

## Aplicação de aparelho de alta frequência e do vapor de ozônio no fungo *malassezia spp*

### *Application of high-frequency equipment and steam ozone in the fungus malassezia spp*

Carlos Eduardo Cúrcio Braz<sup>1</sup>, Paula Solange da Cunha<sup>2</sup>, Rodrigo Disconzi Nunes<sup>3</sup>, Sávía Denise Silva Carlotto Herrera<sup>4</sup>, Dario Silva da Silva Júnior<sup>5</sup>, Herivelto Silva Carlotto<sup>6</sup>

#### RESUMO

**Introdução:** O *Malassezia furfur*, pertencente ao gênero das leveduras, é considerado o agente causador da pitiríase versicolor e está associado à foliculite, dermatite seborréica e atópica, psoríase, fungemia e infecções sistêmicas. **Objetivo:** Verificar o efeito fungicida do aparelho de alta frequência e do vapor de ozônio na cultura de *Malassezia spp*. **Material e Método:** Foram analisadas 33 placas de Petri, colonizadas com o respectivo fungo, sendo três para o grupo controle, 15 para o grupo A (tratado com alta frequência) e 15 para o grupo B (tratado com vapor de ozônio). Foi realizada somente uma aplicação nos dois grupos, durante três minutos, com intensidade 12 e eletrodo "cebola" de vidro no grupo A com aparelho de alta frequência e no grupo B utilizou-se somente vapor de ozônio por cinco minutos. **Resultados:** Das 15 placas do grupo A, submetidas à

ação do aparelho de alta frequência, observou-se uma diminuição no crescimento fúngico em 85% das placas. Somente em uma placa não houve nenhuma redução na área da colônia do fungo *Malassezia spp*. Mesmo para a placa 15A que não apresentou redução, realizou-se o coeficiente de variação com variabilidade de 16,90% e percebeu-se uma redução moderada. No grupo B não houve diminuição após aplicação do vapor de ozônio. **Conclusão:** Conclui-se que o aparelho gerador de alta frequência apresenta-se eficaz no tratamento do fungo *Malassezia spp*, entretanto o aparelho de vapor de ozônio não mostrou resultados satisfatórios eficazes no combate a este fungo.

**Descritores:** Fungos. Ozônio. *Malassezia*.

#### ABSTRACT

**Introduction:** *Malassezia furfur*, belonging to the genus of yeast, is considered the causative agent of pityriasis versicolor and is associated with folliculitis, seborrheic dermatitis and atopic psoriasis, fungemia and systemic infections. **Objective:** To investigate the fungicidal effect of high-frequency unit and steam of ozone in the culture of *Malassezia spp*. **Methods:** 33 petri dishes, colonized with the respective fungus were analyzed, three for the control group, 15 for group A (treated with high frequency) and 15 in group B (treated with ozone steam). Was only made an application in the two groups, for three minutes, with 12 intensity and electrode "big-onion" Glass in group A with high-frequency unit and in group B was used only

ozone steam for five minutes. **Results:** Of the 15 plates of group A, subjected to the action of high-frequency apparatus, there was a decrease in fungal growth in 85% of the plates. Only on a plate there was no reduction in the area of the colony of the fungus *Malassezia spp*. Even for the 15A plate not decreased, there was the coefficient of variation with variation of 16.90% and realized a moderate reduction. In group B there was no decrease after application of ozone steam. **Conclusion:** It is concluded that the high-frequency generator unit presents effective in treating the fungus *Malassezia spp*, though the steamer ozone did not show satisfactory results effective in combating this fungus.

**Descriptors:** Fungi. Ozone. *Malassezia*.

<sup>1</sup> Graduado em Fisioterapia pelo Centro Universitário UnirG. Gurupi-TO, Brasil. Email: carloseduardo17\_@hotmail.com

<sup>2</sup> Graduada em Fisioterapia pelo Centro Universitário UnirG. Gurupi-TO, Brasil. Email: paulasolange\_@hotmail.com

<sup>3</sup> Fisioterapeuta. Mestre em Ciências da Saúde pela Universidade Federal de Goiás – Goiânia (GO). Professor Adjunto I do Centro Universitário UnirG. Gurupi-TO, Brasil. Email: rodrigodisconzi@yahoo.com.br

