

EFEITO DE TERAPIA FOTOBIOESTIMULADORA VERMELHA E INFRAVERMELHA PARA TRATAMENTO DE MASTITE BOVINA CAUSADA POR *PROTOTHECA SPP* E LEVEDURAS ¹

**Marina Favaretto², Denize da Rosa Fraga³, Tadine Raquel Secco⁴, Sabrina Nascimento
Hörz⁵, Francisco J Cidral-Filho⁶, Tainara Bissacotti Machado⁷**

¹ Projeto de Pesquisa desenvolvido pelo Programa de Pós-graduação em Sistemas Ambientais e Sustentabilidade pela Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - Unijuí

² Médica Veterinária, Bolsista Capes do programa de Pós-graduação *Stricto-Sensu* em Sistemas Ambientais e Sustentabilidade pela Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - Unijuí. Email: marina.favaretto@sou.unijui.edu.br

³ Médica Veterinária, Doutora, Docente do curso de Medicina Veterinária da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - Unijuí. Email: denise.fraga@unijui.edu.br

⁴ Bióloga, Mestre em Sistemas Ambientais e Sustentabilidade pela Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - Unijuí, Gerente Suport d Leite. Email: tadine.secco@sou.unijui.edu.br

⁵ Médica Veterinária, graduada na Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - Unijuí. Email: sabrina.horz@sou.unijui.edu.br

⁶ Laboratory of Experimental Neuroscience - Universidade do Sul de Santa Catarina - Unisul - Unidade Pedra Branca - Palhoça, SC - BRASIL. Integrative Wellbeing Institute Orlando, FL - USA. E-mail: cidral@scientificaconsulting.com

⁷ Acadêmica do curso de Medicina Veterinária pela Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - Unijuí. Email: taibissacotti@gmail.com

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo relatar o efeito de terapia fotobioestimuladora vermelha e infravermelha no tratamento de mastite bovina causada por *Protetheca spp.* e levedura acompanhado em uma propriedade rural, no município de Ajuricaba - Rio Grande do Sul - Brasil. Com base no diagnóstico microbiológico para *Protetheca spp.* e levedura 10 quartos mamários receberam terapia de fotobioestimulação vermelha e infravermelha de 1400 mW de potência a 808nm. A terapia foi aplicada no quarto mamário afetado durante 3 dias consecutivos, por 2 minutos e após isso foi realizada novamente a cultura microbiológica para avaliação dos resultados. Identificou-se uma melhora clínica em 90% dos quartos mamários avaliados, sendo que em 50% dos casos avaliados houve cura completa, 40% dos casos evoluíram da condição clínica grave para condição clínica leve e em 1 caso o quarto mamário secou, ou seja, deixou de produzir leite devido a enfermidade. Conclui-se que esta terapia demonstrou resultados promissores e estudos mais aprofundados para definição do protocolo devem ser conduzidos.

Palavras-chave: Mastite. *Prototheca spp.* Levedura. Laserterapia.

ABSTRACT

This study aimed to report the effect of red and infrared LASER photobiomodulation in the treatment of bovine mastitis caused by *Protetheca spp.* and yeast observed on a rural property, in the municipality of Ajuricaba - Rio Grande do Sul - Brazil. Based on the microbiological diagnosis for *Protetheca spp.* and yeast, 10 mammary quarters received red and infrared LASER photobiostimulation therapy 1400 mW from pawner to 808nm. The therapy was applied to the affected mammary quarter for 3 consecutive days, for 2 minutes each time, after

which a microbiological culture was again conducted to evaluate the results. A clinical improvement was identified in 90% of the evaluated mammary quarters, with 50% of the assessed cases showing complete healing, 40% of cases evolved from a severe clinical condition to a mild clinical condition, and in 1 case, the mammary quarter dried up, meaning it stopped producing milk due to the illness. It is concluded that this therapy showed promising results, and more in-depth studies to define the protocol should be conducted.

Keywords: Mastitis. *Prototheca spp.* Yeast. Laser therapy.

INTRODUÇÃO

A pirâmide alimentar brasileira é dividida em oito grupos alimentares, sendo o grupo 4 constituído pelo leite e seus derivados (DIANA, 2019). A importância do leite na alimentação humana é indiscutível, principalmente devido a sua riqueza em nutrientes essenciais, como proteínas, lipídeos e minerais. Segundo Tombini et al. (2012) o leite é um alimento capaz de proporcionar um conjunto equilibrado e abrangente de benefícios para a saúde humana, promovendo o crescimento, contribuindo para a formação e renovação do tecido ósseo, regulando o sistema nervoso e aumentando a resistência às doenças infecciosas. Em relação ao Desenvolvimento Sustentável (ODS) quando se trata da Fome zero e Agricultura Sustentável (ODS 2), Saúde e Bem-Estar (ODS 3) e Indústria, inovação e Infraestrutura (ODS 9), a busca pela produção de leite com qualidade para consumo humano torna-se fundamental.

