. An assessment of the opportunities to dissect host genetic variation in resistance to infectious diseases in livestock. *Animal*, 3: 415-436.
- Doeschl-Wilson, A.B.; Bishop, S.C.; Kyriazakis, I. and Villanueva, B. 2012. Novel methods for quantifying individual host response to infectious pathogens for genetic analyses. *Front Livest Genomics*, 3: 266.
- Doormaal, B.V. and Beavers, L. 2014. Mastitis resistance selection: Now a reality! <http://dairyresearchblog.ca/mastitis-resistance-selection-now-reality/> ou <http://www.cdn.ca/articles.php> (17/11/2014).
- Erskine, R. 2000. Antimicrobial drug use in bovine mastitis. In: Prescott, J.F.; Baggot J.D. and Walker R.D. (Eds.). *Antimicrobial therapy in veterinary Medicine*. Iowa State University Press. Ames. pp. 712-734.
- Erskine, R.J.; Eberhart, R.J.; Grasso, P.J. and Scholz, R.W. 1989. Induction of *Escherichia coli* mastitis in cows fed selenium-deficient or selenium-supplemented diets. *Am J Vet Res*, 50: 2093.
- Erskine, R.J.; Wagner, S. and Degraives, F.J. 2003. Mastitis therapy and pharmacology. *Vet Clin N Am Food A*, 19: 109-138.
- Fagundes, H. e Oliveira, C.A.F. 2004. Infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus aureus* e suas implicações em saúde pública. *Ciên Rural*, 34: 1315-1320.
- Ferens, W.A.; Goff, W.L.; Davis, W.C.; Fox, L.K.; Deobald, C.; Hamilton, M.J. and Bohach, G.A. 1998. Induction of type-2 cytokines by a Staphylococcal enterotoxins superantigen. *J Nat Toxins*, 7: 193-213.
- Fleischer, P.; Metzner, M.; Beyerbach, M.; Hoedemaker, M. and Klee, W. 2001. The relationship between milk yield and the incidence of some diseases in dairy cows. *J Dairy Sci*, 84: 2025-2035.
- Fonseca, I. 2014. Gene expression profile in Gyr and crossbreed dairy cows with mastitis. Tese Doutorado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- Fonseca, I.; Silva, P.V.; Lange, C.C.; Guimarães, M.F.M.; Weller, M.M.; Del Cambre, A.; Sousa, K.R.S.; Lopes, P.S.; Guimarães, J.D. and Guimarães, S.E.F. 2009. Expression profile of genes associated with mastitis in dairy cattle. *Genet Mol Biol*, 32: 776-781.
- Garcia-Penarrubia, P.; Koster, F.T.; Kelley, R.O.; McDowell, T.D. and Bankhurst, A.D. 1989. Antibacterial activity of human natural killer cells. *J Exp Med*, 169: 99-113.
- Gehring, R. and Smith, G.W. 2006. An overview of

MELHORAMENTO DA RESISTÊNCIA A MASTITE EM BOVINOS LEITEIROS

- factors affecting the dispositions of intramammary preparations used to treat bovine mastitis. *J Vet Pharmacol Ther*, 29: 237-241.
- Gennaro, R.; Dewald, B.; Horisberger, U.; Gubler, H.U. and Baggiolini, M. 1983. A novel type of cytoplasmic granule in bovine neutrophils. *J Cell Biol*, 96: 1651-1661.
- Grenfell, B.T. and Dobson, A.P. 1995. Ecology of infectious diseases in natural populations. Cambridge University Press. Cambridge, UK.
- Hansen P.J.; Soto, P. and Natzke R.P. 2004. Mastitis and fertility in cattle. Possible involvement of inflammation or immune activation in embryonic mortality. *Am J Reprod Immunol*, 51: 294-301.
- Hayes, B.J.; Pryce, J.; Chamberlain, A.J.; Bowman, P.J. and Goddard, M.E. 2010. Genetic architecture of complex traits and accuracy of genomic prediction: coat colour, milk-fat percentage, and type in Holstein cattle as contrasting model traits. *Plos Genetics*, 6. doi:10.1371/journal.pgen.1001139.