<sup>4</sup> Fisioterapeuta. Especialista em Fisioterapia Respiratória pela UNOPAR. Coordenadora do Curso de Fisioterapia (UnirG). Professora Assistente do Centro Universitário UnirG. Gurupi-TO, Brasil. Email: saviadenise@hotmail.com

<sup>5</sup> Acadêmico do curso de Medicina do Centro Universitário UnirG. Gurupi-TO, Brasil. Email: dariosjunior@ig.com.br

<sup>6</sup> Agrônomo. Gestão do agronegócio pela Universidade Federal do Tocantins. Professora Assistente do Centro Universitário UnirG. Gurupi-TO, Brasil. Email: heriveltocarloto@yahoo.com.br

#### ENDEREÇO PARA A CORRESPONDÊNCIA

Rodrigo Disconzi Nunes, Centro Universitário UnirG, Av. Rio de Janeiro nº 1585, Centro - 77403-090, Gurupi - TO, Telefone: (63) 3612-7600. Email: rodrigodisconzi@yahoo.com.br

## INTRODUÇÃO

O gênero *Malassezia* é composto por 13 diferentes espécies de leveduras lipofílicas de importância crescente na microbiota cutânea de seres humanos e animais.<sup>1</sup> Essas leveduras conquistaram grande importância na medicina humana, a partir da década de 1980, devido as recidivas de dermatites sebóricas em indivíduos imunossuprimidos e fungemias em neonatos prematuros sob alimentação parenteral.<sup>2</sup>

O fungo *Malassezia furfur*, um tipo de levedura nesse gênero, é considerado o agente causador da pitíriase versicolor, estando também associado à foliculite, dermatite seborréica e atópica, psoríase, fungemia e infecções sistêmicas.<sup>3</sup> A dermatite seborréica caracteriza-se por uma inflamação crônica que acomete principalmente a face e o couro cabeludo, caracterizando-se por lesões descamativas e eritematosas.<sup>4</sup> Sua etiologia é pouco conhecida e acredita-se que a dermatite seborréica envolva diversos fatores, sendo um deles as alterações do sebo onde há o aumento no pH da pele, o que facilita a supercolonização do fungo *Malassezia spp*, em especial o *Malassezia furfur*, causando o processo inflamatório local.<sup>3,5</sup>

A prevalência de dermatite seborréica no adulto é elevada, e por ser uma afecção crônica, causa incômodos por apresentar prurido, odor desagradável e aparência indesejada, principalmente na face e couro cabeludo.<sup>6</sup>

Estudos demonstram que várias dermatoses causam grande impacto no estado emocional, nas relações sociais e nas atividades cotidianas dos pacientes, em razão a aparência causada pelas lesões<sup>7</sup>, podendo provocar consequências análogas a afecções como asma e epilepsia,

confirmando que doenças dermatológicas afetam a autoimagem, causando disfunções psicológicas com o surgimento de ansiedade e depressão, assim como em doenças sistêmicas graves.<sup>8</sup>

Existem vários estudos que buscam a melhoria no quadro clínico do paciente, devido aos transtornos e incômodos causados por doenças dermatológicas. É interessante investigar novos métodos para solucionar este problema, sendo eles, a utilização do aparelho gerador de alta frequência e o aparelho de vapor de ozônio.

O aparelho gerador de alta frequência vem sendo utilizado há anos com finalidades antissépticas, germicidas, fungicidas e bactericidas, por sua ação esterilizante advinda do ozônio (O<sub>3</sub>), existindo três técnicas de aplicação do aparelho de alta frequência, sendo elas: efluviação, faiscamento e saturação.<sup>9</sup>

O ozônio gerado pelo aparelho de alta frequência é empregado com a finalidade de esterilizar os materiais em grande volume de forma eficaz, propiciando a utilização, como método fungicida sobre as colônias que acometem a superfície cutânea.<sup>9-10</sup> Estudos supõem que o ataque primário do gás ozônio se dê na parede da célula do microorganismo e em seguida, com a penetração no interior da célula, este agente promova a oxidação dos aminoácidos e ácidos nucleicos. O ozônio é considerado um microbicida por agir sobre vírus, fungos e bactérias.<sup>9</sup>

O objetivo do presente estudo foi verificar o efeito fungicida do aparelho de alta frequência e vapor de ozônio na cultura de *Malassezia spp*.

