

APLICAÇÃO DE LASER DE BAIXA POTÊNCIA EM CULTURA BACTERIANA

Luís Ferreira Monteiro Neto¹, Marcos Tadeu T. Pacheco², Flavio Piloto Cirillo³, Evandro Emanuel Sauro⁴, Alessandro Colares Sales⁵, Ana Cláudia de Souza Costa⁶

^{1,2}Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Programa de Pós-graduação em Bioengenharia, Universidade Vale do Paraíba

^{3,4,5,6}Curso de Fisioterapia, Faculdade de Educação Física de Lins, Faculdades Salesianas de Lins
lfmont@salesianolins.br

Resumo

Na tentativa de demonstrar se os meios de cultura *in vitro*, em especial *Staphylococcus aureus*, sofrem ou não modificações perante os efeitos da laserterapia, foi coletada amostra de paciente com úlcera de pressão infectada. Esta amostra foi cultivada em quatro tubos, sendo um para controle e os outros para serem submetidos à irradiação laser. Foram utilizadas neste estudo três dosagens diferentes para a aplicação dos tubos com trinta, setenta e cem joules. Após a irradiação, as culturas dos tubos foram plaqueadas em ágar sal manitol e encubadas em estufa bacteriológica a uma temperatura de trinta e sete graus centígrados, juntamente com os tubos por vinte e quatro horas. Esse procedimento foi realizado num período de dez dias consecutivos. Constatou-se neste experimento que as amostras que sofreram irradiação com densidades de energia alta, setenta e cem joules, obtiveram maior crescimento bacteriano em relação às amostras do grupo controle e da primeira amostra, cuja densidade de energia era baixa, trinta joules.

Palavras-chave: Bactérias – Laser – *Staphylococcus aureus* – Úlcera de Pressão
Áreas de Conhecimento: III- Engenharias

Introdução

O presente estudo tem grande importância para Fisioterapia, pois através dele procura-se demonstrar se os efeitos da aplicação do laser em culturas bacterianas serão eficazes, a ponto de serem aplicados as mesmas dosagens em pacientes com úlceras de decúbito infectadas por bactérias. Tendo o objetivo de demonstrar se os meios de cultura *in vitro*, em especial de *Staphylococcus aureus* sofrem ou não modificações perante diferentes dosagens da laserterapia. MIMS et al. (1999), descreve que toda infecção é uma competição entre a capacidade do microrganismo em multiplicar, disseminar e causar doença e a habilidade do hospedeiro em controlar e, finalmente, terminar a infecção. Sendo assim, a aplicação do laser terá como meta, auxiliar o hospedeiro a combater a infecção. Amostras coletadas com *swab*, a partir de material de úlcera de decúbito infectada, passarão por um processo de cultura bacteriana e serão irradiadas por um laser de baixa potência em diferentes dosagens. Em seguida, serão descritas e verificadas as alterações das colônias bacterianas através de análise microbiológica.

Metodologia

Foi coletada amostra de paciente com úlcera de pressão infectada, atendido na Clínica de Reabilitação Física Dom Bosco, da Faculdade de Fisioterapia – Salesiano de Lins. Ignorou-se faixa etária, raça, sexo e cor. A coleta do material foi realizada diretamente da úlcera de pressão com swab estéril – Bionete. Após assepsia, introduziu-se o swab estéril e coletou-se o material de toda área interna da úlcera, onde este, foi inserido em tubos de ensaio contendo caldo tripticaseína soja – TSB, DÍFICO – e imediatamente transportado ao laboratório de microbiologia para encubação em estufa bacteriológica a 37°C, por 24 horas. A amostra coletada foi cultivada em quatro tubos, ficando um para o controle e os outros para serem submetidos à irradiação laser. Decorrido este tempo, avaliou-se a presença de turbidez, nos quatro tubos, comparando-se com um tubo contendo caldo estéril – controle. As culturas positivas eram plaqueadas, em duplicata, com alça bacteriológica de platina – Laborclin – calibrada a 0,001 ml, em ágar sangue, preparado a partir de tripticaseína soja – TSA, DÍFICO – e em ágar sal