- Heriazon, A.; Quinton, M.; Miglior, F.; Leslie, K.E.; Sears, W. and Mallard, B.A. 2013. Phenotypic and genetic parameters of antibody and delayed-type hypersensitivity responses of lactating Holstein cows. *Vet Immunol Immunopathol*, 154: 83-92.
- Heringstad, B.; Klemetsdal, G. and Ruane, J. 2000. Selection for mastitis resistance in dairy cattle—a review with focus on the situation in the Nordic countries. *Livest Prod Sci*, 64: 95-106.
- Heringstad, B.; Chang, Y.M.; Gianola, D. and Klemetsdal, G. 2003. Genetic analysis of longitudinal trajectory of clinical mastitis in first-lactation Norwegian Cattle. *J Dairy Sci*, 86: 2676-2683.
- Heringstad, B.; Gianola, D.; Chang, Y.M.; Odegard, J. and Klemetsdal, G. 2006. Genetic associations between clinical mastitis and somatic cell score in early first-lactation cows. *J Dairy Sci*, 89: 2236-2244.
- Heringstad, B.; Klemetsdal, G. and Steine, T. 2007. Selection responses for disease resistance in two selection experiments with Norwegian red cows. *J Dairy Sci*, 90: 2419-2426.
- Hermann, C. 2007. Review: variability of host-pathogen interaction. *J Endotoxin Res*, 13: 199-217.
- Hibbitt, K.G. 1983 Immunity factors in mastitis. British Cattle Veterinary Association. Proceedings. British Cattle Veterinary Association. John Wright & Sons Ltd. Bristol. pp. 61-65.
- Hibbitt, K.G. and Benians, M. 1971. Some effects *in vivo* of the teat canal and effects *in vitro* of cationic proteins on staphylococci. *J Gen Microbiol*, 68: 123-128.
- Holmberg, M. and Andersson-Eklund, L. 2004. Quantitative trait loci affecting health traits in Swedish dairy cattle. *J Dairy Sci*, 87: 2653-2659.
- Huang, J.M.; Wang, Z.Y.; Ju, Z.H.; Wang, C.F.; Li, Q.L.; Sun, T.; Hou, Q.L.; Hang, S.Q.; Hou, M.H. and Zhong, J.F. 2011. Two splice variants of the bovine lactoferrin gene identified in *Staphylococcus aureus* isolated from mastitis in dairy cattle. *Genet Mol Res*, 10: 3199-3203.
- Iwasaki, A. and Medzhitov, R. 2010. Regulation of adaptive immunity by the innate immune system. *Science*, 327: 291-295.
- Jin, W.; Ibeagha-Awemu, E.M.; Liang, G.; Beaudoin, F.; Zhao, X. and Guan, L.L. 2014. Transcriptome microRNA profiling of bovine mammary epithelial cells challenged with *Escherichia coli* or *Staphylococcus aureus* bacteria reveals pathogen directed microRNA expression profiles. *BMC Genomics*, 15: 181.
- Jorjani, H.; Zumbach, B.; Dürr, J. and Santus, E. 2011. Joint genomic evaluation in Brown Swiss populations. *Interbull Bulletin*, 41: 8-14.
- Kappes, S.M.; Keele, J.W.; Stone, R.T.; McGraw, R.A.; Sonstegard, T.S.; Smith, T.P.L.; Lopez-Corrales, N.L. and Beattie, C.W. 1997. A second-generation linkage map of the bovine genome. *Genome Res*, 7: 235-249.
- Karrow, N.A.; Sharma, B.S.; Fisher, R.E. and Mallard, B.A. 2011. Epigenetics and animal health. Comprehensive biotechnology. 2nd ed. Elsevier B.V. Waltham, MA. pp. 381-94.
