UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS

MARDOQUEU MARTINS DA COSTA

**Estudo de viabilidade de um protótipo
integrado para o diagnóstico e tratamento
da acne por técnicas ópticas**

São Carlos - SP
2015

MARDOQUEU MARTINS DA COSTA

Estudo de viabilidade de um protótipo integrado para o diagnóstico e tratamento da acne por técnicas ópticas

Tese apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências, Programa de Engenharia Elétrica.

Área de Concentração: Processamento de Sinais e Instrumentação

Orientadora: Profa. Dra. Liliane Ventura

São Carlos - SP
2015

¹ Trata-se da versão corrigida da tese. A versão original se encontra disponível na EESC/USP que aloja o Programa de Pós-Graduação de Engenharia Elétrica.

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO,
POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA
FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

M837e Martins da Costa, Mardoqueu
Estudo de viabilidade de um protótipo integrado
para o diagnóstico e tratamento da acne por técnicas
ópticas / Mardoqueu Martins da Costa; orientadora
Liliane Ventura. São Carlos, 2015.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Elétrica e Área de Concentração em
Processamento de Sinais e Instrumentação -- Escola de
Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo,
2015.

1. Acne. 2. Diagnóstico. 3. Tratamento. 4.
Fluorescência. 5. Imagem. 6. Terapia Fotodinâmica. 7.
Protoporfirina IX. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato: Licenciado **MARDOQUEU MARTINS DA COSTA.**

Título da tese: "Estudo de viabilidade de um protótipo integrado para o diagnóstico e tratamento da acne por técnicas ópticas".

Data da defesa: 13/04/2015

Comissão Julgadora:

Resultado:

Profa. Associada **Liliane Ventura Schiabel (Orientadora)**
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)

Aprovado

Prof. Titular **Alberto Cliquet Junior**
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)

aprovado

Dra. **Denise Maria Zezell**
(Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares / IPEN)

aprovado

Profa. Dra. **Ligia de Oliveira Ruggiero**
(Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"/UNESP – Bauru)

Aprovado

Profª. Drª. **Carla Raquel Fontana Mendonça**
(Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"/UNESP – Araraquara)

Aprovado

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica:
Prof. Associado **Luis Fernando Costa Alberto**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:
Prof. Associado **Paulo César Lima Segantine**

Dedicatória

Dedico este trabalho principalmente aos meus pais e meus irmãos que sempre me apoiaram durante o desenvolvimento deste trabalho e em especial a minha querida esposa que sempre me apoiou. Muitíssimo obrigado, sem vocês não conseguiria chegar até aqui.

Agradecimentos

Aos meus pais, Luis Gabriel da Costa e Ana Maria Martins da Costa, pelo apoio incondicional, desde a graduação até o presente momento. Sei que sem vocês não estaria aqui, e não seria a pessoa que sou hoje. Obrigado meus pais, por herdar de vocês a paciência, e a persistência que um trabalho destes exige. Obrigado meus pais por tudo o que já fizeram por mim e o que ainda farão. Obrigado pelo amor que me deram. Amo muito vocês.

Aos meus irmãos Micael e Miguel também pelo apoio que me deram. Obrigado por vocês serem meus irmãos e estarem presentes em minha vida. Amo muito vocês.

A minha esposa Adriana, obrigado pelo apoio e paciência durante a graduação, mestrado e doutorado. Amo muito você, minha querida.

A Profa. Liliane Ventura e seu laboratório, pela oportunidade e suporte que me deu ao aceitar ser minha orientadora.

Aos grandes companheiros da Biopdi que me ajudaram diretamente e indiretamente em meu trabalho. Tenho que agradecer muito a vocês, Diego, Cauanan, Emanuel, André, Charles, Danielle e os que já passaram pela empresa, Michel, Marcos, Artur, Letícia, Ricardo e Willy.

Ao pessoal da RAE usinagem que me ajudaram no desenvolvimento de peças. Obrigado Anderson e Marcão.

Ao pessoal da secretaria da pós-graduação da EESC por estarem sempre dispostos a ajudar. Obrigado Jussara e Marisa.

Ao pessoal do boticário pelo auxílio na realização de diversos experimentos. Obrigado Priscila e Karinna.

Ao pessoal da UNICEP na realização dos experimentos. Obrigado Profa. Luciene Barbieri, Priscilla e Tháyla.

Ao CNPq e a FAPESP pelo suporte financeiro de projetos financiados na empresa Biopdi, onde realizei grande parte deste trabalho.

RESUMO

COSTA, M. M. **Estudo de viabilidade de um protótipo integrado para o diagnóstico e tratamento da acne por técnicas ópticas.** 2015. 158 f. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.

A acne é a mais comum doença de pele encontrada pelos dermatologistas, representando cerca de 30% das consultas, onde esta é considerada crônica, pois apresenta alto grau de recidiva podendo acometer 50% da população na vida adulta. Diversos estudos evidenciam bons resultados para tratamento da acne através de fototerapias, entretanto, alguns trabalhos enfatizam que esta modalidade terapêutica é ainda recente e que estudos adicionais e mais detalhados devam ser realizados. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho é o estudo da viabilidade de um protótipo integrado para o diagnóstico e tratamento da acne por técnicas ópticas, visando o desenvolvimento de um equipamento para diagnóstico por imagens de fluorescência e um sistema de tratamento por fototerapia para a eliminação das bactérias causadoras da acne, assim, propondo novas soluções para o diagnóstico e tratamento da acne. Para isso foi realizado o desenvolvimento do protótipo-v1 que é constituído pelo sistema de diagnóstico por imagens de fluorescência composto por 01 LED violeta em 405 nm para excitação das amostras (80 mW/cm^2), um sistema de filtros e lentes para formação das imagens de fluorescência e uma câmera para a captura das imagens. O sistema de tratamento é composto por 01 LED UV em 405 nm que proporciona uma intensidade de irradiação de 150 mW/cm^2 com um diâmetro de 40 mm. Para validação do protótipo-v1 foram realizados seis experimentos distintos, sendo: 1 – Avaliou-se as configurações iniciais do protótipo eram adequadas para a visualização de bactérias presentes no rosto, foram adquiridas imagens de fluorescência na região do nariz; 2 – Avaliou-se a detecção de bactérias presentes em quatro diferentes regiões da face; 3 – Avaliou-se somente com uma lavagem simples é possível fazer a remoção e eliminação das bactérias presentes no rosto; 4 – Avaliou-se a detecção da presença de bactérias no couro cabeludo que são possíveis causadoras de caspa e se ocorre uma maior formação de bactérias no couro cabeludo ao longo do tempo. 5 – Avaliou-se *in vivo*, em um voluntário, o sistema de diagnóstico e tratamento da acne do protótipo-v1; 6 – Avaliou-se *in vitro* e *in vivo*, 40 voluntários, o sistema de diagnóstico e tratamento da acne do protótipo-v1. Como resultado foi possível realizar a detecção da bactéria *P. acnes* e fazer uma análise de sua presença, formação e declínio em seis experimentos, através de processamento de imagens e análises comparativas. Sendo que no experimento 1 a 4 avaliou-se a qualidade e as configurações do equipamento de diagnóstico por fluorescência e os experimento 5 e 6 avaliaram tanto o sistema de diagnóstico como o sistema de tratamento. Assim, através destes experimentos realizados foi possível demonstrar uma viabilidade da utilização do protótipo-v1 como sistema de diagnóstico e tratamento da acne, demonstrando que é possível se realizar o monitoramento das bactérias causadoras da acne através das imagens de fluorescência e o tratamento da acne utilizando técnicas ópticas.

Palavras-chave: Acne, Tratamento, Diagnóstico, Protoporfirina IX, Imagem de fluorescência, Terapia fotodinâmica.

ABSTRACT

COSTA, M. M. **Viability study of an integrated prototype for acne diagnosis and treatment by optical techniques**. 2015. 158 f. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.

Acne is the most common skin disease found by dermatologists, representing about 30% of the consultations, where it is considered chronic, because has a high degree of recurrence and can affect 50% of the population in adult life. Several studies have shown good results for treatment of acne via phototherapy, however, some studies emphasize that this type of treatment is still new and additional and more detailed studies should be conducted. In this context, the aim of this work is the viability study of an integrated prototype for acne diagnosis and treatment by optical techniques, aiming at the development of a system for diagnosis by fluorescence imaging and phototherapy for treatment and elimination of bacteria that cause the acne, therefore offering new solutions for the acne diagnosis and treatment. For this, the prototype v1 was developed, which is constituted for diagnostic system by fluorescence image composed of one violet LED at 405 nm for excitation of the samples (80 mW / cm²), a system of filters and lenses for the formation images of fluorescence and a CCD camera to capture the images. The treatment system is composed of one violet LED at 405 nm which provides an irradiation intensity of 150 mW/cm² with a diameter of 40 mm. For validation of prototype v1 were conducted six different experiments, as follows: 1 - Were evaluated initial prototype settings for the visualization of bacteria in the face for that, were acquired fluorescence images in the nose; 2 - Were evaluated detection of bacteria in four different regions of the face; 3 - Was evaluated only with simple washing can make removal and elimination of bacteria from the face; 4 - Was evaluated detecting the presence of bacteria on the scalp which are possible cause of dandruff and there is a greater formation of bacteria in the scalp along of the time; 5 - Was evaluated in vivo, in a voluntary, the prototype of the system of diagnosis and treatment of acne; 6 - Was evaluated in vitro and in vivo, 40 volunteers, the prototype of the system of diagnosis and treatment of acne. As a result, was possible to detect the *P. acnes* bacteria and do an analysis of their presence, formation and decline in six experiments, through image processing and comparative analysis. Where in experiment 1 to 4 was evaluated the quality and configurations of diagnostic fluorescence prototype and 5 to 6 experiments evaluating both the diagnostic and treatment system. Thus, through these experiments it was possible to demonstrate the viability of using one prototype v1 as diagnostic system and acne treatment, demonstrating that it is possible to perform the monitoring of acne causing bacteria via fluorescence imaging and treatment of acne using optical techniques.

Keywords: Acne, Treatment, Diagnosis, Protoporphyrin IX, fluorescence image, photodynamic therapy.

Lista de Ilustrações

Figura 1 – Desenho esquemático da estrutura da pele [48].	28
Figura 2 – Desenho esquemático da estrutura do folículo pilossebáceo. Adaptado de [48].....	29
Figura 3 – Imagem por microscopia eletrônica de varredura da bactéria <i>P. Acnes</i> . Adaptado de [58, 59].....	31
Figura 4 – Desenho esquemático dos tipos e estágios da acne. Adaptado de [60].	32
Figura 5 – A) Folículo sebáceo normal, B) Lesão não inflamatória - comedão e C) lesão inflamatória da acne com ruptura da parede folicular. Adaptado de [61].....	32
Figura 6 – Escala de gravidade de Leeds – Face e pescoço. Adaptado[76].	37
Figura 7 – Espectro característico de absorção e emissão de fluorescência da PpIX	39
Figura 8 - Esquema geral do protótipo-v1.	46
Figura 9 – Desenho esquemático dos componentes mecânicos do sistema de diagnóstico do protótipo-v1.	48
Figura 10 - Desenho esquemático dos componentes mecânicos e ópticos do sistema de diagnóstico do protótipo-v1.	49
Figura 11 – LED violeta com espectro de emissão em 405 nm.	50
Figura 12 - Espectro de emissão do LED violeta.....	50
Figura 13 – LED violeta fixado no dissipador de alumínio.	51
Figura 14 – Desenho esquemático dos filtros ópticos do sistema de diagnóstico.....	51
Figura 15 – Conjunto óptico de filtros e lentes.....	52
Figura 16 – Desenho esquemático do circuito eletrônico para controle da intensidade de emissão do LED violeta.....	53
Figura 17 – Esquema para teste de colimação da óptica.	54
Figura 18 – Software para aquisição de imagens.....	55
Figura 19 – Gráficos comparativos do perfil transversal do spot.	59
Figura 20 – Gráfico comparativo de potência óptica entre refletor e lente.	60

Figura 21 - Espectro de transmissão dos filtros passa-banda, anti-reflexo e espelho dicróico.....	61
Figura 22 - Espectro de transmissão dos filtros ópticos rejeita-faixa e passa-alta. ..	62
Figura 23 – Espectro de emissão do LED violeta.	63
Figura 24 – Gráfico de transmissão de filtro passa-banda.....	63
Figura 25 – Gráfico de emissão do LED violeta na região entre 500 a 800nm.	64
Figura 26 – Imagem do sistema de diagnóstico não utilizando o filtro passa-banda.	65
Figura 27 - Imagem do sistema de diagnóstico utilizando o filtro passa-banda.	66
Figura 28 – Vista frontal e posterior da câmera fotográfica Sony cybershot HX100v. Adaptado [141].	67
Figura 29 - Desenho esquemático dos componentes mecânicos do dispositivo de tratamento	68
Figura 30 - Desenho esquemático dos componentes ópticos do dispositivo de tratamento.	69
Figura 31 - Imagem do protótipo-v1 integrando o sistema de diagnóstico e tratamento.	71
Figura 32 – Imagem do equipamento de diagnóstico.	72
Figura 33 - Imagem do equipamento de diagnóstico e sua eletrônica.	73
Figura 34 – Equipamento de diagnóstico acoplada a uma câmera Sony cybershot HX100v.	74
Figura 35 – Sistema de diagnóstico completo.	75
Figura 36 - Imagem do sistema de tratamento do protótipo-v1.....	76
Figura 37 - Uso do sistema de diagnóstico com paciente voluntário. A) Imagem digital da região do nariz do paciente com iluminação ambiente. A coloração destaca a saúde da pele, sem a presença aparente de bactérias. B) Imagem da fluorescência emitida pela mesma região, destacando a autofluorescência da pele (cor verde) em contraste com a fluorescência emitida pelas bactérias presente na superfície da pele (cor vermelha).	77
Figura 38 – Desenho esquemático da captura de imagens de fluorescência das regiões rosto.	78
Figura 39 - Imagens de autofluorescência do rosto feminino: (A) sem processamento de imagem; e (B) com processamento.	79

Figura 40 - Imagens de autofluorescência do rosto masculino: (A) sem processamento de imagem; e (B) com processamento.....	80
Figura 41 - Imagens de fluorescência do rosto feminino antes e após a limpeza.	82
Figura 42 – Imagens de fluorescência do rosto masculino antes e após a limpeza..	83
Figura 43 – Imagens processadas de fluorescência do rosto feminino antes e após a limpeza.	84
Figura 44 - Imagens processadas de fluorescência do rosto masculino antes e após a limpeza.	85
Figura 45 - Gráfico de quantificação de PpIX da voluntária antes e após a lavagem.	86
Figura 46 - Gráfico de quantificação de PpIX da voluntário antes e após a lavagem.	87
Figura 47 – Imagens de autofluorescência e seu processamento após 24 horas.....	88
Figura 48 - Gráfico de quantificação de bactérias do couro cabeludo após 24 horas.	89
Figura 49 – Regiões de interesse para aplicação do diagnóstico e tratamento da acne.....	90
Figura 50 – Imagens de fluorescência antes e após 8 sessões de irradiação em 405 nm – Região A, B, C.	91
Figura 51 – Imagens de fluorescência processadas antes e após 8 sessões de irradiação em 405 nm – Região A, B, C.	92
Figura 52 – Gráfico de PpIX antes e após o tratamento da região A, B e C.	93
Figura 53 - Teste microbiológico do <i>P. acnes</i> para os grupos GI e GII.....	95
Figura 54 - Teste microbiológico do <i>P. acnes</i> para os grupos GIII e GIV.	95
Figura 55 - Redução microbiológica das bactérias totais na pele dos voluntários. ...	96
Figura 56 – Imagem de fluorescência de um paciente do grupo G1.....	98
Figura 57 – Imagem de fluorescência utilizando processamento de um paciente do grupo G1.....	98
Figura 58 – Gráfico de intensidade média e desvio padrão da ANÁLISE 1.	99
Figura 59 – Imagens de fluorescência, G1 - Grupo controle.	101

Figura 60 – Imagens de fluorescência, G1 - Grupo controle com processamento. .	102
Figura 61 – Imagens de fluorescência, G2 - Grupo com cosmético.....	103
Figura 62 - Imagens de fluorescência, G2 - Grupo com cosmético, com processamento.....	104
Figura 63 – Imagens de fluorescência, G3 - Grupo com luz (LED).....	105
Figura 64 – Imagens de fluorescência, G3 - Grupo com luz (LED), com processamento.....	106
Figura 65 – Imagens de fluorescência, G4 - Grupo Cosmético + luz (LED).....	107
Figura 66 – Imagens de fluorescência, G4 - Grupo Cosmético + luz (LED), com processamento.....	108
Figura 67 – Imagem de fluorescência utilizada na ANÁLISE 2	109
Figura 68 – Imagem de fluorescência com processamento utilizado na ANÁLISE 2.	109
Figura 69 – Gráfico de intensidade média e desvio padrão da ANÁLISE 2.	110
Figura 70 – Imagem de fluorescência utilizada na ANÁLISE 3.	111
Figura 71 – Imagem de fluorescência com processamento utilizada na ANÁLISE 3.	111
Figura 72 – Gráfico de intensidade média e desvio padrão da ANÁLISE 3	112
Figura 73 – Imagem de fluorescência utilizada na ANÁLISE 4	113
Figura 74 – Imagem de fluorescência com processamento utilizado na ANÁLISE 4.	113
Figura 75 – Gráfico de intensidade média e desvio padrão da ANÁLISE 4.	114
Figura 76 - Desenho esquemático do sistema de diagnóstico da acne.	120
Figura 77 - Desenho esquemático do sistema de diagnóstico e tratamento da Acne.	121
Figura 78 - Desenho esquemático do sistema de diagnóstico, tratamento da acne, unidade de processamento e cosmético.....	122
Figura 79 – Vista do sistema completo de visualização e tratamento da acne	123
Figura 80 - Vista do sistema de visualização e tratamento da acne e face feminina.	124

Figura 81 – Imagens de fluorescência região frontal da face.	126
Figura 82 – Imagens de fluorescência da lateral direita e lateral esquerda da face.	126
Figura 83 – Imagens de fluorescência da região central, lateral direita e lateral esquerda da face.	127

Lista de tabelas

Tabela 1 – Classificação da acne.....	37
Tabela 2 - Especificações dos filtros ópticos.	52
Tabela 3 – Comparação de potência óptica em função da distância.....	60
Tabela 4 – Comparação entre o diâmetro do spot em função da distância	61
Tabela 5 – Tabela de intensidade de irradiação do sistema de diagnóstico.	73
Tabela 6 – Tabela de intensidade de irradiação do sistema de tratamento.	76
Tabela 7 – ANÁLISE 1 - variância de $p < 0.05$ (menor que 5%).....	100
Tabela 8 - ANÁLISE 1 - variância de $p < 0.1$ (menor que 10%)	100
Tabela 9 - ANÁLISE 2 - variância de $p < 0.05$ (menor que 5%).....	110
Tabela 10 - ANÁLISE 2 - variância de $p < 0.1$ (menor que 10%).....	111
Tabela 11 - ANÁLISE 3 - variância de $p < 0.05$ (menor que 5%).....	112
Tabela 12 - ANÁLISE 3 - variância de $p < 0.1$ (menor que 10%).....	113
Tabela 13 - ANÁLISE 4 - variância de $p < 0.05$ (menor que 5%).....	114
Tabela 14 - ANÁLISE 4 - variância de $p < 0.1$ (menor que 10%).....	115
Tabela 15 – Questionário de análise subjetiva para o tratamento da acne.....	116

SUMÁRIO

1	OBJETIVOS	25
2	MOTIVAÇÃO	25
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	27
3.1	PELE	28
3.2	ACNE	30
3.2.1	Tipos de acne	31
3.2.2	Tipos de lesões da acne vulgar	31
3.3	DIAGNÓSTICO DA ACNE	34
3.3.1	Diagnóstico convencional	34
3.3.2	Novas técnicas de diagnóstico	38
3.4	TRATAMENTO DA ACNE	41
3.4.1	Terapia convencional	41
3.4.2	Novas terapias	43
4	METODOLOGIA	46
4.1	PROTÓTIPO-V1	46
4.1.1	Sistema de diagnóstico	47
4.1.1.1	Mecânica	47
4.1.1.2	Óptica	48
4.1.1.3	Eletrônica	53
4.1.1.4	Caracterizações	54
4.1.1.5	Aquisição e visualização das imagens	66
4.1.2	Sistema de tratamento	68
4.1.2.1	Mecânica	68
4.1.2.2	Óptica	68
4.1.2.3	Eletrônica	69
4.1.3	Testes Clínicos	69
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	71
5.1	PROTÓTIPO-V1	71
5.1.1	Visão Geral	71
5.1.2	Sistema de diagnóstico	72
5.1.3	Sistema de tratamento	75
5.1.4	Experimento 1	77
5.1.5	Experimento 2	78

5.1.6	Experimento 3	81
5.1.7	Experimento 4	88
5.1.8	Experimento 5	89
5.1.9	Experimento 6	93
5.1.9.1	Teste de uma formulação anti acne	94
5.1.9.2	Testes in vitro do <i>P. acnes</i> padrão.....	94
5.1.9.3	Teste in vitro dos swabs coletados dos voluntários.....	96
5.1.9.4	Testes in vivo com voluntários	97
6	CONCLUSÃO GERAL.....	117
7	PERSPECTIVAS	119
7.1	PROTÓTIPO-V1	119
7.1.1	Configuração 1: Sistema de diagnóstico + cosmético	119
7.1.2	Configuração 2: Sistema de diagnóstico + Sistema de tratamento....	120
7.1.3	Configuração 3: Sistema de diagnóstico + Sistema de tratamento + cosmético/dermocosmético.	121
7.2	PROTÓTIPO-V2	123
7.2.1	Visão geral.....	123
7.2.2	Testes Clínicos.....	124
7.2.3	Experimento 1	125
8	REFERÊNCIAS	129
9	ANEXOS.....	143
9.1	ANEXO A – ALGORITMO PARA PROCESSAMENTO DAS IMAGENS	143
9.2	ANEXO B – ALGORITMO PARA PROCESSAMENTO DAS IMAGENS	144
9.3	ANEXO C – ALGORITMO PARA PROCESSAMENTO DAS IMAGENS	147
9.4	ANEXO D – DESCRIÇÃO DETALHADA DOS TESTES DE VALIDAÇÃO	151
9.5	ANEXO E – COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	157

1 OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho é o estudo da viabilidade de um protótipo integrado para o diagnóstico e tratamento da acne por técnicas ópticas. Para tanto, objetivou-se o desenvolvimento de um equipamento para diagnóstico por imagens de fluorescência e um sistema de tratamento, por terapia fotodinâmica, para a eliminação das bactérias causadoras da acne, assim, propondo novas soluções para o diagnóstico e tratamento da acne.

Assim, os objetivos dividiram-se em três etapas:

- Desenvolvimento e validação do sistema de diagnóstico por imagens de fluorescência.
- Desenvolvimento e validação do sistema de tratamento por fototerapia.
- Teses clínicas com o sistema completo, como forma de validação.

Os objetivos secundários envolvem o desenvolvimento de um equipamento de fácil utilização e que possua diversas aplicações na área dermatológica.

2 MOTIVAÇÃO

Apesar dos grandes avanços no diagnóstico e tratamento da acne, o diagnóstico da doença ainda é realizado, na maioria dos casos, por inspeção visual a olho nu, o que remete a subjetividade do ser humano na realização do diagnóstico e sua experiência profissional na definição do tratamento. Em relação ao tratamento, este ainda se dá na maioria dos casos pelo uso de medicamentos que possuem diversos efeitos colaterais e que promovem a resistência bacteriana devido ao mau uso de antibióticos.