manitol – DÍFICO – sendo este meio seletivo e diferencial para o isolamento de *Staphylococcus aureus*. As placas foram encubadas a 37°C em aerobiose, permanecendo em ágar sangue por 24 horas e, as em sal manitol, por 48 horas em estufa bacteriológica. As colônias crescidas em ágar sangue foram submetidas à análise morfocolonial. Nas que apresentaram borda inteira, convexa, 2 a 3 mm, cremosas, amareladas e zona de beta-hemólise, foi realizada a coloração de Gram. As placas de colônias bacterianas foram irradiadas a laser de baixa potencia, na faixa infr-vermelho de Arseneto de Gálio Índio (AsGaIn), com comprimento de onda em 685 nm, irradiância de 35 mW, divididos em 3 grupos com fluência de 30J/cm², 70J/cm² e 100J/cm² respectivamente. Três dos quatro tubos contendo tripticaseína soja – TSB, DIFICO – com culturas positivas foram submetidos a quatro picos de irradiação laser – um com 30, outro com 70 e outro com 100 J/cm² – primeira, segunda e terceira amostras respectivamente – sendo a forma de aplicação, pontual. Na primeira amostra, cada ponto era irradiado por 25 segundos; na segunda cada ponto era irradiado por 57 segundos e na terceira, cada ponto tinha duração de 1 minuto e 21 segundos. O quarto tubo não recebeu energia laser, para que pudesse servir de controle (Figura 12). Após a irradiação, as culturas dos tubos eram plaqueadas com alça bacteriológica de platina – Laborclin – calibrada a 0,001 ml em ágar sangue, preparado a partir de tripticaseína soja – TSA, DIFICO – em ágar sal manitol – DIFICO – e encubadas em estufa bacteriológica a 37°C, juntamente com os tubos por 24 horas. Esse procedimento foi realizado por 10 dias consecutivos (Figura 2); (Figuras 3 e 4); (Figuras 5 e 6); (Figuras 7 e 8). Na contagem microbiológica, foram pipetadas 0,1 ml da cultura desenvolvida em cada recipiente de meio líquido e colocado em um tubo com 0,9 ml de solução de cloreto de sódio – soro fisiológico, realizando assim a diluição 1:10. Em seguida, foi pipetado 0,1 ml da diluição – 1:10 – em um tubo com 0,9 ml de soro fisiológico, realizando diluição 1:100. Continuou-se diluindo até alcançar diluição 1:10¹⁰. Com a alça bacteriológica de platina – Laborclin – calibrada a 0,001 ml, semeou-se de cada recipiente de diferentes diluições em placas de Petri; em seguida adicionou-se um meio de cultura liquefeito e resfriado a uma temperatura aproximada a 45°C. Do conjunto de placas encubadas, foram escolhidas as melhores dentro de uma diluição, sendo que as melhores foram entre 1:10⁵ a 1:10¹⁰. Foi realizada a contagem de cada placa, com e sem irradiação laser, e tirou-se a

medida. As placas de Petri eram observadas macroscopicamente, para avaliação do crescimento bacteriano e as colônias eram transferidas para um meio de cultura líquido, encubadas e contadas. Este procedimento foi realizado ao final das aplicações de laser nos tubos contendo as culturas.

Resultados

Constatou-se, após os exames microbiológicos *in vitro*, que as três amostras submetidas à irradiação laser apresentaram crescimento bacteriano maior que o grupo controle – sendo o crescimento bacteriano de forma crescente, juntamente com as dosagens. A terceira amostra foi a que apresentou o maior crescimento. Isto foi observado diariamente, tanto na avaliação macroscópica quanto na contagem de bactérias por método de diluição. Ao final dos testes e das contagens, observou-se um aumento no crescimento bacteriano das culturas submetidas à irradiação laser de 75% na terceira, 14,5% na segunda e 6,6% na primeira amostra, em relação ao grupo controle que foi de 3,9%.