- Khatkar, M.S.; Thomson, P.C.; Tammen, I. and Raadsma, H.W. 2004. Quantitative trait loci mapping in dairy cattle: review and metaanalysis. *Genet Sel Evol*, 36: 163-190.
- Khatkar, M.S.; Thomson, P.C.; Tammen, I. and Raadsma, H.W. 2005. Combined QTL map of dairy cattle traits. University of Sydney. <http://www.vetsci.usyd.edu.au/reprogen/QTL> (01/12/2014).
- Klungland, H.; Sabry, A.; Heringstad, B.; Olsen, H.G.; Gomez-Raya, L.; Vage, D.I.; Olsaker, I.; Odegard, J.; Klemetsdal, G.; Schulman, N.; Vilkki,

- J.; Ruane, J.; Aasland, M.; Ronninge, K. and Lien S. 2001. Quantitative trait loci affecting clinical mastitis and somatic cell count in dairy cattle. *Mamm Genome*, 12: 837-842.
- König, S.; Simianer, H. and Willam, A. 2009. Economic evaluation of genomic breeding programmes. *J Dairy Sci*, 92, 382-391.
- Kuroda, M.; Ohta, T.; Uchiyama, I.; Baba, T.; Yuzawa, H.I.; Kobayashi, L.; Cui, A.; Oguchi, K.; Aoki, Y. and Nagai, J. 2001. Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. *New Engl J Med*, 319: 157-161.
- Lents, C.A.; Wettemann, R.P.; Paape, M.J.; Looper, M.L. and Buchanan, D.S. 2007. Effects of dry cow treatment of beef cows on pathogenic organisms, milk somatic cell counts, and calf growth during the subsequent lactation. *J Anim Sci*, 86: 748-755.
- Leyva-Baca, I.; Pighetti, G. and Karrow N.A. 2008. Genotype-specific IL8RA gene expression in bovine neutrophils in response to *Escherichia coli* lipopolysaccharide challenge. *Anim Genet*, 39: 298-300.
- Li, N.; Richoux, R.; Boutinaud, M.; Martin, P. and Gagnaire, V. 2014. Role of somatic cells on dairy processes and products: a review. *Dairy Sci Technol*, 94: 517-538.
- Lopes, L.O. ; Lacerda, M.S. e Ronda, J.B. 2013. Uso de antibióticos na cura e controle de mastite clínica e subclínica causada por principais microorganismos contagiosos em bovinos leiteiros: revisão de literatura. *Rev Cient Med Vet*, 21: 1-15.
- Lowy, F.D. 2003. Antimicrobial resistance: The example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest*, 111: 1265-1273.
- Lund, M.S.; Gulbrandsen, B.; Buitenhuis, A.J.; Thomsen, B. and Bendixen, C. 2008. Detection of quantitative trait loci in Danish Holstein cattle affecting clinical mastitis, somatic cell score, udder conformation traits, and assessment of associated effects on milk yield. *J Dairy Sci*, 91: 4028-4036.
- Lund, M.S.; Sahana, G.; Andersson-Eklund, L.; Hastings, N.; Fernandez, A.; Schulman, N.; Thomsen, B.; Viitala, S.; Williams, J.L.; Sabry, A.; Viinalass, H. and Vilkki, J. 2007. Joint analysis of quantitative trait loci for clinical mastitis and somatic cell score on five chromosomes in three Nordic dairy cattle breeds. *J Dairy Sci*, 90: 5282-5290.
- Lund, M.S.; De Roos, A.P.W.; De Vries, A.G.; Druet, T.; Ducrocq, V.; Fritz, S.; Guillaume, G.; Gulbrandsen, B.; Liu, Z.; Reents, R.; Schrooten, C.; Seefried, M. and Su, G. 2011. A common reference population from four European Holstein populations increases reliability of genomic predictions. *Genet Sel Evol*, 43: 43.
- Madalena, F.E.; Peixoto, M.G.C.D. and Gibson, J. 2012. Dairy cattle genetics and its applications in Brazil. *Liv Res Rural Develop*, 24: 97.