Na literatura e no dia-dia clínico ainda são encontrados diversos problemas relacionados ao diagnóstico e tratamento da acne que merecem atenção e estudo. Dentre eles, os principais e que serão objeto de estudo neste trabalho são:

Problemas no diagnóstico

- Inspeção visual
- Subjetividade do clínico

Problemas no tratamento

- Inexperiência profissional
- Tratamento prioritário via medicamentos com efeitos colaterais diversos
- Resistência das bactérias ao mau uso de antibióticos

Problemas no diagnóstico e tratamento

- Sistemas de diagnóstico e tratamento não integrados

Oportunidade: Crescente procura por tratamentos estéticos

- Crescimento das clínicas de estética
- Aumento do número de esteticistas
- Impossibilidade de prescrição de medicamentos
- Falta de capacidade técnica / científica

Oportunidade: Tratamento por luz

- Possibilidade de sucessivas sessões de diagnóstico e tratamento
- Possibilidade de uso para gestantes e lactantes
- Uso de fitoterápicos para o tratamento
 - Curcumina (Açafrão da Índia)
 - Hipericina (Erva de São João)

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Dados da literatura apresentam grandes avanços na área de óptica para o diagnóstico e tratamento de várias doenças. Técnicas ópticas são extremamente atrativas, pois possibilitam uma análise não invasiva e não destrutiva do material analisado além de proporcionar um diagnóstico em tempo real, dependendo do tipo de técnica utilizada. Um destaque é dado às técnicas de diagnóstico que utilizam como princípio fundamental a fluorescência [1, 2], ou seja, a capacidade que o tecido possui em emitir luz quando este é excitado. Técnicas que utilizam fluorescência são utilizadas na detecção e delineamento de câncer na cavidade oral [3-14], detecção da desmineralização dental e de cáries [15-21], no monitoramento da isquemia e reperfusão renal ou outros órgãos a fim de avaliar sua viabilidade para transplante e procedimentos operatórios [22, 23], lesão de câncer de pele [24-32] entre outras aplicações.

Apesar dos grandes avanços na área de óptica em vários países do mundo, o Brasil ainda não está inserido neste cenário. Devido ao fato do País quase não possuir empresas que comercializem componentes ópticos, este avanço é prejudicado. Áreas de óptica no Brasil ainda estão, em sua maioria, concentradas nas oficinas de óptica das universidades.

Dados do Ministério da Saúde têm revelado essa falta de equipamentos com tecnologia nacional, estes indicam o déficit da balança comercial brasileira que é bastante dependente de produtos importados para abastecer o Sistema Único de Saúde (SUS). Diante deste problema, o Ministério da Saúde em 2008 dispõe a portaria 978 que apresenta uma lista de produtos e equipamentos que são prioritários para o SUS [33], que visa o desenvolvimento do complexo industrial da saúde e em 2010 dispõe de uma nova portaria - no. 1284 - que altera o anexo da portaria 978, revisando a lista de produtos estratégicos [34]. Em Dezembro de 2013 esta portaria foi novamente redefinida pela portaria N° 3.089 [35].

Em ambas as portarias os principais equipamentos que envolvem óptica são: aparelho de endoscopia, em suas mais variadas aplicações; aparelho de raios-x; oxímetro de pulso: portátil ou de mesa; sensores de oximetria; receptores/detectores digitais para geração de imagem e principalmente equipamentos para diagnóstico *in vitro* e *in vivo*. Apesar da lista de equipamentos prioritários para o SUS ser revisada

desde 2008 os equipamentos de óptica e diagnóstico continuam em falta, evidenciando ainda uma lacuna no desenvolvimento deste tipo de tecnologia no país.

Outra área deficiente em equipamentos ópticos nacionais é a dermatológica, cuja mais frequente e comum patologia é a acne, doença de pele diagnosticada pelos esteticistas e dermatologistas que representa cerca de 30% das consultas em seus consultórios [36], e pode afetar cerca de 80% da população na faixa de idade entre 11 e 30 anos [37-39], onde esta é considerada crônica segundo a *Global Alliance to Improve Outcomes in Acne* (GAIOA) [40, 41]. A cronicidade da doença é devida ao grande padrão de recidiva, podendo acometer 50% da população na vida adulta [38]. A acne apresenta um grande impacto psicológico com sintomas de ansiedade, depressão e isolamento social [42-46], além de provocar muitas vezes cicatrizes físicas e hiperpigmentação persistente da pele. Tais sintomas possuem tratamentos geralmente caros e com pouca eficiência.

3.1 PELE

A pele é considerada o maior órgão do ser humano, possuindo uma área de aproximadamente 2 m² e correspondendo a 15% de todo o peso corporal, onde possui como função principal a regulação da temperatura corporal, defesa contra agentes externos e de impermeabilização [47]. A pele é composta por 2 camadas principais: a epiderme e a derme, que podem ser observadas no desenho esquemático da Figura 1.

Figura 1 – Desenho esquemático da estrutura da pele [48].

A epiderme é a camada mais externa da pele com espessura variável entre 0,04 mm até 1,6 mm a qual é dividida em várias camadas como: a Basal (mais profunda), Espinhosa, Granulosa, Lúcida e Córnea (mais externa), ilustradas na Figura 2. A formação da epiderme inicia-se na camada basal que é constituída por ceratinócitos ou queratinócitos (síntese da queratina), onde ocorre uma divisão celular acelerada promovendo a renovação total da epiderme entre 52 a 75 dias [49]. As sucessivas camadas da epiderme vão se formando através dos queratinócitos na camada basal, estes, conforme se deslocam para a superfície, transformam-se em corneócitos, formando a camada córnea (barreira física de proteção) cuja principal constituição é a queratina, uma proteína insolúvel e impermeável [47]. A epiderme sofre um processo de modificação na fase embrionária dando origem aos anexos cutâneos: folículo pilossebáceo, glândulas sudoríparas e unha.

Figura 2 – Desenho esquemático da estrutura do folículo pilossebáceo. Adaptado de [48].

O folículo pilossebáceo, que pode ser observado na Figura 2, é constituído do folículo piloso, glândula sebácea e músculo eretor [50]. O folículo piloso é responsável pela produção do pelo, que possui como principais funções a de proteção aos raios UV, regulação térmica e sensorial; já a glândula sebácea é responsável pela produção do sebo (gordura), constituído principalmente por colesterol, ésteres graxos e triglicerídeos que sofrem a ação enzimática das bactérias do folículo dando origem aos ácidos graxos livres. A função principal do

sebo é a de lubrificação e impermeabilização da pele e dos pelos, a fim de que não haja o ressecamento desses componentes.

O folículo sebáceo contém a glândula sebácea de grande tamanho e pelos finos e curtos, dificultando a drenagem do sebo. As glândulas sebáceas tem sua função controlada por aspectos genéticos e hormonais, que possui sua maior atividade na puberdade e diminui progressivamente na vida adulta.

3.2 ACNE

A acne é uma alteração do folículo pilossebáceo, que surge principalmente no rosto, colo, tronco e costas, sendo o tipo mais comum a *acne vulgaris* (acne vulgar). A acne é uma doença multifatorial que possui quatro fatores principais [51-55]:

Fator 1 - Hiperplasia das glândulas sebáceas com grande produção de sebo;

Fator 2 - Hiperqueratinização folicular;

Fator 3 - Colonização microbiana da unidade pilossebácea pela bactéria *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) [56];

Fator 4 - Liberação de mediadores inflamatórios no folículo e derme.

Em resumo, pode-se dizer que a acne caracteriza-se pelo aumento da secreção de sebo pelas glândulas sebáceas, em conjunto com o acúmulo de células mortas e bactérias no orifício do folículo pilossebáceo, levando a obstrução dos poros da pele. Esta obstrução do orifício causada pelo sebo na presença do *P. acnes*, desencadeia o processo inflamatório levando consequentemente à formação da acne na pele.

Dentre as bactérias residentes na pele, as que apresentam influência direta e indireta na constituição da acne, são: *Propionibacterium acnes*, *Propionibacterium avidum*, *Propionibacterium granulosum* e *Staphylococcus epidermidis*. Uma micrografia da *P. acnes* é mostrada na Figura 3. Seguramente a principal causadora da acne é a bactéria *P. acnes*, que é uma bactéria gram-positiva, anaeróbica facultativa e representa cerca de 50% das bactérias totais da face. A *P. acnes* promove uma ação enzimática dos triglicerídeos transformando-os em ácidos graxos livres que irritam a pele promovendo reação inflamatória da derme [57].

Figura 3 – Imagem por microscopia eletrônica de varredura da bactéria *P. Acnes*. Adaptado de [58, 59].

3.2.1 Tipos de acne

Existem diversos tipos de acne com diferentes características [49], entretanto, neste trabalho, o objetivo será o estudo da acne vulgar (*Acne vulgaris*) que, como dito anteriormente, é a mais comum. Outros tipos de acne estão relacionados abaixo:

- **Acne Infantil ou Neonatal**
- **Acne Escoriada**
- **Acne Pré-menstrual**
- **Acne ocupacional**
- **Acne medicamentosa**
- **Acne tropical**
- **Acne oclusiva**
- **Acne rosácea**
- ***Acne fulminans***

3.2.2 Tipos de lesões da acne vulgar

Os tipos de lesões da acne são: comedão aberto, comedão fechado, pápula, pústula e nódulo/cístico, que podem ser observados no esquema da Figura 4. As lesões podem ser subdivididas em dois grupos, lesões não inflamatórias e inflamatórias.

Figura 4 – Desenho esquemático dos tipos e estágios da acne. Adaptado de [60].

Na Figura 5 podemos observar imagens microscópicas do folículo pilossebáceo, onde na Figura 5 A, temos o folículo, pelo e as glândulas sebáceas com aparência normal, na Figura 5 B, temos uma lesão não inflamatória, ou seja, comedão e na Figura 5 C, temos uma lesão inflamatória da acne com ruptura da parede folicular.

Figura 5 – A) Folículo sebáceo normal, B) Lesão não inflamatória - comedão e C) lesão inflamatória da acne com ruptura da parede folicular. Adaptado de [61]

A) Lesões não-inflamatórias

1. Comedão

O comedão é formado pelo acúmulo de queratina e sebo no interior do folículo piloso que o caracteriza como uma lesão primária da acne não-inflamatória.

O comedão possui duas classificações o comedão fechado ou o aberto. O **comedão fechado** ou ponto branco ocorre através do fechamento do folículo piloso pelo sebo promovendo assim a elevação da pele que possui cor amarelada ou esbranquiçada. O **comedão aberto** ou ponto negro é conhecido popularmente como “cravo” devido ao folículo piloso possuir uma abertura maior, o sebo se acumula e ao entrar em contato com o ar sofre um processo de oxidação, ressecamento e endurecimento, que o deixa com a cor escurecida.

B) Lesões Inflamatórias

1. Pápulas

Ocorre inicialmente com a inflamação do comedão fechado provocado principalmente pela liberação de ácidos graxos livres pela bactéria *P. acnes*. Essa inflamação é caracterizada por ainda não conter pus e possuir uma elevação da pele com menos de 1 cm de diâmetro, que se avermelha e pode ser dolorosa. Na acne a pápula pode evoluir para a lesão de pústula.

2. Pústulas

A pústula consiste na evolução inflamatória da pápula que, por sua vez, consiste no desencadeamento do processo de defesa do corpo, onde há a liberação de células de defesa (linfócitos e macrófagos) formando assim o conteúdo com pus. Neste processo, ocorre um grande inchamento do folículo que se rompe liberando este conteúdo de bactérias, provocando um processo maior de inflamação.

3. Nódulos

Na acne, os nódulos possuem características semelhantes à pápula, entretanto, seu tamanho é superior a 1 cm de diâmetro.

4. Cistos

Os cistos são uma evolução dos nódulos que ocorrem pelo processo inflamatório desencadeado pelas bactérias, essa inflamação afeta o colágeno da pele provocando as cicatrizes.

3.3 DIAGNÓSTICO DA ACNE

3.3.1 Diagnóstico convencional

O diagnóstico ou classificação da acne vulgar se dá principalmente por inspeção visual (preferido na prática clínica) e/ou registro por fotografia (preferido para investigações clínicas) segundo a gravidade e tipo de lesão. O diagnóstico clínico geralmente é dado por um médico dermatologista, por esteticistas (técnicos e graduados) e outros profissionais que trabalham com estética (fisioterapeutas).

A classificação da acne não é bem definida na literatura [48, 62]. Lehman, H. P. *et. al* em seu artigo de revisão encontraram 25 métodos diferentes de avaliação da acne [63], assim, não há um padrão-ouro ou sistema de classificação padronizado utilizado no diagnóstico na prática clínica [64, 65]. Entre as escalas encontradas na literatura, podemos citar: *Burton scale* [66], *Cook's scale* [67]; *European Guidelines for acne* [68], *ECCA grading scale* [69], *ECLA grading scale* [70] e *Global Acne Grading scale* (GAGS) [71, 72]. As principais escalas que definem a gravidade da acne são descritas abaixo.

A) *Simple grading of acne*

A escala ***Simple grading of acne*** (Classificação simples da acne) foi proposta por Sinclair, W. e Jordaan, H. F. compilada através do consenso publicado por *Global Alliance to Improve Outcomes in Acne* [40, 41], onde a classificação de acne pode-se dar de maneira simples, baseada no tipo predominante da lesão, independentemente de sua quantidade, assim, classificada em quatro graus distintos [73]:

- **Grau 1:** Somente comedões.
- **Grau 2:** Comedões e pápulas inflamatórias .
- **Grau 3:** Pústulas em adição a qualquer lesão presente nos graus 1 e 2.
- **Grau 4:** nódulos, cistos, lesões conglobata ou úlceras, além de alguma lesão citada nos outros graus.

B) Combined Acne Severity Classification

A escala **Combined Acne Severity Classification** (Escala combinada de severidade da acne) emprega a contagem de lesões combinada com uma avaliação global da gravidade da acne [63]. Essa escala foi desenvolvida como tentativa de se patronizar as escalas de gravidades da acne reportadas na literatura, com o objetivo de realizar melhores comparações entre os estudos. A escala possui três categorias para gravidade da acne: leve, moderada e severa, cada uma definida pela contagem do número e tipo de lesões, descritas abaixo:

- **Acne leve:** menos de 20 comedões, ou menos de 15 lesões inflamatórias ou um numero total de lesões inferior a 30.
- **Acne moderada:** de 20 a 100 comedões, ou de 15 a 50 lesões inflamatórias ou um número total de lesões de 30 a 125.
- **Acne grave:** mais de 5 cistos, ou um numero total de comedões maior que 100, ou uma contagem de lesões inflamatória superior a 50, ou número total de lesões maior que 125.

C) Investigator Global Assessment (IGA) - Avaliação Global do Pesquisador

Em 2005 o órgão americano, *Food and Drug Administration* (FDA), responsável pelo controle dos alimentos, medicamentos, cosméticos, equipamentos médicos, entre outros, recomendou uma escala para ser utilizada nos estudos de eficácia de produtos chamada de **Investigator global assessment (IGA)** [74]. Essa escala possui cinco graus de severidade da acne (0-4), onde cada classe é definida por uma descrição morfológica distinta e clinicamente relevante, que visa minimizar a variabilidade entre quem realiza a avaliação ou diagnóstico. As cinco categorias são descritas abaixo:

- **Grau 0** – Pele limpa; sem lesões não inflamatórias e inflamatórias.
- **Grau 1** - Quase limpa; lesões não inflamatórias raras, com não mais do que uma pequena lesão inflamatória.

- **Grau 2** - Gravidade leve; superior ao Grau 1; algumas lesões não inflamatórias com não mais do que algumas lesões inflamatórias (pápulas / pústulas somente, sem lesões nodulares).
- **Grau 3** - Gravidade moderada; superior ao Grau 2; até muitas lesões não inflamatórias e pode ter algumas lesões inflamatórias, mas não mais do que uma pequena lesão nodular.
- **Grau 4** - Severa; superior ao Grau 3; até muitas lesões não inflamatórias e inflamatórias, mas não mais do que algumas lesões nodulares.

O FDA recomenda a não inclusão de pacientes com acne com gravidade superior a 4, os quais são reportados na literatura, (pacientes com acne nódulo/cística), recomendando ser descrito separadamente.

D) Escala de Leeds

A escala de Leeds é um sistema de classificação qualitativo por fotodocumentação da gravidade da acne, divididos em 12 graus para o rosto, 8 graus para peito e 8 graus para as costas, onde 0 (zero) corresponde a pele sem acne e 12 o grau mais severo da lesão [72, 75, 76].

As lesões inflamatórias da acne são inspecionadas visualmente e por apalpação para detectar nódulos ou cistos. Em seguida, são comparados com um conjunto de fotografias padrão de pacientes com graus de acne variável de 0 a 12, onde os graus de 0 a 2 são subdivididas por incrementos de 0.25 e de 2 a 10 são subdivididos em incrementos de 0.50. Na Figura 6 podemos observar a escala de gravidade de Leeds, onde temos os graus menos severos das lesões de 1 a 4 e os graus mais severos de 9 a 12.

Figura 6 – Escala de gravidade de Leeds – Face e pescoço. Adaptado[76].

E) Graus da acne - Brasil

No Brasil, a classificação da acne é baseada nas escalas encontradas na literatura internacional [49, 77, 78], podendo ser resumida no quadro da Tabela 1.

Tabela 1 – Classificação da acne

Acne não-inflamatória	- Acne grau I	Comedônica
Acne inflamatória	- Acne grau II	Pápulo-pustulosa
	- Acne grau III	Nódulo-cística
	- Acne grau IV	Conglobata
	- Acne grau V	Fulminans

Acne grau I - (Acne Comedogênica): possui comedões abertos e fechados (cravos pretos e brancos) sem sinais inflamatórios;

Acne grau II (Acne Pápulo-pustulosa): possui comedões, pápulas vermelhas e inflamadas e pústulas com pus.

Acne grau III (Acne Nódulo-cística): apresenta o aparecimento de cistos que são lesões mais profundas, dolorosas e inflamadas.

Acne grau IV (Acne Conglobata): nódulos, abscessos e cistos purulentos, muito inflamados e intercomunicantes.

Acne grau V (Acne Fulminante): Forma rara que possui surgimento súbito provocando lesões graves e cistos que deixam cicatrizes. Essa lesão vem acompanhada de dor no corpo e febre.

3.3.2 Novas técnicas de diagnóstico

Recentemente, novas técnicas fotográficas estão sendo utilizadas na dermatologia para auxiliar na classificação da acne [79], entretanto, na grande maioria dos casos clínicos ainda são utilizadas escalas subjetivas de classificação da severidade da acne.

Um dos interesses deste trabalho é a detecção da bactéria *P. acnes* que habita o ducto folicular e hidrolisa o sebo produzido no folículo, trazendo irritação na parede folicular [80]. A bactéria induz a formação de processos inflamatórios na pele devido à produção de porfirinas, que podem contribuir para a reação inflamatória folicular pelo seu efeito citotóxico [81, 82].

O diagnóstico da acne ou a detecção da *P. acnes* pode ser realizado de maneira indireta, ou seja, através da fluorescência emitida pelas porfirinas produzidas por elas. Na Figura 7 é apresentado o espectro característico de absorção e emissão de fluorescência de uma porfirimina, no caso a Protoporfirina IX (PpIX). A fluorescência das porfirinas produzida pela *P. acnes* é caracterizada pela alta absorção na região entre 375 – 425 nm e alta emissão na região do vermelho 610 – 720 nm [40, 83],

Figura 7 – Espectro característico de absorção e emissão de fluorescência da PplX

Diversos trabalhos na literatura mostram a detecção desta porfirina (produzida pelo *P. acnes*) por diversas técnicas diferentes, podendo-se citar, por exemplo, a detecção por espectroscopia de fluorescência [84, 85], por técnicas cromatográficas e espectrometria de massa [86, 87], por hibridização *in situ* [88] e por câmeras digitais convencionais [89-94].

O diagnóstico da acne é feito, na grande maioria dos casos, na clínica por um esteticista ou médico dermatologista. O protocolo de diagnóstico envolve a avaliação visual clínica a olho nu, utilizando a luz ambiente ou a técnica de Wood [95-97], que consiste basicamente em iluminar a pele com luz ultravioleta (UV) e observar visualmente sua fluorescência, porém, independente da técnica, a avaliação visual depende da experiência prévia do clínico.

No diagnóstico por luz ambiente, o clínico analisa os sintomas induzidos pelas dermatites, como mudanças na tonalidade da pele do paciente e a presença de secreção acumulada. A ausência do processo inflamatório induz o clínico a um falso diagnóstico, pois não significa a ausência de patógenos (colônias de bactérias e fungos). Um exemplo comum é a análise da acne em estados iniciais, quando ainda não há sintomas de inflamação, mas já há presença da bactéria nas primeiras camadas da pele. Nesses casos, a solução é aplicar a técnica de Wood, que é mais fiel no diagnóstico de fungos e bactérias. Seu protocolo envolve a aplicação de luz

violeta emitida por uma lâmpada sobre a pele do paciente em um ambiente escuro. A luz UV que atinge os patógenos é absorvida e induz os cromóforos (parte ou conjunto de átomos de uma molécula responsável por sua cor) presentes em fungos e bactérias a emitir luz visível de volta ao meio ambiente, ou seja, a fluorescência. Assim, o clínico faz sua análise de identificação do patógeno em função do tipo de luz visível (fluorescência) observada. Infelizmente esta técnica também induz falsos diagnósticos (falso positivo), em casos onde o patógeno emite fluorescência semelhante à da pele, quando existe a presença de mais de um tipo de patógeno na lesão (não especificidade/sensibilidade) ou quando a iluminação utilizada é insuficiente para induzir um sinal detectável a olho nu (sistema de iluminação ineficiente).

Vale ainda ressaltar que as lâmpadas emissoras de radiação UV são tradicionalmente fabricadas utilizando vapor de mercúrio como elemento principal e, por isso, emitem UV em uma larga região do espectro eletromagnético, inclusive em regiões onde o UV é nocivo aos olhos e à pele humana, como o UVA e o UVB. Isso indica que o exame clínico com a técnica de Wood deve ser controlado, pois o clínico pode estar causando danos à pele do paciente na medida em que realiza o diagnóstico.

O uso de óculos protetores de radiação UV durante o diagnóstico também deve ser recomendado ao paciente, pois em um exame na sua face, por exemplo, é provável que os seus olhos sejam submetidos à iluminação UV devido à divergência da emissão das lâmpadas. Além desses problemas, o descarte de lâmpadas, à base de compostos de mercúrio, indica a possibilidade de contaminação do meio ambiente, caso a coleta não seja realizada de forma segura. Outras desvantagens na utilização de lâmpadas de mercúrio para induzir a fluorescência de fungos e bactérias é a sua dimensão física, que impossibilita equipamentos pequenos e portáteis, além de seu alto consumo de energia elétrica, baixa eficiência de emissão de UV e baixo tempo de vida útil (cerca de 2.000 horas).

Outra característica desvantajosa destes equipamentos é o fato de que utilizam lâmpadas que não possuem a possibilidade de alteração na intensidade de irradiação, e isso é um fator importante, pois cada paciente possui uma tonalidade de pele diferente, alterando assim a absorção da radiação UV, ou seja, pessoas com pele mais clara precisam de uma quantidade menor de irradiação para se tenha um bom sinal de fluorescência, enquanto que pessoas com a pele mais escura precisam

de uma quantidade de irradiação maior para que se tenha o mesmo sinal de fluorescência que o de uma pessoa com a pele mais clara.

3.4 TRATAMENTO DA ACNE

3.4.1 Terapia convencional

O tratamento da acne, na maioria dos casos, pode ser realizado com o uso de retinóides tópicos (possui efeito anti-inflamatório e é uma alternativa ao uso de antibióticos), retinóides orais, bactericidas e bacteriostáticos tópicos (ácido azelaico, peróxido de benzoíla, clindamicina) e antibioticoterapia sistêmica (uso de antibióticos sistêmicos como tetraciclina e doxiciclina) [98].

Segundo GAIOA [40, 99] os casos de acne têm diferentes tratamentos dependendo do seu grau de intensidade, da seguinte maneira: 1 - Acne leve, o tratamento é realizado com retinóide tópico ou retinóide tópico + antimicrobiano tópico; 2 - Acne moderada, o tratamento é realizado com retinóide tópico + antimicrobiano oral +/- peróxido de benzoíla ou retinóide tópico + antimicrobiano oral + peróxido de benzoíla; 3 – Acne grave, o tratamento é realizado a base de isotretinoína oral ou antibiótico oral em dose alta + retinóide tópico + peróxido de benzoíla [40, 99].