## MATERIAL E MÉTODO

Foi realizada uma pesquisa experimental *in vitro*, no Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Unirg, no mês de Outubro de 2012, com o Fungo *Malassezia spp*, cedido pelo próprio laboratório.

Quanto ao aspecto ético, o presente trabalho não foi submetido à apreciação de um comitê de ética e pesquisa devido se tratar de uma pesquisa *in vitro* e não havendo necessidade da permissão deste órgão, uma vez que não envolve a participação de seres humanos.

Primeiramente foi preparado o meio de cultura para fazer os repiques das cepas. O meio

usado foi o Agar Sabouraud Dextrose da marca Prodímol, seguindo as instruções do fabricante (para cada um litro de água purificada foi usado 65g do referido produto). Foram preparados 200ml para 33 placas de *Petri* estéreis de 5cm de diâmetro. A solução foi colocada em um Becker, lacrando-se a boca com algodão hidrofóbico e fita crepe. O mesmo foi levado ao autoclave, em temperatura máxima atingindo 121°C. Atingindo esta temperatura, foi colocado em temperatura média e deixado por mais 15 minutos para se diminuir a pressão e assim ser aberta a autoclave.

Em seguida a solução foi retirada da autoclave, em estado líquido, foi despejado nas placas de *Petri* dentro da capela, com luz ultravioleta previamente ligada por 20 minutos, para evitar contaminação do meio. Após esfriar o Agar e estar na forma sólida, foi adicionado 1% de azeite de oliva para crescimento do fungo, e em seguida, as placas foram lacradas com Rolopac®. Após 24 horas, as cepas foram repicadas em 33 placas, sendo três para o grupo controle da pesquisa, 15 para o grupo A (aplicação do aparelho de alta frequência) e 15 para o grupo B (aplicação do aparelho vapor de ozônio). Foi utilizada a alça de platina em anel para repicagem, disseminando o material em um quadrante da placa, com a finalidade de se obter o crescimento total do fungo *Malassezia spp* nas placas para aplicação individualizada do equipamento.

Após oito dias de crescimento das culturas nas placas semeadas e encubadas, em incubadora da marca Quimis® modelo Q-316 M2, à temperatura ambiente, as placas foram delimitadas e devidamente identificadas com caneta pincel da marca Pilot®. Foi utilizada Máquina Fotográfica Nikon Coolpix® L810, 16.1 Megapixels para registrar as placas colonizadas antes do procedimento. As placas foram colocadas individualmente a uma distância de 30cm da lente fotográfica. Após a aplicação as placas foram novamente fotografadas, para comparar a diminuição da área colonizada pelo fungo *Malassezia spp*, no grupo A e no grupo B.

O protocolo utilizado com o aparelho de alta frequência e aparelho de vapor de ozônio foi realizado pelo mesmo pesquisador previamente treinado.

## RESULTADOS

A análise estatística foi realizada comparando-se o diâmetro das colônias das placas no período pré e pós-aplicação dos equipamentos.

Foram analisadas 33 placas colonizadas, sendo três placas para o grupo controle, não sendo realizado nenhuma intervenção, 15 placas para o grupo A (aplicação do aparelho de alta frequência por três minutos, intensidade 12) e 15 placas para o grupo B (aplicação do aparelho de vapor de ozônio por cinco minutos).

Para normalidade foi utilizado o teste Shapiro-Wilk ( $p=0,2083$ ). Ao analisar as placas do grupo A, pré e pós-tratamento, o teste T para amostra pareadas demonstrou  $p<0,0001$ , mostrando uma redução muito significativa da área colonizada no pós-tratamento.

A técnica consistiu na aplicação do aparelho de alta frequência da marca Ibramed®, modelo Neurodyn Esthetic, com eletrodo na forma de “cebola” de vidro com intensidade 12, com a técnica de faiscamento. A placa de *Petri* foi colocada sobre uma folha de papel alumínio para que houvesse um campo elétrico semelhante à pele, visto que o vidro da placa não é um bom condutor elétrico.<sup>9</sup> Realizou-se aplicação por três minutos em cada placa, dentro da capela, fazendo com que o eletrodo atingisse toda superfície da placa do grupo A, utilizando-se o mesmo eletrodo para todas as placas, por não haver risco de contaminação, visto se tratar do mesmo fungo nas diferentes placas.