Conclusão

Com base no que foi estudado e pesquisado no decorrer do trabalho, verificou-se a importância da laserterapia no tratamento de úlceras de pressão. Contudo, pôde-se observar que o crescimento bacteriano apresentado, após a irradiação laser, pode ter ocorrido devido ao fato de este se dar pelo consumo de ATP pelas bactérias que, por sua vez, é produzido pelo laser como o que se descreveu no decorrer do trabalho. O objetivo deste trabalho não foi o de explicar a forma com que o laser atua nos tecidos, alterando o funcionamento de seus constituintes, mas avaliar uma possível alteração da cultura de *Staphylococcus aureus* irradiada e em havendo, demonstrar quais ocorreram. Propõe-se também que estudos dos efeitos do laser sejam mais profundamente pesquisados e que novos experimentos sejam realizados, dando maior enfoque a outros tipos de bactérias encontradas em úlceras de pressão, infectadas, como as já descritas teoricamente neste trabalho, para que, futuramente, seja possível formar um protocolo de tratamento fisioterapêutico em benefício dos pacientes.

Referências Bibliográficas

- BERGASTROM, N. et al. Úlcera de pressão. **Universidade de São Paulo**. Disponível em: <<http://uerp.usp.br/projetos/ulcera/PREV.html>>. Acesso em 10 abr. 2002.
- BLAKISTON. **Dicionário médico**. 2. ed. São Paulo: Andrei, 1982.
- BORG, K.; BRAUNINGER, W. **Dermatologia clínica, diagnóstico e terapia**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1998.
- BRAUNWALD, E. et al. **Harrison: medicina interna**. 15. ed. vol. 1. Rio de Janeiro: Mc Graw-Hill, 2002.
- CALÓ, A. O uso de soft-laser na clínica geral odontológica. **Dental Word**, São Paulo. Disponível em: <<http://gbsystems.com/papers/general/laser.htm>>. Acesso em: 07 abr. 2002.
- COMACK, D. H. **Histologia**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991.
- DANGELO, J. G.; FATTINI, C. A. **Anatomia humana sistêmica e segmentar**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2002.
- DAVIS, B. D. et al. **Tratado de microbiologia**. 2. ed. Barcelona: Salvat, 1978.
- DE CHAMPS, C. et al. Prospective severity of beta-lactamases produced by ceftazidim resistant pseudomonas aeruginosa isolated in a French Hospital in 2000. **National Library of Medicine**. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov:80>>. Acesso em 18 ago. 2002.
- DELISA, G. J. **Medicina de reabilitação**. São Paulo: Manole, 1992.
- FERNANDES, A. T.; FERNANDES, M. O. V.; RIBEIRO FILHO, N. **Infecção hospitalar e suas interfaces na área da saúde**. São Paulo: Atheneu, 2000.
- FERREIRA, A. B. H. **Pequeno dicionário brasileiro da língua portuguesa**. 11. ed. Rio de Janeiro: Gama, 1971.
- GARDNER, E.; GRAY, D. J.; RAHILLY, R. **Anatomia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 1998.
- GENOVESE, W. J. **Laser de baixa intensidade: aplicações terapêuticas em odontologia**. São Paulo: Lovise, 2000.
- GOUW-SOARES, S. C. **Avaliação da redução bacteriana em dentina radicular contaminada, irradiada com laser Ho:YAG. estudo "in vitro"**. 1998. Dissertação (mestrado) - Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo. Disponível em: <http://www.usp.br/fo/lelo/teses/fousp/sheila_cynthia_gouw.htm>. Acesso em: 07 abr. 2002.
- GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.
- GUZZARDELLA, G. A. et al. Laser stimulation on bone deficit healing: an a vitro study. **National Library of Medicine**. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov:80>>. Acesso em: 18 ago. 2002.
- HAYPEK, P. **Redução bacteriana pós-aplicação do laser de dióxido de carbono na superfície de implantes contaminados com S. sanguis**. 2001. Dissertação (mestrado) - Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo. Disponível em: <http://www.usp.br/fo/lelo/teses/fousp/particia_haypek.htm>. Acesso em: 07 abr. 2002.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.
- KITCHEN, S.; BAZIN, S. **Eletroterapia de clayton**. 10. ed. São Paulo: Manole, 1998.
- KONEMAN, A. et al. **Diagnóstico microbiológico**. 5. ed. São Paulo: Medsi, 2001.
- LAGAN, K. M. et al. Low-intensity laser therapy/combined phototherapy in the management of chronic venous ulceration: a placebo-controlled study. **National Library of Medicine**. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov:80>>. Acesso em: 18 ago. 2002.
- LEPPER, P. M. et al. Consumption of imipenem correlates with beta-lactam resistance in pseudomonas aeruginosa. **National Library of Medicine**. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov:80>>. Acesso em: 18 ago. 2002.
- LEVINSON, W.; JAWETZ, E. **Microbiologia médica e imunologia**. 4. ed. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 1998.
- LINHARES, S.; GENANDSZNAYDER, F. **Biologia hoje**. São Paulo: Ática, 1998.
- LOPES, L. A. **Análise in vitro da proliferação celular de fibroblastos de gengiva humana tratados com laser de baixa potência**. 1999. Dissertação (mestrado) - Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade Vale do Paraíba - São José dos Campos, São Paulo. Disponível em: <<http://www.forp.usp.br/restauradora/laser/Luciana/ffibrolasto.html>>. Acesso em: 07 abr. 2002.
- LOW, J.; REED, A. **Eletroterapia explicada**. 3. ed. São Paulo: Manole, 2001.
- MIMS, C. et al. **Microbiologia médica**. São Paulo: Manole, 1999.