Os tratamentos convencionais para acne dividem-se em tratamentos dermatológicos (prática farmacêutica) e cosméticos. Os tratamentos dermatológicos consistem de terapia medicamentosa com vitamina A (retinóicos), administração tópica e oral de isotretinoína, antibióticos (tópicos e sistêmicos), anti-inflamatórios, terapia hormonal, tratamento cirúrgico (remoção de pústulas e cicatrizes) e tratamentos abrasivos que levam a descamação e renovação celular da pele decorrente da aplicação de “peelings” químicos (aplicação de compostos químicos e farmacêuticos) e físicos (aplicação de lasers ablativos e terapia fotodinâmica).

Os tratamentos com antibióticos são os mais usuais na terapêutica clínica dermatológica. No entanto, a administração exacerbada é capaz de gerar resistência ao antibiótico (~40-60%) reduzindo a eficácia do tratamento [100]. Além disso, o uso combinado de antibióticos sistêmicos e tópico pode levar a morte da maioria das

bactérias da pele, o que resulta em um impacto negativo na homeostase da microflora benéfica da pele.

A isotretinoína oral é um derivado de vitamina A que impede a formação do sebo, é um tratamento efetivo para acne e é bastante utilizado em um tipo muito grave de acne, chamada acne cística, porém, por inibir a formação do sebo, causa vários efeitos colaterais, como ressecamento nos olhos, boca e graves incômodos estomacais. Esse tratamento tem muitas restrições clínicas, podendo causar até má formação congênita no caso de gravidez. O uso de retinóicos tópicos também amplamente utilizados deve ser realizado não de forma contínua visto que dois a três meses pode causar irritação, eritema, queimação e secura da pele.

Outro tipo de tratamento são os “peelings” químicos (aplicação de ácidos como ácidos glicólicos, salicílicos e retinóicos) e os “peelings” mecânicos (microdermoabrasão), sendo mais utilizados nos casos de acne grau I e II. Mais recentemente, os “peelings” têm sido mais utilizados para tratar cicatrizes deixadas pela acne.

Os tratamentos cosméticos da acne consistem na utilização de formulações com diferentes funcionalidades, atuando em todas as causas que levam a formação da acne, apresentando as seguintes funções: ação de limpeza, esfoliante, antissépticos, ação queratolítica (renovação celular), cicatrizante, hidratante, esfoliante, de clareamento (despigmentante), sebonormalizante (normaliza a oleosidade da pele), agente calmante (anti-inflamatório), ação adstringente (reduz a oleosidade da pele), refrescantes e estimulantes, ação bactericida (morte das bactérias) e bacteriostática (inibe o crescimento bacteriano),

Os tratamentos estéticos e dermatológicos caminham juntos na terapêutica da acne. Dependendo do tipo de grau da acne de I-V os tratamentos podem ser aplicados de forma independente ou então associados. O que difere os tratamentos dermatológicos dos estéticos refere-se à utilização de produtos ora cosméticos ora dermocosméticos. Os dermocosméticos, utilizados pelos médicos dermatologistas, são produtos farmacêuticos que possuem uma ação farmacológica tópica sistêmica, já os produtos cosméticos, podem ser utilizados pelos esteticistas e públicos em geral visto que apresentam efeito tópico de limpeza e tratamento local. Sendo assim, muitos ativos farmacêuticos podem ser utilizados como cosméticos quando utilizados em menores concentrações, o que diminui a penetração na pele e,

portanto, sua absorção sistêmica, seguindo a legislação vigente regulamentada pela ANVISA.

Apesar das várias possibilidades de tratamentos utilizando medicamentos, existem casos onde há resistência de bactérias principalmente o *P. acnes*, devido ao uso excessivo de antibióticos [101-104]. Outro fator relevante são os efeitos colaterais provocados por estes medicamentos, bem como a restrição em gestantes e lactantes, dependendo do medicamento. Diante destes fatos, algumas terapias alternativas vêm surgindo para solucionar estes limitantes, como é o caso de terapias baseadas em luz (lâmpadas, LASER ou LEDs), ou seja, fototerapias, como por exemplo, a Terapia Fotodinâmica (TFD) [105-108].

3.4.2 Novas terapias

O tratamento com luz (Fototerapia) e o tratamento com luz associado a uma substância fotossensível (Terapia fotodinâmica - TFD) veem sendo amplamente utilizado no combate das bactérias causadoras da acne em clínicas estéticas e dermatológicas, já que visam diminuir os efeitos colaterais e melhorar a eficiência das terapias no combate à acne. A TFD quando utilizada no controle microbiológico é chamada de Terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDa), e também utiliza-se de fotossensibilizadores (FSS) e luz visível para promover uma resposta fototóxica, normalmente oxidativa, que é capaz de danificar todos os tipos de biomoléculas e estruturas celulares, provocando a morte dos microrganismos.

A TFD consiste na combinação de luz visível, oxigênio molecular e um agente fotossensível, como por exemplo, o ácido 5-aminolevulínico (5 - ALA), precursor na biossíntese da Protoporfirina IX, que é o agente fotossensível [109]. Em resumo, ou seja, Luz + oxigênio molecular + agente fotossensível leva a geração de espécies citotóxicas nas células, como é o caso do oxigênio singlete [110]. Diversos autores apresentam bons resultados na utilização TFD para o tratamento da acne [111-116].

A utilização do ALA na TFD em dermatologia foi introduzida por James Kennedy em 1990 [117], sendo o primeiro agente fotossensível aprovado pela agência americana *Food and Drug Administration* (FDA) em 1999, para aplicações no tratamento da queratose actínica (pré-cancer de pele) [118]. A técnica, na maioria dos casos, ainda é utilizada para tratamentos superficiais, devido a problemas na penetração da luz para ativar os fotossensibilizadores que, na sua maioria, possuem

baixa eficiência na região do infravermelho próximo, a qual seria mais desejável, pois, desta maneira poder-se-ia realizar tratamentos em lesões nas camadas mais profundas da pele.

Outras técnicas de fototerapias também são utilizadas para o tratamento da acne como a utilização de irradiação com luz violeta, entre 400 – 420 nm, ou seja, na banda de absorção das porfirinas [119-123]; utilização de irradiação com combinação de luz violeta e vermelha, com o objetivo de se aumentar a eficácia do tratamento [124-126]; utilização de LASER em 532 nm [127-130], 585 nm ou 595 nm [131-134]; utilização de LASER na região do infravermelho 1450 nm [135-137] e 1540 nm [138-140].

Vários trabalhos são encontrados na literatura evidenciando bons resultados no tratamento da acne utilizando fototerapias, entretanto, alguns autores enfatizam que esta modalidade terapêutica ainda é recente e estudos adicionais e mais detalhados devem ser realizados [40, 99]. Somente em 2009 a agência GAIO apresentou dados sobre aplicações das fototerapias aplicadas ao tratamento da ACNE [40].

A TFD utiliza, em princípio, um conceito simples, com apenas três parâmetros principais, ou seja, luz, agente fotossensível e oxigênio molecular, entretanto, vários parâmetros nela envolvidos tornam a terapia complexa, sendo que, mais pesquisas na área são necessárias para determinar os parâmetros ótimos no tratamento de cada doença. No caso das fototerapias, é necessário o aprimoramento dos equipamentos em relação à adequação do comprimento de onda necessário para ativação do agente fotossensível, além de que, diversos parâmetros nos protocolos precisam ser estudados, tais como intensidade e tempo de irradiação. É essencial buscar equipamentos que possam monitorar a formação, concentração e a fotodegradação das porfirinas antes, durante e após a irradiação. Estes estudos são necessários para a comprovação da eficácia do tratamento e para dar embasamento para que os órgãos competentes como a ANVISA no Brasil e o FDA nos Estados Unidos possam aprovar sua utilização terapêutica.

Diante do exposto, como a falta de estudos que comprovem a efetividade da TFD no tratamento da acne, sua recente aprovação como modalidade terapêutica, necessidade de adequação de diversos parâmetros da terapia e a não realização da visualização do *P. acnes* em tempo real, o presente projeto, propõe o estudo e o desenvolvimento de um equipamento que possa realizar o diagnóstico da acne em

Revisão bibliográfica

tempo real e seu tratamento por fototerapia em um único equipamento (protótipo integrado), trazendo um ganho efetivo na qualidade de vida dos pacientes que possuem a acne.

4 METODOLOGIA

Nesta tese foi desenvolvido e testado um protótipo que integra o sistema de diagnóstico e tratamento da acne, nomeado PROTÓTIPO-V1. Abaixo serão descritas suas características, desenvolvimento e os testes realizados com este protótipo.

4.1 PROTÓTIPO-V1

Um esquema geral do protótipo-v1 pode ser visualizado na Figura 8. Este é composto pelo sistema de diagnóstico, que tem a função de iluminar a região da pele e de alinhar opticamente a amostra e o visor a uma câmera digital; um computador, composto pela unidade de processamento e uma tela, que se comunica com uma câmera acoplada ao equipamento, e tem a função de capturar, armazenar e analisar as imagens; e um sistema de tratamento por LEDs para promover a irradiação.

Figura 8 - Esquema geral do protótipo-v1.

O desafio no desenvolvimento deste protótipo está na configuração para o funcionamento dos componentes eletrônicos e optoeletrônicos; um alinhamento óptico eficiente e a dissipação do calor gerado pelos LEDs, associado a uma boa qualidade das imagens de fluorescência.

A seguir serão descritos separadamente o sistema de diagnóstico, ao qual será dado uma maior atenção devido a sua complexidade, e o sistema de tratamento do protótipo-v1.

4.1.1 Sistema de diagnóstico

O conjunto de componentes mais complexo do equipamento é o sistema de diagnóstico. A dificuldade está na escolha de componentes adequados para captar o baixo sinal de fluorescência gerado pelos cromóforos da pele que esta se analisando, sendo assim, diversos fatores devem ser levados em consideração ao se projetar sistemas baseados em fluorescência, sendo os principais: conhecimento dos cromóforos que se deseja detectar, levando em consideração qual é sua região de absorção e emissão de fluorescência; escolha adequada dos componentes ópticos, com o objetivo de se ter a melhor relação sinal/ruído no espectro de fluorescência; escolha da fonte de excitação, onde se deve levar em conta a absorção dos cromóforos e a intensidade que estes serão iluminado e escolha adequada da câmera para captura do sinal de fluorescência. Após a definição/escolha destes componentes e de teste em bancada, uma etapa crítica surge, o processo de adequação do protótipo em bancada para um protótipo com características de uso em trabalhos clínicos.

A descrição do sistema de diagnóstico está dividida em: mecânica, eletrônica, óptica (filtros e lentes), caracterizações (teste de colimação, teste nos filtros ópticos e teste de excitação), aquisição e visualização das imagens.

4.1.1.1 Mecânica

Com o avanço das tecnologias, diversos sistemas que auxiliam no desenvolvimento de novos produtos são desenvolvidos, neste projeto foi utilizado o *software SolidWorks* (Dassault Systemes S.A., França) que visa facilitar o desenvolvimento do projeto mecânico, mostrado na Figura 9, que oferece um

sistema de simulação e projeção 3D, facilitando a visualização das peças mecânicas que serão desenvolvidas. Mesmo utilizando estes recursos de computação, várias versões do protótipo foram desenvolvidas, pois em cada versão um novo componente era introduzido e ajustes eram necessários. A versão apresentada aqui é a mais recente dos protótipos.

Os materiais utilizados no projeto mecânico foram o PVC, utilizado na peça de mão; o poliacetal para o suporte dos filtros; e o alumínio que corresponde ao dissipador de calor do LED e ao elemento de fixação dos filtros. Todos esses materiais foram escolhidos pela sua facilidade de usinagem, preço e leveza, características importantes no desenvolvimento do protótipo.

Figura 9 – Desenho esquemático dos componentes mecânicos do sistema de diagnóstico do protótipo-v1.

4.1.1.2 Óptica

O sistema de diagnóstico é o responsável tanto pela iluminação da pele, quanto pelo alinhamento óptico necessário para a formação de imagens no visor ou na câmera para captura das imagens de fluorescência. Na Figura 10 é apresentado um esquema geral do arranjo dos componentes ópticos do sistema de diagnóstico.

Figura 10 - Desenho esquemático dos componentes mecânicos e ópticos do sistema de diagnóstico do protótipo-v1.

A óptica do sistema de diagnóstico é constituída por um LED de alta intensidade, uma lente biconvexa e cinco filtros ópticos, que serão descritos detalhadamente a seguir:

A) LED

O sistema de diagnóstico foi baseado em diodos emissores luz (*Light Emitting Diode* - LED) que emitem em uma banda estreita do espectro e com alta intensidade para de excitação dos cromóforos; consomem menos energia elétrica, podendo ser mantidos por pilhas ou baterias; permitem sistemas miniaturizados, devido às suas dimensões; são mais eficientes na emissão de luz violeta que as lâmpadas e possuem maior tempo de vida útil (cerca de 10.000 horas).

Assim, com o objetivo de se obter boa uniformidade de iluminação e intensidade adequada foi utilizado um LED violeta de alta intensidade (Satisfied, China), que pode ser visualizado na Figura 11. Este LED é composto por um arranjo de 9 pequenos LEDs que somados possuem potência elétrica de 10 W, ângulo de abertura de 110 graus, alimentação de 10 V, corrente máxima de 1 A e potência óptica de 400 mW.

Figura 11 – LED violeta com espectro de emissão em 405 nm.

Na Figura 12 é apresentado o espectro de emissão do LED violeta centrado em 405 nm com largura de banda de 20 nm. Este espectro de emissão foi obtido utilizando um espectrômetro USB 2000 (Ocean Optics, USA).

Figura 12 - Espectro de emissão do LED violeta.

Para que houvesse uma boa dissipação do calor gerado pelo LED violeta de 10 W, este foi fixado (com cola) em um dissipador usinado em alumínio, conforme apresentado na Figura 13.

Figura 13 – LED violeta fixado no dissipador de alumínio.

B) Filtros e Lentes

Na Figura 14 é mostrado um esquema da vista de seção transversal dos componentes ópticos do sistema de diagnóstico. O esquema apresenta o arranjo espacial dos componentes, cujo destaque é dado ao filtro antirreflexo, que está inclinado a 60° em relação ao LED. A inclinação é essencial, pois se não a houvesse, o filtro funcionaria como um espelho e os componentes internos apareceriam nas imagens de fluorescência.

Figura 14 – Desenho esquemático dos filtros ópticos do sistema de diagnóstico.

Para o desenvolvimento do protótipo-v1 foram utilizados uma lente e cinco filtros ópticos, que podem ser visualizados na Figura 15. A escolha destes componentes ópticos objetiva obter melhor visualização das imagens de fluorescência da região de interesse (com base no espectro de absorção e emissão de fluorescência do PpIX produzida pelo *P.acnes*, mostrada na Figura 7), para isso foram selecionados os componentes ópticos enumerados de 1 a 6 (Figura 15). Os componentes ópticos são: 1 – filtro passa-banda, 2 – filtro rejeita-faixa, 3 – filtro passa-alta, 4 – espelho dicróico, 5 – filtro antirreflexo e 6 – lente biconvexa.

Figura 15 – Conjunto óptico de filtros e lentes.

Na Tabela 2 são apresentadas as especificações dos filtros ópticos utilizados no sistema de diagnóstico. Todos os filtros foram produzidos e customizados pela empresa PROTEON (Itatiba, São Paulo).

Tabela 2 - Especificações dos filtros ópticos.

Descrição	Comprimento x largura (mm)	Diâmetro (mm)	Espessura (mm)
filtro passa-alta GG 495	-	24,7±0,1	2,0
filtro passa-banda 380/450	-	24,7±0,1	2,0
filtro rejeita faixa 575	-	24,7±0,1	2,0
filtro antirreflexo	-	25,3±0,1	1,0
filtro dicróico 495	35,6 x 25,2 (±0,1)	-	1,0

4.1.1.3 Eletrônica

O sistema eletrônico foi projetado para controlar a intensidade de emissão do LED violeta, para isso foi desenvolvida uma fonte que regula a corrente do LED, assim ajustando a intensidade de emissão do LED violeta. O desenho esquemático do circuito eletrônico pode ser visualizado na Figura 16, que foi desenvolvido no ambiente de simulação de circuitos eletrônicos e de desenho de circuitos impresso denominado Proteus (Labcenter Electronics, Reino Unido).

Figura 16 – Desenho esquemático do circuito eletrônico para controle da intensidade de emissão do LED violeta

O projeto eletrônico foi reduzido a fim de se ter uma eletrônica embarcada no sistema de diagnóstico. O principal componente que permitiu a miniaturização do circuito foi o CAT4101, que é um *driver* específico para controle de corrente dos LEDs. O ajuste da corrente máxima é feita através de uma resistência entre duas portas do CAT onde foi utilizado um *trimpot* para fazer um ajuste fino, em 700 mA, da corrente máxima, após a montagem da placa. O *driver* também permite um controle da intensidade de corrente, via modulação PWM (Modulação por Largura de Pulso), onde um microcontrolador PIC16F628 foi utilizado para gerar as modulações PWM com diferentes larguras de pulso, que é responsável pelo controle da intensidade de corrente fornecida pelo *driver* para o LED (0 – 700 mA); o controle dessa variação é feita pelo usuário através de um botão. O sistema foi projetado

para ter seis níveis de operação, um em que o LED não é excitado e outros cinco com a possibilidade de variação da corrente até 700 mA, ou seja, permite uma variação de intensidade de 6 níveis de 0 ao valor máximo.

4.1.1.4 Caracterizações

A) Teste de colimação

O objetivo deste teste foi avaliar a eficiência de colimação do refletor e da lente utilizada. Para isso foi montado o seguinte aparato, apresentado na Figura 17, que consiste na utilização de um LED violeta a uma distância variável do anteparo, composto por uma folha de papel sulfite. No lado posterior do anteparo, onde era colimado o LED, foi posicionado uma WebCam USB acoplada a um computador para aquisição e processamento das imagens da colimação do refletor e da lente, onde todos os testes foram realizados sem nenhuma iluminação ambiente, para que esta não interferisse nos resultados dos testes.

Figura 17 – Esquema para teste de colimação da óptica.

Na Figura 18 é possível observar a interface do *software* desenvolvido em Matlab 7.5 para a aquisição e processamento das imagens do perfil de colimação do refletor e da lente. O software possui cinco botões que são: botão iniciar, que inicia o processo de aquisição das imagens do spot de iluminação pela webcam e apresenta na tela (quadrante superior esquerdo); botão parar, que interrompe a aquisição; botão salvar, que salva os dados apresentados na tela; botão sair, que fecha o

programa e o botão processar, que realiza 3 processamentos, o primeiro apresenta o perfil tridimensional de intensidade do spot (quadrante inferior direito); o segundo traça o perfil de intensidade horizontal (quadrante superior direito) e o terceiro apresenta o perfil de intensidade vertical (quadrante inferior esquerdo).

Figura 18 – Software para aquisição de imagens.

Na sequência de figuras abaixo são apresentados os resultados comparativos entre a colimação da lente, imagens a esquerda e o refletor, imagens a direita. As imagens foram obtidas posicionando o LED a uma distância de 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 e 30 cm do aparato.

Distância = 0 cm

Distância = 2 cm

Distância = 4 cm

Distância = 6 cm

Distância = 8 cm

Distância = 10 cm

Distância = 12 cm

Distância = 14 cm

Distância = 16 cm

Distância = 18 cm

Distância = 20 cm

Distância = 22 cm

Distância = 24 cm

Distância = 26 cm

Distância = 28 cm

Distância = 30 cm

Na Figura 19 são apresentados os gráficos comparativos do perfil transversal do spot do refletor e da lente em função da distância. No gráfico é possível observar uma maior dispersão do refletor e uma melhor colimação da lente, onde quanto maior a dispersão resulta em uma menor potência óptica.

Figura 19 – Gráficos comparativos do perfil transversal do spot.

Outra caracterização realizada foi a medida da potência óptica, fornecida pelo LED violeta utilizando o refletor e a lente. Para esta caracterização foi utilizado o medidor de potência modelo PM100D (Thorlabs, USA) e o sensor térmico modelo S310C (Thorlabs, USA).

Na Tabela 3 estão listados os valores de potência óptica, variando a distância da lente e do refletor do sensor do medidor de potência. É possível observar uma maior eficiência da lente em relação ao refletor. Os valores de potência foram

satisfatórios, pois proporcionaram boas imagens de fluorescência, como será mostrado nos experimentos a seguir.

Tabela 3 – Comparação de potência óptica em função da distância

Distância (cm)	Potência (mW)	
	Lente	Refletor
0	250	150
2	174	110
4	121	77
6	88	54
8	65	40
10	48	29
12	38	22
14	30	17
16	24	14
18	20	11
20	17	9
22	14	8
24	11	7
26	10	6
28	9	5
30	8	4

Na Figura 20 é apresentado um gráfico comparativo de potência óptica em função da distância do refletor e da lente.

Figura 20 – Gráfico comparativo de potência óptica entre refletor e lente.

Na Tabela 4 é apresentada a análise comparativa do tamanho do spot, utilizando o refletor e a lente.

Tabela 4 – Comparação entre o diâmetro do spot em função da distância

Refletor		Lente	
Distância (cm)	Diâmetro (mm)	Distância (cm)	Diâmetro (mm)
0	30	0	30
2	43,5	2	46
4	58	4	63
6	67	6	74
8	81,7	8	94
10	96,2	10	101
12	102	12	110
14	108	14	120

B) Testes nos filtros ópticos

Os filtros foram caracterizados pela sua transmitância. A Figura 21 apresenta os espectros de transmissão, na região do visível, dos filtros ópticos utilizados, com destaque para os filtros passa-banda, espelho dicróico e filtro antirreflexo. Estes espectros foram obtidos através de um espectrofotômetro modelo CARY 5000 UV-VIS-NIR (Varian, USA).

Figura 21 - Espectro de transmissão dos filtros passa-banda, anti-reflexo e espelho dicróico.

Na Figura 22 são apresentados os espectros de transmissão dos filtros ópticos rejeita-faixa e passa-alta. Estes espectros também foram obtidos através do espectrofotômetro CARY 5000 UV-VIS-NIR.

Figura 22 - Espectro de transmissão dos filtros ópticos rejeita-faixa e passa-alta.

C) Teste de excitação

A princípio não seria necessário a utilização de um filtro passa-banda na excitação quando se utiliza o LED violeta, pois aparentemente não se observa nenhuma emissão do LED na região entre o verde e vermelho (500 a 750nm) como mostrado no gráfico da Figura 23. Porém, quando é realizada esta medida é necessário utilizar o LED com uma intensidade bastante reduzida, para que este não sature o detector do espectrofotômetro USB 2000.

Figura 23 – Espectro de emissão do LED violeta.

Para verificar se o LED violeta está realmente emitindo na região do verde e vermelho, foi utilizado um filtro passa-banda GG 495, cujo gráfico de transmissão é apresentado na Figura 24, este espectro foi obtido através de um espectrofotômetro modelo CARY 50 UV-VIS. Este filtro foi utilizado na frente do LED violeta, bloqueando a emissão do LED na região entre 400 a 475 e deixando passar a emissão entre 500 a 750nm, possibilitando assim a utilização do espectrofotômetro, ou seja, não saturando o detector.

Figura 24 – Gráfico de transmissão de filtro passa-banda.

Para as medidas de verificação de emissão do LED violeta foram utilizados os 5 níveis de potência do sistema de diagnóstico. Na Figura 25 é apresentado o gráfico resultante da variação dos níveis de potência. É possível observar que realmente o LED violeta emite na região entre 500 a 750 nm sendo necessária a utilização de um filtro passa-banda para bloquear esta emissão.

Figura 25 – Gráfico de emissão do LED violeta na região entre 500 a 800nm.