Porém, vacas que produzem leite podem ter comprometida sua qualidade quando com mastite. Esta doença é um processo inflamatório na glândula mamária, que pode ser de origem fisiológica, traumática, alérgica, metabólica ou, mais comumente, de origem infecciosa (DOWN et al., 2017; LOPES; MANZI; LANGONI, 2018). Esta é a doença que mais acomete as vacas leiteiras, associada a prejuízos econômicos, significativos em toda cadeia de produção do leite (LANGONI, 2013; DOWN et al., 2017).

Durante as últimas duas décadas ocorreu um aumento significativo de casos de mastite causada por *Prototheca spp.* e estes casos têm sido relatados em vários países (PIEPER et al., 2012; GONÇALVES et al. 2015; JAGIELSKI et al, 2019b). A maior prevalência de mastite causada por *Prototheca spp.* nos rebanhos leiteiros pode estar relacionada às más condições ambientais e deficiências no processo de higiene da ordenha (SPEROTTO et al.. 2021). A mastite causada por *Prototheca spp.* resulta em perdas econômicas em razão da diminuição da

produção e qualidade do leite, descarte prematuro das vacas infectadas e dos custos associados ao tratamento e serviços veterinários (JAGIELSKY et al. 2018).

E ainda entre os agentes considerados ambientais, as leveduras têm sido relacionadas como patógenos emergentes em função das mudanças verificadas nos sistemas de produção de leite e nos programas de controle da mastite bovina, na última década. Diversas espécies dos gêneros *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Trichosporon* e *Candida* têm sido isoladas de leite obtido de animais acometidos pela mastite, sendo as espécies de *Candida* geralmente as mais frequentes (KRUKOWSKI et al., 2000; SANTOS & MARIN, 2005).

Diante da dificuldade de tratamento das mastites causadas por *Prototheca spp* e leveduras busca-se alternativas de tratamento. A terapia fotodinâmica é uma modalidade terapêutica alternativa baseada na ativação de substâncias fotossensibilizadoras pela luz com o objetivo de tratar enfermidades de origem microbiológica ou neoplásica. Sua aplicação vem sendo descrita no tratamento de neoplasias cutâneas (BAHNER & BORDEAUX, 2013; MROZ et al., 2013.) e na inativação de micro-organismos (EAGLESOME et al., 1994; JORI et al., 2011; PIRES et al., 2013).

Desta forma, o objetivo deste trabalho é relatar o efeito do tratamento alternativo para mastite causada por *Prototheca spp* e leveduras com um dispositivo de laserterapia vermelha e infravermelha.

METODOLOGIA

O estudo foi realizado em uma propriedade rural localizada no município de Ajuricaba-RS, que possui um rebanho leiteiro composto por 100 vacas da raça holandesa em lactação. O sistema de produção em que as vacas se encontram era cross ventilation, sendo que neste local eram realizadas três ordenhas, no período da manhã, tarde e noite, em sala de ordenha tipo espinha de peixe.

Para a identificação dos animais que precisariam de terapia fotobioestimuladora, o proprietário selecionou vacas (n=5) com diagnóstico previamente estabelecido e que haviam passado por tratamento sem sucesso na recuperação clínica.

No dia zero foi realizada a retirada dos três primeiros jatos em caneca de fundo preto, quando se avaliou o grau de mastite, sendo classificada como grave, moderada ou leve de acordo com os sinais clínicos apresentados. Após a limpeza do teto realizada com produto de pré-dipping, o teto foi seco com papel toalha. Então coletou-se 10 ml de leite de cada quarto

mamário com mastite clínica, para exame de cultura microbiológica, em frasco estéril. O exame de cultura microbiológica foi realizado na fazenda pelo método da On Farm, sendo que após semear o leite na placa colorimétrica, incubar a 37°C em estufa, transcorridas 24 horas, realizou-se a leitura no aplicativo.

Identificou-se na leitura a presença de resultado positivo para 5 quartos com *Prototheca spp* e 5 quartos com levedura, desta forma dez quartos mamários foram selecionados para o tratamento com fotobioestimulação com o aparelho LZ30 ProZ da empresa Avant Wellness.

