

**FACULDADE LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA**

ERIÁDINA ALVES DE LIMA

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DO APARELHO DE ALTA
FREQUÊNCIA EM MODELO *IN VITRO*.**

JUAZEIRO DO NORTE-CE

2015

ERIÁDINA ALVES DE LIMA

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DO APARELHO DE ALTA
FREQUÊNCIA EM MODELO *IN VITRO*.**

Trabalho de Conclusão de Curso-Monografia apresentada à coordenação do curso de graduação em Fisioterapia da Faculdade Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para obtenção do grau de Bacharelado em Fisioterapia.

Orientadora: Profa. Ma. Tereza Águida Costa do Nascimento.

Co-orientador: Prof. Dr. Edinardo Fagner Ferreira Matias.

JUAZEIRO DO NORTE-CE

2015

ERIÁDINA ALVES DE LIMA

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DO APARELHO DE ALTA
FREQUÊNCIA EM MODELO *IN VITRO*.**

Trabalho de Conclusão de Curso-Monografia apresentada à coordenação do curso de graduação em Fisioterapia da Faculdade Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para obtenção do grau de Bacharelado em Fisioterapia.

Orientadora: Profa. Ma. Tereza Águida Costa do Nascimento.

Co-orientador: Prof. Dr. Edinaldo Fagner Ferreira Matias.

Data de aprovação ____ / ____ / ____

BANCA EXAMINADORA

Profa. Ma. Tereza Águida Costa do Nascimento
Faculdade Leão Sampaio
(Orientadora)

Prof. Dr. Edinaldo Fagner Ferreira Matias
Faculdade Leão Sampaio
(Co-orientador)

Prof. _____
Examinador

Prof. _____
Examinador

Dedico este trabalho, os esforços e dias de estudo a minha **mãe Lucinalda, minha avó Cleonice**, e a memória do meu **avô José Moisés**, que sonharam e desejaram, tanto quanto eu, a concretização deste objetivo.

AGRADECIMENTOS

À **Deus e Nossa Senhora** pela dádiva da vida, por me conduzirem por caminhos que me levam a realização dos meus sonhos. Por se fazerem humanos, através das pessoas que colocam no meu destino, e que me ajudam todos os dias ultrapassar os obstáculos.

À **José Moisés** o qual me orgulho em ter chamado de avô, que foi meu exemplo de perseverança humildade, respeito e honestidade .Que hoje é a estrela mais linda que brilha no céu e mora nas minhas melhores lembranças.

À **Maria Lucinalda** ,“mainha” , por ser meu alicerce, minha professora de todos os dias que me ensinou os princípios e valores que pretendo levar por toda vida, que me incentiva apoia e aconselha diante das decisões.

À **Cleonice Alves**, “vozinha”, por sonhar junto comigo, perseverar e acreditar na concretização dos meus objetivos. Pelo cuidado, confiança e por ser exemplo de honestidade garra e determinação.

À minha irmã **Mel Ane**, coração puro, que me devota um amor incondicional, suporta com saudade minha ausência e me recebe cheia de abraços a cada retorno.

À **Cicero Francisco** “painho” pelo jeito particular de tentar me mostrar o melhor caminho a seguir.

Aos meus tios, **José Neilton, Francisca, Simone e Gilvando** por acreditarem no meu potencial e serem o incentivo que preciso para continuar caminhando. De modo particular agradeço aos meus tios, **Gilmar e Vânia Lucas**, por terem assumido o posto de pai e mãe durante esses anos, por fazerem generosamente de sua casa minha casa, pelo apoio, estímulo e confiança.

Ao “primo irmão” **Ismael** pela confiança, apoio e estímulo que não me permitiram desanimar.

Aos **padrinhos e familiares** por acreditarem nas minhas escolhas.

Aos meus mestres pelos conhecimentos repassados, por me fornecerem as ferramentas necessárias para desvendar um mundo de conhecimentos. Agradeço em especial aqueles que trazem nos olhos o amor pela docência, no coração a humildade para transmitir o que sabem, e na mente o incrível poder da inteligência humana, **Daiane Pontes Leal, Luciana Cardoso, Antônio Camurça**, eu realmente os admiro e sou eternamente grata.

À minha orientadora **Tereza Águida** pelos conhecimentos e experiências repassadas, pela confiança em abrir portas de oportunidade diante dos meus olhos.

Ao meu co-orientador **Edinardo Fagner** que na verdade foi também orientador. Obrigada por acolher humildemente minhas ideias e propósitos, pela disponibilidade, atenção, educação e apoio.

À equipe de profissionais da faculdade Leão Sampaio, técnicos de laboratório, tecnocópia, cantina e de modo especial ao amigo **Galdino**, “Gal”, pela compreensão, bondade, simpatia, gentileza e amizade.

Às amigas **Isabelle Vasconcelos, Caryne e Thyalla**, pela ajuda, companhia e amizade de todos os dias, por fazerem de suas casas minha casa. Serei sempre grata.

Aos amigos **Kassiana, Itala, Jessica Menezes, Marta Juliana e Gêmessom**, por serem minha tranquilidade nos momentos de aflição e meu sorriso nas horas de alegria.

À minha amiga **Camila Pâmela**, irmã postiça por brincadeira do destino e bondade de Deus. Muito obrigada pelo companheirismo, amizade, gargalhadas, pela parceria infalível e por me acolher tão bem no seu lar. Você e sua linda família estão no meu coração.

À **Gezabell, “G”**, a qual tenho o imenso orgulho de chamar de amiga, por ser fonte de paciência e compreensão, por se fazer presente nos momentos que mais preciso. Obrigada pela cumplicidade, lealdade e amizade incondicional, que levarei sempre comigo.

Aos amigos que encontrei neste caminho, minha inesquecível turma **107**, meu **G2** e **G5**. Todos fazem parte dessa história, obrigada por partilharem do mesmo sonho, tornando mais leve os fardos dos dias exaustivos.

Aos **meus pacientes** pela alegria, humildade e generosidade, pelas palavras de agradecimento, pelo incentivo e lições de vida. Por serem parte essencial do meu aprendizado.

Você pode sonhar, criar, desenhar e construir o lugar mais maravilhoso do mundo, mas é necessário ter pessoas para transformar seu sonho em realidade.

(Walt Disney)

LIMA, E.A. **Avaliação do potencial antimicrobiano do aparelho de alta frequência em modelo *in vitro***. Monografia 51 f. Faculdade Leão Sampaio, Juazeiro do Norte-Ceará. 2015.

RESUMO

Introdução: A microbiota da pele é formada por microrganismos comensais que podem causar infecções no hospedeiro, caso este encontre-se em situações que o torne vulnerável. As lacerações ou rupturas da pele são porta de entrada para patógenos que causam infecções, provocando respostas inflamatórias a nível cutâneo e subcutâneo. Na antiguidade eram mínimas as alternativas de tratamento antifúngico e atualmente estes ainda encontram-se reduzidos. As bactérias por sua vez possuem mecanismos que as tornam resistentes a antibioticoterapia. Sendo assim o aparelho de alta frequência vem sendo utilizado no tratamento de diversas patologias infecciosas pela suas características bactericida, fungicida e virucida, decorrente da ação do ozônio, substância potencialmente oxidante. **Objetivos:** Verificar o potencial antimicrobiano do aparelho de alta frequência em modelo *in vitro*. **Metodologia:** A referida pesquisa trata-se de um estudo analítico descritivo experimental quantitativo. Para os testes foram preparadas 18 placas de *Petri* descartáveis contendo meio de cultura BHI onde foram inoculadas com amostras de bactérias (*Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*) e fungos (*Candida albicans*) e encubadas em estufa microbiológica à 37°C por 24h. As placas foram distribuídas em seis 6 grupos nomeados de acordo com o microrganismo inoculado e dividido em grupos testes e controles. De cada placa, foram isoladas 3 colônias microbianas, totalizando 9 colônias em cada grupo. Para o procedimento de intervenção foram utilizados três aparelhos de alta frequência e aplicada a técnica de faiscamento, durante 5 dias com intervalo de 24h entre as intervenções, utilizando intensidade de 100% do aparelho durante 10 minutos em cada colônia. Após o período de intervenção foi realizada repicagem e encubação das colônias tratadas. Os resultados foram analisados considerando o crescimento ou não de colônias microbianas. Os dados foram agrupados aos pares e submetidos ao teste exato de Fisher do programa *GraphPad Prism*. Considerou-se o nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$). **Resultados:** Comparado os grupos testes com seus respectivos controles e grupos entre si os resultados foram estatisticamente significativos (*S. aureus* controle x *S.aureus* teste = 0.0001; *P. aeruginosa* controle x *P.aeruginosa* teste = 0,0047; Bactérias controle x Bactérias teste = 0,0147; *S.aureus* teste x *P. aeruginosa* teste = 0,0412; *S.aureus* teste x *C.albicans* teste = 0,0011; Bactérias teste x *C. albicans* teste = 0,0090). Apenas os grupos (*C. albicans* controle x *C.albicans* teste = 0,2353 e *P. aeruginosa* teste x *C.albicans* teste = 0,1674), não apresentaram significância estatística. **Conclusão:** Diante dos resultados apresentados foi possível observar e quantificar que o aparelho de alta frequência demonstrou atividade bactericida, não sendo observado efeito fungicida. Portanto, o aparelho de alta frequência pode ser considerado como uma ferramenta promissora para o tratamento de infecções dermatológicas, principalmente de ordem bacteriana, e com possibilidade de interação com técnicas antimicrobianas.

Palavras-chave: Ozônio. Infecção. Bactericida. Pele.

LIMA,E.A. **Potential antimicrobial assessment of high-frequency device model *in vitro***. Monograph 51 f. Faculdade Leão Sampaio, Juazeiro do Norte-Ceará. 2015.