A segunda técnica utilizou o protocolo do aparelho de vapor de ozônio da marca Ibramed®, modelo Dermosteam, por cinco minutos. O procedimento foi realizado com o aparelho dentro da capela a uma distância de 30 cm das placas, divididas em cinco trios, totalizando-se 25 minutos de procedimento, sendo o tempo medido através de cronômetro, marca Cronobio®, modelo SW 2018.

O grupo controle não recebeu nenhuma intervenção, e permaneceu em uma incubadora à temperatura ambiente, durante toda a pesquisa, apresentando crescimento normal do fungo *Malassezia ssp*.

A análise da área colonizada nas placas de *Petri* foi realizada através do software AutoCAD 2009. A análise estatística foi realizada através do software Bioestat versão 5.0, onde empregou-se o teste de normalidade de Shapiro-Wilk, e posteriormente o teste T de Student, considerando-se o nível de significância  $p \leq 0,05$ .

Das 15 placas do grupo A, submetidas à ação do aparelho de alta frequência, somente em uma placa, não houve nenhuma redução na área da colônia do fungo *malassezia spp*, observando em 85% das placas, diminuição no crescimento fúngico. Mesmo a placa 15A não apresentando redução, realizou-se o coeficiente de variação com variabilidade de 16,90%, mostrando uma redução moderada.

Na tabela 1, observou-se na placa 6A um maior percentual de redução na área da colônia, totalizando 43,7%, enquanto a placa 11A apresentou redução de apenas 2,5% do fungo.

Entretanto, no grupo B não houve diminuição após aplicação do vapor de ozônio.

Enquanto o grupo controle apresentou crescimento normal do fungo *Malassezia spp*.

**Tabela 1:** Análise da redução do fungo *Malassezia spp*, quanto a aplicação do alta frequência (Área inicial 20cm<sup>2</sup>)

Placas	Área final (cm <sup>2</sup> )	Redução da área (cm <sup>2</sup> )	Redução da área (%)
1	19	1	5%
2	16,17	3,83	19,15%
3	16,68	3,32	16,60%
4	13,86	6,14	30,70%
5	12,99	7,01	35,05%
6	11,26	8,74	43,70%
7	14,16	5,84	29,20%
8	18,23	1,77	8,85%
9	18,4	1,6	8,00%
10	18,34	1,66	8,30%
11	19,5	0,5	2,50%
12	16,94	3,06	15,30%
13	17,14	2,86	14,30%
14	19,22	0,78	3,90%
15	20	0	0%

Shapiro-Wilk (p= 0,0001)

## DISCUSSÃO

Na presente pesquisa foi verificada uma diminuição significativa na área colonizada pelo fungo *Malassezia spp* nas placas de *Petri* do grupo A, tratadas com o aparelho de alta frequência. Em um estudo realizado com o fungo *Malassezia spp in vitro*, o mesmo da presente pesquisa, utilizando o aparelho de alta frequência, com um protocolo diferente, de intensidade 8 e eletrodo tipo bico, não foram observados resultados significativos quanto a diminuição do fungo nas placas, devido ao tamanho da placa em relação ao tamanho do eletrodo.<sup>11</sup>

Entretanto, em um estudo realizado com o objetivo de verificar o efeito bactericida do gerador de alta frequência em cepas de *Staphylococcus aureus*, foi utilizado um protocolo de 15 intervenções, em uma frequência semanal de cinco aplicações, com tempo de exposição diária de 15 minutos em 36 placas, o que evidenciou a eficácia do aparelho de alta frequência.<sup>12</sup>

O efeito fungicida *in vitro* do aparelho de alta frequência pode ser observado em outro estudo utilizando cepas de *Candida Tropicalis*. As placas foram submetidas ao aparelho utilizando a técnica de faiscamento, a mesma utilizada na presente pesquisa, porém com intensidade 8, eletrodo tipo bico e duração de exposição de cinco minutos. Foi observado em 90% das placas inibição no crescimento fúngico.<sup>9</sup>

O uso do aparelho de alta frequência em pesquisas com seres humanos, apresentou resultados satisfatórios no tratamento de úlceras de pressão<sup>13</sup>, também foi observado a eficácia no tratamento de Onicomicose utilizando o aparelho de alta frequência semanalmente, durante 12 meses, observando inibição do crescimento fúngico.<sup>14</sup>

