Fundação Educacional do Município de Assis
Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis
Campus "José Santilli Sobrinho"

CAMILA EUGENIA DOS REIS

ESTUDO DA EFICÁCIA DA AMOXICILINA INCORPORADA EM MEMBRANAS DE LÁTEX

Assis SP

2015

CAMILA EUGENIA DOS REIS

ESTUDO DA EFICÁCIA DA AMOXICILINA INCORPORADA EM MEMBRANAS DE LÁTEX

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis, como requisito do Curso de Graduação

Orientadora: Msª Gilcelene Bruzon

Co-Orientador: Drº Rondinelli Donizetti Herculano

Área de Concentração: Ciências Da Natureza

Assis - SP

2015

FICHA CATALOGRÁFICA

Reis, Camila Eugenia dos
Estudo da Eficácia da Amoxicilina Incorporadas em membranas de látex / Camila Eugenia dos Reis. Fundação Educacional do Município de Assis Assis, 2015.

66p.

Orientadora: MSª Gilcelene Bruzon
Co-Orientador: Drº Rondinelli Donizetti Herculano
Trabalho de Conclusão de Curso – Instituto Municipal de Ensino superior de Assis

1. Amoxicilina. 2. Látex Natural

CDD: 660
Biblioteca da FEMA

ESTUDO DA EFICÁCIA DA AMOXICILINA INCORPORADA EM MEMBRANAS DE LÁTEX

CAMILA EUGENIA DOS REIS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis, como requisito do Curso de Graduação, analisados pela seguinte comissão examinadora:

Orientadora: Msª Gilcelene Bruzon

Co – Orientador: Dr° Rondinelli Donizetti Herculano

Analisador (1): Drª Silvia Maria Batista de Souza

Assis- SP
2015

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos os meus familiares e amigos, principalmente a minha mãe pelo apoio, incentivo e toda a paciência em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

A Deus primeiramente pois sem ele nada disse teria sido possível, pelas oportunidades que colocou em meu caminho, e por estar sempre me dando força nos momentos mais difíceis.

A minha orientadora profª Msª Gilcelene Bruzon pelo apoio e orientação na realização de todo este trabalho e principalmente pela paciência em atender todas as minhas ligações esclarecendo todas as minhas dúvidas.

Ao meu Co-orientador prof° Dr° Rondinelli Donizetti Herculano por ter aceito fazer parte deste trabalho me ajudando com seu conhecimento e parceria.

A minha família por estarem presente a todo momento, principalmente a minha mãe Andreia da Cunha, o meu pai José César dos reis, a minha avó Luiza da Silva cunha, e ao noivo que tiveram a muita paciência e amor, me animando e incentivando nos momentos de desespero e angustia,

A minha melhor amiga Camila Caron por intender o motivo de vários não que eu dava a ela, quando me chamava para sair, por estar me apoiando e me fazendo olhar pra frente quando as coisas parecia não caminhar, dizendo calma ainda não acabou você consegue eu sei que você e capaz, acredite mais em você.

Aos docentes da instituição por me mostrarem tudo o que eu sei hoje, principalmente as professora Dr° Silvia Maria Batista de Souza e Msª Elaine Amorim Soares Menegon por terem me ajudado não só na realização desse trabalho mas em tudo que eu precisei durante a realização do meu curso.

Ao pessoal do laboratório, do cepeci e principalmente aos meus colegas de turma Mayara, Natalia e Tiago por terem me ajudado em vários momentos da realização deste trabalho.

Aos outros colegas de classe pela amizade e companheirismo, pelo momentos de risadas e brincadeira, pelas noites no espetinho da esquina da faculdade, e a todos que colaboraram diretamente ou indiretamente na execução deste trabalho.

“É preciso amar as pessoas como se não houvesse amanhã, porque se você parar pra pensar na verdade não há”.