Para exemplificar o problema da não utilização do filtro passa-banda foi feita algumas imagens do sistema de diagnóstico sem e com a utilização do filtro passa-banda. Na sequência da Figura 26 são apresentadas as imagens do sistema variando a potência óptica sem a utilização do filtro passa-banda, onde é possível observar na região central das imagens uma mancha que é resultado da emissão do LED violeta na região entre 500 e 750 nm.

O sistema de diagnóstico, desta versão, fornece 5 níveis de potência óptica que são de 50, 100, 150, 200 e 250 mW representadas pelos níveis 1, 2, 3, 4 e 5, respectivamente, nas imagens da Figura 26.

Figura 26 – Imagem do sistema de diagnóstico não utilizando o filtro passa-banda.

Na sequência da Figura 27 são apresentadas as imagens do sistema variando a potência óptica com a utilização do filtro passa-banda, onde é possível observar que não ocorreu mancha nas imagens, demonstrando que o filtro passa-banda foi eficiente para o bloqueio da emissão do LED na região entre 500 a 750nm. Assim, demonstra-se a necessidade de um cuidado especial na utilização de LEDs como fonte de excitação para a captura de sinais de fluorescência.

Figura 27 - Imagem do sistema de diagnóstico utilizando o filtro passa-banda.

4.1.1.5 Aquisição e visualização das imagens

Com o objetivo de se obter uma boa qualidade de imagens foi utilizado uma câmera semi-profissional Sony HX100v (Figura 28). Esta câmera possui algumas características que são importantes para este trabalho, tais como: sensor CMOS de 7,75 mm (Tipo 1/2.3), resolução de 4608 x 3456 pixel (16,2 Megapixels) e Lente Carl Zeiss Vario-Sonnar com foco de 4,8 mm – 144 mm (27 mm – 810 mm (equivalente a filme de 35 mm), zoom óptico de 30x com grande angular de 27 mm. A câmera filma

em full HD (1920x1080) e pode ser conectada a um monitor, pois possui saída de vídeo em HDMI (*High-Definition Multimedia Interface*). Outra característica de extrema importância para aquisição de imagens de fluorescência é o controle de exposição que esta câmera possui, pois o sinal de fluorescência muitas vezes é muito baixo, sendo necessário controlar o tempo com que o sensor faz a coleta das informações.

Figura 28 – Vista frontal e posterior da câmera fotográfica Sony cybershot HX100v.
Adaptado [141].

Uma das propostas do projeto é a possibilidade do paciente participar do processo de visualização das imagens de fluorescência, assim, foi utilizado um monitor/TV (Samsung, Coréia do Sul) modelo TA550 de 21,5", Desse modo, o paciente pode acompanhar todo o processo de visualização das imagens de fluorescência do seu rosto em tempo real, podendo sanar dúvidas e fazer questionamentos sobre a saúde de sua pele, tornando o procedimento mais transparente e efetivo ao paciente.

Este monitor/TV foi escolhido, pois possui algumas características como, duas entradas de vídeo digital em HDMI, onde é acoplada a saída de vídeo da câmera digital, proporcionando que o vídeo da câmera seja apresentado no monitor. O monitor possui uma tela a LED de 21,5 polegadas e resolução 1920 x 1080 pixel.

4.1.2 Sistema de tratamento

4.1.2.1 Mecânica

O projeto mecânico também foi simulado no software SolidWorks, que consiste do dissipador do LED, fixador da lente de colimação e capa externa, que podem ser observados na Figura 29. Os materiais utilizados no projeto mecânico foram o PVC, que corresponde ao suporte externo e o alumínio que corresponde o dissipador de calor do LED e ao elemento de fixação da lente. Todos esses materiais foram escolhidos pela sua facilidade de usinagem, preço e leveza, características importantes ao desenvolvimento do protótipo.

Figura 29 - Desenho esquemático dos componentes mecânicos do dispositivo de tratamento

4.1.2.2 Óptica

A óptica do sistema de tratamento pode ser visualizada na Figura 30, a qual é composta por 01 LED de potência em 405 nm, uma lente plano-convexa com foco de 50 mm e diâmetro de 25 mm e um delimitador, que padroniza o diâmetro de irradiação em 40 mm.

Figura 30 - Desenho esquemático dos componentes ópticos do dispositivo de tratamento.

4.1.2.3 Eletrônica

A eletrônica utilizada no sistema de tratamento é a mesma do sistema de diagnóstico, entretanto, possui algumas características diferentes como:

- Alimentação bivolt (110V/220V @60Hz);
- Regulagem da intensidade linear;
- 10 níveis de ajustes de intensidade;
- 01 LED em 405 nm;
- Potência elétrica do LED = 10 W;
- Diâmetro de irradiação: 40 mm;
- Intensidade de irradiação máxima = 150 mW/cm^2 .

4.1.3 Testes Clínicos

Para avaliação geral do protótipo-v1, seis experimentos foram realizados e estão resumidamente descritos abaixo:

Experimento 1 – Este experimento avaliou se as configurações iniciais do protótipo 01 eram adequadas para a visualização de bactérias presentes no rosto, foram adquiridas diversas imagens de fluorescência na região do nariz.

Experimento 2 - Este experimento avaliou a detecção de bactérias presentes em quatro diferentes regiões da face.

Experimento 3 - Este experimento avaliou se somente com uma lavagem simples é possível fazer a remoção e eliminação das bactérias presentes no rosto.

Experimento 4 - Este experimento teve por objetivo detectar a presença de bactérias no couro cabeludo que são possíveis causadoras de caspa e avaliar se ocorre uma maior formação de bactérias no couro cabeludo ao longo do tempo.

Experimento 5 – Este experimento avaliou *in vivo*, em um voluntário, o sistema de diagnóstico e tratamento da acne do protótipo-v1.

Experimento 6 – Este experimento avaliou *in vitro* e *in vivo*, 40 voluntários, o sistema de diagnóstico e tratamento da acne do protótipo-v1.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 PROTÓTIPO-V1

5.1.1 Visão Geral

A Figura 31 apresenta o protótipo-v1 integrado com o sistema de diagnóstico e tratamento da acne, onde é possível observar que o equipamento é compacto e de fácil manuseio, facilitando sua utilização em diversas áreas durante o procedimento clínico de diagnóstico e tratamento.

Figura 31 - Imagem do protótipo-v1 integrando o sistema de diagnóstico e tratamento.

O sistema de diagnóstico do protótipo-v1, mostrado ao lado direito da Figura 31, foi desenvolvido de maneira que a eletrônica de controle fosse embarcada no sistema, tendo este somente um botão para incrementar a intensidade de iluminação na coleta das imagens de fluorescência.

O sistema de tratamento é composto pela ponteira de aplicação da luz, ao lado esquerdo na Figura 31, um módulo de controle que é composto por um botão liga e desliga, um display que indica a intensidade, o tempo de irradiação e a dose de energia que será aplicada e dois botões para incrementar e decrementar o tempo e intensidade de irradiação.

Os resultados do desenvolvimento do sistema de diagnóstico e o de tratamento do protótipo-V1, assim como os experimentos realizados com o mesmo estão descritos detalhadamente abaixo:

5.1.2 Sistema de diagnóstico

A Figura 32 apresenta o sistema de diagnóstico do protótipo-v1, onde é possível observar que é compacto, contendo toda a óptica e eletrônica embarcada no equipamento. O equipamento apresenta intensidade de iluminação de (80 mW/cm^2) e campo de visão de 25 mm de diâmetro, proporcionada pelos filtros ópticos. Nesta configuração é perfeitamente possível fazer a visualização da autofluorescência de toda a área do rosto, sem a necessidade de utilização da câmera, apenas observando através do visor. A visualização da autofluorescência de toda a área do rosto e do couro cabeludo é facilitada devido à portabilidade, fácil manuseio e leveza do equipamento.

Figura 32 – Imagem do equipamento de diagnóstico.

Resultados e discussão

O controle da intensidade de iluminação (6 posições) é feito pelo botão no corpo da peça de mão, sendo que a primeira intensidade é zero e as demais aumentam progressivamente até chegar ao seu máximo de 80 mW/cm^2 , conforme apresentado na Tabela 5.

Tabela 5 – Tabela de intensidade de irradiação do sistema de diagnóstico.

Nível	Intensidade (mW/cm^2)
0	0
1	16
2	32
3	48
4	64
5	80

Na Figura 33 também é possível visualizar a fonte de alimentação que pode ser conectada a qualquer tomada, pois o equipamento é bivolt (85 - 260 V, AC – 50/60 Hz), proporcionado por uma fonte de alimentação chaveada.

Figura 33 - Imagem do equipamento de diagnóstico e sua eletrônica.

Na Figura 34 é apresentado o sistema de diagnóstico acoplado a câmera fotográfica Sony cybershot HX100v. Esta configuração possibilita tanto o registro das imagens convencionais, ou seja, com iluminação branca, bem como o registro das imagens de fluorescência para posterior processamento. Neste caso a câmera está no modo manual, configurada especificamente para captura de imagens de

fluorescência, todos os parâmetros de autocorreção da câmera são desabilitados (auto ajuste de branco, modo de cor, ajuste de iluminação ambiente, filtros de densidade) e os valores de exposição, saturação, contraste, redução são fixos para que seja possível uma captura real das imagens de fluorescência.

O objetivo de se utilizar uma câmera fotográfica é a sua portabilidade e seu fácil manuseio, pois todas as configurações já estão programadas, facilitando assim seu uso por qualquer pessoa. Outra vantagem é que na grande maioria dos casos os usuários do sistema já são familiarizados com este tipo de câmera, facilitando assim a utilização do equipamento de diagnóstico.

Figura 34 – Equipamento de diagnóstico acoplada a uma câmera Sony cybershot HX100v.

Um dos objetivos deste projeto era a possibilidade do paciente efetivamente participar do processo de diagnóstico, ou seja, que o paciente pudesse visualizar as bactérias do seu rosto durante o procedimento de diagnóstico, promovendo uma maior aderência do paciente ao tratamento da acne, pois este poderia entender melhor as causas de sua doença.

Assim, um monitor foi acoplado à câmera fotográfica do sistema de diagnóstico, como apresentado na Figura 35. O acoplamento da câmera fotográfica ao monitor é possível, pois foi selecionada uma câmera com uma saída de vídeo

digital em full HD e um monitor/TV que possui entrada de vídeo em full HD também, possibilitando assim, que o vídeo produzido pela câmera digital seja transferido ao mesmo tempo para o monitor/TV. Desta maneira, tanto o clínico, que está avaliando o paciente pode observar as imagens de fluorescência do paciente pelo visor da câmera digital, como o paciente pode participar do processo de visualização de fluorescência de seu rosto através do monitor.

Figura 35 – Sistema de diagnóstico completo.

5.1.3 Sistema de tratamento

A Figura 36 apresenta o sistema de tratamento do protótipo-v1, onde podemos observar o dispositivo de irradiação e seu controle eletrônico. O dispositivo de irradiação é composto por um delimitador de irradiação de 4 cm de diâmetro que padroniza a área de irradiação, e pode chegar facilmente em qualquer área do corpo para se efetuar a irradiação. O controle eletrônico é composto por um botão liga/desliga, que funciona como uma chave geral do equipamento; um display, que apresenta os níveis de intensidade de 0 a 10, tempo de 0 a 999.999 segundos, dose de irradiação instantânea, dose final de irradiação, além de dois botões que

incrementam e decrementam a intensidade e o tempo e intercalam as telas de visualização dos parâmetros.

Figura 36 - Imagem do sistema de tratamento do protótipo-v1.

A intensidade de irradiação pode ser variada linearmente em 10 níveis, conforme a Tabela 6, variando entre 0 a 150 mW/cm²

Tabela 6 – Tabela de intensidade de irradiação do sistema de tratamento.

Nível	Intensidade (mW/cm ²)
0	0
1	15
2	30
3	45
4	60
5	75
6	90
7	105
8	120
9	135
10	150

5.1.4 Experimento 1

Este experimento avaliou se as configurações iniciais do sistema de diagnóstico do protótipo-v1 eram adequadas para a visualização de bactérias presentes no rosto, assim uma região da face foi estudada, mais precisamente na superfície do nariz, onde corriqueiramente há o acúmulo de bactérias causadoras da acne.

Antes do procedimento de diagnóstico, a pele do paciente foi limpa com água destilada e uma gaze. O resultado é apresentado na Figura 37, onde duas imagens foram capturadas, uma imagem digital da superfície do nariz do paciente (Figura 37A), a qual simula o diagnóstico visual realizado pelo clínico, utilizando iluminação branca e uma imagem da fluorescência da mesma região do nariz (Figura 37B).

Comparando qualitativamente os resultados é possível notar que a imagem digital utilizando luz ambiente (luz branca), revela a saúde da pele do paciente, sem a aparente presença de bactérias na superfície. Na imagem de fluorescência é possível observar a presença de uma emissão de fluorescência verde que é uma característica de uma pele saudável e a presença das bactérias caracterizada pela fluorescência vermelha devido à produção de PpIX por estas bactérias, assim, neste primeiro momento, mostrando que os resultados viabilizam o princípio de funcionamento do equipamento e a sua aplicação.

Figura 37 - Uso do sistema de diagnóstico com paciente voluntário. A) Imagem digital da região do nariz do paciente com iluminação ambiente. A coloração destaca a saúde da pele, sem a presença aparente de bactérias. B) Imagem da fluorescência emitida pela mesma região, destacando a autofluorescência da pele (cor verde) em contraste com a fluorescência emitida pelas bactérias presente na superfície da pele (cor vermelha).

5.1.5 Experimento 2

Este experimento foi realizado para avaliar a detecção de bactérias presentes em 4 regiões da face de uma voluntária feminina e um masculino, utilizando o sistema de diagnóstico do protótipo-v1, com o objetivo posterior de se correlacionar a presença destas bactérias com a incidência da formação de acne nestas regiões. Um esquema pode ser visualizado na Figura 38, que mostra as regiões de interesse, onde estas são enumeradas de 1 a 4 que são: 1 - região da testa; 2 - região da bochecha direita; 3 - região do nariz e 4 – região do queixo.

Figura 38 – Desenho esquemático da captura de imagens de fluorescência das regiões rosto.

Na Figura 39 (rosto feminino) e Figura 40 (rosto masculino) são mostradas as imagens de fluorescência de quatro regiões do rosto, com e sem processamento, a numeração corresponde à região analisada, segundo o esquema da Figura 38. As imagens (A1, A2, A3 e A4) da Figura 39 e Figura 40 correspondem a autofluorescência da pele sem processamento e as imagens (B1, B2, B3 e B4) da Figura 39 e Figura 40 correspondem a fluorescência com processamento, que consiste basicamente no isolamento da fluorescência na região do vermelho das imagens.

Figura 39 - Imagens de autofluorescência do rosto feminino: (A) sem processamento de imagem; e (B) com processamento.

Figura 40 - Imagens de autofluorescência do rosto masculino: (A) sem processamento de imagem; e (B) com processamento.

Em todos os experimentos o processamento das imagens foi realizado utilizando um algoritmo escrito no *software Matlab (The MathWorks, USA)* versão R2011a, onde o código do algoritmo, deste experimento, encontra-se no ANEXO A deste texto. Para o algoritmo de processamento uma imagem é formada por três matrizes de cores RGB (Red, Green, Blue) que são as matrizes vermelha, verde e azul, nesta primeira fase do processamento o algoritmo zera as matrizes verde e azul, restando apenas a matriz vermelha, de interesse e as salva em um arquivo separado conforme as imagens (B1, B2, B3 e B4) da Figura 39 e Figura 40.

Na Figura 39 é possível observar que a região de maior presença de bactérias é a região do nariz (imagem A3) e da testa (imagem A1), sendo que na Figura 40 somente a região do nariz possui grande concentração de bactérias. Estes dados evidenciam que a região do nariz possui a maior concentração de bactérias no sexo masculino e feminino, entretanto mostra uma grande heterogeneidade nas concentrações e regiões, mostrando que há uma necessidade de avaliação individual para cada paciente.

5.1.6 Experimento 3

Este experimento, utilizando o sistema de diagnóstico do protótipo-v1, foi realizado com o objetivo de avaliar se somente com uma lavagem simples é possível realizar a remoção e eliminação das bactérias presentes no rosto. Para isso quatro regiões da face foram analisadas de uma voluntária e um voluntário, antes e após o rosto ser lavado com sabonete neutro.

Na Figura 41 e Figura 42 são apresentadas as imagens de fluorescência de quatro regiões do rosto, onde a numeração corresponde a região analisada, segundo o esquema da Figura 38. As imagens (A1, A2, A3 e A4) da Figura 41 e Figura 42 correspondem às imagens de autofluorescência da pele, ou seja, sem lavar o rosto e as imagens (B1, B2, B3 e B5) da Figura 41 e Figura 42 correspondem às imagens de fluorescência após 12 horas, onde o rosto foi lavado 2x com sabonete neutro comum.

Figura 41 - Imagens de fluorescência do rosto feminino antes e após a limpeza.

Figura 42 – Imagens de fluorescência do rosto masculino antes e após a limpeza.

Figura 43 – Imagens processadas de fluorescência do rosto feminino antes e após a limpeza.

Figura 44 - Imagens processadas de fluorescência do rosto masculino antes e após a limpeza.

Na Figura 43 (Voluntária) e Figura 44 (Voluntário) são apresentados o processamento das imagens de fluorescência antes e após o rosto ser lavado com sabonete neutro. O algoritmo de processamento deste experimento encontra-se no ANEXO B, e tem por objetivo a quantificação da fluorescência da PpIX. O algoritmo faz o somatório das intensidades da matriz vermelha do conjunto de imagens antes e após o rosto ser lavado e as salva em um arquivo .dat que será posteriormente processado com o software OriginPro 8 (OriginLab, USA).

Com os dados da quantificação da PpIX, através do processamento das imagens de fluorescência é realizado uma análise comparativa das intensidades de fluorescência, onde a fluorescência inicial, ou seja, antes do rosto ser lavado é considerado como 100% e a fluorescência após o rosto ser lavado um valor percentual do valor inicial. Estes dados são apresentados na Figura 45 (Voluntária) e Figura 46 (Voluntário), onde temos uma análise da quantificação relativa em porcentagem das intensidades de fluorescência de 4 regiões do rosto antes e após a lavagem com sabonete comum.

Figura 45 - Gráfico de quantificação de PpIX da voluntária antes e após a lavagem.

Figura 46 - Gráfico de quantificação de PpIX da voluntário antes e após a lavagem.

Através do gráfico da Figura 45 (redução de 1,4%; 3,7%; 6,1% e 4,4%) e Figura 46 (redução de 4,3%; 2,5%; 7,0 % e 5,6 %) é possível observar uma pequena diminuição da intensidade da fluorescência da PpIX, o que pode evidenciar uma diminuição da quantidade de bactérias, entretanto, essa diminuição será melhor avaliada e estudada em experimentos futuros com um maior número de pacientes. Caso os valores se mantenham, é possível dizer que apenas uma lavagem simples do rosto não é suficiente para a remoção das bactérias presentes nesta região, o que pode evidenciar que a maioria dos cosméticos e sabonetes que indicam a remoção das bactérias pode estar equivocada, fazendo somente uma limpeza da sujeira (partículas de poeira, fuligem, etc.) presentes no rosto e não uma remoção efetiva das bactérias presentes.

5.1.7 Experimento 4

Este experimento, utilizando o sistema de diagnóstico do protótipo-v1, teve por objetivo detectar a presença de bactérias no couro cabeludo que são possíveis causadoras de caspa e avaliar se ocorre uma maior formação de bactérias no couro cabeludo ao longo do tempo. Para isto foi realizado um experimento com duração de 24 horas, onde o paciente não lavou o cabelo durante este período. Durante o experimento foram realizadas três imagens da região central do couro cabeludo, uma no tempo zero e outras duas após 12 e 24 horas, o resultado destes testes são apresentados na Figura 47.

A Figura 47 A1 representa à imagem de fluorescência inicial do couro cabeludo, ou seja, no tempo zero. A Figura 47 B1, corresponde à imagem de fluorescência após 12 horas e a Figura 47 C1 corresponde à imagem de fluorescência após 24 horas. Na Figura 47 A2, B2 e C2 são apresentados o processamento das imagens de fluorescência no tempo zero, 12 e 24 horas, respectivamente.

Figura 47 – Imagens de autofluorescência e seu processamento após 24 horas.

A Figura 48 apresenta a quantificação das bactérias do couro cabeludo, no tempo inicial e após 12 e 24 horas. O processamento de imagem foi realizado da mesma maneira que no experimento número 3, ou seja, na quantificação da matriz vermelha das imagens de fluorescência.

Através do processamento das imagens é possível observar, na Figura 48, que houve um aumento de 35% na concentração de bactérias presentes no couro cabeludo. Estes dados são importantes para se avaliar, em experimentos futuros, a correlação da presença destas bactérias e sua formação, com a formação da caspa presente no couro cabeludo.

Figura 48 - Gráfico de quantificação de bactérias do couro cabeludo após 24 horas.

5.1.8 Experimento 5

O objetivo deste estudo foi avaliar o protótipo-v1, utilizando o sistema de diagnóstico e o sistema de tratamento da acne com um voluntário de 22 anos do sexo masculino, que apresenta acne vulgar facial.

Para a realização deste estudo, 3 regiões de interesse foram definidas, conforme a Figura 49, onde temos a região A – em cima da sobrancelha próxima a linha mediana; região B – ao lado do suco nasal próximo a asa do nariz; região C – no queixo abaixo do lábio inferior próximo a linha mediana.

Figura 49 – Regiões de interesse para aplicação do diagnóstico e tratamento da acne.

O estudo se iniciou com a higienização da pele do paciente com um demaquilante (Make B, O Boticário) para a remoção de qualquer tipo de resíduo e em seguida foi coletado uma imagem de fluorescência, com o sistema de diagnóstico, das três regiões de interesse e, posteriormente, foi aplicado o sistema de tratamento utilizando uma intensidade de 57 mW/cm^2 por 17 minutos totalizando uma dose de 58 J/cm^2 realizando oito sessões com uma frequência de duas vezes na semana por quatro semanas, sendo que após cada sessão foi utilizado filtro solar.

Na Figura 50 são apresentados as imagens de fluorescência antes e após as 8 sessões de tratamento, onde A1, B1 e C1 representam as regiões antes do tratamento e A2, B2 e C2 representam as regiões após o tratamento, onde já é possível observar uma redução qualitativa de fluorescência na região do vermelho, que indica que ocorreu uma diminuição da PpIX produzida pelo *P. acnes* sugerindo que também ocorreu sua diminuição.

Resultados e discussão

Na Figura 51 são apresentadas as mesmas regiões da Figura 50, entretanto, as imagens foram processadas utilizando o algoritmo de quantificação da PpIX utilizado no experimento número 3.

Figura 50 – Imagens de fluorescência antes e após 8 sessões de irradiação em 405 nm – Região A, B, C.

Figura 51 – Imagens de fluorescência processadas antes e após 8 sessões de irradiação em 405 nm – Região A, B, C.

Resultados e discussão

Na Figura 52 é apresentado o resultado da quantificação da PpIX antes e após o tratamento, onde observa-se uma redução de PpIX de 80,6%, 48,1% e 45,8%, respectivamente nas áreas A, B e C.

Figura 52 – Gráfico de PpIX antes e após o tratamento da região A, B e C.

Com a análise destes dados foi possível demonstrar a viabilidade da utilização do protótipo-v1 como sistema de diagnóstico e tratamento da acne, demonstrando que é possível se realizar o monitoramento das bactérias causadoras da acne através das imagens de fluorescência e o tratamento da acne utilizando técnicas ópticas.

5.1.9 Experimento 6

Este experimento teve como objetivo a avaliação da eficácia do sistema de diagnóstico por imagens de fluorescência e o tratamento da acne por luz associado a um cosmético.