A aplicação da laserterapia foi realizada durante a ordenha da tarde, por três dias consecutivos (dias um, dois e três), durante dois minutos, numa distância máxima de 10 cm do quarto mamário afetado com estímulo por laser vermelho e infravermelho alternado.

Após a finalização da laserterapia, no dia quatro, o produtor realizou novamente a coleta de leite para cultura microbiológica dos quartos mamários afetados e avaliação da evolução clínica.

RESULTADOS

Com base nos resultados de cultura microbiológica e avaliação clínica, na Tabela 01 estão detalhados os dados por quarto mamário avaliado antes e após a aplicação de laserterapia para mastite por *Prototheca spp* ou Leveduras.

Tabela 01 - Resultados de cultura microbiológica e avaliação clínica, por quarto mamário avaliado em vacas da raça holandesa, antes e após a aplicação de laserterapia com dispositivo LZ30, no controle da mastite por *Prototheca spp*. ou Leveduras, em uma propriedade rural no município de Ajuricaba, Rio Grande do Sul, Brasil.

Avaliação antes laserterapia			Avaliação depois laserterapia	
Quarto Mamário	Cultura Microbiológica	Condição Clínica	Cultura Microbiológica	Condição Clínica
1	Levedura	Grave	Negativo	Secou
2	Levedura	Grave	Negativo	Curou
3	Levedura	Grave	<i>Prototheca spp</i>	Leve
4	Levedura	Grave	Negativo	Leve

5	Levedura	Grave	Negativo	Leve
6	<i>Prototheca spp.</i>	Grave	Negativo	Curou
7	<i>Prototheca spp.</i>	Grave	Negativo	Curou
8	<i>Prototheca spp.</i>	Grave	<i>Prototheca spp</i>	Leve
9	<i>Prototheca spp.</i>	Grave	<i>Prototheca spp</i>	Leve
10	<i>Prototheca spp.</i>	Grave	Negativo	Curou

Fonte: Arquivo Pessoal

DISCUSSÃO

Com base na Tabela 01 identificou-se uma melhora clínica em 90% dos quartos mamários avaliados, sendo que em 50% dos casos avaliados houve cura completa, 40% dos casos evoluíram da condição clínica grave para condição clínica leve e em 1 caso o quarto mamário secou, ou seja, deixou de produzir leite devido a enfermidade.

O uso de antimicrobianos por um período prolongado é apontado como o principal fator que favorece a ocorrência de mastite micótica, por afetar a microbiota que atua, quando em equilíbrio, como defesa natural do animal. Por exemplo, as leveduras do gênero *Candida* podem utilizar a penicilina e a tetraciclina como fontes de nitrogênio (LOFTSGARD & LINDQUIST, 1960), fato que enfatiza a relevância da implementação de um adequado manejo para prevenir a infecção. Existe também a possibilidade de as soluções antimicrobianas estarem contaminadas com fungos, os quais podem ser inoculados e provocar mastite (THOMPSON et al., 1978; JENSEN et al., 1996).

Outro aspecto ligado ao uso inadequado de antimicrobianos via intramamária é o fato de algas aclorofiladas, sobretudo as do gênero *Prototheca*, serem consideradas como causa emergente de mastites subclínicas em bovinos, embora a casuística seja, muitas vezes, subdiagnosticada. Além deste fato, é preciso considerar o potencial zoonótico e sua resistência a diversos fármacos utilizados, entre eles penicilina e gentamicina, além de uma particular resistência à pasteurização (ALMEIDA et al., 2005).

Apesar do aumento no número de antifúngicos comercialmente disponíveis nos últimos anos para o tratamento de diversas micoses humanas e animais, são raros os fármacos

antimicóticos disponibilizados em veículo adequado para o tratamento da mastite micótica, principalmente quando comparados aos medicamentos antimicrobianos usualmente empregados para combater a doença de origem bacteriana. A literatura registra poucos dados específicos sobre tratamento contra mastite fúngica, mas alguns autores citam a nistatina, a natamicina, o fluconazol e o miconazol em solução aquosa para o tratamento intramamário em vacas com mastite por *Candida sp.* (NOBRE et al., 2002; KRUKOWSKI & SABA, 2003).

A mastite por *Prototheca spp.* é de difícil tratamento pela resistência à maioria dos antimicrobianos tanto in vitro quanto in vivo, sendo recomendada a segregação e/ou o descarte de animais acometidos como medida de controle eficaz (KIRK, 1991). Além disso, como o diagnóstico pode apresentar dificuldades na identificação das algas do gênero *Prototheca*, frequentemente, vacas acometidas por infecções intramamárias subclínicas com resultado microbiológico negativo não são medicadas e podem disseminar o agente para outros animais do rebanho, principalmente durante a ordenha (COSTA et al., 1996b).