- Mai, M.D.; Rychtarova, J.; Zink, V.; Lassen, J. and Gulbrandsen, B. 2010. Quantitative trait loci for milk production and functional traits in two Danish cattle breeds *J Anim Breed Genet*, 127: 469-473.
- Martins, M.F.; Fonseca, I.; Pinto, I.S.B.; Guimarães, S.E.F.; Arbex, W.A. e Da Silva, M.V.G.B. 2011. Mastite: A busca por animais mais resistentes. *O Girolando*. Uberaba, MG. 01 jan. 2011. pp. 10-12.
- Martins, M.F.; Araujo, I.I.M.; Fonseca, I.; Arbex, W.A. e Silva, M.V.G.B. 2012. Marcadores moleculares: uma ferramenta para a melhoria da qualidade do leite. *O Girolando*. Uberaba. MG. 01 abr. 2012. pp. 34-35.
- Mc Cartney, E. 2005. A barreira dos antibióticos na União Européia. Entrevista. *Ave World*, 3: 8-11.
- Meade, K.G.; Cormican, P.; Narciandi, F.; Lloyd, A. and O'Farrelly, C. 2014. Bovine betadefensin gene family: opportunities to improve animal health? *Physiol Genomics*, 46: 17-28.
- Meredith, B.K.; Kearney, F.J.; Finlay, E.K.; Bradley, D.G.; Fahey, A.G.; Berry, D.P. and Lynn, D.J. 2012. Genome-wide associations for milk production and somatic cell score in Holstein-Friesian cattle in Ireland. *BMC Genetics*, 13: 21.
- Miglior, F.; Muir, B.L. and Van Doormaal, B.J. 2005. Selection indices in Holstein cattle of various countries. *J Dairy Sci*, 88: 1255-1263.
- Minozzi, G.; Nicolazzi, E.L.; Strozzi, F.; Stella, A.; Negrini, R.; Ajmone-Marsan, P. and Williams, J.L. 2011. Genome wide scan for somatic cell counts in Holstein bulls. *BMC Proceedings*, 5: S17.
- Moon, J.S.; Lee, A.R.; Kang, H.M.; Lee, E.S.; Kim, M.N.; Paik, Y.H.; Park, Y.H.; Joo, Y.S. and Koo, H.C. 2007. Phenotypic and genetic antibiogram of methicillin-resistant staphylococci isolated from bovine mastitis in Korea. *J Dairy Sci*, 90:

MELHORAMENTO DA RESISTÊNCIA A MASTITE EM BOVINOS LEITEIROS

- 1176-1185.
- Nash, D.L.; Rogers, G.W.; Cooper, J.B.; Hargrove, G.L. and Keown, J.F. 2003. Heritability of intramammary infections at first parturition and relationships with sire transmitting abilities for somatic cell score, udder type traits, productive life, and protein yield. *J Dairy Sci*, 86: 2684-2695.
- Netto, D.P.; Lopes, M.O., Oliveira, M.C.S.; Nunes, M.P.; Machinski Junior, M.; Bosquioli, S.L.; Benatto, A.; Benini, A.; Bombardelli, A.L.C.; Vedovello Filho, D.; Machado, E.; Belmonte, I.L.; Alberton, M.; Pedroso, P.P. e Scucato, E.S. 2005. Levantamento dos principais fármacos utilizados no rebanho leiteiro do Estado do Paraná. *Acta Scient. Animal Sci*, 27: 145-151.
- Nicholas, F.W. 2005. Animal breeding and disease. *Phil Trans R Soc B*, 360: 1529-1536.
- Nickerson, S.C. 1990. Immunological aspects of the bovine mammary gland. Dairy Research Report. Louisiana Agricultural Experiment Station. pp. 217-222.
- Nickerson, S.C.; Boddie, R.L.; Owens, W.E. e Watts, J.L. 1990. Effects of novel intramammary device models on incidence of mastitis after experimental challenge. *J Dairy Sci*, 73: 2774-2784.