Para este experimento foram utilizados 4 grupos:

- Grupo I: Bactérias (controle)
- Grupo II: Bactérias + LED (405 nm)
- Grupo III: Bactérias + cosmético

- Grupo IV: Bactérias + cosmético + LED (405 nm)

Para todos os testes utilizou-se o sistema de tratamento com intensidade de 40 mW/cm² por 10 minutos totalizando uma dose de 24 J/cm².

Todos os grupos passaram pelos seguintes experimentos:

- Testes *in vitro* do *P. acnes* padrão
- Testes *in vitro* dos swabs coletados dos voluntários
- Testes *in vivo* com voluntárias
 - Avaliação do tratamento da acne por imagens de fluorescência
 - Avaliação Subjetiva – Eficácia percebida pelos voluntários

5.1.9.1 Teste de uma formulação anti acne

Para os estudos foi utilizada uma formulação cosmética em forma de uma emulsão óleo/água contendo ativos cosméticos, cedida pela empresa grupo O Boticário. Por motivos de sigilo a descrição exata (quantitativa) da formulação não pôde ser apresentada. Os ativos cosméticos possuem diferentes tipos de atuação como: ação de limpeza, ação queratolítica (renovação celular), cicatrizante, de clareamento, sebonormalizante, agente calmante (anti-inflamatório), ação adstringente (reduz a oleosidade da pele), ação bactericida (morte das bactérias) e bacteriostática (inibe o crescimento bacteriano).

5.1.9.2 Testes *in vitro* do *P. acnes* padrão

Para avaliar a eficácia da formulação cosmética e ação da luz foram realizados uma sequencia de testes *in vitro*, que são detalhados no ANEXO D, seguindo as 4 condições experimentais dos grupos descritos acima.

Na Figura 53 são apresentados os testes microbiológicos para os grupos G1 e G2, onde é possível observar que ocorreu um crescimento normal do *P. acnes* para ambos os grupos evidenciando que o LED não teve nenhuma ação sobre o *P. acnes*. Os testes foram realizados em triplicata, mas apenas duas amostras são apresentadas.

Figura 53 - Teste microbiológico do *P. acnes* para os grupos GI e GII.

Na Figura 54 são apresentados os testes microbiológicos do *P. acnes* para os grupos GIII e GIV, onde a combinação de ativos na formulação cosmética levou a formação do halo de inibição de forma satisfatória, ou seja, não ocorreu o crescimento da bactéria nesta região. Da mesma maneira, a formação do halo de inibição foi vista quando a cultura foi exposta à luz azul, evidenciando ação bacteriostática do procedimento.

Figura 54 - Teste microbiológico do *P. acnes* para os grupos GIII e GIV.

5.1.9.3 Teste *in vitro* dos swabs coletados dos voluntários

Este teste *in vitro* (microbiológico) dos swabs coletados dos voluntários, avaliou quantitativamente as bactérias da pele. Para este estudo coletou-se os swabs de 5 voluntários com acne, no tempo inicial (t0) e t30, ou seja, após 30 dias, nas seguintes condições experimentais descritas abaixo:

- ✓ Grupo I: Bactérias (controle)
- ✓ Grupo III: Bactérias + cosmético
- ✓ Grupo IV: Bactérias + LED + cosmético

No gráfico da Figura 55 são apresentados os resultados para as culturas em t0 e após os tratamentos GIII e GIV, realizados por 30 dias. Os resultados correspondem aos valores obtidos para os 5 voluntários.. Como podemos observar, para o Grupo III na presença do produto cosmético ocorre uma redução bacteriana na pele, no entanto, esta redução é maior no Grupo IV quando se associa luz com a formulação cosmética.

Figura 55 - Redução microbiana das bactérias totais na pele dos voluntários.

5.1.9.4 Testes *in vivo* com voluntários

A descrição detalhada dos testes *in vivo* é apresentada no ANEXO D, bem como sua aprovação no comitê de ética em pesquisa, presente no ANEXO E.

Para este estudo *in vivo* 40 pacientes foram agrupados em 4 grupos de 10 pacientes cada, sendo que cada um dos 4 grupos foi submetido a um procedimento diferente, descrito abaixo:

- ✓ Grupo I: Bactérias (controle)
- ✓ Grupo II: Bactérias + LED
- ✓ Grupo III: Bactérias + cosmético
- ✓ Grupo IV: Bactérias + LED + cosmético

O protocolo utilizado para o tratamento cosmético + LED foi realizado da seguinte forma:

- Aplicação do produto cosmético 1 x ao dia;
- Aplicação do LED violeta 2 x por semana durante 4 semanas.

Para avaliação dos resultados utilizamos os seguintes procedimentos:

- Avaliação do tratamento da acne por imagens de fluorescência
- Avaliação Subjetiva – Eficácia percebida pelos voluntários

Para isso os critérios de inclusão dos voluntários nos testes de eficácia foram os seguintes:

- Faixa de idade: 23-42 anos;
- Perfil: voluntárias com acne;
- Tempo de duração do estudo: 30 dias;
- Instruções: as voluntárias não deveriam utilizar produtos de tratamento facial, mas utilizar protetor facial FPS 30 diariamente.

A) Avaliação do tratamento da acne por imagens de fluorescência

Nesta seção são apresentados os resultados para os testes *in vivo* com voluntárias em 4 grupos experimentais. Em todos os grupos foram capturadas uma

imagem de fluorescência antes de iniciar o procedimento, chamada de t0 e uma imagem de fluorescência após 30 dias, chamada de t30.

As imagens de fluorescência foram processadas de 4 maneiras distintas, onde este processamento foi chamado de ANÁLISE, com o objetivo de se extrair resultados satisfatórios das mesmas.

a) ANÁLISE 1

Nesta seção são detalhados os procedimentos realizados para a obtenção dos dados, tomando como base a ANÁLISE 1, onde foi realizada a quantificação da PpIX em uma região restrita da imagem, somente do nariz, porém, foi retirado o background da imagem, ou seja, a vermelhidão natural da pele.

Na Figura 56 é possível observar uma imagem de fluorescência utilizada neste processamento. Todas as imagens deste grupo foram analisados com relação à região central da imagem, como mostrado na Figura 57.

Figura 56 – Imagem de fluorescência de um paciente do grupo G1.

Figura 57 – Imagem de fluorescência utilizando processamento de um paciente do grupo G1.

Resultados e discussão

O algoritmo de processamento deste experimento encontra-se no ANEXO C, e tem por objetivo a quantificação da fluorescência da PplX. O algoritmo faz a média do somatório das intensidades dos pontos vermelhos na região selecionada do conjunto de imagens no tempo t0 e t30 e as salva em um arquivo .dat que será posteriormente processado com o software OriginPro 8. O valor médio das intensidades dos pixels é dado por:

$$\bar{X} = \frac{P1 + P2 + \dots + Pn}{n} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n Pi$$

Com a obtenção dos valores médios das intensidades, através do processamento das imagens de fluorescência é realizado uma análise comparativa das intensidades de fluorescência, onde a fluorescência inicial, ou seja, no tempo t0 é considerado como 100% e a fluorescência no tempo t30 é um valor percentual do valor inicial, dado por:

$$t30\% = \frac{\bar{X}(t30)}{\bar{X}(t0)} * 100$$

Como cada grupo (G1, G2, G3 e G4) possui 10 imagens é calculado novamente, no software OriginPro 8, a média e o desvio padrão percentual do aumento ou redução das intensidades de fluorescência na região do vermelho. Estes dados são mostrados no gráfico da Figura 58.

Figura 58 – Gráfico de intensidade média e desvio padrão da ANÁLISE 1.

No gráfico da Figura 58 é possível observar um aumento da intensidade média de fluorescência na região do vermelho do G1 de 12,6%. Nos grupos G2, G3 e G4 é possível observar uma redução de 39%, 2,5% e 21,5%, respectivamente.

Para avaliar se as médias entre os grupos são estatisticamente diferentes foi realizado, no software OriginPro 8, uma análise de variância pelo método One-Way ANOVA com o teste de Tukey, entretanto, para uma variância de $p < 0.05$ (menor que 5%) nenhum grupo foi estatisticamente diferente, como pode ser observado na Tabela 7. Para uma variância de $p < 0,1$ (menor que 10%) o grupo G1 é estatisticamente diferente de G2, como pode ser observado na Tabela 8.

Tabela 7 – ANÁLISE 1 - variância de $p < 0.05$ (menor que 5%)

Pairwise Comparison

Tukey Test

		Index	Mean Difference	Std. Error	DF	t value	Prob> t	Alpha	Sig Flag	95% LCL	95% UCL
Level1	Level2	0	52,291	19,78903	27	3,73695	0,06128	0,05	0	-1,86293	106,44493
	Level3	1	15,126	19,78903	27	1,08097	0,86969	0,05	0	-39,02793	69,27993
	Level4	2	34,22	19,78903	27	2,44552	0,32878	0,05	0	-19,93393	88,37393
Level2	Level3	3	-37,165	19,78903	27	2,65598	0,26092	0,05	0	-91,31893	16,98893
	Level4	4	-18,071	19,78903	27	1,29144	0,79802	0,05	0	-72,22493	36,08293
Level3	Level4	5	19,094	19,78903	27	1,36454	0,77023	0,05	0	-35,05993	73,24793

Bonferroni Test

Sig equals 1 indicates that the means difference is significant at the 0,05 level.
 Sig equals 0 indicates that the means difference is not significant at the 0,05 level.
 Sig equals -1 indicates that the means difference is not tested.

Tabela 8 - ANÁLISE 1 - variância de $p < 0.1$ (menor que 10%)

Pairwise Comparison

Tukey Test

		Index	Mean Difference	Std. Error	DF	t value	Prob> t	Alpha	Sig Flag	90% LCL	90% UCL
Level1	Level2	0	52,291	19,78903	27	3,73695	0,06128	0,1	1	4,68341	99,89859
	Level3	1	15,126	19,78903	27	1,08097	0,86969	0,1	0	-32,48159	62,73359
	Level4	2	34,22	19,78903	27	2,44552	0,32878	0,1	0	-13,38759	81,82759
Level2	Level3	3	-37,165	19,78903	27	2,65598	0,26092	0,1	0	-84,77259	10,44259
	Level4	4	-18,071	19,78903	27	1,29144	0,79802	0,1	0	-65,67859	29,53659
Level3	Level4	5	19,094	19,78903	27	1,36454	0,77023	0,1	0	-28,51359	66,70159

Bonferroni Test

Sig equals 1 indicates that the means difference is significant at the 0,1 level.
 Sig equals 0 indicates that the means difference is not significant at the 0,1 level.
 Sig equals -1 indicates that the means difference is not tested.

Abaixo são apresentadas as imagens de fluorescência de todos os grupos e o processamento realizado para a ANÁLISE 1.

Figura 59 – Imagens de fluorescência, G1 - Grupo controle.

Figura 60 – Imagens de fluorescência, G1 - Grupo controle com processamento.

Figura 61 – Imagens de fluorescência, G2 - Grupo com cosmético.

Figura 62 - Imagens de fluorescência, G2 - Grupo com cosmético, com processamento.

Figura 63 – Imagens de fluorescência, G3 - Grupo com luz (LED).

Figura 64 – Imagens de fluorescência, G3 - Grupo com luz (LED), com processamento.

Figura 65 – Imagens de fluorescência, G4 - Grupo Cosmético + luz (LED).

Figura 66 – Imagens de fluorescência, G4 - Grupo Cosmético + luz (LED), com processamento.

b) ANÁLISE 2

Os procedimentos para a quantificação e processamento das imagens, desta análise, foram similares ao da ANÁLISE 1, entretanto, para o processamento foi selecionada uma região maior da face, a região central da imagem de fluorescência, exemplificada pela Figura 67 e foi retirado o background da imagem, ou seja, a vermelhidão natural da pele que pode ser observado na Figura 68,

Figura 67 – Imagem de fluorescência utilizada na ANÁLISE 2

Figura 68 – Imagem de fluorescência com processamento utilizado na ANÁLISE 2.

No gráfico da Figura 69 é possível observar um aumento da intensidade média de fluorescência na região do vermelho do grupo G1 de 5%. Nos grupos G2, G3 e G4 é possível observar uma redução de 8%, 18% e 21%, respectivamente.

Figura 69 – Gráfico de intensidade média e desvio padrão da ANÁLISE 2.

Para se avaliar as médias entre os grupos são estatisticamente diferentes foi utilizado a análise de variância pelo método One-Way ANOVA com o teste de Tukey, entretanto, para uma variância de $p < 0.05$ (menor que 5%), nenhum grupo foi estatisticamente diferente, como pode ser observado na Tabela 9. Para uma variância de $p < 0,1$ (menor que 10%) nenhum grupo foi estatisticamente diferente, como pode ser observado na Tabela 10.

Tabela 9 - ANÁLISE 2 - variância de $p < 0.05$ (menor que 5%).

Tukey Test											
		Index	Mean Difference	Std. Error	DF	t value	Prob> t	Alpha	Sig Flag	95% LCL	95% UCL
Level1	Level2	0	13,277	21,36045	27	0,87903	0,92427	0,05	0	-45,17721	71,73121
	Level3	1	23,43	21,36045	27	1,55123	0,69441	0,05	0	-35,02421	81,88421
	Level4	2	26,832	21,36045	27	1,77647	0,59772	0,05	0	-31,62221	85,28621
Level2	Level3	3	10,153	21,36045	27	0,6722	0,96388	0,05	0	-48,30121	68,60721
	Level4	4	13,555	21,36045	27	0,89744	0,91993	0,05	0	-44,89921	72,00921
Level3		5	3,402	21,36045	27	0,22524	0,99852	0,05	0	-55,05221	61,85621

Bonferroni Test

Sig equals 1 indicates that the means difference is significant at the 0,05 level.
 Sig equals 0 indicates that the means difference is not significant at the 0,05 level.
 Sig equals -1 indicates that the means difference is not tested.

Resultados e discussão

Tabela 10 - ANÁLISE 2 - variância de $p < 0.1$ (menor que 10%).

Tukey Test											
		Index	Mean Difference	Std. Error	DF	t value	Prob> t	Alpha	Sig Flag	90% LCL	90% UCL
Level1	Level2	0	13,277	21,36045	27	0,87903	0,92427	0,1	0	-38,11104	64,66504
	Level3	1	23,43	21,36045	27	1,55123	0,69441	0,1	0	-27,95804	74,81804
	Level4	2	26,832	21,36045	27	1,77647	0,59772	0,1	0	-24,55604	78,22004
Level2	Level3	3	10,153	21,36045	27	0,6722	0,96388	0,1	0	-41,23504	61,54104
	Level4	4	13,555	21,36045	27	0,89744	0,91993	0,1	0	-37,83304	64,94304
Level3		5	3,402	21,36045	27	0,22524	0,99852	0,1	0	-47,98604	54,79004

+ Bonferroni Test
 Sig equals 1 indicates that the means difference is significant at the 0,1 level.
 Sig equals 0 indicates that the means difference is not significant at the 0,1 level.
 Sig equals -1 indicates that the means difference is not tested.

c) ANÁLISE 3

Os procedimentos para a quantificação e processamento das imagens, desta análise, foram similares a ANÁLISE 1, entretanto, para o processamento foi selecionada a mesma região utilizada para a ANÁLISE 1, exemplificada pela Figura 70, porém, não foi realizado a retirada do background da imagem, ou seja, a vermelhidão natural da pele conforme observado na Figura 71.

Figura 70 – Imagem de fluorescência utilizada na ANÁLISE 3.

Figura 71 – Imagem de fluorescência com processamento utilizada na ANÁLISE 3.

No gráfico da Figura 72 é possível observar uma diminuição da intensidade média de fluorescência na região do vermelho de todos os grupos analisados. Nos grupos G1, G2, G3 e G4 é possível observar uma redução de 2%, 13% e 7% e 2%, respectivamente.

Figura 72 – Gráfico de intensidade média e desvio padrão da ANÁLISE 3

Para avaliar se as médias entre os grupos são estatisticamente diferentes foi utilizado a análise de variância pelo método One-Way ANOVA com o teste de Tukey. Pode-se observar que tanto para uma variância de $p < 0.05$ (menor que 5%), como pode ser observado na Tabela 11, quanto para uma variância de $p < 0,1$ (menor que 10%), nenhum grupo foi estatisticamente diferente (Tabela 12).

Tabela 11 - ANÁLISE 3 - variância de $p < 0.05$ (menor que 5%).

Tukey Test											
		Index	Mean Difference	Std. Error	DF	t value	Prob> t	Alpha	Sig Flag	95% LCL	95% UCL
Level1	Level2	0	11,383	6,07693	27	2,64903	0,263	0,05	0	-5,2469	28,0129
	Level3	1	6,029	6,07693	27	1,40306	0,7551	0,05	0	-10,6009	22,6589
	Level4	2	0,13	6,07693	27	0,03025	1	0,05	0	-16,4999	16,7599
Level2	Level3	3	-5,354	6,07693	27	1,24597	0,81461	0,05	0	-21,9839	11,2759
	Level4	4	-11,253	6,07693	27	2,61878	0,27218	0,05	0	-27,8829	5,3769
Level3	Level4	5	-5,899	6,07693	27	1,37281	0,76701	0,05	0	-22,5289	10,7309

Sig equals 1 indicates that the means difference is significant at the 0,05 level.
 Sig equals 0 indicates that the means difference is not significant at the 0,05 level.
 Sig equals -1 indicates that the means difference is not tested.

Tabela 12 - ANÁLISE 3 - variância de $p < 0.1$ (menor que 10%).

Tukey Test											
		Index	Mean Difference	Std. Error	DF	t value	Prob> t	Alpha	Sig Flag	90% LCL	90% UCL
Level1	Level2	0	11,383	6,07693	27	2,64903	0,263	0,1	0	-3,23661	26,00261
	Level3	1	6,029	6,07693	27	1,40306	0,7551	0,1	0	-8,59061	20,64861
	Level4	2	0,13	6,07693	27	0,03025	1	0,1	0	-14,48961	14,74961
Level2	Level3	3	-5,354	6,07693	27	1,24597	0,81461	0,1	0	-19,97361	9,26561
	Level4	4	-11,253	6,07693	27	2,61878	0,27218	0,1	0	-25,87261	3,36661
Level3	Level4	5	-5,899	6,07693	27	1,37281	0,76701	0,1	0	-20,51861	8,72061

Bonferroni Test

Sig equals 1 indicates that the means difference is significant at the 0,1 level.
 Sig equals 0 indicates that the means difference is not significant at the 0,1 level.
 Sig equals -1 indicates that the means difference is not tested.

d) ANÁLISE 4

Os procedimentos para a quantificação e processamento das imagens, desta análise, foram similares a ANÁLISE 1, entretanto para o processamento foi selecionada toda a imagem de fluorescência, exemplificada pela Figura 73 e não foi realizado a retirada do background da imagem, ou seja, a vermelhidão natural da pele como mostrado na Figura 74.

Figura 73 – Imagem de fluorescência utilizada na ANÁLISE 4

Figura 74 – Imagem de fluorescência com processamento utilizado na ANÁLISE 4.

No gráfico da Figura 75 é possível observar uma diminuição da intensidade média de fluorescência na região do vermelho de todos os grupos analisados. Nos grupos G1, G2, G3 e G4 a redução observada é de 2%, 11%, 7% e 0,2%, respectivamente.

Figura 75 – Gráfico de intensidade média e desvio padrão da ANÁLISE 4.

Para avaliar se as médias entre os grupos são estatisticamente diferentes foi utilizado a análise de variância pelo método One-Way ANOVA com o teste de Tukey. Tanto para uma variância de $p < 0.05$ (menor que 5%), como pode ser observado na Tabela 13, quanto para variância de $p < 0,1$ (menor que 10%), como pode ser observado na Tabela 14, nenhum grupo foi estatisticamente diferente.

Tabela 13 - ANÁLISE 4 - variância de $p < 0.05$ (menor que 5%).

Tukey Test											
		Index	Mean Difference	Std. Error	DF	t value	Prob> t	Alpha	Sig Flag	95% LCL	95% UCL
Level1	Level2	0	9,52	5,47923	27	2,45715	0,32477	0,05	0	-5,47426	24,51426
	Level3	1	5,274	5,47923	27	1,36124	0,77151	0,05	0	-9,72026	20,26826
	Level4	2	-1,688	5,47923	27	0,43568	0,98963	0,05	0	-16,68226	13,30626
Level2	Level3	3	-4,246	5,47923	27	1,09591	0,86507	0,05	0	-19,24026	10,74826
	Level4	4	-11,208	5,47923	27	2,89283	0,19678	0,05	0	-26,20226	3,78626
Level3	Level4	5	-6,962	5,47923	27	1,79692	0,58885	0,05	0	-21,95626	8,03226

Bonferroni Test

Sig equals 1 indicates that the means difference is significant at the 0,05 level.
 Sig equals 0 indicates that the means difference is not significant at the 0,05 level.
 Sig equals -1 indicates that the means difference is not tested.

Resultados e discussão

Tabela 14 - ANÁLISE 4 - variância de $p < 0.1$ (menor que 10%)

Tukey Test											
		Index	Mean Difference	Std. Error	DF	t value	Prob> t	Alpha	Sig Flag	90% LCL	90% UCL
Level1	Level2	0	9,52	5,47923	27	2,45715	0,32477	0,1	0	-3,6617	22,7017
	Level3	1	5,274	5,47923	27	1,36124	0,77151	0,1	0	-7,9077	18,4557
	Level4	2	-1,688	5,47923	27	0,43568	0,98963	0,1	0	-14,8697	11,4937
Level2	Level3	3	-4,246	5,47923	27	1,09591	0,86507	0,1	0	-17,4277	8,9357
	Level4	4	-11,208	5,47923	27	2,89283	0,19678	0,1	0	-24,3897	1,9737
Level3	Level4	5	-6,962	5,47923	27	1,79692	0,58885	0,1	0	-20,1437	6,2197

+ Bonferroni Test
 Sig equals 1 indicates that the means difference is significant at the 0,1 level.
 Sig equals 0 indicates that the means difference is not significant at the 0,1 level.
 Sig equals -1 indicates that the means difference is not tested.

e) Conclusão

Este experimento teve como objetivo a avaliação da eficácia do sistema de diagnóstico por imagens de fluorescência e o tratamento da acne por luz associado a um cosmético. Para isso 4 grupos foram testados, sendo: Grupo I: (controle); Grupo II: LED (405 nm); Grupo III: cosmético, Grupo IV: cosmético + LED (405 nm), onde todos os grupos passaram pelos seguintes experimentos: 1 - Testes *in vitro* com *P. acnes*; 2 - Testes *in vitro* dos swabs coletados dos voluntários; 3 - Testes *in vivo* com voluntárias. A conclusão de cada teste é descrita abaixo:

1 - Testes *in vitro* com *P. acnes*

Nos testes microbiológicos de cultura de *P. acnes*, os grupos G3 e G4 inibiram o crescimento da bactéria, sendo que, ambos demonstraram a formação de halo de inibição. Qualitativamente o efeito da inibição para ambos os procedimentos foram semelhantes.

2 - Testes *in vitro* dos swabs coletados dos voluntários;

Para os testes dos swabs coletados dos voluntários, os grupos G3 (utilização cosmético) e G4 (cosmético e luz/LED associados) apresentaram redução bacteriana na pele, no entanto, esta redução é maior no Grupo 4 quando se associa luz com a formulação cosmética. Isto pode ser devido a somatória dos efeitos de inibição.

3 - Testes *in vivo* com voluntárias

Os dados dos testes *in vivo* foram analisados de 4 maneiras distintas, entretanto, somente os resultados para a ANÁLISE 2 refletiu o mesmo comportamento dos testes 1 e 2 (testes *in vitro* para *P. Acnes* e swabs dos

voluntários), onde para o grupo G1 ocorreu um aumento da intensidade média de fluorescência na região do vermelho e para os grupos G2, G3 e G4 foi possível observar uma redução média de 8%, 18% e 21%, respectivamente.

De maneira geral é possível observar diferenças entre os grupos quando analisamos somente os valores médios, entretanto, é possível observar uma grande dispersão dos dados, que pode ser evidenciada pela análise estatística dos resultados, sendo que apenas na ANÁLISE 1 o grupo G1 foi estatisticamente diferente de G2.