ABSTRACT

Introduction: Skin microbiota is formed by microorganisms that can cause infections in the host if they meet in situations that make it vulnerable. Lacerations or broken skin are the gateway to pathogens that cause infections, causing inflammatory responses to cutaneous and subcutaneous level. In ancient times there were minimal antifungal treatment alternatives and currently they still are reduced. The bacteria in turn mechanisms that have become resistant to antibiotics. Thus the high frequency device has been used in the treatment of various infectious diseases by its bactericidal characteristics, fungicidal and virucidal, due to ozone action, potentially oxidising substance. **Objectives:** Check the antimicrobial potential of high-frequency apparatus in vitro model. **Methodology:** this research it is an experimental quantitative analytical study. For the tests were prepared 18 disposable Petri dishes containing culture medium BHI where were inoculated with bacteria (*Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*) and fungi (*Candida albicans*) and incubated at 37°C for microbiological greenhouse to 12:0 am. The plates were distributed in six 6 named groups according to the micro-organism inoculated and divided into test groups and controls. Each plate, 3 were isolated microbial colonies, totalling 9 colonies in each group. For the intervention procedure we used three high-frequency devices and applied the technique to avoid sparking risks, during 5 days with 12:0 am range between interventions, using 100% intensity of the appliance for 10 minutes in each colony. After the intervention period was performed and success of the treated colonies subculture. The results were analyzed considering the growth of microbial colonies. The data were grouped in pairs and the Fisher exact test of the program GraphPad Prism. It was considered the significance level of 5% ($p \leq 0.05$). **Results:** Compared with their respective testing groups controls and groups the results were statistically significant, (*S. aureus* control x *S.aureus* test = 0.0001; *P. aeruginosa* control x *P.aeruginosa* test = 0,0047; Bactérias control x Bacteria test = 0,0147; *S.aureus* test x *P. aeruginosa* test = 0,0412; *S.aureus* test x *C.albicans* test = 0,0011; Bacteria test x *C. albicans* test = 0,0090). Apenas os grupos (*C.albicans* control x *C.albicans* test = 0,2353 e *P. aeruginosa* test x *C.albicans* test = 0,1674) did not show statistical significance. **Conclusion:** On the results it was possible to observe and quantify the high frequency apparatus demonstrated bactericidal activity, not being observed effect fungicide. Therefore, the high-frequency apparatus can be regarded as a promising tool for the treatment of dermatological infections, particularly bacterial order, and with the possibility of interaction with antimicrobial techniques.

Keywords: Ozone. Infection. Bactericide. Skin.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Localização da microbiota transitória e residente	21
Figura 2- Eletrodos do aparelho de alta frequência.....	30

LISTA DE FLUXOGRAMA

Fluxograma 1- Procedimentos metodológicos da pesquisa	33
--	-----------

LISTA DE FOTOGRAFIAS

Fotografia 1- Preparação do meio e Inoculação das linhagens bacterianas e fúngica em placas de Petri.....	34
Fotografia 2- Demarcação para isolamento das colônias bacterianas e fúngicas e aplicação do aparelho de alta frequência sobre colônia microbiana.....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Resultado do crescimento microbiano pós-experimento e análise inferencial entre grupos bacterianos (teste x controle).....	35
Tabela 2- Resultados do crescimento microbiano pós-experimento e análise inferencial entre grupos fúngicos (teste x controle)	37
Tabela 3- Resultado do crescimento microbiano pós-experimento e análise inferencial entre grupos microbianos (teste x teste)	40

LISTA DE SIMBOLOS

°C	Grau Celcius
cm	Centimetro
%	Porcentagem
ml	Mililitros
mA	Miliampère
S	Unidade de sedimentação
Ph	Potencial Hidrogeniônico

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
CO₂	Dióxido de carbono
DNA	Ácido desoxirribonucleico
h	Hora
He	Hélio
KHz	Kilohertz
LasA	Enzima serino protease
LasB	Enzima metaloprotease
LMBM	Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular
mA	Miliampères
O	Oxigênio atômico
O₂	Oxigênio molecular
O₃	Ozônio
SPP	Espécies
V	Volts

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 OBJETIVOS	19
2.1 OBJETIVO GERAL:	19
2.2 ESPECÍFICOS:	19
3 REFERENCIAL TEÓRICO	20
3.1 Estrutura e características da pele.....	20
3.2 Microbiota dérmica.....	21
4 ESTRUTURA E MORFOLOGIA BACTERIANA E FUNGICA	23
4.1 Bactérias Gram-Positivas	24
4.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	24
4.3 Bactérias Gram-Negativas	25
4.4 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25
4.5 Fungos	26
5 APARELHO DE ALTA FREQUÊNCIA	28
5.1 Efeitos terapêuticos do aparelho de alta frequência	28
5.2 Formação do ozônio e ação antimicrobiana	28
5.3 Formas de aplicação	29
6 MATERIAIS E MÉTODOS	31
6.1 Tipo de estudo	31
6.2 Local do estudo.....	31
6.3 Coleta de dados.....	31
6.3.1 Culturas Bacterianas e Fúngicas	31
6.3.2 Procedimento Experimental	31
6.3.3 Leitura dos Resultados	32
6.3.4 Análise dos Resultados	32
7 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
8 CONCLUSÃO	42
REFERÊNCIAS	43
APÊNDICES	47

1 INTRODUÇÃO

A pele é uma camada de tecido que favorece o contato do organismo com o meio externo, é um dos maiores órgãos do corpo humano e possui funções vitais como a proteção das estruturas orgânicas internas, equilíbrio homeostático e função perceptiva e sensorial (MALAGUTTI; KAKIHARA, 2010).

Segundo Higa (et al., 2007) as características intrínsecas da pele conferem a esta o importante papel na defesa contra os vários patógenos existentes. O organismo está constantemente vulnerável a invasões por microrganismos, mesmo possuindo uma linha de defesa com a função de protegê-lo contra infecções. Souza (2003) acrescenta que lacerações ou rupturas da pele, são porta de entrada para patógenos causadores de infecções, que se instalam a nível cutâneo e subcutâneo provocando respostas inflamatórias em decorrência da invasão, porém ainda há os casos em que a porta de entrada para o agente infeccioso não é aparente.

De acordo com Gobbo (2010) o corpo possui naturalmente vários microrganismos que formam a microbiota, chamada de flora normal, constituída por fungos e bactérias que se depositam de maneira permanente nas várias regiões do organismo. Estes microrganismos predominam em regiões que estão em contato constante com o meio externo, como no caso das mucosas e da pele, que é a responsável dentre outras funções, por proteger o organismo de possíveis colonizações patogênicas. Ingraham e Ingraham (2011) reforça que as infecções de pele de origem bacteriana, em sua grande maioria, estão dispostas de forma localizada, o que não exclui a possibilidade de algumas se espalharem disseminando o quadro. A microbiota natural da pele possui microrganismos que são sustentados por uma relação de comensalismo e alguns outros que são patogênicos e oportunistas .

No que se refere as características morfológicas dos fungos e bactérias, Murray (2006) cita que as células que compõem o organismo dos animais e fungos são do tipo eucarióticas ,do grego “núcleo verdadeiro”, enquanto as bactérias fazem parte dos procariotos, do grego núcleo primitivo. Levinson e Jawetz (2008) discorre que, bactérias são classificadas em Gram-positivas e Gram-negativas, onde na classe Gram-positiva, pode-se destacar a espécie *Staphylococcus aureus*, bactérias que desenvolvem-se em formato de cachos de uva e são responsáveis por várias infecções piogênicas , doenças de pele como o impetigo, infecção de soluções de continuidade, foliculíte entre outras. Em relação a classe Gram-negativa, Kvitko (2010) destaca *Pseudomonas* como bacilos Gram-negativos não fermentadores, que

podem produzir mecanismos tóxicos ao organismo do hospedeiro, provocando dano tissular através da degradação da elastina, além de deter a capacidade de prejudicar as respostas imunológicas, propiciando disseminação e maiores agravos teciduais.

Os fungos por sua vez, apresentam características que os diferenciam de outros microrganismos como por exemplo, o fato de possuírem um núcleo envolto por membrana (HARVEY, 2008; LEVINSON; JAWETZ, 2008). Classificam-se em dermatófitos, não dermatófitos e ainda espécies de leveduras como *Candida*, que embora encontrem-se na flora natural do corpo, podem se proliferar patologicamente diante de um rebaixamento da flora normal. As infecções fúngicas a nível tecidual podem ser representadas pelas micoses ou dermatomicoses, que se classificam em cutâneas, subcutâneas e profundas de acordo com a forma de entrada do patógeno fúngico, podendo ainda acometer, pelos, unhas e pele (PAULA et al., 2012; DIAS, 2010; ROQUE, 2013; HIGA et al., 2007).

No que se refere aos tratamentos antimicrobianos Roque (2013) relata que, na antiguidade eram mínimas as alternativas de tratamento para infecções fúngicas e que apesar de hoje a indústria farmacêutica dispor de vários medicamentos para tratamento das micoses, as alternativas terapêuticas ainda são reduzidas. Neves (et al., 2011) cita que as bactérias por sua vez, possuem mecanismos responsáveis por torná-las resistentes a antibioticoterapia.

Dentre as alternativas terapêuticas o efeito do ozônio advindo do aparelho de alta frequência vem sendo utilizado no tratamento de diversas patologias, sejam elas de ordem crônica ou aguda. Este recurso possui comprovadamente, efeitos sobre o metabolismo celular, que auxiliam tanto no processo de aceleração cicatricial como na eliminação de agentes bacterianos, fúngicos e virais, sendo sua utilização vantajosa pela fácil aplicação, baixo custo e por não possuir contraindicações (KORELLO et al., 2013; BRAZ et al., 2014). A ação antisséptica e bactericida é o principal efeito terapêutico do aparelho de alta frequência, que decorre da ação oxidante e capacidade de reduzir toxinas produzidas por agentes bacterianos (BORGES, 2006).

Apesar dos diversos estudos relacionados ao efeito bactericida, fungicida e demais benefícios terapêuticos do aparelho de alta frequência, os mesmos não deixam claro o espectro de ação deste recurso. O presente estudo justifica-se então, pela necessidade de verificar, se o aparelho de alta frequência possui a mesma ação tanto na classe de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas como na classe fúngica. De forma que os resultados encontrados possam mostrar a especificidade do aparelho de alta frequência e contribuir no direcionamento das terapêuticas propostas pelo profissional fisioterapeuta. Podendo trazer

benefícios para o tratamento de indivíduos acometidos por afecções dérmicas infecciosas, considerando que estas causam malefícios a saúde, prolongando o tempo de recuperação e aumento dos gastos com o tratamento.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL:

Verificar o potencial antimicrobiano do aparelho de alta frequência em modelo *in vitro*.

2.2 ESPECÍFICOS:

- Averiguar o tempo de aplicação e intensidade do aparelho de alta frequência quanto a capacidade de redução da proliferação bacteriana e fúngica;
- Analisar comparativamente os resultados entre bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e fungos mediante exposição ao aparelho de alta frequência.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Estrutura e características da pele

Segundo Malagutti e Kakhara (2010) a pele é uma camada de tecido que favorece o contato do organismo com o meio externo é um dos maiores órgãos do corpo humano e possui funções vitais como a proteção das estruturas orgânicas internas, equilíbrio homeostático, função perceptiva e sensorial.

O tegumento é constituído pela epiderme, porção epitelial e pela derme parte tecidual conjuntiva, a camada hipodérmica apesar de encontrar-se subjacente a derme não faz parte da pele. A epiderme é constituída pelas seguintes camadas: germinativa ou basal, espinhosa, granulosa, lúcida e córnea (GUIRRO; GUIRRO, 2004; MENDONÇA et al., 2011). É um tecido epitelial estratificado queratinizado, responsável pela produção da queratina, proteína que atribui a impermeabilidade característica dessa camada que por não possuir vascularização, obtém nutrição através da derme, camada subjacente (MENDONÇA et al., 2011).