- Odegard, J.; Heringstad, B. and Klemetsdal, G. 2004. Bivariate genetic analysis of clinical mastitis and somatic cell count in Norwegian dairy cattle. *J Dairy Sci*, 87: 3515-3517.
- Ogorevc, J.; Kunej, T.; Razpet, A. and Dovc, P. 2009. Database of cattle candidate genes and genetic markers for milk production and mastitis. *Anim Genet*, 40: 832-851.
- ONU/FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 2009. Producción de alimentos de origen animal: código de prácticas de higiene para la leche y los productos lácteos. CAC/RCP 57-2004. 2ª ed. FAO/OMS. Roma.
- Oviedo-Boyso, J.; Valdez-Alarcón, J.J.; Cajero-Juárez, M.; Ochoa-Zarzosa, A.; López-Meza, J.E.; Bravo-Patiño, A. and Baizabal-Aguirre, V.M. 2007. Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. *J Infect*, 54: 399-409.
- Padilha, T. 2004. Resistência antimicrobiana x produção animal: uma discussão internacional. <http://www.embrapa.br/imprensa/artigos/2000/artigo.2004-12-07.2546062632> (23/06/2009).
- Paibomesai, M.; Hussey, B.; Nino-Soto, M. and Mallard, B.A. 2013. Effects of parturition and dexamethasone on DNA methylation patterns of IFN-gamma and IL-4 promoters in CD4 +T-lymphocytes of Holstein dairy cows. *Can J Vet Res*, 77: 54-62.
- Pant, S.D.; Schenkel, F.S.; Leyva-Baca, I.; Sharma, B.S. and Karrow, N.A. 2008. Identification of polymorphisms in bovine TLR2 and CARD15, associations between CARD15 polymorphisms and milk somatic cell score in Canadian Holsteins, and functional relevance of SNP c.3020A>T. *Dev. Biol. (Basel)*, 132: 247-253.
- Pashmi, M.; Qanbari, S.; Ghorashi, S.A.; Sharifi, A.R. and Simianer, H. 2009. Analysis of relationship between bovine lymphocyte antigen DRB3.2 alleles, somatic cell count and milk traits in Iranian Holstein population. *J Anim Breed Genet*, 126: 296-303.
- Paulrud, C.O. 2005. Basic concepts of the bovine teat canal. *Vet Res Commun*, 29: 215-245.
- Pereira, J.C.C. 2012. Melhoramento genético aplicado a produção animal. 6ª ed. FEPMVZ Editora. Belo Horizonte.
- Petzer, I.M.; Lourens, D.C.; Van Der Schans, T.J.; Watermeyer, J.C.; Van Reenen, R.; Rautenbach, G.H. and Thompson, P. 2009. Intramammary infection rate during the dry period in cows that received blanket dry cow therapy: efficacy of 6 different dry-cow intramammary antimicrobial products. *J S Afr Vet Assoc*, 80: 23-30.
- Pighetti, G.M. and Elliott, A.A. 2011. Gene polymorphisms: the keys for marker assisted selection and unraveling core regulatory pathways for mastitis resistance. *J Mamm Gland Biol Neoplasia*, 16: 421-432.
- Pinto, M.S.; Faria, J.E. de; Message, D.; Cassini, S.T.A.; Pereira, C.S. e Gioso, M.M. 2001. Efeito de extratos de própolis verde sobre bactérias patogênicas isoladas do leite de vacas com mastite. *Braz J Vet Res Anim Sci*, 38: 278-283.
- Pribul, B.R.; Pereira, I.A.; Soares, L.C.; Coelho, S.M.O.; Barberis, I.L.; Pascual, L. e Souza, M.M.S. 2011. Resistência bacteriana e ação das bacteriocinas de *Lactobacillus* spp em *Staphylococcus aureus* isolados de mastite bovina. *Arq Bras Med Vet Zootec*, 63: 3.
- Pritchard, T.; Coffey, M.; Mrode, R. and Wall, E.