Legião Urbana

RESUMO

Os antimicrobianos são atualmente umas das classes de fármacos mais utilizados, sendo responsavel pela maior parte de gastos em hospitais e postos, porem esse alto consumo fez com que muitos antimicrobianos perdessem seu potencial, alem de levar a varios efeitos colaterais, visando diminuir esses tipos de problemas pesquisadores vem desenvolvendo outros metodos de adminitração do mesmo, entre esses metodos se destaca a liberação controloda de fármaco, que tem como objetivo incorpora a menor dosagem possivel da droga em um polimero que servira como um carreagor, fazendo com que o mesmo liberere de forma gradual a substancia incorporada, entre os poilimeros que vem sendo estudado o Látex natural vem se mostrando um otimo carreador pois é de fácil manipulação, apresenta baixo custo e possui alta resistência mecânica, além de ser um material biocompatível ele também estimula a angiogénese.O objetivo deste trabalho foi desenvolver uma matriz sólida utilizando látex natural (Natural Rubber Latex - NRL) extraido da seringueira Hevea brasiliensis para futuras aplicações em liberação tópica sustentada de Amoxicilina. A matriz polimérica desenvolvida neste trabalho foi capaz de liberar 42% de todo o fármaco incorporado em um período de 8 horas, foi ainda capaz de liberar mais 30% no período que se estende entre 24 – 96 horas. As análises por espectroscopia de infravermelho mostraram interações entre o fármaco e a matriz por ligações de hidrogénio. Ja os resultados de teste de inibição mostraram que a membrana de látex com a amoxicilina incorporada não foi eficaz, pois a mesma não conseguiu inibir o crescimento do micro-organismo Staphylococos aureus, mostrando que é preciso investigações mais detalhadas.

PALAVRAS – CHAVES: 1- Amoxicilina, 2- Látex Natural, 3- Liberação Controlada, 4- Micro-organismo, 5- *Staphylococos Áureos*

ABSTRACT

Antimicrobials are currently one of the most commonly used drug classes, being responsible for the bulk of spending in hospitals and clinics, however this high consumption caused many antimicrobials lose their potential, in addition to lead to various side effects in order to reduce these types of Problems researchers have been developing other methods of routine administration thereof, among these methods highlights the drug controloda release, which aims at incorporating the lowest possible dosage of drug in a polymer that served as a carreagor, causing the same liberere form gradually incorporated the substance, among poilimeros that has been studied the natural latex is proving to be a great carrier because it is easy to handle, it is inexpensive and has high mechanical strength as well as being a biocompatible material it also stimulates angiogénese.O goal this work was to develop a solid matrix using natural latex (Natural Rubber Latex - NRL) extracted from the rubber tree Hevea brasiliensis for future applications in sustained topical delivery of Amoxicillin. The polymeric matrix developed in this work was able to release 42% of all incorporated drug over a period of 8 hours, it was still able to release 30% over the period extending from 24 - 96 hours. Analysis by infrared spectroscopy showed interactions between the drug and the matrix by hydrogen bonding. Ja Inhibition Test results showed that the latex membrane with incorporated amoxicillin was not effective, because it failed to inhibit the growth of micro-organism Staphylococos aureus, showing that it takes more detailed investigations

KEYWORDS: 1. Amoxicillin, 2- Natural Latex , 3- Controlled Release, 4 Microorganism, 5 *Staphylococos Áureus*