Mendonça (et al., 2011) cita que a camada dérmica constitui-se de um tecido resistente formado por proteínas fibrosas (colágeno e elastina), nesta camada encontram-se ainda fibras reticulares, vasos sanguíneos, linfáticos e nervos além dos anexos cutâneos folículo piloso, a glândula sebácea e as glândulas sudoríparas. Já Rodrigues (et al., 2008) se refere ao tecido subcutâneo hipodérmico relatando que este é constituído por células gordurosas que mantêm equilibrada a temperatura corporal e funciona como reserva energética.

Segundo Higa (et al., 2007) o organismo está constantemente vulnerável a invasões por microrganismos, mesmo possuindo uma linha de defesa com a função de proteção contra infecções. Souza (2003) reforça que as características intrínsecas da pele conferem a esta o importante papel na defesa contra os vários patógenos existentes. Fatores relacionados ao hospedeiro, funções de proteção da pele e fatores bacterianos devem ser considerados, pois lacerações ou rupturas da pele ainda que não sejam aparentes, são portas de entrada para agentes infecciosos que se instalam a nível cutâneo e subcutâneo, provocando respostas inflamatórias em decorrência da invasão.

Ainda em relação a pele, Gobbo (2010) discorre que, esta possui características particulares como por exemplo, a presença de ácidos graxos livres que são produzidos por glândulas sebáceas e o baixo PH, tornam impróprio o desenvolvimento de microrganismos

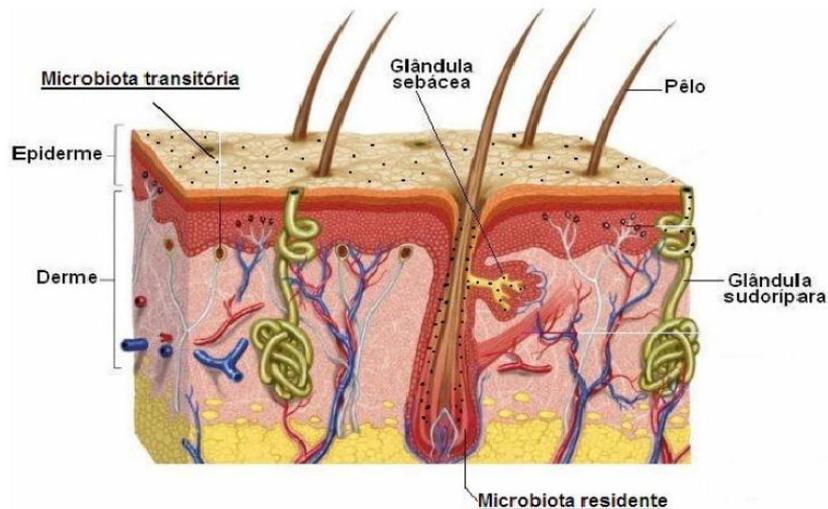
patogênicos na pele. Porém danos como cortes ou lacerações da pele fornecem a entrada de agentes infecciosos que podem se disseminar e causar o que se conhece por infecção generalizada ou septicemia. Malagutti e Kakihara (2010) acrescentam que através da observação da pele é possível detectar problemas no funcionamento do organismo como por exemplo os distúrbios oriundos da resposta inflamatória: calor, vermelhidão e infiltração

3.2 Microbiota dérmica

O corpo possui naturalmente vários microrganismos que formam a microbiota, flora normal, constituída por fungos e bactérias que se depositam de maneira permanente nas várias regiões do organismo, principalmente quando estas partes estão em contato constante com o meio externo como é o caso da pele, responsável dentre outras funções, por proteger o organismo de possíveis colonizações patogênicas (GOBBO, 2010).

Segundo Padovani (2008) a microbiota da pele é classificada em microbiota transitória e residente (Figura 1). A microbiota transitória está localizada externamente, depositando-se na camada córnea da pele e é adquirida pelo contato com o meio. Em relação microbiota residente, o autor cita que esta encontra-se localizada em regiões mais profundas como por exemplo no folículo piloso e glândulas sudorípara. Os microrganismos formadores da microbiota residente mantêm uma relação estável com o hospedeiro, causando danos apenas em situações que permitam o contato direto com o sangue.

Figura -1 Localização da microbiota transitória e residente.



Fonte: PADOVANI (2008).

Referindo-se ainda a microbiota natural da pele, Ingraham e Ingraham (2011) cita que esta possui microrganismos que são sustentados por uma relação de comensalismo e alguns outros que são caracteristicamente patogênicos e oportunistas. As infecções cutâneas de origem bacteriana em sua grande maioria são localizadas, o que não exclui a possibilidade de algumas se espalharem tornando o quadro potencialmente letal. O mesmo autor destaca que nas regiões corporais de maior umidade como a axila, virilha, contornos do nariz e boca, encontram-se um maior número e variedade de microrganismos.

4 ESTRUTURA E MORFOLOGIA BACTERIANA E FUNGICA

Segundo Murray (2004) as células que compõem o organismo dos animais, e fungos são do tipo eucarióticas do grego “núcleo verdadeiro”, já as bactérias fazem parte dos procariotos do grego núcleo primitivo. Harvey (2008) afirma que esta denominação da presença ou ausência do núcleo celular, onde as que contém núcleo são denominadas eucarióticas e as que não o contém são denominadas procarióticas

De acordo com Harvey (2008) os microrganismos procariotos possuem estrutura e produção de substâncias que são intrínsecas as bactérias. De forma geral a célula procariótica é formada por as seguintes partes:

- **Cápsula:** tem origem a partir de um material de característica viscosa produzida pelas bactérias. Este material recobre a célula ficando ligado a ela com uma forma estrutural organizada formando uma cápsula extra celular.

- **Parede celular:** formada a partir da interligação de polímeros, esta possui uma porção glicana que é um polímero linear, e uma porção de peptídeos formada por aminoácidos esta estrutura confere a forma da célula bacteriana.

- **Membrana celular:** possui função de barreira por conter em sua composição fosfolipídeos que por sua vez dão origem a bicamada lipídica. Esta estrutura é responsável pela seleção de moléculas que entram e saem da célula.

- **Apêndices:**

- Flagelos: possuidores de características antigênicas, estas estruturas conferem motilidade a célula bacteriana e encontram-se conectadas a parede e membrana da mesma.
- Pili: Estruturas mais delgadas e menores que os flagelos, o pili pode ser também denominado como fímbrias e são responsáveis pela ancoragem, ou seja, estabelecem o contato entre células bacterianas ou entre as células bacterianas e as células do hospedeiro.

Trabulsi e Alterthun (2008) cita o nucleóide como o DNA da célula procariótica, onde a parte nuclear é formada por fibrilas de DNA dupla hélice e acrescenta que o citoplasma bacteriano pode conter DNA circulares que fornecem seletividade as células que os contém, conhecidos como plasmídeos estes podem se dividir em fatores sexuais, de resistência a antibióticos e etc. Já o citoplasma é um meio aquoso no qual ficam dispostas partículas imprescindíveis a célula, como os ribossomos responsáveis pela produção de proteínas e é composto pelas subunidades 30 s e 50s.

Ainda de acordo com Trabulsi e Alterthun (2008) no que se refere a parede celular bacteriana, tanto as bactérias Gram-positivas quanto Gram-negativas, possuem distinções intrínsecas. Uma das grandes diferenças está na composição das camadas da parede celular, onde Gram-negativas possuem uma parede mais complexa, constituída por mais de uma camada de compostos químicos diferentes. Enquanto as bactérias Gram-positivas apresentam uma camada bem espessa, porém formada por apenas um composto químico.

4.1 Bactérias Gram-Positivas

O principal componente da parede celular de bactérias gram-positivas são os peptídeoglicanos, esta macromolécula representa cerca de 45% a 50% do peso seco da célula, é um exoesqueleto que devido a presença de porosidades permite a entrada de metabólitos para a membrana plasmática. São moléculas fundamentais que participam da estrutura, proliferação e que garantem a sobrevivência das bactérias nos diversos meios. Outra parte da parede celular é formada por proteínas e ácidos tecóicos, que compõe até 50% da massa seca destas células. Os ácidos tecóicos podem encontrar-se ligados aos peptídeoglicanos da parede ou ácidos lipotecóicos que ligam-se aos lipídeos, constituintes da membrana plasmática (MURRAY, 2004; TRABULSI; ALTERTHUN, 2008).

4.2 *Staphylococcus aureus*

De acordo com Levinson e Jawetz (2008) a espécie *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) são bactérias Gram-negativas que desenvolvem-se em formato de cachos de uva, responsáveis por várias infecções destacando-se entre elas, os abscessos e infecções piogênicas, doenças de pele como o impetigo, infecção de soluções de continuidade, foliculite, entre outras. Santos (et al., 2007) afirma que do gênero *Staphylococcus*, aproximadamente 10 espécies podem ser encontradas na flora natural do corpo sendo a espécie *S. aureus* a que mais se relaciona a infecções purulentas e colonização das lesões originadas de processos cirúrgicos, possibilitando nestes casos, o surgimento de processos infecciosos de maior extensão.

Bactérias *S. aureus* costumam acometer tecidos subjacentes bem como órgãos internos e são responsáveis pela maior parte das infecções adquiridas tanto no âmbito hospitalar como comunitário (GELATTI et al., 2009; INGRAHAM; INGRAHAM, 2011). Possuem mecanismos que lhes conferem a capacidade patogênica como por exemplo, facilidade para

colonizar a pele do hospedeiro e potencial de inibição contra componentes fagocíticos protetores (LOPES, et al., 2012).

Ainda no que se refere aos mecanismo patogênico da espécie *Staphylococcus* Ingraham e Ingraham (2011) cita que estas bactérias possuem capacidade de gerar no hospedeiro um forte processo inflamatório, decorrente da liberação de enzimas e toxinas que danificam a membrana celular humana provocando morte celular, a exemplo pode-se destacar a toxina esfoliativa que gera uma separação e descamação das camadas externas da pele, este é o mecanismo responsável por uma grave síndrome clínica, conhecida como síndrome da pele escaldada estafilocócica.

4.3 Bactérias Gram-Negativas

Existe uma maior complexidade na formação da parede de bactérias Gram-negativas, que possuem poucas camadas de peptídeoglicanos e não contém ácidos tecóicos na sua composição. Estas células apresentam ainda membrana externa constituída por duas camadas lipídicas, em que a camada mais interna é composta basicamente de fosfolipídeos em quanto a mais externa é composta por lipopolissacarídeos e proteína. A membrana externa encontra-se ainda, separada da membrana citoplasmática pelo espaço periplasmático, lugar onde localizam-se as enzimas e proteínas celulares (TRABULSI; ALTERTHUN 2008).

4.4 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas são bacilos Gram-negativos não fermentadores, conhecidos como aeróbios obrigatórios, porém, podem crescer de forma anaeróbia e por isso possuem a capacidade de desenvolver-se em diferentes tipos de meios (KVITKO, 2010).