Diante da dificuldade do tratamento farmacológico para mastite causada por algas e leveduras o tratamento com laserterapia se torna uma forma efetiva no combate destes patógenos.

Existem dois tipos de laser utilizados na área da saúde, os que apresentam grande intensidade de luz irradiada sendo estes geralmente mais utilizados em procedimentos cirúrgicos conservadores, onde possui como objetivo a diminuição da dor no pós-cirúrgico, e o laser de pequena intensidade onde visa o estabelecimento terapêutico, proporcionando analgesia, cicatrização, estímulo de biomodulação dos tecidos e efeitos antiinflamatório, além disso, possui características benéficas em terapias fotodinâmicas no momento que é relacionada aos agentes responsáveis pela fotossensibilidade acarretando o melhor tratamento de infecção (ANGKHAW et al., 2018).

Os lasers que possuem baixa intensidade, como o utilizado neste estudo, apresentam inúmeras formas de tratamentos que melhoram os tratamentos metabólicos mediante o processo de incorporação e fatores energéticos realizados pelos cromóforos, dos quais ocasionam modificações no aspecto funcional das mitocôndrias, e de modo consequente, mudança respiratória da célula, com maior produção de adenosina trifosfato (ATP), estabelecendo a ativação de espécies reagentes de oxigênio intracelular, resultando na

multiplicação de fibroblastos, cadeias de colágenos e melhora nas respostas de eventuais inflamações resultando na melhor reparação do tecido (SANT'ANNA et al., 2017).

Gomes e Schapochnik (2017) complementam que se trata de uma terapia com princípios físicos de: radiação eletromagnética, unidirecional, monocromática, com feixe estreito, propagação paralela (colimação) e com as ondas dos fótons em fase (coerência). As características de cada um deles são: a) Monocromática: uma onda eletromagnética é emitida por um único comprimento de onda, ou seja, o comprimento pode ser emitido e selecionado que é o fator determinante da interação do laser com a matéria. No que se refere ao comprimento, o laser pode ser vermelho (606 nm) ou infravermelho (808nm); b) Coerência (sincronia); c) Colimação (única direção e paralela). O aparelho poderá se apresentar no tipo de emissão Contínua ou Pulsada.

Gomes e Schapochnik (2017) esclarecem que antes da aplicação do laser sobre o tecido, são determinadas previamente o tipo de onda, a potência, o tempo, a quantidade de energia e exposição radiante, de acordo com as particularidades.

Os autores acima citados explicam que, primeiramente, o estímulo é absorvido em nível celular pelo tecido, pois as células dispõem de cromóforos (ou fotorreceptores), que podem ser enzimas, moléculas da membrana celular ou qualquer outra estrutura que tenha atração pelo comprimento da onda aplicado (vermelho ou infravermelho). A luz então é captada na célula e no átomo, no qual acontece a mudança da órbita dos elétrons estimulando excitação nos mesmos, que ao regressarem ao estado precedente liberam ATP (adenosina trifosfato), que será usada pelas células do tecido para o progresso de suas funções. Em decorrência, há reações bioquímicas que contribuem para a resposta biológica desejada, possibilitando a proliferação celular e a síntese proteica.

Gomes e Schapochnik (2017) evidenciam que pela baixa potência presente no laser, ocorre a excitação dos elétrons, assim resultando em efeitos terapêuticos para a paciente, esses efeitos são: efeito analgésico onde a radiação age desde os receptores periféricos até o SNC, promovendo o alívio da dor, especialmente nos casos de dor crônica, pela estimulação e liberação de beta-endorfinas, efeito anti inflamatório atuando na redução da inflamação por estímulos de reabsorção de exsudatos e eliminação de substâncias halógenas. Além disso, há interferência na síntese de prostaglandinas que levam à redução da inflamação, bem como ação na microcirculação que, acelerada, reduz o edema e elimina o acúmulo de catabólitos.