Análises utilizando fluorescência são reportadas na literatura científica como excelentes métodos de diagnóstico por apresentar grande facilidade na aquisição dos dados e por proporcionarem dados em tempo real, entretanto, é uma técnica que requer muitos cuidados na coleta dos dados, por ser uma técnica que é muito sensível os dados sofrem grandes interferências do meio externo.

B) Avaliação Subjetiva – Eficácia percebida pelos voluntários

Para este teste, realizou-se uma análise subjetiva, ou seja, eficácia percebida pelos voluntários da melhora do tratamento da acne aplicando-se um questionário, de acordo com a Tabela 15

Tabela 15 – Questionário de análise subjetiva para o tratamento da acne.

Pergunta	Resposta	
	Sim	Não
Você sentiu a sua pele menos oleosa após o uso do produto/luz?	83%	17%
Você sentiu a sua pele mais uniforme com menos vermelhidão?	67%	33%
Você sentiu que o tamanho dos poros do rosto diminuíram?	28%	72%
Você sentiu que suas espinhas e/ou cravos diminuíram?	56%	44%
O cosmético/luz causou alguma sensação de desconforto? (vermelhidão, coceira, ardência, etc.)	0%	100%

De acordo com os testes realizados acima, não se observou diferença significativa entre os tratamentos. No entanto, de acordo com a avaliação subjetiva, observou-se que os voluntários relataram melhora significativa.

6 CONCLUSÃO GERAL

O presente trabalho visou solucionar problemas relacionados ao diagnóstico e o tratamento da acne. Com relação ao diagnóstico um dos principais problemas é a realização do diagnóstico por inspeção visual a olho nu, que é subjetivo e baseado na experiência do profissional, outro problema é a classificação da doença que não é bem definida na literatura, onde são encontrados mais de 25 métodos diferentes. Com relação ao tratamento, o problema principal são os diversos efeitos colaterais promovidos pelo uso de medicamentos e a resistência bacteriana devido ao uso de antibióticos e a contra indicação para gestantes e lactantes. Assim o objetivo deste trabalho foi o estudo da viabilidade de um protótipo integrado para o diagnóstico e tratamento da acne propondo uma nova solução para o diagnóstico e tratamento de uma das mais comuns doenças de pele, que possui alto grau de reincidência e que traz aos pacientes grandes transtornos psicológicos e sociais.

O ineditismo deste trabalho situa-se na integração de um sistema que permite visualizar, por imagens de fluorescência, onde se localiza a principal bactéria da causadora da acne (*P. acnes*), proporcionando ao clínico uma ferramenta para otimizar o tratamento, pois permite detectar a formação, acúmulo e declínio do *P. acnes* antes, durante e após os tratamentos. A integração se completa ao associarmos o sistema de tratamento por luz que permite o tratamento por fototerapia e terapia fotodinâmica.

Para isso foi realizado o desenvolvimento do protótipo-v1 do sistema de diagnóstico e tratamento da acne que teve como resultado o desenvolvimento de um sistema integrado que é compacto, de fácil utilização e versátil devido aos seus diversos usos e tipos de configuração possíveis, dando destaque à possibilidade de se realizar a visualização de bactérias utilizando somente o equipamento, ou com os periféricos de registro de imagem e visualização adicionais. Outras características importantes também foram conseguidas, tais como leveza, praticidade na alteração da intensidade de iluminação, boa intensidade e uniformidade de iluminação e por fim uma boa qualidade e detecção das imagens de fluorescência na região do vermelho, proporcionada pela boa escolha e otimização dos filtros ópticos utilizados.

Com relação os experimentos clínicos, foi possível realizar a detecção da bactéria *P. acnes* e fazer uma análise de sua presença, formação e declínio em seis

experimentos, através de processamento de imagens e análises comparativas. Sendo que no experimento 1 a 4 se avaliou a qualidade e configurações do equipamento de diagnóstico por fluorescência e os experimento 5 e 6 avaliaram tanto o sistema de diagnóstico como o sistema de tratamento. Assim, através destes experimentos realizados foi possível demonstrar uma viabilidade da utilização do protótipo-v1 como sistema de diagnóstico e tratamento da acne, demonstrando que é possível se realizar o monitoramento das bactérias causadoras da acne através das imagens de fluorescência e o tratamento da acne utilizando técnicas ópticas.

A versão testada e validada do protótipo-v1 permitiu o início do desenvolvimento do protótipo-v2 que amplia a aplicação e efetividade no tratamento da acne. Essa nova versão permitirá a visualização das imagens de fluorescência da face toda, permitindo uma visão mais ampla da face em uma única imagem, não necessitando a realização de uma varredura como é realizado com protótipo-v1. O protótipo-v2 também permitirá a captura de imagens utilizando luz branca e infravermelha e possuirá um software de processamento integrado. Com relação ao tratamento o protótipo-v2 permitirá a aplicação da luz também em toda a face, permitindo um tratamento em uma sessão, o que diferencia do protótipo-v1 onde é realizada uma aplicação pontual. O protótipo-v2 possuirá como fonte de excitação o LED azul para a realização da terapia fotodinâmica utilizando-se o agente fotossensível que é a Curcumina.

Assim o desenvolvimento do protótipo-v1 demonstrou a viabilidade do diagnóstico e tratamento da acne por técnicas ópticas e permitiu o avanço neste estudo com o desenvolvimento do protótipo-v2 que é descrito na seção de perspectivas deste trabalho.

7 PERSPECTIVAS

7.1 PROTÓTIPO-V1

Por sua versatilidade o equipamento de visualização e tratamento de bactérias causadoras da acne possibilita 3 tipos de configurações que são: 1 - Sistema de diagnóstico + cosmético; 2 - Sistema de diagnóstico + Sistema de tratamento e 3 - Sistema de diagnóstico + Sistema de tratamento + cosmético/dermocosmético. Esta versatilidade de configurações são melhor detalhadas abaixo.

7.1.1 Configuração 1: Sistema de diagnóstico + cosmético

Nesta configuração, combina-se à solução do sistema de diagnóstico associado a um cosmético, onde, primeiramente seria realizada a visualização das bactérias no paciente e posteriormente seria oferecido o tratamento cosmético que possui a função bactericida e bacteriostática para a remoção efetiva das bactérias causadoras da acne.

Na Figura 76 é apresentado o desenho esquemático do sistema de diagnóstico de bactérias associado ao cosmético. O sistema de diagnóstico é composto de sistema de visualização da fluorescência emitida pelas bactérias causadoras da acne e um monitor onde o paciente poderá visualizar a quantidade de bactéria presente em seu rosto. Após a visualização das bactérias seria proposto ao paciente o uso de um cosmético que tem a função da remoção das bactérias presentes em seu rosto.

Figura 76 - Desenho esquemático do sistema de diagnóstico da acne.

7.1.2 Configuração 2: Sistema de diagnóstico + Sistema de tratamento

Nesta configuração, combina-se à solução do sistema de diagnóstico e o sistema de tratamento por luz. Neste caso, primeiramente seria realizada a visualização das bactérias no paciente e posteriormente utilizaria o sistema de tratamento por luz associado ou não a um agente fotossensível. Na Figura 77 é apresentado o desenho esquemático do sistema de diagnóstico e tratamento por luz das bactérias causadoras da acne. O sistema é composto de sistema de visualização da fluorescência emitida pelas bactérias, um sistema de tratamento composto por LEDs (violeta, amarelo, vermelho, entre outros), dependendo do tipo de tratamento que se deseja realizar.

Figura 77 - Desenho esquemático do sistema de diagnóstico e tratamento da Acne.

7.1.3 Configuração 3: Sistema de diagnóstico + Sistema de tratamento + cosmético/dermocosmético.

Nesta configuração, combina-se a solução do sistema de diagnóstico, o sistema de tratamento por luz (fototerapia ou terapia fotodinâmica) e um sistema de captura, processamento e análise das imagens do sistema de diagnóstico e o cosmético. Neste caso, primeiramente seria realizada a visualização das bactérias no paciente e posteriormente o profissional da área faria a captura, processamento e análise das imagens e utilizaria o sistema de tratamento por luz associado ao cosmético/dermocosmético ou outro tipo de tratamento recomendado ao seu paciente.

Na Figura 78 é apresentado o desenho esquemático do sistema de diagnóstico e tratamento por luz das bactérias, a unidade de captura, processamento e análise das imagens do sistema de diagnóstico e o cosmético. O

sistema é composto de sistema de visualização da fluorescência emitida pelas bactérias, um sistema de tratamento composto por LEDs (violeta, amarelo, vermelho, entre outros) e um software para armazenamento e processamento das imagens e o cosmético.

Figura 78 - Desenho esquemático do sistema de diagnóstico, tratamento da acne, unidade de processamento e cosmético.

O equipamento de visualização, tratamento e unidade de processamento poderia ser utilizado em clínicas de estética, dermatológicas tendo a função de visualização de bactérias causadoras de acne, proporcionando ao profissional da área um diagnóstico mais preciso, pois este iria evidenciar as bactérias causadoras da acne na pele dos seus pacientes. Para essa aplicação poderia ser desenvolvidos produtos cosméticos e metodologias de tratamentos com os profissionais da área a fim de auxiliar de forma efetiva a prática clínica, em nível mais profundo, dos procedimentos dermatológicos (fototerapia e Terapia Fotodinâmica).

7.2 PROTÓTIPO-V2

7.2.1 Visão geral

O protótipo-v2 visa a integração completa do sistema de diagnóstico e tratamento da acne, trazendo avanços com relação ao protótipo-v1. Uma visão geral do protótipo-v2 pode ser observado na Figura 79. O equipamento é composto de um sistema de visualização da face e um sistema de tratamento da acne.

Figura 79 – Vista do sistema completo de visualização e tratamento da acne

O protótipo-v2 possuirá as seguintes características:

Sistema de diagnóstico

- Imagem branca (LED branco)
- Imagem de fluorescência (LED em 405 nm)
- Imagem de infravermelho próximo (LED em 850 nm)

Sistema de tratamento da acne

- Irradiação com LEDs violeta (405 nm)
- Irradiação com LEDs violeta (450 nm)
- Irradiação com LEDs violeta (850 nm)

Na Figura 80 é possível observar o equipamento posicionado em frente ao rosto de um paciente. É possível observar que os LEDs de diagnóstico e tratamento estão distribuídos por todo equipamento permitindo o diagnóstico e tratamento completo da face. A câmera para o diagnóstico se localiza na posição central do equipamento.

Figura 80 - Vista do sistema de visualização e tratamento da acne e face feminina.

7.2.2 Testes Clínicos

Para a validação do sistema de diagnóstico e tratamento são propostos os seguintes experimentos detalhados abaixo:

Sistema de mapeamento da face

- Imagem branca (LED branco)
- Imagem de fluorescência (LED em 405 nm)
- Imagem de infravermelho próximo (LED em 850)
- Iluminação/processamento de rugas

Tratamento da Acne por TFD

- TFD com Curcumina (Azul 440-450 nm)

Protocolo piloto:

- Grupo I: Curcumina (2,5%) + Luz azul (Intensidade 1)
- Grupo I: Curcumina (2,5%) + Luz azul (Intensidade 2)
- Grupo I: Curcumina (2,5%) + Luz azul (Intensidade 3)

- Grupo II: Curcumina (5%) + Luz azul (Intensidade 1)
- Grupo II: Curcumina (5%) + Luz azul (Intensidade 2)
- Grupo II: Curcumina (5%) + Luz azul (Intensidade 3)

- Grupo III: Curcumina (7,5%) + Luz azul (Intensidade 1)
- Grupo III: Curcumina (7,5%) + Luz azul (Intensidade 2)
- Grupo III: Curcumina (7,5%) + Luz azul (Intensidade 3)

Protocolo final:

Estudo clínico com 3 grupos de 10 pessoas por 8 sessões ao longo de 4 semanas.

- Captura de imagens com o sistema de mapeamento da face:
 - T0 - antes da TFD
 - T1 - imediatamente após a TFD
- Grupo I: Luz azul
- Grupo II: Curcumina
- Grupo III: Curcumina + Luz azul

7.2.3 Experimento 1

A primeira versão do protótipo-v2 em bancada permitiu o teste do sistema de diagnóstico por fluorescência da face. Foram obtidas 3 imagens de fluorescência sendo: 1 - região central; 2- lateral direita e 3 - lateral esquerda da face.

A Figura 81 apresenta a imagem de fluorescência da região central da face, onde a fluorescência na região do vermelho indica a presença do *P. acnes* e por consequência uma região de maior oleosidade da pele.

Figura 81 – Imagens de fluorescência região frontal da face.

A Figura 82 apresenta a imagem de fluorescência da lateral direita e lateral esquerda da face, onde a fluorescência na região do vermelho indica a presença do *P. acnes*.

Figura 82 – Imagens de fluorescência da lateral direita e lateral esquerda da face.

A Figura 83 apresenta as imagens de fluorescência da região central, lateral direita e lateral esquerda da face em uma única imagem. Essa imagem permite ao clínico uma análise geral, rápida e fácil do estado da face que evidencia a localização do *P. acnes*, proporcionando ao tratamento uma maior efetividade devido ao diagnóstico mais efetivo.

Figura 83 – Imagens de fluorescência da região central, lateral direita e lateral esquerda da face.

8 REFERÊNCIAS

1. LAKOWICZ, J.R., Principles of Fluorescence Spectroscopy. 3rd ed. ed. New York: Springer 960, 2006.
2. Wolf, D.E., Fundamentals of fluorescence and fluorescence microscopy. **Methods Cell Biol**, v. 81, n., p. 63-91, 2007.
3. Mordas, A., L. Bloznelyte-Plesniene, V. Cepulis, J. Venius, J. Liutkeviciute-Navickiene, and L. Rutkovskiene, Intra-arterial Fluorescence Diagnostics of Oral Cancer. **European Journal of Cancer**, v. 47, n., p. S573-S573, 2011.
4. Shin, D., N. Vigneswaran, A. Gillenwater, and R. Richards-Kortum, Advances in fluorescence imaging techniques to detect oral cancer and its precursors. **Future Oncology**, v. 6, n. 7, p. 1143-1154, 2010.
5. Mallia, R.J., N. Subhash, P. Sebastian, R. Kumar, S.S. Thomas, A. Mathews, and J. Madhavan, In vivo temporal evolution of ALA-induced normalized fluorescence at different anatomical locations of oral cavity: Application to improve cancer diagnostic contrast and potential. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 7, n. 3, p. 162-175, 2010.
6. Francisco, A.L.N., W.R. Correr, C. Kurachi, C.A.L. Pinto, and L.P. Kowalski, Fluorescence spectroscopy for early detection of oral cancer. **Histopathology**, v. 57, n., p. 133-133, 2010.
7. Pavlova, I., M. Williams, A. El-Naggar, R. Richards-Kortum, and A. Gillenwater, Understanding the biological basis of autofluorescence imaging for oral cancer detection: High-resolution fluorescence microscopy in viable tissue. **Clinical Cancer Research**, v. 14, n. 8, p. 2396-2404, 2008.
8. Poh, C.F., L. Zhang, D.W. Anderson, J.S. Durham, R.M. Williams, R.W. Priddy, K.W. Berean, S. Ng, O.L. Tseng, C. MacAulay, and M.P. Rosin, Fluorescence visualization detection of field alterations in tumor margins of oral cancer patients. **Clinical Cancer Research**, v. 12, n. 22, p. 6716-6722, 2006.
9. Wang, C.Y., T.M. Tsai, C.T. Chen, C.F. Chiang, H.M. Chen, C.P. Chiang, and leee, A fluorescence imaging system for oral cancer and precancer detection. leee Embs Apbme 2003. 152-153, 2003.
10. Ebihara, A., T.B. Krasieva, L.H.L. Liaw, S. Fago, D. Messadi, K. Osann, and P. Wilder-Smith, Detection and diagnosis of oral cancer by light-induced fluorescence. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 32, n. 1, p. 17-24, 2003.
11. Betz, C.S., H. Stepp, P. Janda, S. Arbogast, G. Grevers, R. Baumgartner, and A. Leunig, A comparative study of normal inspection, autofluorescence and 5-

- ALA-induced PPIX fluorescence for oral cancer diagnosis. **Int J Cancer**, v. 97, n. 2, p. 245-252, 2002.
12. Leunig, A., M. Mehlmann, C. Betz, H. Stepp, S. Arbogast, G. Grevers, and R. Baumgartner, Fluorescence staining of oral cancer using a topical application of 5-aminolevulinic acid: fluorescence microscopic studies. **Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology**, v. 60, n. 1, p. 44-49, 2001.
 13. Onizawa, K., H. Saginoya, Y. Furuya, H. Yoshida, and H. Fukuda, Usefulness of fluorescence photography for diagnosis of oral cancer. **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 28, n. 3, p. 206-210, 1999.
 14. Onizawa, K., H. Saginoya, Y. Furuya, and H. Yoshida, Fluorescence photography as a diagnostic method for oral cancer. **Cancer Letters**, v. 108, n. 1, p. 61-66, 1996.
 15. Amaechi, B.T. and S.M. Higham, Diagnosis of dental caries using quantitative light-induced fluorescence. **Diagnostic Optical Spectroscopy in Biomedicine**, v. 2, n. 32, p. 110-117, 2001.
 16. Heinrich-Weltzien, R., J. Kuhnisch, M. van der Veen, E.D. de Jong, and L. Stosser, Quantitative light-induced fluorescence (QLF) - A potential method for the dental practitioner. **Quintessence International**, v. 34, n. 3, p. 181-188, 2003.
 17. Hogan, M.M., J.D. Harless, P.A. Hancock, and J.S. Wefel, Detection of early artificial caries with QLF and DIAGNOdent. **Journal of Dental Research**, v. 82, n., p. B63-B63, 2003.
 18. Pretty, I.A., W.M. Edgar, and S.M. Higham, The erosive potential of commercially available mouthrinses on enamel as measured by Quantitative Light-induced Fluorescence (QLF). **Journal of Dentistry**, v. 31, n. 5, p. 313-319, 2003.
 19. Pretty, I.A., P.W. Smith, W.M. Edgar, and S.M. Higham, Detection of in vitro demineralization adjacent to restorations using quantitative light induced fluorescence (QLF). **Dental Materials**, v. 19, n. 5, p. 368-374, 2003.
 20. Stookey, G.K., Optical methods--quantitative light fluorescence. **J Dent Res**, v. 83 Spec No C, n., p. C84-8, 2004.
 21. Sivieri-Araujo, G., C.R. Fontana, M.M. Costa, A.N.S. Rastelli, L.P.C. Pereira, C. Kurachi, and V.S. Bagnato, Monitoring scaling and dental calculus removal with an optical fluorescence system. **Laser Physics**, v. 24, n. 8, p., 2014.
 22. Cassini, M.F., M.M. da Costa, V.S. Bagnato, L.F. Tirapelli, G.E.B. Silva, A.C.P. Martins, and S. Tuccl, Evaluation by Fluorescence Spectroscopy of the Most Appropriate Renal Region for Obtaining Biopsies: A Study in the Rat. **Transplantation Proceedings**, v. 45, n. 5, p. 1761-1765, 2013.

Referências

23. Cassini, M.F., M.M. da Costa, V.S. Bagnato, L.F. Tirapelli, G.E.B. Silva, C.A.F. Molina, A.C.P. Martins, and S. Tucci, Fluorescence Spectroscopy in Renal Ischemia and Reperfusion: Noninvasive Evaluation of Organ Viability. **Transplantation Proceedings**, v. 45, n. 5, p. 1715-1719, 2013.
24. de Leeuw, J., N. van der Beek, W.D. Neugebauer, P. Bjerring, and H.A.M. Neumann, Fluorescence Detection and Diagnosis of Non-Melanoma Skin Cancer at an Early Stage. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 41, n. 2, p. 96-103, 2009.
25. Hewett, J., T. McKechnie, and W. Sibbett, Fluorescence detection of superficial skin cancers. **Journal of Modern Optics**, v. 47, n. 11, p. 2021-2027, 2000.
26. Yaroslavsky, A.N., V. Neel, and R.R. Anderson, Fluorescence polarization imaging for delineating nonmelanoma skin cancers. **Optics Letters**, v. 29, n. 17, p. 2010-2012, 2004.
27. Zeng, H.S., H. Lui, D.I. McLean, C. MacAulay, and Osa, *Fluorescence spectroscopy and imaging for skin cancer detection and evaluation*, in *Biomedical Topical Meetings, Technical Digest*. 2000. p. 18-20.
28. De Beule, P.A.A., C. Dunsby, N.P. Galletly, G.W. Stamp, A.C. Chu, U. Anand, P. Anand, C.D. Benham, A. Naylor, and P.M.W. French, A hyperspectral fluorescence lifetime probe for skin cancer diagnosis. **Review of Scientific Instruments**, v. 78, n. 12, p., 2007.
29. Brancalion, L., A.J. Durkin, J.H. Tu, G. Menaker, J.D. Fallon, and N. Kollias, In vivo fluorescence spectroscopy of nonmelanoma skin cancer. **Photochem Photobiol**, v. 73, n. 2, p. 178-183, 2001.
30. Panjehpour, M., C.E. Julius, M.N. Phan, T. Vo-Dinh, and S. Overholt, Laser-induced fluorescence spectroscopy for in vivo diagnosis of non-melanoma skin cancers. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 31, n. 5, p. 367-373, 2002.
31. van den Akker, J., H.S. de Bruijn, G. van Henegouwen, W.M. Star, and H. Sterenborg, Protoporphyrin IX fluorescence kinetics and localization after topical application of ALA pentyl ester and ALA on hairless mouse skin with UVB-induced early skin cancer. **Photochem Photobiol**, v. 72, n. 3, p. 399-406, 2000.
32. Borisova, E.G., L.P. Angelova, and E.P. Pavlova, Endogenous and Exogenous Fluorescence Skin Cancer Diagnostics for Clinical Applications. **Ieee Journal of Selected Topics in Quantum Electronics**, v. 20, n. 2, p., 2014.
33. Saúde, M.d. Portaria Nº 978, de 16 de maio de 2008. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2008/prt0978_16_05_2008.html>. Acesso em: 01 de abril de 2012.

34. Saúde, M.d. Portaria Nº 1.284, de 26 de maio de 2010. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2010/prt1284_26_05_2010.html>. Acesso em: 01 de abril de 2012.
35. Saúde, M.d. Portaria nº 3.089, de 11 de Dezembro de 2013. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2013/prt3089_11_12_2013.html>. Acesso em: 09 de Outubro de 2013.
36. O'Halloran, J., G.C. Miller, and H. Britt, Defining chronic conditions for primary care with ICPC-2. **Fam Pract**, v. 21, n. 4, p. 381-6, 2004.
37. Leyden, J.J., New understandings of the pathogenesis of acne. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 32, n. 5 Pt 3, p. S15-25, 1995.
38. Goulden, V., G.I. Stables, and W.J. Cunliffe, Prevalence of facial acne in adults. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 41, n. 4, p. 577-80, 1999.
39. Cunliffe, W.J. and D.J. Gould, Prevalence of facial acne vulgaris in late adolescence and in adults. **Br Med J**, v. 1, n. 6171, p. 1109-10, 1979.
40. Thiboutot, D., H. Gollnick, V. Bettoli, B. Dreno, S.W. Kang, J.J. Leyden, A.R. Shalita, V. Lozada, D. Berson, A. Finlay, C.L. Goh, M.I. Herane, A. Kaminsky, R. Kubba, A. Layton, Y. Miyachi, M. Perez, J.P. Martin, M. Ramos-e-Silva, J.A. See, N. Shear, J. Wolf, and G.A.I.O. Ac, New insights into the management of acne: An update from the Global Alliance to Improve Outcomes in Acne Group. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 60, n. 5, p. S1-S50, 2009.
41. Gollnick, H.P.M., A.Y. Finlay, N. Shear, and G.A.I.O. A, Can we define acne as a chronic disease? If so, how and when? **American Journal of Clinical Dermatology**, v. 9, n. 5, p. 279-284, 2008.
42. Saitta, P., P. Keehan, J. Yousif, B.V. Way, S. Grekin, and R. Brancaccio, An Update on the Presence of Psychiatric Comorbidities in Acne Patients, Part 2: Depression, Anxiety, and Suicide. **Cutis**, v. 88, n. 2, p. 92-97, 2011.
43. Purvis, D., E. Robinson, S. Merry, and P. Watson, Acne, anxiety, depression and suicide in teenagers: A cross-sectional survey of New Zealand secondary school students. **Journal of Paediatrics and Child Health**, v. 42, n. 12, p. 793-796, 2006.
44. Hull, P.R. and C. D'Arcy, Acne, depression, and suicide. **Dermatologic Clinics**, v. 23, n. 4, p. 665-+, 2005.
45. Gupta, M.A. and A.K. Gupta, Depression and suicidal ideation in dermatology patients with acne, alopecia areata, atopic dermatitis and psoriasis. **British Journal of Dermatology**, v. 139, n. 5, p. 846-850, 1998.