A espécie *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*) possui forte resistência a antibióticos e desinfetantes, suportam temperaturas de até 42° C e estão entre as bactérias mais predominantes em infecções hospitalares (FIGUEIREDO, et al., 2007; KVITKO, 2010). Apresentam um grande poder de resistência aos tratamentos, sendo por isso, a causadora de grande parte das infecções nosocomiais. Este fato deve-se a sua capacidade de troca de material genético entre as espécies de gram-negativas o que torna essa espécie bacteriana inerentemente resistente a determinados tratamentos através da antibioticoterapia. Este fato torna as infecções por pseudomonas merecedoras de grande atenção clínica, por serem de

difícil resolução constituindo-se num potencial fator causador de morbimortalidade (NEVES, et al., 2011).

Em relação aos mecanismos tóxicos que podem ser produzidos por *Pseudomonas* no organismo do hospedeiro Kvitko (2010) cita a ação das enzimas LasA (serino protease) e LasB (metaloprotease) que provocam dano tissular através da degradação da elastina e detém ainda a capacidade de prejudicar as respostas imunológicas propiciando a disseminação e o agravamento a nível tecidual. Fuentefria (et al., 2008) ainda acrescenta que, estas bactérias possuem a capacidade de desenvolver resistência a vários antimicrobianos e encontram-se geralmente relacionadas a infecções no âmbito hospitalar, comprometendo especialmente pacientes com imunidade baixa.

Por fazerem parte da microbiota dérmica *Pseudomonas* não oferecem risco a indivíduos saudáveis, acometendo geralmente aqueles que encontram-se restritos a leitos hospitalares e com baixa imunidade provocando infecções respiratórias, colonizações axilares, perineais, entre outras. Já as infecções comunitárias causadas por *Pseudomonas* possuem menor significância, quando comparadas as encontradas em nosocômios (KVITKO, 2010; TURANO, 2012).

4.5 Fungos

Uma das características que diferenciam os fungos de outros organismos é o fato de possuírem um núcleo envolto por uma membrana recebendo então a denominação de organismos eucarióticos. A membrana celular fúngica é composta por ergosterol e sua parede celular constituída por quitina distinguindo-se da parede bacteriana é composta por peptídeoglicano esta particularidade que torna os fungos resistentes a antibióticos, já que o principal mecanismo de ação destas substâncias se dá pela inibição da formação peptídeoglicana (HARVEY, 2008).

Os fungos podem ser do tipo dermatófitos, não dermatófitos e ainda espécies de leveduras como *candida* (DIAS, 2010). O organismo humano é frequentemente infectado pelas leveduras do gênero *Candida* que são responsáveis por 80% das infecções de origem fúngica em hospitais terciários, sendo também a causa de infecções em indivíduos com déficit imunitário. *Candida albicans* (*C. albicans*) como espécie deste gênero possui alto nível de patogenicidade, com capacidade de infectar qualquer região cutânea do hospedeiro provocando o que se conhece por candidíase (HIGA, et al, 2007, GUERRA, 2014).

Paula (et al., 2012) discorre que uma das formas de infecções a nível tecidual pode ser representado pelas micoses ou dermatomicoses que se classificam em cutâneas, subcutâneas e profundas, de acordo com a forma de entrada do patógeno fúngico, que são seres uni ou pluricelulares e que podem causar quadros infecciosos em homens e animais acometendo pelos, unhas e pele.

Ainda em relação as infecções fúngicas Somenzi (et al., 2006) reforça que quando ocorrem a nível cutâneo, são causadas por fungos que estão presentes na microbiota residente do indivíduo. Quando condições propícias, como umidade e calor, os fungos provocam o aparecimento das micoses superficiais da pele e seus nexos cutâneos, provocando infecções no couro cabeludo, lesões pelo corpo e descamações interdigitais bem como, prurido, máculas, dentre outros.

Guerra (2014) cita que a característica patogênica da espécie *C. albicans* está ligada aos vários mecanismos que lhes conferem a capacidade de penetrar o organismo dos indivíduos. No que se refere a terapêutica antifúngica, Roque (2013) cita que no século passado eram mínimas, se não inexistentes, as opções de tratamento sendo, o iodeto de potássio em solução saturada, o primeiro medicamento utilizado contra tais afecções. Em seguida, surgiram outros medicamentos como a anfotericina e os de uso tópico como a ciclopiroxolamina. Apesar de que indústria farmacêutica já disponha de medicamentos para este tipo de tratamento, as alternativas terapêuticas para micoses ainda são reduzidas.

5 APARELHO DE ALTA FREQUÊNCIA

O desenvolvimento do primeiro aparelho de alta frequência ocorreu na Alemanha em 1857 por Werner Von Siemens, que foi o precursor dos estudos sobre os efeitos do ozônio em microrganismos e em mucosas de animais e humanos. A partir disto o profissional fisioterapeuta vem utilizando o aparelho de alta frequência no tratamento de afecções do tegumento (KORELO, et al., 2013).

Este recurso utiliza eletrodos de vidro que possuem em seu interior desde ar rarefeito até gases como o neon, xenon ou argon. A corrente gerada é alternada e portanto, de baixa intensidade. Os parâmetros de frequência e intensidade utilizados nestes aparelhos podem variar de acordo com o fabricante onde a frequência pode ser entre 100 e 200 KHz com tensão entre 25.000 a 40.000V e intensidade de 100mA, por exemplo (BORGES, 2006; KORELO et al., 2013).

5.1 Efeitos terapêuticos do aparelho de alta frequência

Os efeitos decorrentes do aparelho de alta frequência se dão a partir da formação do campo elétrico, ocorrendo por dois mecanismos, produção de calor na região submetida a corrente com conseqüente aumento do metabolismo local, e o efeito advindo da formação do ozônio através do faiscamento que é produzido pela passagem da corrente pelo eletrodo. Tais efeitos conferem ao aparelho de alta frequência uma grande importância pela capacidade de contribuir no processo cicatricial de lesões cutâneas e eliminação de processos infecciosos (KORELO et al., 2013).

De acordo com Martins (et al., 2012) o ozônio produzido pelo aparelho de alta frequência tem a capacidade de auxiliar no tratamento de lesões de pele, por meio da sua ação ativadora sobre os linfócitos T, bem como provocar um aumento do metabolismo e conseqüente aumento da vasodilatação e de componentes antioxidantes. Silva et al., (2011) acrescenta que esta substância possui efeito bactericida, além de otimizar a penetração de medicamentos sistêmicos no organismo através do seu efeito vasodilatador.

5.2 Formação do ozônio e ação antimicrobiana

Caloy (2011) afirma que na ozonosfera a formação de ozônio (O_3) se dá pela passagem de ondas eletromagnéticas pelo ar rarefeito. Da mesma forma, ocorre a produção do

ozônio através do aparelho de alta frequência, onde as ondas eletromagnéticas emitidas passam pelo ar formando o ozônio sobre a pele. O ozônio consiste em uma substância instável que se desfaz rapidamente convertendo-se em oxigênio molecular (O₂) e atômico (O). Durante a aplicação do alta frequência sobre a pele ocorre um faiscamento, o qual resulta na formação do ozônio, onde o potencial bactericida atribuído a este, encontra-se justamente durante sua decomposição, em que o oxigênio atômico resultante possui características potencialmente agressivas.

O efeito do ozônio advindo do aparelho de alta frequência vem sendo utilizado no tratamento de diversas patologias, sejam elas de ordem crônica ou aguda, pois possui comprovadamente, efeitos sobre o metabolismo celular que auxiliam tanto no processo de aceleração cicatricial como na eliminação de agentes bacterianos, fúngicos e virais (KORELO et al., 2013; BRAZ, et al., 2014).

Ainda em relação ao ozônio, este possui elevado efeito oxidante tornando-o um agente eficaz contra a ação de bactérias, leveduras e outros microrganismos. Isto o torna num excelente antisséptico que pode reduzir a ação das toxinas bacterianas sendo por este motivo, utilizado no tratamento de afecções de pele como, úlceras diabéticas e por pressão, ferimentos expostos, psoríase, patologias fúngicas das unhas e onicomicoses, entre outras (SILVA, et al., 2011; CALOY, 2011).

Segundo Borges (2006), a ação antisséptica e bactericida é o principal efeito terapêutico do gerador de alta frequência, efeito este, que se dá pela ação oxidante e pela capacidade de reduzir toxinas produzidas por agentes bacterianos. O mesmo autor ainda afirma que a redução do trofismo dérmico e a persistência de processos inflamatórios estão na maioria das vezes relacionados a presença de germes e bactérias que dificultam a resolução do processo inflamatório e de cicatrização.

De acordo com Braz (et al., 2014) a ação do ozônio sobre os microrganismo se dá, primariamente, na parede celular e em seguida esse efeito se estende para o interior da célula provocando efeito oxidativo nos aminoácidos e ácidos nucléicos. Souza e Pantaleão (2008) afirmam que os componentes que integram a parede celular, são os primeiros a sofrerem a ação desinfetante do ozônio que em sequência, adentram a célula reagindo com o conteúdo citoplasmático e destruindo através do seu poder oxidativo aminoácidos e ácidos nucleicos constituindo-se no principal fator causador do extermínio celular.

5.3 Formas de aplicação

A aplicação do aparelho de alta frequência se faz com o uso de eletrodos que divergem no formato e maneira de utilização (figura 2). Para aplicação conhecida por efluviação são utilizados eletrodos planos que entram em contato direto com a superfície cutânea. Enquanto a aplicação indireta realiza-se com o próprio paciente segurando um eletrodo com formato cilíndrico, de maneira que a corrente de alta frequência é gerada ao toque das mãos do terapeuta. Os eletrodos em forma de forquilha e pente são utilizados para assepsia do couro cabeludo e áreas específicas do rosto respectivamente (BORGES, 2006; CALOY, 2011).

Uma outra forma de aplicação é conhecida como faiscamento, na qual o eletrodo é mantido a uma distância mínima da região a ser tratada de maneira que não ocorra durante a aplicação nenhum contato entre essas duas estruturas. O eletrodo utilizado nesta formação de aplicação tem formato de bico e é conhecido por cauterizador. O faiscamento intenso e característica nesta forma de aplicação, se dá pela concentração da corrente na ponta do eletrodo (BORGES, 2006; CALOY, 2011).

Figura 2- Eletrodos do aparelho de alta frequência



Fonte: BORGES, (2006)

6 MATERIAIS E MÉTODOS

6.1 Tipo de estudo

O referido estudo realizado *in vitro*, é caracterizado como analítico experimental descritivo de abordagem quantitativa, existindo para tanto a necessidade de um grupo teste e outro controle, onde o pesquisador possui domínio sobre a exposição aplicada existindo a descrição e registro dos fenômenos. Os dados são apresentados por quantificações numéricas e tratados estatisticamente (DALFOVO et al., 2008; MARQUES; PECCIN, 2005).