- NEIRA, R. et al. Fat liquefaction: effect of low-level laser energy on adipose tissue. **National Library of Medicine**. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov:80>>. Acesso em: 18 ago. 2002.
- OLIVEIRA, S. G. Úlcera de pressão. **Medstudentes**. Disponível em: <http://www.medstudentes.com.br/content/resumos/ulcera_por_pressao.doc>. Acesso em: 12 ago. 2002.
- PARIZOTO, N.; ALMEIDA, L.; MASSIRI, R. J. **Thera laser**: manual do usuário. São Carlos: diversas, 2001.
- RODRIGUES, D. G.; GREJO, R. P. **Laserterapia no processo de cicatrização cutânea de feridas**. 2001. Monografia (graduação em Fisioterapia) – Faculdade de Educação Física de Lins, Lins.
- ROSS, M. H.; ROWRELL, L. J. **Histologia – texto e atlas**. 2. ed. São Paulo: Panamericana, 1993.
- SCHOONHOVEN, L.; DEFLOOR, T.; GRYPDONCK, M. H. Incidence of pressure ulcers due to surgery. **National Library of Medicine**. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov:80>>. Acesso em: 18 ago. 2002.
- SOARES, J. L. **Biologia do terceiro milênio – seres vivos, evolução, ecologia**. São Paulo: Scipione, 1999.
- SPENCE, A. P. **Anatomia humana básica**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1991.
- STARLEY, C. **Recursos terapêuticos em fisioterapia**. 2. ed. São Paulo: Manole, 2001.
- STOCKTON, L.; PARKEV, D. Pressure relief behaviour and the prevention of pressure ulcers wheelchair users in the community. **National Library of Medicine**. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov:80>>. Acesso em: 18 ago. 2002.
- TORTORA, G. J. et al. **Microbiologia**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2000.
- TRABULSI, L. R. **Microbiologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1999.
- VEÇOSO, M. C. **Laser em fisioterapia**. São Paulo: Louise, 1993.
- ZORZETTO, N. L. **Curso de anatomia humana**. 6. ed. Presidente Prudente: Data Juris, 1995.