Referências

46. Moustafa, F., R.S. Lewallen, and S.R. Feldman, The psychological impact of rosacea and the influence of current management options. **J Am Acad Dermatol**, v. 71, n. 5, p. 973-980, 2014.
47. Junqueira, L.C. and J. Carneiro, Histologia básica. 12 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.
48. Vilela, A.L.M. A pele e o sentido do tato. Disponível em: <<http://www.afh.bio.br/sentidos/sentidos10.asp>>. Acesso em: 15 de Novembro de 2014.
49. Azulay, R.D. and D.R. Azulay, Dermatologia. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
50. Wohlenhaus, K., Skin Health Information for Teens: Health Tips about Dermatological Concerns and Skin Cancer Risks : Including Facts about Acne, Warts, Allergies, and . and Lifestyle Cho (Teen Health Series). 2 ed. United States: Omnigraphics Inc, 2009.
51. Cunliffe, W.J., Acne-Vulgaris - Pathogenesis and treatment. **British Medical Journal**, v. 280, n. 6229, p. 1394-1396, 1980.
52. Leyden, J.J., Therapy for acne vulgaris. **New England Journal of Medicine**, v. 336, n. 16, p. 1156-1162, 1997.
53. Thiboutot, D.M., Acne - An overview of clinical research findings. **Dermatologic Clinics**, v. 15, n. 1, p. 97-&, 1997.
54. Thiboutot, D.M., A.R. Shalita, P.S. Yamauchi, C. Dawson, N. Kerrouche, S. Arsonnaud, and S.W. Kang, Adapalene gel, 0.1%, as maintenance therapy for acne vulgaris - A randomized, controlled, investigator-blind follow-up of a recent combination study. **Archives of Dermatology**, v. 142, n. 5, p. 597-602, 2006.
55. Shalita, A.R., J.Q. Del Rosso, G.F. Webster, and D.R. Azulay, Acne Vulgaris therapy. 1 ed. United Kingdom: Informa healthcare, 2011.
56. Gollnick, H.P., C.C. Zouboulis, H. Akamatsu, I. Kurokawa, and A. Schulte, Pathogenesis and pathogenesis related treatment of acne. **J Dermatol**, v. 18, n. 9, p. 489-99, 1991.
57. Zouboulis, C.C., Propionibacterium acnes and Sebaceous Lipogenesis: A Love-Hate Relationship? **Journal of Investigative Dermatology**, v. 129, n. 9, p. 2093-2096, 2009.
58. LIBRARY, S.P. Propionibacterium acnes 1. Disponível em: <<http://www.sciencephoto.com/media/472846/view>>. Acesso em: 10 de Novembro de 2014.

-
59. LIBRARY, S.P. Propionibacterium acnes 2. Disponível em: <<http://www.sciencephoto.com/media/472842/view>>. Acesso em: 10 de Novembro de 2014.
60. Amundson, B. Types of acne pimples. Disponível em: <<http://theacneproject.com/types-of-acne-pimples-07/>>. Acesso em: 11 de Novembro de 2014.
61. Degitz, K., M. Placzek, C. Borelli, and G. Plewig, Pathophysiology of acne. **J Dtsch Dermatol Ges**, v. 5, n. 4, p. 316-23, 2007.
62. Pochi, P.E., A.R. Shalita, J.S. Strauss, S.B. Webster, W.J. Cunliffe, H.I. Katz, A.M. Kligman, J.J. Leyden, D.P. Lookingbill, G. Plewig, and et al., Report of the Consensus Conference on Acne Classification. Washington, D.C., March 24 and 25, 1990. **J Am Acad Dermatol**, v. 24, n. 3, p. 495-500, 1991.
63. Lehmann, H.P., K.A. Robinson, J.S. Andrews, V. Holloway, and S.N. Goodman, Acne therapy: a methodologic review. **J Am Acad Dermatol**, v. 47, n. 2, p. 231-40, 2002.
64. Tan, J., B. Wolfe, J. Weiss, L. Stein-Gold, J. Bikowski, J. Del Rosso, G.F. Webster, A. Lucky, D. Thiboutot, J. Wilkin, J. Leyden, and M.M. Chren, Acne severity grading: Determining essential clinical components and features using a Delphi consensus. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 67, n. 2, p. 187-193, 2012.
65. Witkowski, J.A. and L.C. Parish, The assessment of acne: an evaluation of grading and lesion counting in the measurement of acne. **Clin Dermatol**, v. 22, n. 5, p. 394-7, 2004.
66. Burton, J.L., W.J. Cunliffe, I. Stafford, and S. Shuster, The prevalence of acne vulgaris in adolescence. **Br J Dermatol**, v. 85, n. 2, p. 119-26, 1971.
67. Cook, C.H., R.L. Centner, and S.E. Michaels, Acne Grading Method Using Photographic Standards. **Archives of Dermatology**, v. 115, n. 5, p. 571-575, 1979.
68. Nast, A., B. Dreno, V. Bettoli, K. Degitz, R. Erdmann, A.Y. Finlay, R. Ganceviciene, M. Haedersdal, A. Layton, J.L. Lopez-Estebarez, F. Ochsendorf, C. Oprica, S. Rosumeck, B. Rzany, A. Sammain, T. Simonart, N.K. Veien, M.V. Zivkovic, C.C. Zouboulis, and H. Gollnick, European Evidence-based (S3) Guidelines for the Treatment of Acne. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 26, n., p. 1-29, 2012.
69. Dreno, B., A. Khammari, N. Orain, C. Noray, C. Merial-Kieny, S. Mery, and T. Nocera, ECCA grading scale: An original validated acne scar grading scale for clinical practice in dermatology. **Dermatology**, v. 214, n. 1, p. 46-51, 2007.

Referências

70. Dreno, B., P. Humbert, F. Poli, I. Bodokh, M. Chivot, and F. Daniel, ECLA grading scale: A new semi-quantitative method for assessing the severity and the extension of acne lesions. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 108, n. 3, p. 83-83, 1997.
71. Hacivelioglu, S., A.N. Gungor, M. Gencer, A. Uysal, D. Hizli, E. Koc, and E. Cosar, Acne severity and the Global Acne Grading System in polycystic ovary syndrome. **Int J Gynaecol Obstet**, v. 123, n. 1, p. 33-6, 2013.
72. Tan, J.K., X. Zhang, E. Jones, and L. Bulger, Correlation of photographic images from the Leeds revised acne grading system with a six-category global acne severity scale. **J Eur Acad Dermatol Venereol**, v. 27, n. 3, p. e414-9, 2013.
73. Sinclair, W. and H.F. Jordaan, Acne Guideline 2005 Update. **Samj South African Medical Journal**, v. 95, n. 11, p. 883-892, 2005.
74. Industry, F.G.f. Acne Vulgaris: Developing Drugs for Treatment. Disponível em:
<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM071292.pdf>. Acesso em: 10 de Dezembro de 2014.
75. Guerra-Tapia, A., L. Puig-Sanz, J. Conejo Mir, J. Toribio-Perez, C. Iglesias, and I. Zsolt, [Feasibility and reliability of the Spanish version of the Leeds Revised Acne Grading Scale]. **Actas Dermosifiliogr**, v. 101, n. 9, p. 778-84, 2010.
76. O'Brien, S.C., J.B. Lewis, and W.J. Cunliffe, The Leeds revised acne grading system. **Journal of Dermatological Treatment**, v. 9, n. 4, p. 215-220, 1998.
77. Figueiredo, A., A. Massa, A. Picoto, A.P. Soares, A.S. Basto, C. Lopes, C. Resende, C. Rebelo, F.M. Brandão, G.M. Pinto, H.S.d. Oliveira, M. Selores, M. Gonçalo, and R.T. Bello, Avaliação e tratamento do doente com acne - Parte I: Epidemiologia, etiopatogenia, clínica, classificação, impacto psicossocial, mitos e realidades, diagnóstico diferencial e estudos complementares. **Revista Portuguesa de Clínica Geral**, v. 27, n., p. 59-65, 2011.
78. Figueiredo, A., A. Massa, A. Picoto, A.P. Soares, A.S. Basto, C. Lopes, C. Resende, C. Rebelo, F.M. Brandão, G.M. Pinto, H.S.d. Oliveira, M. Selores, M. Gonçalo, and R.T. Bello, Avaliação e tratamento do doente com acne - Parte II: Tratamento tópico, sistêmico e cirúrgico, tratamento da acne na grávida, algoritmo terapêutico. **Revista Portuguesa de Clínica Geral**, v. 27, n., p. 66-76, 2011.
79. Rizova, E. and A. Kligman, New photographic techniques for clinical evaluation of acne. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 15, n., p. 13-18, 2001.

80. Burkhart, C.G. and C.N. Burkhart, Expanding the microcomedone theory and acne therapeutics: *Propionibacterium acnes* biofilm produces biological glue that holds corneocytes together to form plug. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 57, n. 4, p. 722-724, 2007.
81. Borelli, C., K. Merk, M. Schaller, K. Jacob, M. Vogeser, G. Weindl, U. Berger, and G. Plewig, In vivo porphyrin production by P-acnes in untreated acne patients and its modulation by acne treatment. **Acta Dermato-Venereologica**, v. 86, n. 4, p. 316-319, 2006.
82. Kircik, L.H., Re-evaluating treatment targets in acne vulgaris: adapting to a new understanding of pathophysiology. **J Drugs Dermatol**, v. 13, n. 6, p. s57-60, 2014.
83. König, K., H. Schneckenburger, J. Hemmer, B. Tromberg, and R. Steiner, In-Vivo Fluorescence Detection and Imaging of Porphyrin-Producing Bacteria in the Human Skin and in the Oral Cavity for Diagnosis of Acne-Vulgaris, Caries, and Squamous-Cell Carcinoma. **Advances in Laser and Light Spectroscopy to Diagnose Cancer and Other Diseases**, v. 2135, n., p. 129-138, 1994.
84. Myers, M.B., G. Cherry, B.B. Bornside, and G.H. Bornside, Ultraviolet Red Fluorescence of *Bacteroides Melaninogenicus*. **Applied Microbiology**, v. 17, n. 5, p. 760-8, 1969.
85. M. Idrish Miah, Spectroscopic Study of Porphyrin Production and Accumulation in Culture of *Propionibacterium acnes*. **Biotechnology**, v. 1 n. 1, p. 8, 2002.
86. Ashkenazi, H., Z. Malik, Y. Harth, and Y. Nitzan, Eradication of *Propionibacterium acnes* by its endogenic porphyrins after illumination with high intensity blue light. **Fems Immunology and Medical Microbiology**, v. 35, n. 1, p. 17-24, 2003.
87. Goodacre, R., M.J. Neal, D.B. Kell, L.W. Greenham, W.C. Noble, and R.G. Harvey, Rapid identification using pyrolysis mass spectrometry and artificial neural networks of *Propionibacterium acnes* isolated from dogs. **J Appl Bacteriol**, v. 76, n. 2, p. 124-34, 1994.
88. Poppert, S., M. Riecker, and A. Essig, Rapid identification of *Propionibacterium acnes* from blood cultures by fluorescence in situ hybridization. **Diagn Microbiol Infect Dis**, v. 66, n. 2, p. 214-6, 2010.
89. Lucchina, L.C., N. Kollias, R. Gillies, S.B. Phillips, J.A. Muccini, M.J. Stiller, R.J. Trancik, and L.A. Drake, Fluorescence photography in the evaluation of acne. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 35, n. 1, p. 58-63, 1996.

Referências

90. Ahn, H.H., S.N. Kim, and Y.C. Kye, Fluorescence digital photography of acne using a light-emitting diode illuminator. **Skin Research and Technology**, v. 12, n. 4, p. 289-291, 2006.
91. Youn, S.W., J.H. Kim, J.E. Lee, S.O. Kim, and K.C. Park, The facial red fluorescence of ultraviolet photography: is this color due to *Propionibacterium acnes* or the unknown content of secreted sebum? **Skin Research and Technology**, v. 15, n. 2, p. 230-236, 2009.
92. Dobrev, H., Fluorescence diagnostic imaging in patients with acne. **Photodermatology Photoimmunology & Photomedicine**, v. 26, n. 6, p. 285-289, 2010.
93. Malik, A.S., J. Humayun, N. Kamel, and F.B.B. Yap, Novel techniques for enhancement and segmentation of acne vulgaris lesions. **Skin Research and Technology**, v. 20, n. 3, p. 322-331, 2014.
94. Kim, E., D. Kim, E.H. Choi, and B. Jung, Cross-evaluation of facial hyperpigmented lesions based on fluorescence color image and cross-polarized color image. **Skin Research and Technology**, v. 19, n. 1, p. E459-E464, 2013.
95. Kaliyadan, F. and K.T. Ashique, Optimizing the efficacy of targeted phototherapy by marking early vitiligo lesions after visualizing under a Wood's lamp. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 71, n. 3, p. E69-E69, 2014.
96. Ponka, D. and F. Baddar, Wood lamp examination. **Canadian Family Physician**, v. 58, n. 9, p. 976-976, 2012.
97. Asawanonda, P. and C.R. Taylor, Wood's light in dermatology. **Int J Dermatol**, v. 38, n. 11, p. 801-7, 1999.
98. Montagner, S. and A. Costa, Current guidelines in the treatment of acne vulgaris: from the approach in the acute phase to maintaining the clinical benefits. **Surg Cosmet Dermatol**, v. 2, n. 3, p. 13, 2010.
99. Gollnick, H., W. Cunliffe, D. Berson, B. Dreno, A. Finlay, J.J. Leyden, A.R. Shalita, and D. Thiboutot, Management of acne - A report from a global alliance to improve outcomes in acne. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 49, n. 1, p. S1-S37, 2003.
100. Cooper, A.J., Systematic review of *Propionibacterium acnes* resistance to systemic antibiotics. **Medical Journal of Australia**, v. 169, n. 5, p. 259-261, 1998.
101. Coates, P., S. Vyakarnam, J.C. Ravenscroft, G.I. Stables, W.J. Cunliffe, J.J. Leyden, J. Johnson, E.A. Eady, and J.H. Cove, Efficacy of oral isotretinoin in the control of skin and nasal colonization by antibiotic-resistant

- propionibacteria in patients with acne. **British Journal of Dermatology**, v. 153, n. 6, p. 1126-1136, 2005.
102. Burkhardt, C.N. and C.G. Burkhardt, Antibiotic-resistant Propionibacteria acnes may not be the major issue clinically or microbiologically in acne. **British Journal of Dermatology**, v. 148, n. 2, p. 365-366, 2003.
103. Eady, E.A., C.E. Jones, J.L. Tipper, J.H. Cove, W.J. Cunliffe, and A.M. Layton, Antibiotic-Resistant Propionibacteria in Acne - Need for Policies to Modify Antibiotic Usage. **British Medical Journal**, v. 306, n. 6877, p. 555-556, 1993.
104. Eady, E.A., J.H. Cove, K.T. Holland, and W.J. Cunliffe, Erythromycin Resistant Propionibacteria in Antibiotic Treated Acne Patients - Association with Therapeutic Failure. **British Journal of Dermatology**, v. 121, n. 1, p. 51-57, 1989.
105. Sami, N.A., A.T. Attia, and A.M. Badawi, Phototherapy in the treatment of acne vulgaris. **J Drugs Dermatol**, v. 7, n. 7, p. 627-32, 2008.
106. Charakida, A., E.D. Seaton, M. Charakida, P. Mouser, A. Avgerinos, and A.C. Chu, Phototherapy in the treatment of acne vulgaris: what is its role? **American Journal of Clinical Dermatology**, v. 5, n. 4, p. 211-6, 2004.
107. Cunliffe, W.J. and V. Goulden, Phototherapy and acne vulgaris. **Br J Dermatol**, v. 142, n. 5, p. 855-6, 2000.
108. Sigurdsson, V., A.C. Knulst, and H. van Weelden, Phototherapy of acne vulgaris with visible light. **Dermatology**, v. 194, n. 3, p. 256-60, 1997.
109. Fotinos, N., M.A. Campo, F. Popowycz, R. Gurny, and N. Lange, 5-Aminolevulinic acid derivatives in photomedicine: Characteristics, application and perspectives. **Photochem Photobiol**, v. 82, n. 4, p. 994-1015, 2006.
110. Dougherty, T.J., C.J. Gomer, B.W. Henderson, G. Jori, D. Kessel, M. Korbelik, J. Moan, and Q. Peng, Photodynamic therapy. **J Natl Cancer Inst**, v. 90, n. 12, p. 889-905, 1998.
111. Riddle, C.C., S.N. Terrell, M.B. Menser, D.J. Aires, and E.S. Schweiger, A Review of Photodynamic Therapy (PDT) for the Treatment of Acne Vulgaris. **Journal of Drugs in Dermatology**, v. 8, n. 11, p. 1010-1019, 2009.
112. Nestor, M.S., The use of photodynamic therapy for treatment of acne vulgaris. **Dermatologic Clinics**, v. 25, n. 1, p. 47-+, 2007.
113. DeVita, E.C., Photodynamic therapy for the treatment of acne vulgaris. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. n., p. 40-40, 2006.

Referências

114. Hong, S.B. and M.H. Lee, Topical aminolevulinic acid-photodynamic therapy for the treatment of acne vulgaris. **Photodermatology Photoimmunology & Photomedicine**, v. 21, n. 6, p. 322-325, 2005.
115. Pollock, B., D. Turner, M.R. Stringer, R.A. Bojar, V. Goulden, G.I. Stables, and W.J. Cunliffe, Topical aminolaevulinic acid-photodynamic therapy for the treatment of acne vulgaris: a study of clinical efficacy and mechanism of action. **British Journal of Dermatology**, v. 151, n. 3, p. 616-622, 2004.
116. Hongcharu, W., C.R. Taylor, Y.C. Chang, D. Aghassi, K. Suthamjariya, and R.R. Anderson, Topical ALA-photodynamic therapy for the treatment of acne vulgaris. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 115, n. 2, p. 183-192, 2000.
117. Kennedy, J.C., R.H. Pottier, and D.C. Pross, Photodynamic therapy with endogenous protoporphyrin IX: basic principles and present clinical experience. **J Photochem Photobiol B**, v. 6, n. 1-2, p. 143-8, 1990.
118. Taub, A.F., Photodynamic therapy in dermatology: history and horizons. **J Drugs Dermatol**, v. 3, n. 1 Suppl, p. S8-25, 2004.
119. Ammad, S., M. Gonzales, C. Edwards, A.Y. Finlay, and C. Mills, An assessment of the efficacy of blue light phototherapy in the treatment of acne vulgaris. **J Cosmet Dermatol**, v. 7, n. 3, p. 180-8, 2008.
120. Kawada, A., Y. Aragane, H. Kameyama, Y. Sangen, and T. Tezuka, Acne phototherapy with a high-intensity, enhanced, narrow-band, blue light source: an open study and in vitro investigation. **Journal of Dermatological Science**, v. 30, n. 2, p. 129-135, 2002.
121. Noborio, R., E. Nishida, M. Kurokawa, and A. Morita, A new targeted blue light phototherapy for the treatment of acne. **Photodermatol Photoimmunol Photomed**, v. 23, n. 1, p. 32-4, 2007.
122. Omi, T., P. Bjerring, S. Sato, S. Kawana, R.W. Hankins, and M. Honda, 420 nm intense continuous light therapy for acne. **J Cosmet Laser Ther**, v. 6, n. 3, p. 156-62, 2004.
123. Tzung, T.Y., K.H. Wu, and M.L. Huang, Blue light phototherapy in the treatment of acne. **Photodermatol Photoimmunol Photomed**, v. 20, n. 5, p. 266-9, 2004.
124. Papageorgiou, P., A. Katsambas, and A. Chu, Phototherapy with blue (415 nm) and red (660 nm) light in the treatment of acne vulgaris. **Br J Dermatol**, v. 142, n. 5, p. 973-8, 2000.
125. Lee, S.Y., C.E. You, and M.Y. Park, Blue and red light combination LED phototherapy for acne vulgaris in patients with skin phototype IV. **Lasers Surg Med**, v. 39, n. 2, p. 180-8, 2007.

126. Goldberg, D.J. and B.A. Russell, Combination blue (415 nm) and red (633 nm) LED phototherapy in the treatment of mild to severe acne vulgaris. **J Cosmet Laser Ther**, v. 8, n. 2, p. 71-5, 2006.
127. Yilmaz, O., N. Senturk, E.P. Yuksel, F. Aydin, M.G. Ozden, T. Canturk, and A. Turanli, Evaluation of 532-nm KTP laser treatment efficacy on acne vulgaris with once and twice weekly applications. **J Cosmet Laser Ther**, v. 13, n. 6, p. 303-7, 2011.
128. Maxwell, E.L., D.A. Ellis, and H. Manis, Acne rosacea: effectiveness of 532 nm laser on the cosmetic appearance of the skin. **J Otolaryngol Head Neck Surg**, v. 39, n. 3, p. 292-6, 2010.
129. Sadick, N., An open-label, split-face study comparing the safety and efficacy of levulan kerastick (aminolevulonic acid) plus a 532 nm KTP laser to a 532 nm KTP laser alone for the treatment of moderate facial acne. **J Drugs Dermatol**, v. 9, n. 3, p. 229-33, 2010.
130. Baugh, W.P. and W.D. Kucaba, Nonablative phototherapy for acne vulgaris using the KTP 532 nm laser. **Dermatol Surg**, v. 31, n. 10, p. 1290-6, 2005.
131. Cho, S.B., J.S. Kim, and M.J. Kim, Treatment of inflammatory acne vulgaris with combination 595-nm pulsed-dye laser and fractional photothermolysis system. **J Cosmet Laser Ther**, v. 11, n. 3, p. 176-7, 2009.
132. Jung, J.Y., Y.S. Choi, M.Y. Yoon, S.U. Min, and D.H. Suh, Comparison of a pulsed dye laser and a combined 585/1,064-nm laser in the treatment of acne vulgaris. **Dermatol Surg**, v. 35, n. 8, p. 1181-7, 2009.
133. Glaich, A.S., P.M. Friedman, M.H. Jih, and L.H. Goldberg, Treatment of inflammatory facial acne vulgaris with combination 595-nm pulsed-dye laser with dynamic-cooling-device and 1,450-nm diode laser. **Lasers Surg Med**, v. 38, n. 3, p. 177-80, 2006.
134. Chu, A.C., Pulsed dye laser treatment of acne vulgaris. **JAMA**, v. 292, n. 12, p. 1430; author reply 1430, 2004.
135. Bernstein, E.F., Double-pass, low-fluence laser treatment using a large spot-size 1,450 nm laser improves acne. **Lasers Surg Med**, v. 41, n. 2, p. 116-21, 2009.
136. Konishi, N., H. Endo, N. Oiso, S. Kawara, and A. Kawada, Acne phototherapy with a 1450-nm diode laser: an open study. **Ther Clin Risk Manag**, v. 3, n. 1, p. 205-9, 2007.
137. Paithankar, D.Y., E.V. Ross, B.A. Saleh, M.A. Blair, and B.S. Graham, Acne treatment with a 1,450 nm wavelength laser and cryogen spray cooling. **Lasers Surg Med**, v. 31, n. 2, p. 106-14, 2002.