6.2 Local do estudo

O estudo e ensaios foram realizados no Laboratório de Microbiologia da Faculdade Leão Sampaio (Juazeiro do Norte – Ceará)

6.3 Coleta de dados

6.3.1 Culturas Bacterianas e Fúngicas

Para realização dos testes, o meio de cultura utilizado foi *Brain Heart Infusion agar* (BHI agar), onde foi preparado seguindo a recomendação do fabricante, sendo posteriormente esterilizado em autoclave a 121°C por 15 minutos e em seguida distribuído 15 mL do meio em 18 placas de *Petri* estéril/descartáveis de 10 cm .

A inoculação foi feita com amostras linhagens ATCC de bactérias (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442) e fungos (*Cândida albicans* ATCC 40227), cedidas pelo Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular – LMBM da Universidade Regional do Cariri – URCA. Após preparação das placas as linhagens bacterianas e fúngica, foram semeadas sobre as placas a partir de uma estria central seguido de espalhamento superficial utilizando uma alça de platina esterilizada. Após semeadura as placas foram encubadas em estufa microbiológica à 37°C por 24 h.

6.3.2 Procedimento Experimental

As placas bacterianas e fúngicas foram distribuídas em seis (6) grupos nomeados de: G1c – *S. aureus* controle; G1 – *S. aureus* teste; G2c – *P. aeruginosa* controle; G2 – *P. aeruginosa* teste; G4c – *C. albicans* controle; G4 – *C. albicans* teste. Cada grupo foi formado por 3 placas, onde foram isoladas 3 colônias microbianas, totalizando 9 colônias em cada grupo. Os grupos G1, G2 e G3 sofreram a intervenção do gerador de alta frequência, enquanto os G1c, G2c e G3c acompanharam todo período de teste sem exposição ao aparelho. Para o procedimento de intervenção foram utilizados três geradores de alta frequência da marca IBRAMED com eletrodos de bico, também conhecido como cauterizador, e aplicando a técnica de faiscamento. O gerador de alta frequência foi fixado em hastes metálicas que permitiram que os aparelhos fossem posicionados a cinco milímetros (5mm) de distância da placa, até atingir faiscamento satisfatório. Sob as placas que sofreram intervenção, foram colocadas folhas de papel alumínio, com a finalidade de melhorar a condutibilidade da corrente. O procedimento de intervenção foi realizado durante 5 dias com intervalo de 24h entre as intervenções, onde tiveram duração de 10 minutos de intervenção em cada colônia, e para obtenção de faiscamento satisfatório o gerador foi regulado com intensidade de 100%, onde o procedimento de intervenção seguiu a mesma ordem de aplicação nas colônias selecionadas.

6.3.3 Leitura dos Resultados

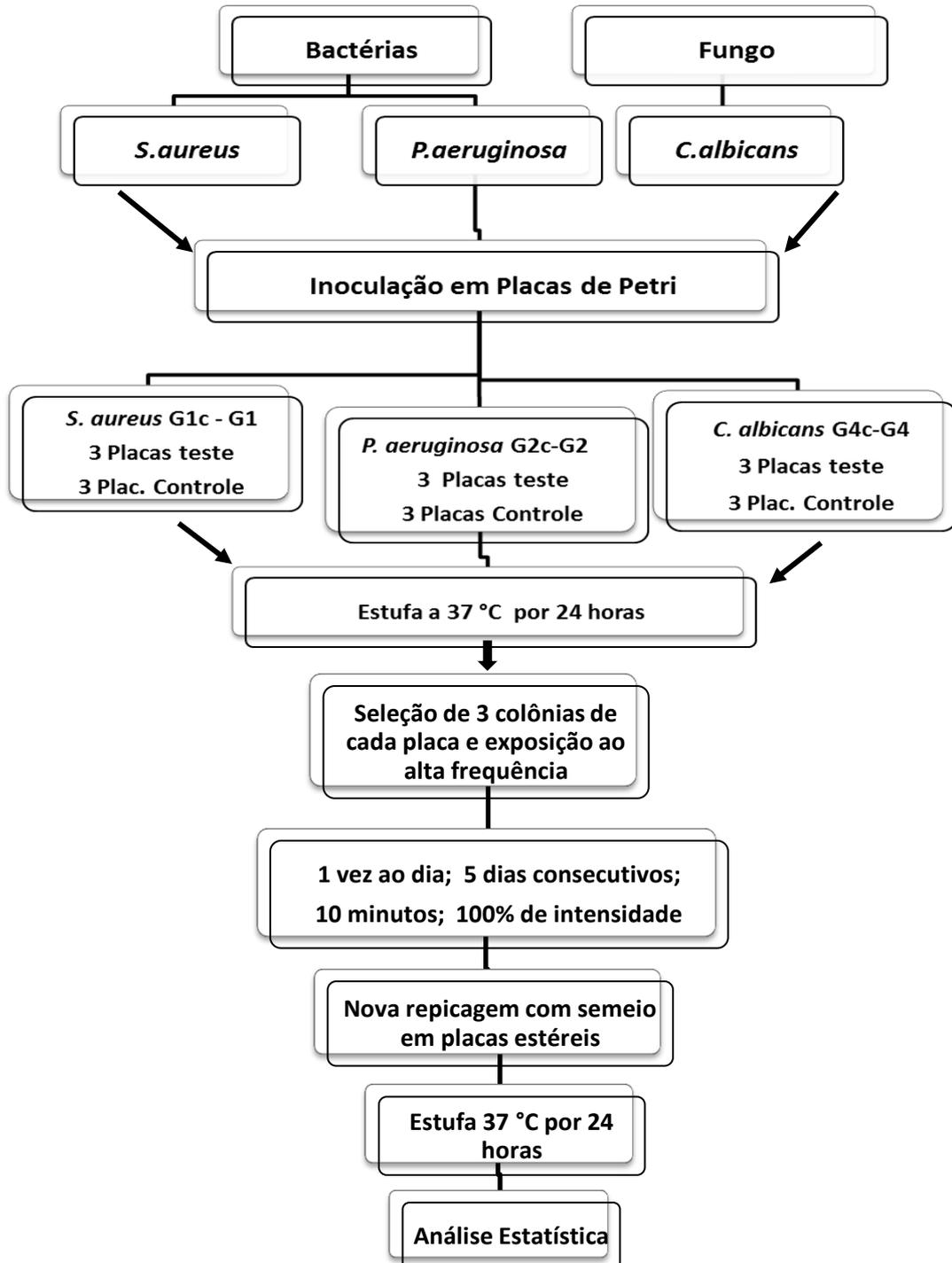
Após o final da intervenção utilizando o gerador de alta frequência, que totalizaram 5 aplicações, as colônias das placas bacterianas e fúngicas dos grupos de teste e controle, foram repicadas em placas estéreis contendo BHI agar e colocadas em estufa a 37°C por 24h, onde foi possível verificar presença ou ausência de proliferação microbiana das colônias que foram submetidas a intervenção do gerador de alta frequência e das colônias de controle.

Para obtenção dos resultados, foi realizada comparação entre os grupos bacterianos e fúngicos com seus respectivos controles e entre os grupos testes de bactérias com grupos teste de fungo. Para análise dos resultados, foram criados os grupos G3c e G3, onde ficaram reunidos os resultados referentes as linhagens bacterianas, ou seja, G3c e G3 correspondem aos resultados de G1c + G2c e G1 e G2, respectivamente.

6.3.4 Análise dos Resultados

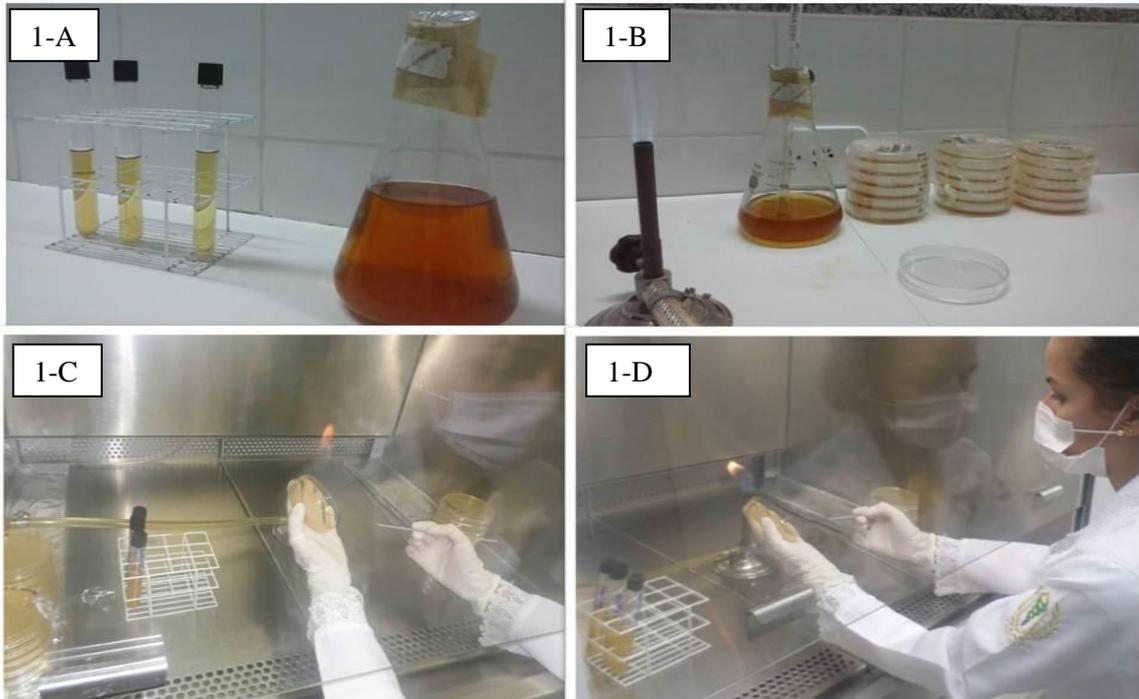
Após a realização dos testes, os resultados foram analisados de acordo com o crescimento ou não de colônias microbianas. Os dados foram agrupados aos pares e submetidos ao teste exato de Fisher do programa *GraphPad Prism*. Considerou-se o nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

Fluxograma 1- Procedimentos metodológicos da pesquisa



Fonte: Dados da pesquisa, (2015)