2013. Genetic parameters for production, health, fertility and longevity traits in dairy cows. *Animal*, 7: 34-46.
- Pryce, J.E. and Daetwyler, H.D. 2012. Designing dairy cattle breeding schemes under genomic selection: a review of international research. *Anim Prod Sci*, 52: 107-114.
- Quirion, M.R.; Gregory, G.D.; Umetsu, S.E.; Winandy, S. and Brown, M.A. 2009. Cutting Edge: Ikaros is a regulator of Th2 cell differentiation. *J Immunol*, 182: 741-745.
- Rambeaud, M.; Almeida, R.A.; Pighetti, G.M. and Oliver, S.P. 2003. Dynamics of leukocytes and cytokines during experimentally induced *Streptococcus uberis* mastitis. *Vet Immunol Immunopathol*, 96: 193-205.
- Rainard, P. and Riollet, C. 2003. Mobilization of neutrophils and defense of the bovine mammary gland. *Reprod Nutr Dev*, 43: 439-57.
- Rupp, R.; Hernandez, A. and Mallard, B.A. 2007. Association of bovine leukocyte antigen (BoLA) DRB3.2 with immune response, mastitis, and production and type traits in Canadian Holsteins. *J Dairy Sci*, 90: 1029-1038.
- Rupp, R.; Boichard, D.; Bertrand, C. and Bazin, S. 2000. Overview of milk somatic cell counts in the French dairy cattle breeds. *Prod. Anim*, 13:257-267.
- Rupp, R. and Boichard, D. 2003. Genetics of resistance to mastitis in dairy cattle. *Vet Res*, 34: 671-688.
- Sahana, G.; Guldbrandtsen, B.; Thomsen, B. and Lund, M. S. 2013. Confirmation and fine-mapping of clinical mastitis and somatic cell score QTL in Nordic Holstein cattle. *Anim Genet*, 44: 620-626.
- Santos, L L. 2011. Mastites clínicas e subclínicas em bovinos leiteiros ocasionadas por *Staphylococcus coagulase-negativa*. *Ver Inst Adolfo Lutz*, 70: 1-7.
- Santos, M.V. 2005. Resistência contra mastite: uma característica cada vez mais procurada. <http://www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/qualidade-do-leite/resistencia-contramastite-uma-caracteristica-cada-vez-mais-procurada-24447n.aspx> (13/09/2013).
- Schepers, J.M. and Weigel, K.A. 2012. Genomic selection in dairy cattle: Integration of DNA testing into breeding programs. *Anim Frontiers*, 2: 4-9.
- Schenck, F.J. and Callery, P.S. 1998. Chromatographic methods of analysis of antibiotics in milk. *J Chromatogr A*, 812: 99-109.
- Schulman, N.F.; Viitala, S.M.; De Koning, D.J.; Virta, J.; Mäki-Tanila, A. e Vilkki, J.H. 2004. Quantitative trait loci for health traits in Finnish Ayrshire cattle. *J. Dairy Sci*, 87: 443-449
- Schulman N.F.; Sahana, G.; Iso-Touru, T.; Lund, M.S.; Andersson-Eklund, L.; Viitala, S.M.; Vaerv, S.; Viinalass, H. and Vilkki, J.H. 2009. Fine mapping of quantitative trait loci for mastitis resistance on bovine chromosome 11. *Anim Genet*, 40: 509-515.
- Sender, G.; Korwin-Kossakowska, A.; Pawlik, A.; Hameed, K.G.A. and Oprzadek, J. 2013. Genetic basis of mastitis resistance in dairy cattle - a review. *Ann Anim Sci*, 13: 663- 673.
- Silva, A.A.; Azevedo, A.L.S.; Verneque, R.S.; Gasparini, K.; Peixoto, M.G.C.D.; Da Silva, M.V.G.B.; Lopes, P.S.; Guimarães, S.E.F. and Machado, M.A. 2011. Quantitative trait loci affecting milk production traits on bovine chromosome 6 in zebuine Gyr breed. *J Dairy Sci*, 94: 971-980.