Referências

138. Hong, C.K., J.Y. Kim, K. Li, K.H. Yoo, and S.J. Seo, The use of 1540-nm fractional photothermolysis for the treatment of atrophic facial acne scars. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 60, n. 3, p. Ab196-Ab196, 2009.
139. Bogle, M.A., N.S. Uebelhoer, B. Stewart, J.S. Dover, and K.A. Arndt, 1540 nm Erbium : Glass laser for inflammatory facial acne. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. n., p. 38-38, 2005.
140. Fournier, N., J.M. Lagarde, and S. Mordon, Remodeling of acne scars using a 1540 nm Er : glass laser. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. n., p. 62-62, 2003.
141. Sony. Sony cybershot HX100v Disponível em: <<http://www.sony.pt/support/pt/product/DSC-HX100V>>. Acesso em: 28 de Março de 2012.

9 ANEXOS

9.1 ANEXO A – ALGORITMO PARA PROCESSAMENTO DAS IMAGENS

```
%%
clear all% limpa todas as variáveis;
clc % limpa a tela;
close all;
disp(' ');
disp('    ROTINA PARA O PROCESSAMENTO DE PpIX ');
disp(' ');
disp('    INFORME O DIRETÓRIO ONDE AS IMAGENS SE LOCALIZAM ');
disp(' ');
diret = input('    Aperte qualquer tecla para continuar ');
endereco = uigetdir; % Exibe as caixas de diálogo do Windows onde Retorna nome do
diretório onde se encontram os arquivos

%% =====Rotina 01=====
%=Rotina para selecionar o arquivo que se deseja executar
cd(endereco); % Abre o diretório escolhido;
dbmp=dir('*.jpg'); % Struct contendo os arquivos *.jpg

arquivos={dbmp.name}; % Nomes dos arquivos

[f,g] = size(arquivos); % informa o numero de arquivos que estão no diretório
%% =====Fim da Rotina 01=====

%% =====Rotina 02=====
disp('    Aguarde o processamento... ');
disp(' ');
s=0;
soma=0;
for arq = 1:g
    disp(['    O nome do arquivo processado é: ' arquivos{arq} ']);
    nome_arq = char(arquivos{arq});
    image=imread(arquivos{arq});

    image_red = image;
    image_red(:,:,2) = 0; % zera a matriz Verde
    image_red(:,:,3) = 0; % zera a matriz Azul
    figure, imshow(image_red); % mostra a imagem somente da PpIX
    imwrite(image_red,['PpIX_',nome_arq]); % salva as imagens de fluorescência da PpIX

end
%% =====Fim da Rotina 02=====
```

9.2 ANEXO B – ALGORITIMO PARA PROCESSAMENTO DAS IMAGENS

```

%%
clear all% limpa todas as variáveis;
clc % limpa a tela;
close all;
disp(' ');
disp('    ROTINA PARA O PROCESSAMENTO DE PpIX COM A RETIRADA DE
BACKGROUND ');
disp(' ');
disp('    INFORME O DIRETÓRIO ONDE AS IMAGENS SE LOCALIZAM ');
disp(' ');
diret = input('    Aperte qualquer tecla para continuar ');
endereco = uigetdir; % Exibe as caixas de diálogo do Windows onde Retorna nome do
diretório onde se encontram os arquivos

%% =====Rotina 01=====
%=Rotina para selecionar o arquivo que se deseja executar
cd(endereco); % Abre o diretório escolhido;
dbmp=dir('*.jpg'); % Struct contendo os arquivos *.bmp
arquivos={dbmp.name}; % Nomes dos arquivos
[f,g] = size(arquivos); % informa o numero de arquivos que estão no diretório
%% =====Fim da Rotina 01=====

%% =====Rotina 02=====
%=rotina para selecionar a imagem que será calculo da a intensidade na região
[sel,ok] = listdlg ( ...
    'ListString', arquivos, ... % Lista de opções
    'ListSize',[250 200], ... % Tamanho da lista
    'InitialValue', 1, ... % Primeira opção
    'Name','Arquivos.dat', ... % Titulo da caixa de dialogo
    'PromptString','Diretorio localizado em: C:\MATLAB7\work', ... % Prompt
    'OKString', 'Exibir', ... % Tecla OK
    'CancelString', 'Cancela', ... % Tecla Cancel
    'SelectionMode', 'single'); % Modo de seleção
%importa os dados para o matlab
if ok == 1 % Verifica retorno OK
    image=imread(arquivos{sel}); % Le o arquivo.bmp
end
%% =====Fim da Rotina 02=====

%% =====Rotina 03=====
disp('    Aguarde o processamento... ');
disp(' ');
s=0;
soma=0;
i=0;
for arq = 1:2:g

    i= i+1;
    soma(i,1)=i;
    %-----

```


Anexos

```

% rotina para tratar as imagens no T0
disp([' O nome do arquivo processado é: ' arquivos{arq} ]);
nome_arq = char(arquivos{arq});
image1=imread(arquivos{arq});

%=Rotina que captura o valor do background
image_r1 = imresize(image1,0.15);
[AB, xi, yi] = roipoly(image_r1); % pega a posição x,y da imagem
lin = uint16(yi(1,1)); %linha
col = uint16(xi(1,1)); %coluna
background1 = image_r1(lin,col);

image_red1 = image_r1; %% sem a retirada de background
image_red1(:,:,2) = 0;
image_red1(:,:,3) = 0;
s1 = sum(sum(image_red1));
soma(i,2) = s1(:,:,1);
imwrite(image_red1,['PpIX_',nome_arq]);

image_red2 = image_r1-background1; %% com a retirada de background
image_red2(:,:,2) = 0;
image_red2(:,:,3) = 0;
s2 = sum(sum(image_red2));
soma(i,3) = s2(:,:,1);
imwrite(image_red2,['PpIX-backgroud-',nome_arq]);
%figure, imshow(image_red2);

%-----
% rotina para tratar as imagens no T30
disp([' O nome do arquivo processado é: ' arquivos{arq+1} ]);
nome_arq = char(arquivos{arq+1});
image2=imread(arquivos{arq+1});

%=Rotina que captura o valor do background
image_r2 = imresize(image2,0.15);
[AB, xi, yi] = roipoly(image_r2); % pega a posição x,y da imagem
lin = uint16(yi(1,1)); %linha
col = uint16(xi(1,1)); %coluna
background2 = image_r2(lin,col);

image_red3 = image_r2; %% sem a retirada de background
image_red3(:,:,2) = 0;
image_red3(:,:,3) = 0;
s3 = sum(sum(image_red3));
soma(i,4) = s3(:,:,1);
imwrite(image_red3,['PpIX_',nome_arq]);

image_red4 = image_r2-background2; %% com a retirada de background
image_red4(:,:,2) = 0;
image_red4(:,:,3) = 0;
s4 = sum(sum(image_red4));
soma(i,5) = s4(:,:,1);
imwrite(image_red4,['PpIX-backgroud-',nome_arq]);

disp(' ');

```

```
end
```

```
figure, plot(soma)
```

```
%% =====Fim da Rotina 03=====
```

```
%%
```

```
Endr=input(' Entre com o nome do arquivo a ser salvo e sua extencao: ','s');
```

```
disp(' ')
```

```
End = char(Endr);
```

```
dlmwrite(End,soma,'\t');
```

```
%%
```

9.3 ANEXO C – ALGORITIMO PARA PROCESSAMENTO DAS IMAGENS

```

%%
clear all% limpa todas as variáveis;
clc % limpa a tela;
close all;
disp(' ');
disp('    ROTINA PARA O PROCESSAMENTO DE PpIX COM A RETIRADA DE
BACKGROUND ');
disp(' ');
disp('    INFORME O DIRETÓRIO ONDE AS IMAGENS SE LOCALIZAM ');
disp(' ');
diret = input('    Aperte qualquer tecla para continuar ');
endereco = uigetdir; % Exibe as caixas de diálogo do Windows onde Retorna nome do
diretório onde se encontram os arquivos

%% =====Rotina 01=====
%=Rotina para selecionar o arquivo que se deseja executar
cd(endereco); % Abre o diretório escolhido;
dbmp=dir('*.jpg'); % Struct contendo os arquivos *.bmp
arquivos={dbmp.name}; % Nomes dos arquivos
[f,g] = size(arquivos); % informa o numero de arquivos que estão no diretório
%% =====Fim da Rotina 01=====

%% =====Rotina 02=====
%=rotina para selecionar a imagem que será calculada a intensidade na região
[sel,ok] = listdlg ( ...
    'ListString', arquivos, ... % Lista de opções
    'ListSize',[250 200], ... % Tamanho da lista
    'InitialValue', 1, ... % Primeira opção
    'Name','Arquivos.dat', ... % Título da caixa de dialogo
    'PromptString','Diretorio localizado em: C:\MATLAB7\work', ... % Prompt
    'OKString', 'Exibir', ... % Tecla OK
    'CancelString', 'Cancela', ... % Tecla Cancel
    'SelectionMode', 'single'); % Modo de seleção
%importa os dados para o matlab
if ok == 1 % Verifica retorno OK
    image=imread(arquivos{sel}); % Le o arquivo.bmp
end
%% =====Fim da Rotina 02=====

%% =====Rotina 03=====
%=Rotina que pega a posição X,Y das imagens
image_r = imresize(image,0.15);
[BW, xi, yi] = roipoly(image_r); % pega a posição x,y da imagem
lin = uint16(yi); %linha
col = uint16(xi); %coluna
delta_lin = (max(lin)-min(lin))/2;
delta_col = (max(col)-min(col))/2;
%% =====Fim da Rotina 03=====

```

```

%% =====Rotina 04=====
disp('   Aguarde o processamento... ');
disp(' ');
s=0;
soma=0;
i=0;
for arq = 1:2:g

    i= i+1;
    soma(i,1)=i;
    %-----
    % rotina para tratar as imagens no T0
    disp(['   O nome do arquivo processado é: ' arquivos{arq} ]);
    nome_arq = char(arquivos{arq});
    image1=imread(arquivos{arq});

    %=Rotina que captura o valor do background
    image_r1 = imresize(image1,0.15);
    [AB, xi, yi] = roipoly(image_r1); % pega a posição x,y da imagem
    lin = uint16(yi(1,1)); %linha
    col = uint16(xi(1,1)); %coluna
    background1 = image_r1(lin,col);

    % Rotina que pega a posição x,y da imagem
    [BW, xi, yi] = roipoly(image_r1);
    lin_2 = uint16(yi(1,1)); %linha
    col_2 = uint16(xi(1,1)); %coluna
    lin_in = lin_2 - delta_lin;
    lin_fim = lin_2 + delta_lin;
    col_in = col_2 - delta_col;
    col_fim = col_2 + delta_col;
    new_image1 = image_r1(lin_in:lin_fim,col_in:col_fim,:);

    image_red1 = new_image1; %% sem a retirada de background
    image_red1(:,:,2) = 0;
    image_red1(:,:,3) = 0;
    s1 = sum(sum(image_red1));
    soma(i,2) = s1(:,:,1);
    imwrite(image_red1,['PpIX_',nome_arq]);

    image_red2 = new_image1-background1; %% com a retirada de background
    image_red2(:,:,2) = 0;
    image_red2(:,:,3) = 0;
    s2 = sum(sum(image_red2));
    soma(i,3) = s2(:,:,1);
    imwrite(image_red2,['PpIX-backgroud-',nome_arq]);
    %figure, imshow(image_red2);

    %-----
    % rotina para tratar as imagens no T30
    disp(['   O nome do arquivo processado é: ' arquivos{arq+1} ]);
    nome_arq = char(arquivos{arq+1});
    image2=imread(arquivos{arq+1});

    %=Rotina que captura o valor do background

```

Anexos

```

image_r2 = imresize(image2,0.15);
[AB, xi, yi] = roipoly(image_r2); % pega a posição x,y da imagem
lin = uint16(yi(1,1)); %linha
col = uint16(xi(1,1)); %coluna
background2 = image_r2(lin,col);

% Rotina que pega a posição x,y da imagem
[BW, xi, yi] = roipoly(image_r2);
lin_2 = uint16(yi(1,1)); %linha
col_2 = uint16(xi(1,1)); %coluna
lin_in = lin_2 - delta_lin;
lin_fim = lin_2 + delta_lin;
col_in = col_2 - delta_col;
col_fim = col_2 + delta_col;
new_image2 = image_r2(lin_in:lin_fim,col_in:col_fim);

image_red3 = new_image2; %% sem a retirada de background
image_red3(:,:,2) = 0;
image_red3(:,:,3) = 0;
s3 = sum(sum(image_red3));
soma(i,4) = s3(:,:,1);
imwrite(image_red3,['PpIX_',nome_arq]);

image_red4 = new_image2-background2; %% com a retirada de background
image_red4(:,:,2) = 0;
image_red4(:,:,3) = 0;
s4 = sum(sum(image_red4));
soma(i,5) = s4(:,:,1);
imwrite(image_red4,['PpIX-backgroud-',nome_arq]);

disp(' ');
end

figure, plot(soma)

%% =====Fim da Rotina 04=====

%%
Endr=input(' Entre com o nome do arquivo a ser salvo e sua extencao: ','s');
disp(' ')
End = char(Endr);
dlmwrite(End,soma,'\t');

```


9.4 ANEXO D – DESCRIÇÃO DETALHADA DOS TESTES DE VALIDAÇÃO

A) Testes de avaliação da eficácia do tratamento da acne

Avaliação da eficácia no tratamento da acne para produtos cosméticos é realizada por técnico treinado através da contagem das seguintes lesões acnéicas:

1) Comedão aberto: Massas córneo sebáceas com superfície visível em pontos escuros, sem sinais inflamatórios,

2) Comedão fechado: Massas córneo sebáceas levemente papulosas, com superfície da coloração normal da pele ou esbranquiçada,

3) Pápula: Elevações da pele de coloração rosada ou avermelhada, podendo ser dolorosas e

4) Pústula: Elevações da pele com secreção purulenta no centro. Estes estudos são realizados comparando-se antes e após o uso do produto após algum tempo de uso (14, 28 dias) onde a comparação é realizada em relação ao tempo inicial (antes do uso do produto).

A contagem das lesões é feita em cinco regiões na face (malar direita e esquerda, frontal direita e esquerda e mento). Durante a pesquisa, o voluntário aplica a quantidade de produto que julgar suficiente/adequada conforme o modo de uso do produto. Quando o produto avaliado apresenta diminuição na quantidade de lesões, pode-se sustentar os seguintes claims, de acordo com o desenho do estudo:

1) Melhora da acne, 2) Eficaz do tratamento da acne e 3) Diminuição da acne.

Outros testes realizados também para a acne são os de Pesquisa de Comedogenicidade, que avalia o potencial comedogênico, ou seja, a capacidade do produto em desenvolver “cravos”, através de avaliações clínica e laboratorial. Através da avaliação clínica das lesões acnéicas durante o período de exposição e da avaliação laboratorial baseada na avaliação geral qualitativa da forma, tamanho, estrutura dos comedões, da extensão do envolvimento folicular em relação à área controle, o produto poderá apresentar potencial comedogênico ou não.

A avaliação da eficácia no tratamento da acne será realizada através da avaliação clínica antes e após o uso do produto e através da avaliação qualitativa e quantitativa de microrganismos utilizando o sistema óptico de detecção por fluorescência. Neste caso serão utilizados 24 voluntários com idade entre 15 e 35

anos, com consentimento prévio do comitê de ética em pesquisa, com histórico de acne. As avaliações da pele serão feitas através do equipamento de diagnóstico óptico de fluorescência no setor de Tecnologia de Produtos.

Estudos para avaliação da eficácia no tratamento da acne são realizados comparando-se antes e após o uso do produto. Pode-se avaliar a eficácia do produto após algum tempo de uso (14, 28 dias) onde a comparação é realizada em relação ao tempo inicial (antes do uso do produto). Com essa avaliação podemos também realizar a análise comparativa entre diversos produtos. Neste caso os estudos para avaliação da eficácia no tratamento da acne são realizados comparando-se antes e após o uso do produto, avaliando a eficácia do produto após algum tempo de uso (14, 28 dias) onde a comparação é realizada em relação ao tempo inicial (antes do uso do produto). Deste modo avaliaremos com o uso a diminuição do número de microrganismos, evidenciados pela fluorescência no vermelho, que evidencia a porfirina oriunda da bactéria da acne. Além desta avaliação, realizaremos a avaliação de eficácia percebida, onde as voluntárias responderão a um questionário sobre os resultados dos produtos.

Os testes serão realizados com funcionários da empresa de ambos os sexos. Será realizada uma triagem dos voluntários selecionados, analisando-se os critérios de inclusão e exclusão. Os voluntários selecionados receberão o Termo de Consentimento Livre e esclarecido. Se concordarem com a participação no estudo, será dada continuidade:

- Os voluntários lavarão o rosto com sabonete padronizado neutro;
- Será realizada avaliação clínica visualmente por avaliadores treinados;
- Os voluntários receberão a amostra/ as amostras para a utilização diária durante 28 dias, bem como as instruções de aplicação do produto;
- Após 28 dias os voluntários retornarão e lavarão o rosto com sabonete padronizado neutro;
- Será realizada avaliação clínica visualmente por avaliadores treinados.

As voluntárias serão avaliadas antes do estudo, segundo os critérios de inclusão e exclusão, a fim de analisar se as mesmas estão aptas a participar da pesquisa.

CrITÉRIOS de Exclusão

Não participarão do teste voluntárias grávidas e lactantes, voluntários que apresentem irritação na pele, histórico de irritação ou sensibilidade a cosméticos, psoríase, eczema, câncer de pele ou demais condições dermatológicas que exponham a saúde do voluntário a risco, além de interferir na condução do estudo.

CrITÉRIOS de Inclusão

- Idade acima de 18;
- Assinar termo de consentimento livre e esclarecido;
- Voluntários que tenham plena autonomia para aceitar participar do teste;
- Voluntários que apresentem pele acneica

Riscos e benefícios dos testes

Os riscos compreendem irritação e sensibilização, que podem ocorrer se houverem fatores predisponentes. A constituição genética do indivíduo influencia a susceptibilidade à reações cutâneas. Na presença de efeitos indesejados do produto, a voluntária será encaminhada para avaliação clínica por dermatologista, que tomará as providências necessárias. O uso do produto deverá então ser descontinuado. Todas as voluntárias receberão como benefício o produto em teste. As que fizerem parte do grupo controle receberão o produto no final do estudo.

Informações às voluntárias

As voluntárias receberão esclarecimentos a respeito da pesquisa no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. A suspensão ou encerramento da pesquisa seguirá critérios, como a presença de reações adversas nas voluntárias, ou a não conformidade com os critérios de inclusão (por exemplo, mudança na medicação).

B) Testes de contagem de microrganismos em culturas

Quanto ao diagnóstico da redução bacteriana, o mesmo será realizado *in vitro*, pelo setor de microbiologia do Boticário. Para avaliar o desempenho do equipamento no diagnóstico proposto serão realizados testes *in vitro* em culturas microbianas com microrganismos coletados dos voluntários dos testes *in vivo* de caspa e acne mencionados acima. Coletaremos o material com swab estéril e manteremos em condições controladas de temperatura para posterior envio ao setor de microbiologia. Os testes *in vitro* têm a finalidade de identificar e quantificar a redução microbiana (bactérias e fungos) presentes na caspa e acne. A coleta da amostra *in vivo* será realizada com o uso de SWAB e caldo neutralizante. Para a contagem dos microrganismos seguiremos o protocolo descrito abaixo:

Contagem de Microrganismos Aeróbios viáveis totais: Nesta técnica faremos a pesquisa de microrganismos existentes antes e após aplicação dos produtos cosméticos voltados para acne e caspa. A técnica utilizada será a de semeadura em profundidade (pour plate), que é baseada na premissa de que cada célula microbiana presente em uma amostra forma, quando fixada em um meio de cultura sólido adequado, colônias visíveis e isoladas, após período de incubação a temperatura adequada.

Pesquisa de bactérias aeróbias, bolores e leveduras: para esta análise, pipetaremos 1,0ml da diluição do produto (em água peptonada) para uma placa de petri estéril previamente identificada (número da amostra e meio utilizado). O meio utilizado será o TSA morno este que após homogeneização adicionaremos a amostra e incubaremos por 48 horas a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Para pesquisa de fungos o procedimento será repetido, porém o meio de cultura utilizado será o SAB e a incubação será por 5 dias a $26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Metodologia para teste de *P. acnes*: Os microrganismos utilizados no teste serão da espécie *Propionibacterium acnes* ATCC – 6919. O procedimento experimental conta com o preparo das suspensões microbianas, onde a massa celular utilizada no teste será preparada a partir de estria em ágar inclinado e incubada em estufa a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 48 horas, em uma jarra de anaerobiose e um envelope de AnaerogenTM. Após isso serão feitas estrias de *P. acnes* na superfície da placa de petri formando uma camada de bactérias, sobre estas, onde serão adicionados os discos embebidos com a amostra a ser testada. As placas serão

Anexos

incubadas em estufa a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 48 horas em jarra de anaerobiose e na presença de um envelope de AnaerogenTM. Este procedimento será realizado em duplicata.

9.5 ANEXO E – COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

CENTRO UNIVERSITÁRIO
POSITIVO - UNICENP

PROJETO DE PESQUISA

Título: Aplicação Cosmética do Diagnóstico por Fluorescência da Avaliação de Porfirinas no Tratamento da Acne

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 05451612.3.0000.0093

Pesquisador: Odivanira Kruger

Instituição: LADECOM - Laboratório de Pesquisas e Desenvolvimento de Cosméticos LTDA

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 97.082

Data da Relatoria: 31/08/2012

Apresentação do Projeto:

Avaliar o efeito de tratamentos cosméticos através de equipamento portátil de diagnóstico por fluorescência, o qual visa obter uma avaliação quantitativa da redução microbiana e inflamatória da pele. 40 voluntários farão parte do estudo, sendo divididos em 2 grupos: grupo controle - uso de sabonete líquido neutro por 30 dias; o outro grupo fará uso de uma formulação cosmética pelo período de 30 dias, em conjunto com a aplicação de uma luz de LED para o tratamento da acne. As avaliações serão feitas a partir de imagens obtidas no início e ao fim do teste, as quais serão avaliadas por consultoria específica.

Objetivo da Pesquisa:

Desenvolver e validar o equipamento para visualização de porfirinas na superfície da pele humana, resultantes de bactérias causadoras da acne, através de avaliação por consultoria específica das imagens obtidas em 40 voluntários, usuários de produtos para tratamento da acne.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Pode ocorrer incidência de irritação e sensibilidade à formulação. Tais reações ocorrem se houverem fatores predisponentes, como a constituição genética do indivíduo para suscetibilidade a reações cutâneas. No caso da eventos adversos o voluntário será encaminhado à dermatologista e receberá o tratamento necessário. **Benefícios:** As técnicas instrumentais não causam riscos e danos para o indivíduo participante da pesquisa, pois são classificadas como técnicas não-invasivas.

A avaliação clínica prévia e o acompanhamento médico a cada estudo é um benefício ao voluntário, que entenderá melhor o estado da sua pele e receberá avaliação constante do seu estado de saúde.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Estudo bastante relevante.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

TCLE presente.

Recomendações:

Não há

Endereço: Rua Profº Pedro Viriato Parigot de Souza nº 5300
Bairro: Campo Comprido **CEP:** 81.280-300
UF: PR **Município:** CURITIBA
Telefone: (41)3317-3260 **Fax:** (41)3317-3030 **E-mail:** cep@up.com.br

**CENTRO UNIVERSITÁRIO
POSITIVO - UNICENP** **Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Aprovado

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

CURITIBA, 13 de Setembro de 2012

Assinado por:
Wellington Menyrval Zaitter

Endereço: Rua Profª Pedro Viriato Parigot de Souza nº 5300
Bairro: Campo Comprido CEP: 81.280-300
UF: PR Município: CURITIBA
Telefone: (41)3317-3260 Fax: (41)3317-3030 E-mail: cep@up.com.br