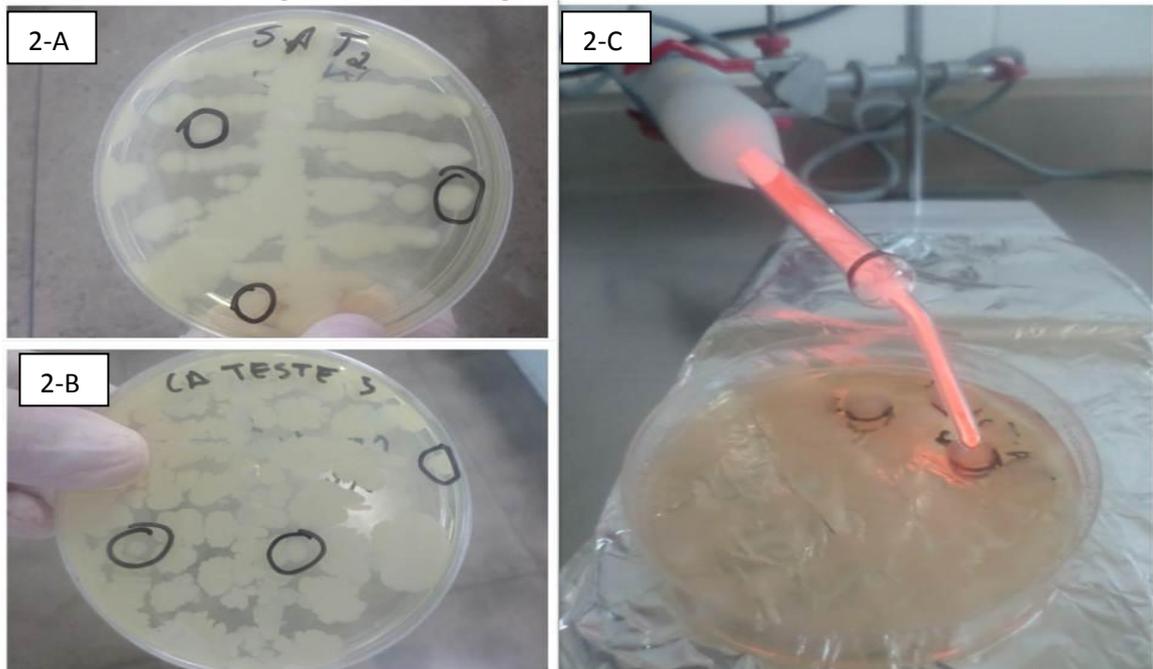
Fotografia 1- Preparação do meio e Inoculação das linhagens bacterianas e fúngica em placas de Petri



Fotografia 1-A e 1-B: Preparação do meio de cultura; 1-C e 1-D: Inoculação das linhagens bacterianas e fúngica em placas de Petri.

Fonte: Dados da pesquisa, (2015)

Fotografia 2- Demarcação para isolamento das colônias bacterianas e fúngicas e aplicação do aparelho de alta frequência sobre colônia microbiana



Fotografia 2-A e 2-B: Demarcação para isolamento das colônias bacterianas e fúngicas; 2-C: Aplicação do aparelho de alta frequência sobre colônia microbiana.

Fonte: Dados da pesquisa, (2015)

7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas tabelas 1 e 2, a coluna positivo indica o número de colônias que apresentaram crescimento microbiano e na coluna negativo o número de colônias sem crescimento. Os resultados referentes as placas de *S. aureus* e *P. aeruginosa* estão discriminados na tabela 1, enquanto que os resultados relativos a *C. albicans* estão expressos na tabela 2. Nestas tabelas estão dispostos os resultados encontrados nas placas teste, submetidas a intervenção com o aparelho de alta frequência, e placas controles não submetidas a intervenção. A tabela 3 mostra os resultados obtidos da análise comparativa entre os grupos bacterianos e fúngicos.

Os dados expressos na tabela 1 correspondem aos resultados obtidos entre os grupos teste e controle de bactérias *S. aureus* (G1c e G1), *P. aeruginosa* (G2c e G2) e grupo total de bactérias (G3c e G3). Ao comparar-se os grupos testes G1, G2 e G3 com seus respectivos controles G1c, G2c e G3c, e os grupos testes entre si (G1 x G2) foram obtidos resultados estatisticamente significantes. Estes achados apontam a eficiência do aparelho de alta frequência como agente bactericida. Evidencia-se assim, que nas condições dos testes realizados os melhores resultados após intervenção com o aparelho foram para as colônias bacterianas Gram-positivo em relação às Gram-negativas.

Tabela 1- Demonstração do crescimento microbiano pós-experimento e análise inferencial entre grupos bacterianos (teste x controle).

Resultado do crescimento pós experimento			Análise estatística entre pares #	
Microrganismo	Grupo	Positivo	Grupos	Valor p
<i>S. aureus</i> controle	G1c	9	G1c x G1	0.0001***
<i>S. aureus</i> teste	G1	0		
<i>P. aeruginosa</i> controle	G2c	9	G2c x G2	0.0147*
<i>P. aeruginosa</i> teste	G2	4		
Bactérias controle	G3c	18	G3c x G3	0.0001***
Bactérias teste	G3	4		

Positivo: Crescimento; #: Teste exato de Fisher; ns: não-significante ($p > 0.05$); *: significativa ($p \leq 0.05$); **: significativa ($p \leq 0.01$); ***: significativa ($p \leq 0.001$).

Fonte: Dados da pesquisa, (2015)

Bactérias da espécie *S. aureus* são facilmente encontradas na pele podendo colonizar outras áreas do corpo e causar infecção local caso haja portas de entrada como rupturas cutâneas. No que se refere a bactérias da espécie *P. aeruginosa*, estas apresentam-se com frequência elevada em isolados clínicos, encontrando-se presente em 70 a 80% destes. Esta espécie bacteriana está intimamente relacionadas a infecções do trato respiratório, e em

indivíduos queimados. Sendo limitada a efetividade dos tratamentos com antibióticos tópicos, contra esse tipo de infecção (GALETTI, 2010; KVITKO, 2010; SANTOS, et al., 2007).

Martins (et al., 2012), afirma que o aparelho de alta frequência vem sendo utilizado no tratamento de lesões cutâneas com finalidade antisséptica. Referindo que, bactérias apresentam sensibilidade ao ozônio pelo fato do mesmo modificar as características de permeabilidade da membrana celular.

Em estudo realizado por Martins (et al., 2012) analisou-se o efeito bactericida *in vitro* do aparelho de alta frequência sobre culturas de *Staphylococcus aureus*. Os grupos testes foram expostos a frequência de dias e tempo de tratamento distintos e submetidos a exposição ao alta frequência com intensidade 10, ao final do tratamento proposto o único grupo que apresentou significância estatística com ausência de proliferação bacteriana pós tratamento, foi o grupo tratado durante quinze dias com uma duração de aplicação do alta frequência por 15 minutos.

Os achados do referido estudo estão em consonância com os da presente pesquisa, no que diz respeito a efetividade do aparelho de alta frequência sobre culturas de *S. aureus* utilizando intensidade 100%. Entretanto, vão de encontro no que concerne a tempo e frequência de aplicação, já que o presente estudo encontrou resultados estatisticamente significativos quando comparado o grupo teste com o grupo controle G1c x G1 ($p = 0,0001$), fazendo uso de um menor número de aplicações (5 dias) e de tempo de exposição das colônias bacterianas (10 minutos). Logo infere-se que o protocolo sugerido pela presente pesquisa seja mais eficiente, quanto a inibição desta espécie bacteriana.

No estudo realizado por Cardoso (et al., 2003) analisou-se a presença de microrganismos em galões de água e posteriormente foi efetuada a lavagem e higienização dos galões com ozônio dissolvido em água. Na análise microbiológica encontrou-se entre outros microrganismos a presença de *S. aureus* e *P. aeruginosa*. Após tratamento com o ozônio, verificou-se pelos testes 100 % de negatização de *Pseudomonas* e 86,7% de negatização para amostras de *S.aureus*, mostrando que dentro da proposta de aplicação, o ozônio foi eficiente como substância antimicrobiana.

No que se refere aos resultados descritos no estudo acima mencionado, concorda-se que ozônio possui efetividade quanto a inibição bacteriana, diferindo apenas no que diz respeito aos valores de inibição encontrados entre bactérias de espectro Gram-positivo (*S.aureus*) e Gram-negativo (*P. aeruginosa*) onde neste ensaio destaca-se maior significância

estatística para inibição de bactérias *S. aureus*, Gram-positivas ($p=0,0001$), do que para *P.aeruginosa*, Gram-negativas ($p=0,0147$).

Pereira (et al., 2005) ao testar a ação dos gases, ar comprimido, dióxido de carbono (CO_2), hélio (He), e ozônio (O_3) sobre culturas bacterianas, dentre elas, *S.aureus* e *P.aeruginosa*, constatou que o único gás que apresentou real inibição das cepas bacterianas foi o gás ozônio com 100% de inibição das bactérias, enquanto os outros gases apresentaram 0%.

Ao analisar os resultados do estudo supracitado e compará-los com os obtidos nesta pesquisa, considera-se que apesar dos modos de aplicação do ozônio terem sido distintos, houve concordância quanto ao potencial bactericida desta substância onde, os resultados encontrados, mostraram significância estatística ao serem comparados os grupos testes de *S.aureus* e *P.aeruginosa* com seus respectivos controles, (G1c X G1; G2c X G2), bem como na comparação do grupo total de bactérias G3c x G3 com ($p= 0,0001$).

Estes achados que apontam para o efeito bactericida do alta frequência, podem ser justificados pelo que afirma Souza e Pantaleão (2008), quando relatam que o gás ozônio possui características potencialmente oxidantes que provoca danos a parede celular do microrganismo, lesando primariamente sua membrana ao danificar as glicoproteínas e glicolípídeos nela presentes. Esta afirmativa corrobora com o que descreve Silva (2009) que destaca a capacidade de oxidação que o ozônio possui sobre aminoácidos, proteínas entre outras substâncias presentes na parede celular microbiana.

Ao analisar os resultados expressos na tabela 2, pode-se observar que, quando realizada a comparação entre os grupos testes de *C. albicans* com seus respectivos controles (G4c X G4) não houve diferenças estatisticamente significativas evidenciando que o uso do alta frequência, com o tempo e frequência de aplicação sugerido, não mostrou efetividade para inibição de *C. albicans*.

Tabela 2- Demonstração do crescimento microbiano pós-experimento e análise inferencial entre grupos fúngicos (teste x controle).

Resultado do crescimento pós experimento			Análise estatística entre pares #	
Microrganismo	Grupo	Positivo	Grupos	Valor p
<i>C.albicans</i> controle	G4c	9	G4c x G4	0.2353 ^{ns}
<i>C. albicans</i> teste	G4	7		

Positivo: Crescimento; #: Teste exato de Fisher; ns: não-significante ($p > 0.05$); *: significante ($p \leq 0.05$); **: significante ($p \leq 0.01$); ***: significante ($p \leq 0.001$).

Fonte: Dados da pesquisa, (2015)

De acordo com Lima (et al., 2006) fungos do gênero *Candida* estão relacionados a maior parte dos casos de micoses, desde as mais superficiais até as mais graves. Rossi et al., (2011) reforça que *C. albicans* exercem uma relação de comensalismo com o hospedeiro não oferecendo grandes riscos a saúde. Porém fatores que predisponham ou induzam mudanças na conformidade fisiológica como por exemplo lacerações de pele, déficit imunitário podem tornar o hospedeiro susceptível a infecções.