Do mesmo modo, em um relato de caso, de verruga ungueal causado pelo vírus HPV, utilizando aparelho de alta frequência, com técnica de faiscamento com eletrodo tipo bico, durante três meses, três vezes ao dia com duração de 15 minutos cada aplicação, foi verificado um resultado positivo, obtendo-se a diminuição da afecção.<sup>15</sup>

Estudos clínicos e biológicos, evidenciaram que os efeitos do ozônio na pele pode ou não ser tóxico, dependendo da dosagem, período de exposição e capacidade oxidante do tecido exposto.<sup>16</sup>

Em uma pesquisa realizada com o intuito de verificar a eficiência do vapor de ozônio, foram utilizadas cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia* e *Staphylococcus epidermidis*, submetidas ao gás ozônio por 30 minutos com variação da concentração entre 20 e 40ug/ml, posteriormente incubadas em estufa a 37°C por 24/48hs, onde no grupo controle as placas não foram expostas ao gás. Para cada tipo de cepa foram preparadas quatro placas, sendo uma para o grupo controle. O não crescimento bacteriano no estudo demonstrou eficiência do gás ozônio nos diferentes períodos de 24 e 48 horas, comparados ao grupo controle.<sup>17</sup>

Em um experimento realizado com 60 pacientes com diagnóstico de estomatite protética causada pelo gênero *Candida*, podendo estar relacionado à má higienização bucal e da prótese, foi realizado no grupo experimental a aplicação tópica de óleo ozonizado na base da prótese. Já no grupo controle foi feito bochecho com bicarbonato de sódio. A coleta da saliva se fez no início, 7° e 14° dia em recipientes estéreis com o objetivo de observar o número de unidades formadoras de colônias por minuto. Na utilização de óleo ozonizado observou-se o aumento inicial nos primeiros sete dias, seguido por uma significativa diminuição das contagens de colônias de *Candida* (dos sete aos 14 dias), quanto ao bicarbonato de sódio verificou-se redução no período de sete dias e aumento no período de 14 dias.<sup>18</sup>

No presente estudo, as 15 placas do grupo B, onde se utilizou o vapor de ozônio por cinco minutos em cada placa, com o objetivo de observar efeito fungicida, não apresentou eficácia, já que o fungo *Malassezia spp* se manteve da mesma forma, sem nenhuma

diminuição, permanecendo a colônia do mesmo tamanho, observado no pré-tratamento.

Os resultados sobre o uso do aparelho de alta frequência e vapor de ozônio, apresentados na literatura, são restringidos aos estudos *in vitro* ou com modelos experimentais ou estudos de caso.<sup>12</sup> Porém, é possível observar que, ao se tratar de estudos *in vitro*, os resultados aparecem em poucas horas e até mesmo em uma única intervenção.<sup>9-10,19</sup> Quando se trata de seres humanos, principalmente em lesões fúngicas são necessários meses de aplicação.<sup>14-15</sup>

Com os resultados apresentados pela pesquisa, observou-se uma redução na área das placas de forma moderada no grupo A. Acredita-se que os outros protocolos de aplicação do aparelho de alta frequência, utilizados nos outros estudos, sejam mais eficazes, possivelmente devido ao aumento do número de placas e devido ao tempo de exposição da placa ao aparelho, o que pode ter contribuído para resultados mais satisfatórios.

Outros estudos com maior número de placas e maior tempo de exposição às intervenções em questão, sobretudo o vapor de ozônio, devem ser realizados a fim de se verificar os efeitos esperados. São necessárias novas pesquisas com diferentes protocolos para verificar seu efeito fungicida.

## CONCLUSÃO

Os resultados apresentados neste trabalho mostraram que o protocolo utilizado no aparelho alta frequência propiciou efeito fungicida sobre a cultura do fungo *Malassezia spp in vitro*. Já o aparelho de vapor de ozônio não se mostrou efetivo frente à cultura do respectivo fungo.

São necessárias novas pesquisas para verificar a eficiência e utilidade, tanto do aparelho de alta frequência como do vapor de ozônio, em tratamentos dermatológicos *in vivo*.