Finalmente, há efeitos na redução do consumo de oxigênio e glicose nas células. Possui efeito anti edematoso onde ocorre redução do edema pelo estímulo à microcirculação, que favorece a drenagem do plasma, bem como a ação fibrinolítica. e por fim possui efeito cicatrizante pelo aumento da produção e liberação de ATP nas células, ocorre o estímulo à mitose, ao metabolismo, provocando vasodilatação local e aceleração da reparação tecidual.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos resultados obtidos, verificou-se que a fotobioestimulação com o protocolo do dispositivo LZ30 AVANT, de 2 minutos, com laser vermelho e infravermelho foi promissora para o tratamento de mastite causada por *Prototheca spp.*, e *leveduras*. Maiores estudos devem ser realizados visto que esta pode ser uma alternativa à terapêutica com medicamentos que podem causar resíduos no leite e que na maioria das vezes não são efetivos para estes casos de mastite.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGKHAW, C. M. et al. Physical properties of root cementum: Part 27. Effect of low-level laser therapy on the repair of orthodontically induced inflammatory root resorption: A double-blind, split-mouth, randomized controlled clinical trial. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v.154, p.326-336. 2018. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2018.04.022>.

ALMEIDA, L.A. do B. et al. Tratamento de mastite clínica experimental por meio de ordenhas multiplas em vacas leiteiras inoculadas com *Staphylococcus aureus*. **Arquivo Instituto Biológico**, v.72, p.1-6, 2005.

BAHNER, J. D.; BORDEAUX, J. S. Non-melanoma skin cancers: photodynamio therapy, cryotherapy, 5-fluorouracil, imiguiomod, diclofenac, or what? Facts and controversies. **Clinics in Dermatology**, v. 31, n. 6, p. 792-798, 2013.

COSTA, E. O. et al. Bovine mastitis due to algae of the genus *Prototheca sp.* **Mycopathologia**, v.133, p.85-88, 1996b.

DIANA, J. B. Pirâmide alimentar, UFSC, 2019. Disponível em: <https://www.todamateria.com.br/piramide-alimentar/>. Acesso em 03 ago. 2023.

GOMES, C. F; SCHAPOCHNIK, A. O uso terapêutico do Laser de Baixa Intensidade (LBI) em algumas patologias e sua relação com a atuação na Fonoaudiologia. **Universidade Estadual de Londrina**, 2017.

DOWN, P. M. et al. Factors affecting the cost-effectiveness of on-farm culture prior to the

treatment of clinical mastitis in dairy cows. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 145, p. 91-99, 2017.

GONÇALVES, J. L. et al. Biofilm-producing ability and efficiency of sanitizing agents against *Prototheca zopfii* isolates from bovine subclinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 6, p. 3613-3621, 2015.

JAGIELSKI, T. et al. The activity of silver nanoparticles against microalgae of the *Prototheca* genus. **Nanomedicine**, v. 13, n. 9, p. 1025-1036, 2018.

JAGIELSKI, T. et al. Prevalence of *Prototheca spp.* on dairy farms in Poland - a cross-country study. **Microbial Biotechnology**, v. 12, n. 3, p. 556-566, 2019.

KIRK, J.H. Diagnosis and treatment of difficult mastitis cases. **Agri-Practice**, v.12, n.2, p.15-18, 1991.

KRUKOSWKI, H. et al. Survey of yeast mastitis in dairy herds of small-type farms in the Lublin region, Poland. **Mycopathologia**, v.150, p.5-7, 2000.

LOFTSGARD, G.; LINDQUIST, K. Bovine mycotic mastitis. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.1, p.201-220, 1960.

LOPES, B. C.; MANZI, M. de P.; LANGONI, H. Etiologia das mastites: Pesquisa de microorganismos da classe mollicutes. **Veterinária e Zootecnia**, v. 25, n. 1, p. 173-179, 2018.

PIEPER, L. et al. Herd characteristics and cow-level factors associated with *Prototheca* mastitis on dairy farms in Ontario, Canada. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 10, p. 5635-5644, 2012.

SANTOS, R. C.; MARIN, J. M. Isolation of *Candida spp* from mastitic bovine milk in Brazil. **Mycopathologia**, v.59, p.251-253, 2005.

NOBRE, M. O. et al. Drogas antifúngicas para pequenos e grandes animais. Revisão bibliográfica. **Ciência Rural**, v.32, p.175- 184, 2002.

SANT'ANNA, E. F. et al. High-intensity laser application in Orthodontics. **Dental Press J Orthod**. Nov-Dec; v. 22, n.6, p.:99-109, 2017. Doi: <https://doi.org/10.1590/2177-6709.22.6.099-109.sar>

SPEROTTO, V. R. et al. Short communication: Algicide activity of antimicrobial peptides compounds against *Prototheca bovis*. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 3, p. 3554-3558, 2021.

TOMBINI, H. et al. Consumo de leite de vaca entre agricultores. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 23, n. 2, p. 267-274, abr./jun 2012.

THOMPSON K. G. et al. Mycotic mastitis in two cows. **New Zealand Veterinary Journal**, v.26, p.176-177, 1978.