Castro e Lima, (2010) citam que a espécie *C. albicans* caracteriza-se ainda por deter grande capacidade de formar biofilmes e possuir mecanismos de patogenicidade. E no que se refere ao tratamento das infecções fúngicas, Roque (2013) discorre que, o mesmo é feito predominantemente pelo uso de medicação, porém já existem na literatura estudos que sugerem a utilização de tratamentos que sejam mais acessíveis e ofereçam a possibilidade de diminuir o período de tratamento medicamentosos dos pacientes, evitando os efeitos colaterais provocados pelo prolongado tempo de utilização destes fármacos. As afirmativas dos autores demonstram a importância da espécie fúngica estudada.

Guerra (2014) analisou a utilização do ozônio e do ultrassom em culturas de *Candida albicans* e verificou que entre estes dois recursos, o ozônio mostrou-se mais vantajoso em relação ao ultrassom. Quando utilizado ozônio em meio líquido por 3 minutos foi observada 100% de negatização de *C. albicans*, já na sua forma gasosa o tempo necessário para obter a mesma porcentagem de efetividade foi de 60 minutos. Enquanto o ultrassom, a pesar de ter sido eficiente para inativação do microrganismo fúngico, exigiu maior tempo de aplicação, 120 minutos.

Os achados do estudo acima mencionado vão de encontro com os da presente pesquisa, visto que, ao se comparar o grupo teste de *C. albicans* com o seu grupo controle (G4c X G4) não foi verificada diferenças estatisticamente significantes ($p=0,2353$), após exposição ao ozônio gerado pelo aparelho de alta frequência. No entanto, sugere-se que este achado tenha decorrido do fato de ter sido curto o tempo de aplicação, sugerido por esta pesquisa (10 minutos).

O estudo realizado por Paula (et al., 2012) contou com a participação de indivíduos portadores de onicomicoses causada por *Trichophyton rubrum*, onde foram testados os recursos laser e alta frequência associado a um medicamento tópico. Neste ensaio, os pacientes tratados com o alta frequência tiveram resposta satisfatória após um tempo prolongado do tratamento. Já os que foram expostos ao laser apresentaram melhores resposta em um menor tempo. Mostrando que os dois recursos tiveram bons resultados, porém o

tratamento realizado com o alta frequência exigiu um maior tempo de aplicação até se verificar resultados satisfatórios.

Silva (et al., 2011) testou a utilização do aparelho de alta frequência em três pacientes com onicomicose provocada pelo fungo *Trichophyton rubrum*, e constatou em um dos casos a presença concomitante do gênero *C. albicans*. Durante o tratamento foram colhidas e analisadas amostras microbiológicas que revelaram negatificação do *Trichophyton rubrum* na quarta e quinta coleta. Porém a ausência de *C. albicans* só pode ser observada a partir da sétima coleta, mostrando neste caso, necessidade de um maior período de tempo de intervenção com o aparelho de alta frequência.

Os estudos supracitados, evidenciam claramente a necessidade de um maior período de tempo e número de aplicações, quando usado o aparelho de alta frequência, para se alcançar efetividade antifúngica. Ainda que tenham sido realizados *in vivo*, estes estudos podem explicar a razão pela qual não foi observado, nesta pesquisa, resultados significantes em relação a inibição fúngica, considerando ter sido curto o tempo e número de aplicações propostos. Com isto, infere-se que uso do aparelho de alta frequência no modo, intensidade e condições de aplicação sugeridos neste estudo não exerceram qualquer influência para inibição fúngica.

Higa (et al., 2007), realizou a aplicação do aparelho de alta frequência com intensidade de 80% em culturas de *Candida tropicalis* que assim como a *C. albicans* é uma levedura. Após o tratamento e repicagem, observou-se em 90% das placas a não proliferação dos microrganismos, constatando-se neste estudo que foi positiva a utilização do recurso na inibição fúngica. Entretanto, os resultados encontrados na presente pesquisa diferem do estudo acima citado já que após o tratamento, utilizando a intensidade máxima proporcionada pelo aparelho de alta frequência, 100%, e com o dobro do tempo de aplicação, 10 minutos, ainda sim foi observado proliferação fúngica nas placas repicadas não apresentando significância estatística e revelando neste caso, que houve resistência do fungo ao tratamento proposto.

Para fins comparativos, a tabela 3 apresenta os resultados referentes a análise feita entre grupos testes bacterianos (G1 x G2), e entre os grupos teste fúngicos e bacterianos (G1 X G4), (G3 X G4) e (G2 X G4).

Tabela 3- Demonstração do crescimento microbiano pós-experimento e análise inferencial entre grupos microbianos (teste x teste).

Microrganismos	Análise comparativa entre pares #	
	Grupos	Valor p
<i>S. aureus</i> x <i>P.aeruginosa</i>	G1 x G2	0.0412*
<i>S. aureus</i> x <i>C.albicans</i>	G1 x G4	0.0011**
<i>P. aeruginosa</i> x <i>C.albicans</i>	G2 x G4	0.1674ns
Bactérias x <i>C.albicans</i>	G3 x G4	0.0090**

#: Teste exato de Fisher; ns: não-significante ($p > 0.05$); *:significante ($p \leq 0.05$); **:significante ($p \leq 0.01$); ***: signifiante ($p \leq 0.001$).

Fonte: Dados da pesquisa, 2015.

Analisando os resultados encontrados, nota-se que houve significância estatística na comparação entre os grupos bacterianos G1 x G2 (0.0412) e entre grupos bacterianos e fúngicos, G1 x G4 (0.0011); G3 x G4 (0.0090). A única exceção observada, foi no grupo (G2x G4) que não mostrou resultado significativo ($p=0.1674$), ao comparar bactérias *P.aeruginosa* com fungos da espécie *C. albicans*. Estes achados permitem observar que os fungos, mostraram resistência a exposição ao alta frequência. Reforçando ainda que, bactérias Gram-negativas apresentaram menor sensibilidade quando comparadas as Gram-positivas.

Quaresma (2013) relata que o poder oxidante do ozônio, atua primariamente contra a parede celular dos microrganismos ocorrendo destruição total da célula quando parte da sua parede for danificada, permitindo assim a ação do ozônio sobre outros componentes presentes no interior das células.

No que se refere a morfologia bacteriana Trabulsi e Alterthun (2008) cita que, a parede celular de bactérias Gram-negativas apresentam na sua composição escassa quantidade de peptidoglicanos e uma maior variedade de outros componentes químicos, o que torna a conformação de sua parede celular mais complexa. Em relação a morfologia fúngica Tortora (2012) discorre que diferente das bactérias, as leveduras apresentam ausência de peptidoglicanos na composição da sua parede celular, a qual é formada essencialmente pelos polissacarídeos glicana e manana.

Considerando as afirmativas supracitadas sugere-se que as diferenças existentes entre as classes microbianas, em relação a morfologia da parede celular, possam interferir na ação do ozônio sobre as células e que seja esta a razão pela qual, na presente pesquisa, bactérias Gram-positivas mostraram-se mais vulneráveis a ação do ozônio em relação a Gram-negativas e os fungos tenham apresentado resistência ao tratamento.

Em relação a ação do ozônio Silva (2011) acrescenta que, a ozonização possui efeito antimicrobiano tanto para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas como para microrganismos fúngicos. Porém para sua ação efetiva deve-se considerar o tempo, concentração, maneira de aplicação e o tipo de microrganismo exposto.

Considerando a afirmativa acima mencionada, não se deve descartar a utilização do aparelho de alta frequência nos tratamentos antifúngicos, sugerindo-se que ao se realizar novos ensaios, com variações no tempo, modo e intensidade de aplicação seja possível verificar resultados positivos semelhantes aos descritos em outros estudos.

8 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, em relação a aplicação do aparelho de alta frequência, observou-se que quando utilizado nas mesmas condições sobre linhagens microbianas, o mesmo apresentou atividade bactericida, porém com diferenças estatísticas entre as linhagens bacterianas, não sendo observado efeito fungicida.

Portanto, mesmo sendo os resultados obtidos em modelo *in vitro* e a haver possibilidade de reprodução dos experimentos em modelos *in vivo*, em condições semelhantes e diferentes das realizadas neste estudo como, modificação do período de tratamento, intervalo entre cada intervenção, associação com outras técnicas, conclui-se que a utilização do aparelho de alta frequência apresenta-se como uma ferramenta promissora para tratamento de infecções dermatológicas, principalmente de origem bacteriana, podendo assim ser utilizado nos tratamentos de fisioterapia dermatofuncional.

REFERÊNCIAS

- BORGES, F. S. **Dermato-funcional: Modalidades terapêuticas nas disfunções estéticas.** São Paulo: Phorte, p.187-188, 2006.
- BRAZ, C.E.C. [et al.] Aplicação de aparelho de alta frequência e do vapor de ozônio no fungo *Malassezia* spp; **Revista Amazônia Science & Health.** v.2, n.2; p.29-3416, 2014.
- CALOY, L. **Necessidades da atuação da fisioterapia dermatofuncional em uma instituição de longa permanência de idosos.** 47f. Porto Alegre: Dissertação (mestrado em gerontologia biomédica)- Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2011.
- CARDOSO, C.C. [et al]. Avaliação microbiológica de um processo de sanificação de galões de água com a utilização do ozônio. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos.** v. 23, n.1, p. 59-61, jan. abr. 2003.
- CASTRO, R.D.; LIMA, E.O. Atividade antifúngica in vitro do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* L. Sob.e *Candida* spp. **Revista de Odontologia da UNESP,** v.39,n.3,p.179-184, maio. jun. 2010.
- DALFOVO, M. S.; LANA, R. A.; SILVEIRA, A. Métodos quantitativos e qualitativos: um resgate teórico. **Revista Interdisciplinar Científica Aplicada,** v.2, n.4, p.01-13, Sem II. 2008.
- DIAS, M.F. **A infecção bacteriana e fúngica no diabetes mellitus.** Universidade Federal do Paraná, Curitiba 2010.
- FIGUEIREDO, E.A.P. [et al] *Pseudomonasa aeruginosa*: Frequência de Resistência a Múltiplos Fármacos e Resistência Cruzada entre Antimicrobianos no Recife/PE. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva,** v. 19 n 4, p.421-427, out. dez. 2007.
- FUENTEFRIA, D.B.; FERREIRA,A.E.; GRAF, T.; CORÇÃO,G. *Pseudomonas aeruginosa*: disseminação de resistência antimicrobiana em efluente hospitalar e água superficial. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.** v.41, n.5,p. 470-473, set.out, 2008.
- GALETTI, R. **Estudo de Pseudomonas aeruginosa produtoras de metalo-beta-lactamase e genes envolvidos na resistência aos carbapenêmicos.** 60 f. Ribeirão Preto: Dissertação (mestrado em biociências aplicadas à farmácia)-Universidade de São Paulo, Faculdade de ciências farmacêuticas de Ribeirão Preto, 2010.
- GELATTI, L.C.; BONAMIGO,A.P.B.; D'AZEVEDO,P.A. *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina: disseminação emergente na comunidade. **Anais Brasileiros de Dermatologia.** v.84, n.5, p.501-6, 2009.
- GOBBO, P.C.D. **Estética facial essencial: orientações para o profissional de estética.** São Paulo: Atheneu editora, 2010.