- Sodeland, M.; Kent, M.P.; Olsen, H.G.; Opsal, M.A.; Svendsen, M.; Sehested, E.; Hayes, B.J. and Lien, S. 2011. Quantitative trait loci for clinical mastitis on chromosomes 2, 6, 14 and 20 in Norwegian Red cattle. *Anim Genet*, 42: 457-465.
- Sordillo, L.M.; Shafer-Weaver, K. and DeRosa, D. 1997. Immunobiology of the mammary gland. *J Dairy Sci*, 80: 1851-1865.
- Sordillo, L.M. 2005. Factors affecting mammary gland immunity and mastitis susceptibility. *Livest Prod Sci*, 98: 89-99.
- Souza, F.N.; Blagitz, M.G.; Batista, C.F.; Sucupira, M.C.A. e Libera, A.M.M.O.P.D. 2009. Tratamento e controle dos principais patógenos da mastite bovina. *Cad Tec Vet Zootec*, 60: 1-26.
- Thompson-Crispi, K.A.; Sargolzaei, M.; Ventura, R.; Abo-Ismael, M.; Miglior, F.; Schenkel, F.; Mallard, B.A. 2014a. A genome-wide association study for immune response traits in Canadian Holstein cattle. *BMC Genomics*, 15: 559.
- Thompson-Crispi, K.; Atalla, H.; Miglior, F. and Mallard, B.A. 2014b. Bovine mastitis: frontiers in immunogenetics. *Frontiers Immunol*, 5: 1-9.
- Tizard, I.R. 2008. Imunologia veterinária: uma introdução. 8ª ed. Saunders Elsevier. Sao Paulo.

MELHORAMENTO DA RESISTÊNCIA A MASTITE EM BOVINOS LEITEIROS

- Tramper-Stranders, G.A.; Van der Ent, C.K.; Gerritsen, S.A.; Fleer A., Kimpen, J.L. and Wolfs, T.F. 2007. Macrolide-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in cystic fibrosis patients: Is there transmission to household contacts? *J Antibiot Chemother*, 60: 665-668.
- Tronco, VM. 2008. Manual para inspeção da qualidade do leite. 3ª ed. Ed. da UFSM. Santa Maria. 206 pp.
- Verbeke, J.; Piepers, S.; Peelman, L.; Van, P.M. and De, V.S. 2012. Pathogen-group specific association between CXCR1 polymorphisms and subclinical mastitis in dairy heifers. *J Dairy Res*, 79: 341-451.
- Verschoor, C.P.; Pant, S.D.; Schenkel, F.S.; Sharma, B.S. and Karrow, N.A. 2009. SNPs in the bovine IL-10 receptor are associated with somatic cell score in Canadian dairy bulls. *Mamm Genome*, 20: 447-454.
- Wellnitz, O. and Bruckmaier, R.M. 2012. The innate immune response of the bovine mammary gland to bacterial infection. *Vet J*, 192: 148-152.
- Wiggans, G.R.; Van Raden, P.M. and Cooper, T.A. 2011. The genomic evaluation system in the United States: past, present, future. *J Dairy Sci*, 94: 3202-3211.
- Wijga, S.; Bastiaansen, J.W.M.; Wall E.; Strandberg E.; De Haas Y.; Giblin, L. and Bovenhuis, H. 2012. Genomic associations with somatic cell score in first-lactation Holstein cows. *J Dairy Sci*, 95: 899-908.
- Wilson, C.B.; Rowell, E. and Sekimata, M. 2009. Epigenetic control of T-helper-cell differentiation. *Nat Rev Immunol*, 9: 91-105.
- Zwald, N.R.; Weigel, K.A.; Chang, Y.M.; Welper, R.D. and Clay, J.S. 2006. Genetic analysis of clinical mastitis data from on-farm management software using threshold models. *J Dairy Sci*, 89: 330-336.