## REFERÊNCIAS

1. Duarte ER, Resende JCP, Hamdan JS. Characterization of typical and atypical *Malassezia Spp*. From cattle and dog by random amplified polymorphic DNA analysis. Arq Inst Biol. 2009 abr-jun; 76(2):157-164.
2. Girão MD, Prado MR, Brilhante RSN, Cordeiro RA, Monteiro AJ, Sidrim JJC, Rocha MFG. Viabilidade de cepas de *Malassezia pachydermatis* mantidas em diferentes métodos de conservação. Rev Soc Bras Med. Trop. 2004 mai-jun; 37(3):229-233.

3. Lima EO, Belém LF, Filho VC, Corrêa R, Nunes RJ, Andricopulo A, Silva VE. Avaliação da sensibilidade de cepas de *Malassezia furfur* a imidas cíclicas. *Rev Bras Cienc Farm*. 2002 out-dez; 38(4):443-450.
4. Maraschin MM, Spader T, Mario DAN, Rossato L, Lopes PGM. Infecções causadas por *Malassezia*: Novas abordagens. *Saúde, Santa Maria*. 2008; 34(1-2):4-8.
5. Ferolla C. Dermatite seborreica da face. *RBM Especial Dermatologia*. 2010 dez; 67: 11-15.
6. Gupta AK, Madzia SE, Batra R. Etiology and management of Seborrheic dermatitis. *Dermatology*. 2004; 208(2):89-93.
7. Fynlay AY, Khan GK. Dermatology life quality index (DLQI) - a simple practical measure for routine clinical use. *Clin Exp Dermatol*. 1994;19:210-6.
8. Taborda ML, Weber MB, Teixeira KAM, Lisboa AP, Welter EQ. Avaliação da qualidade de vida e do sofrimento psíquico de pacientes com diferentes dermatoses em um centro de referência em dermatologia no sul do país. *An Bras Dermatol*. 2010; 85(1):52-6.
9. Higa DR, Cese PC, Falcão RMM, Cese AC, Chang MR, Borges FS, Oliveira JTM. Efeito do gerador de alta frequência sobre cultura de *Candida tropicalis*. *Rev Esp Fisioter*. 2007;1(1):22-6.
10. Lake JC, Felberg S, Malavazzi GR, Goulart DA, Nishiwaki-Dantas MC, Dantas PEC. Efeito terapêutico da aplicação intra-ocular de ozônio em modelo experimental de endoftalmite por *Staphylococcus epidermidis* em coelhos. *Arq Bras Oftalmol*. 2004;67(4):575-9.
11. Gomes LA, Oliveira TA. Alta frequência in vitro no fungo *Malassezia spp* [monografia de graduação]. Curso de Fisioterapia. Centro Universitário UNIRG, Gurupi; 2011.
12. Martins A, Silva JT, Graciola L, Fréz AR, Ruaro JA, Marquetti MGK. Efeito bactericida do gerador de alta frequência na cultura de *Staphylococcus aureus*. *Fisioter Pesq*. 2012; 19(2):153-7
13. Borges FS, Borges FBS. Alta frequência. In: Borges FS. Modalidades terapêuticas nas disfunções estéticas. São Paulo: Phorte; 2006.
14. Silva JLM, Doimo G, Faria DP. Uso de ondas de alta frequência no tratamento de onicomicose - comunicação preliminar de três casos. *An Bras Dermatol*. 2011; 86(3):598-600.
15. Barros VCC, Santos VNS, Santos FB. Tratamento de verruga ungueal causada por HPV com uso do gerador de alta frequência: relato de caso. *Rev Esp Fisioter*. 2007; 1(2):33-5.
16. Valacchi G, Fortino V, Bocci V. The dual action of ozone on the skin. *British Journal of Dermatology*. 2005; 153:1096-1100.
17. Cardoso RF. Avaliação do perfil antimicrobiano do gás ozônio [monografia de graduação]. Carazinho: Universidade Luterana do Brasil; 2009.
18. Crastechini E, Machado SF, Teodoro GR, Koga-Ito CY, Almeida JD. Efeitos do óleo ozonizado na presença do gênero *Cândida* em pacientes com estomatite protética. *Braz Oral Res*. No prelo 2006.
19. Pereira MMS, Navarini A, Mimica LMJ, Junior AMP, Silva RA. Efeito de diferentes gases sobre o crescimento bacteriano. Estudo experimental "in vitro". *Rev Col Bras Cir*. 2005; 32(1):12-4.