GUERRA, E.R. **Efeito do ozônio do ozônio e ultrassom na inativação de Candida albicans *in vitro***. 56 f. São Paulo: Dissertação (mestrado em bioengenharia)-Universidade Camilo Castelo Branco, Pós-Graduação em bioengenharia, 2014.

GUIRRO, E.; GUIRRO,R. **Fisioterapia dermatofuncional fundamentos recursos patologias**. 3. ed. São Paulo: Manole, p.76-83, 2004.

HARVEY, R. A.; CHAMPE, P. C.; FISHER, B.D. **Microbiologia ilustrada**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed 2008.

HIGA,D.R. [et al.] Efeito do gerador de alta frequência sobre cultura de candidatropicalis. **Revista de Especialização em Fisioterapia**. v.1, n.1 , jul.ago.set, 2007.

INGRAHAMJ, L.; INGRAHAM, C.A. **introdução à microbiologia: uma abordagem baseada em estudo de casos**. 3. ed. São Paulo: Cenga Learning. 2010.

KAVITKO, C.H.C. **Eficácia das polimixinas b no tratamento de bacteremias por Pseudomonas aeruginosa**. 47 f. Rio Grande do Sul: Dissertação (mestrado em ciências médicas)-Universidade Federal do Rio grande do Sul, 2010.

KORELO, R.I.G. [et al.] Gerador de alta frequência como recurso para tratamento de úlceras por pressão: estudo piloto **Fisioterapia em movimento**. Curitiba, v. 26, n. 4, p. 715-724, set.dez, 2013.

LEVINSON, W.; JAWETZ,E. **Microbiologia Médica e Imunologia**. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.

LIMA, I.O. [et al.] Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de Candida. **Revista brasileira de farmacognosia**, v.16, n.2, p.197-201, abr.jun, 2006.

LOPES, C. [et al.] Perfil de diversidade na comunidade estafilocócica da pele em doentes com dermatite tópica. **Revista portuguesa de imunoalergologia**.v.21,n.3,p.187-195. 2013.

MALAGUTTI, W.; KAKIHARA, C.T. **Curativos, estomias e dermatologia: uma abordagem multiprofissional**. São Paulo: Martinari, 2010.

MARQUES, A.P.; PECCIN, M.S. Pesquisa em fisioterapia: a prática baseada em evidências e modelos de estudo. **Rev Fisioterapia e pesquisa**. v.11, n.1, p. 43-48, 2005.

MARTINS, A.[et al.] Efeito bactericida do gerador de alta frequência na cultura de Staphylococcus aureus **Fisioterapia e Pesquisa**.v.19,n.2,p.153-7.2012.

MENDONÇA, R.S.C.; RODRIGUES,G.B.O. As principais alterações dermatológicas em pacientes obesos, **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, v.24, n.1, p. 68-73, 2011.

MURRAY, P.R. [et al.] **Microbiologia médica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

NEVES, P.R.[et al.] Pseudomonas aeruginosa multirresistente: um problema endêmico no Brasil . **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, n. 4, p. 409-420, agosto, 2011.

PADOVANI, C.M. **Avaliação microbiológica das diferentes formulações ani-septicas-polivilipirrolidona-iodo e clorexidina- após contaminação intencional das almotolias.** 70 f. São Paulo: Dissertação(mestrado em saúde do adulto) - Universidade de São Paulo Escola de enfermagem, 2008.

PAULA, L.; SILVA, J.L.M.; PEDROSO, D. Tratamentos alternativos para onicomicose: ondas de alta frequência e laser. **Revista Uniara**, v.15, n.2, dez. 2012.

PEREIRA, M.M.S. [et al.] Efeito de diferentes gases sobre o crescimento bacteriano. Estudo experimental “*In vitro*”. v. 32. n 1. jan. fev. 2005.

QUARESMA, T. **Aplicação de ozônio e ultrassom na desinfecção das mãos de profissionais da saúde.** 78 f. São Paulo: Dissertação (mestrado em bioengenharia)- Universidade Camilo Castelo Branco, Pós-Graduação em bioengenharia, São José dos Campos, 2013.

RODRIGUES, M.M.; SOUZA, M.S.; SILVA, J.L. Sistematização da assistência de enfermagem na prevenção da lesão tecidual por pressão. **Cogitare Enfermagem**, v.13, n.4, p. 566-75, out. dez, 2008.

ROQUE, S.S.O. **Atualização no tratamento das onicomicoses.** 25f. Alfenas- MG: Monografia (Programa de Pós-graduação em Dermatologia com bases de Medicina Estética)- Instituto de Ciências de Saúde Funorte, 2013.

ROSSI, T. [et al.] **Interações entre Candida albicans e Hospedeiro Semina:** Ciências Biológicas e da Saúde. Londrina, v. 32, n. 1, p. 15-28, jan. jun. 2011.

SANTOS, A.L. Staphylococcus aureus: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 6, p. 413-423. Dez, 2007.

SILVA, D.B. **Atuação do ozônio sobre biofilmes de Listeria monocytogenes em tubulações de aço inoxidável.** 104 f. Minas Gerais: Tese (Doutorado em ciência dos alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

SILVA, J.L.; DIOMO, G.; FARIA, D.P. Uso de ondas de alta frequência no tratamento de onicomicose - comunicação preliminar de três caso. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. v.86, n. 3, p. 598-600, 2011.

SOMENZI, C.C.; RIBEIRO, T.S.; MENEZES, A. Características Particulares da Micologia Clínica e o Diagnóstico Laboratorial de Micoses Superficiais. Santos. SP: Universidade Santa Cecília e Fundação Lusíada/UNILUS. **NewsLab**- edição 77 – 2006.

SOUZA, C.S. **Infecções de tecidos moles - Erisipela.** Celulite. Síndromes infecciosas mediadas por toxinas. Medicina, Ribeirão Preto, v.36, p. 351-356, abr.dez, 2003.

SOUZA, A.F.; PANTALEÃO, H.Z. Análise da eficiência do ozônio em efluentes líquidos hospitalares. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 1, n. 2, p. 111-116, maio. ago, 2008.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. 10. ed. Porto Alegre: Artmed. 2012.

TRABULSI, L.R.; ALTERTHUN, F. **Microbiologia**. 5. ed. São Paulo: Atheneu. 2008.

TURANO, H.G. **Alternativas terapêutica para o tratamento de infecções por Pseudomonas aeruginosa multirresistentes endêmicas no Brasil**. 30 f. São Paulo: Dissertação (mestrado em microbiologia)-Universidade de São Paulo, 2012.

APÊNDICES

APÊNDICE A - DECLARAÇÃO DO ALUNO

DECLARAÇÃO

Eu, Eriádina Alves de Lima, declaro-me comprometida em realizar a pesquisa e elaborar o trabalho de conclusão de curso - monografia intitulada **Avaliação antimicrobiana *in vitro* do aparelho de alta frequência** no período de março e apresentá-lo a banca de defesa do trabalho respeitando todos os princípios éticos da resolução 466/12 do conselho nacional de saúde, sob a orientação da professora Tereza Águida Costa do Nascimento e co-orientação do professor Edinaldo Fagner Ferreira Matias.

Juazeiro do Norte, março de 2015.

Eriádina Alves de Lima

**APÊNDICE B - TERMO DE RESPONSABILIDADE PARA UTILIZAÇÃO DO
LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA I**

**TERMO DE RESPONSABILIDADE PARA UTILIZAÇÃO DO LABORATÓRIO DE
MICROBIOLOGIA**

À professora Gardênia Maria Martins.

Coordenadora do curso de Fisioterapia da Faculdade de Ciências Aplicada Doutor Leão Sampaio

Eu, Eriádina Alves de Lima, inscrita com a matrícula N° 2011101056, solicito a esta coordenação a disponibilização dos equipamentos : estufa bacteriológica modelo Q-316M4 com N° de série 360, fabricado pela Quimis com voltagem de 110/220V, capela de fluxo laminar , autoclave, meio de cultura BHI , placas de Petri, alça de platina, béquer 600ml, 2 erlenmeyer 250 ml, bastão de vidro, proveta 500ml, espátula, bico de Bunsen, fita auto clave , máscara, luva de procedimento, álcool 70%, gaze e do espaço físico do LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA, para realização da parte prática experimental do trabalho de conclusão de curso intitulado, **Avaliação do potencial antimicrobiano do aparelho de alta frequência em modelo *in vitro***. Sob orientação da professora Tereza Águida Costa do Nascimento e co-orientação do professor Edinaldo Fagner Ferreira Matias.

Através deste documento declaro assumir total responsabilidade pelos equipamentos e materiais nos horários e período solicitados.

PERÍODO	DIAS DA SEMANA	HORÁRIO

Atenciosamente,

Juazeiro do Norte, março de 2015

Acd. Eriádina Alves de Lima

Coordenação

**APÊNDICE C - TERMO DE RESPONSABILIDADE PARA UTILIZAÇÃO DO
LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA II**

**TERMO DE RESPONSABILIDADE PARA UTILIZAÇÃO DO LABORATÓRIO DE
MICROBIOLOGIA**

À professora Ana Ruth Sampaio Granjeiro

Coordenadora do curso de Biomedicina da Faculdade de Ciências Aplicada Doutor Leão Sampaio

Eu, Eriádina Alves de Lima, inscrita com a matrícula N° 2011101056, solicito a esta coordenação a disponibilização dos equipamentos : estufa bacteriológica modelo Q-316M4 com N° de série 360, fabricado pela Quimis com voltagem de 110/220V, capela de fluxo laminar , autoclave, meio de cultura BHI , placas de Petri, alça de platina, béquer 600ml, 2 erlenmeyer 250 ml, bastão de vidro, proveta 500ml, espátula, bico de Bunsen, fita auto clave , máscara, luva de procedimento, álcool 70%, gaze e do espaço físico do LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA, para realização da parte prática experimental do trabalho de conclusão de curso intitulado, **Avaliação do potencial antimicrobiano do aparelho de alta frequência em modelo *in vitro***. Sob orientação da professora Tereza Águida Costa do Nascimento e co-orientação do professor Edinaldo Fagner Ferreira Matias.

Através deste documento declaro assumir total responsabilidade pelos equipamentos e materiais nos horários e período solicitados.

PERÍODO	DIAS DA SEMANA	HORÁRIO

Atenciosamente,

Juazeiro do Norte, março de 2015

Acd. Eriádina Alves de Lima

Coordenação