LISTA DE ILUSTRAÇÔES

Figura 1. Estrutura das Principais Penicilinas.....20
Figura 2. Mecanismo de ação da penicilina sintética amoxicilina.....21
Figura 3. Estrutura Molecular da Amoxicilina.....21
Figura 4. Camada de peptidioglicano do S áureos 24
Figura 5. Foto de colônias de S. áureos.....25
Figura 6. Identificação de S. áureos na mucosa.....26
Figura 7. Fotos de dermatites causadas por S áureos 26
Figura 8. Mecanismo de Resistencia Bacteriana.....27
Figura 9. Extração do látex da serigueira Hevea brasiliensis 33
Figura 10. Monômero de poli (cis-1 4-isopreno).....33
Figura 11. Lipidios e fosfolipidios das particulas de látex 34
Figura 12. Fluxograma de confecção das membranas 43
Figura 13. Mistura de látex e farmaco colocadas nas placas de vidro 43
Figura 14. Placas sendo submetida a lâmina de nitrogênio......44
Figura 15. Membranas Liofilizadas 44
Figura 16. Aplicação das membranas nos tubos 47
Figura 17. Aplicação das membranas nas placas 47
Figura 18. Espectro de Infravermelho para as membranas de Látex natural 48
Figura 19. Espectro de Infravermelho da Amoxicilina 49
Figura 20. Espectro de Infravermelho para as membranas dopadas de Amoxicilina 50
Figura 21. Espectro de Absorbância da Amoxicilina. 51
Figura 22. Curva de Calibração.....51
Figura 23. Cinetica de Liberaçao da Amoxicilina 53
Figura 24. Controle de crescimento 54
Figura 25. Placas com aplicação da membrana para verificação de halo 54
Figura 26. Teste de inibição em meio liquido 55
Figura 27. Prova de ausência de inibição no teste em meio liquido 55
Figura 28. Teste com a Amoxicilina sem intervenção da membrana de látex ...56

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 13
2. ANTIMICROBIANOS 15
2.1. HISTORIA DOS ANTIMICROBIANOS 15
2.2. CLASSIFICAÇÃO 17
2.2.1. Origem 17
2.2.2. Biossíntese 17
2.2.3. Ação predominante 18
2.2.4. Mecanismo de ação 18
2.2.5. Estrutura Química 18
2.3. PELICILINAS 19
2.3.1. Mecanismo de Ação da Penicilina 20
2.3.2. Amoxicilina 21
2.3.2.1. Ação predominante 22
3. MICRO-ORGANISMOS 23
3.1. *STAPHYLOCOCUS AUREUS* 23
3.1.1. Características 24
3.1.2. Recorrência e riscos que os *Staphylococus áureos* apresentam 25
3.1.3. Mecanismo de resistência aos antimicrobianos 27
4. LIBERADORES POLIMÉRICO 30
4.3. LÁTEX NATURAL 32
5. APLICAÇÃO NO ENSINO MÉDIO 36
5.1. IMPORTANCIA DA INTERDICIPLINARIDADE E EXPERIMENTAÇÃO NO ENSINO 36
5.2. A MICROBIOLOGIA E QUÍMICA 39
5.3. MATERIAIS E METODOS 39
5.3.1. Materiais 39
5.3.2. Procedimento 40
6. MATERIAIS E METODOS 41
6.1.MATERIAIS 41
6.2.METODOS 42

6.2.1. Obtenção do Látex **42**
6.2.2. Confecção das Membranas **43**
6.2.3. Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) **44**
6.2.4. Ensaio de liberação **45**
6.4.5. Preparação dos Meios de Culturas **45**
6.4.5.1. Procedimento de Preparo do meio Caldo BHI **45**
6.4.5.2. Procedimento de Preparo do meio Ágar BHI **45**
6.2.6. Preparação do inoculo **46**
6.2.7. Semeadura **46**
6.2.8. Teste de inibição com aplicação das membranas **46**
7. RESULTADO E DISCULSSÕES **48**
7.1.ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFOMADA DE FOURIE (FTIR) 48
7.2. IDENTIFICAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE FÁRMACO EM SOLUÇÃO 50
7.3. CINETICA DE LIBERAÇÃO 52
7.3. TESTE DE INIBIÇÃO 54
8. CONCLUSÃO **57**

1. INTRODUÇÃO

Antimicrobianos são substâncias naturais produzidas por bactérias ou por fungos (antibióticos) ou sintetizados quimicamente (quimioterápicos). são capazes de destruir ou de suprimir a multiplicação ou crescimento, de micro-organismos. são a segunda classe de drogas mais utilizadas, sendo responsáveis por 20 - 50% das despesas hospitalares (SÁEZ, et al, 2000).

O principal objetivo do uso de um antimicrobiano é o de prevenir ou tratar uma infecção, diminuindo ou eliminando os organismos patogênicos e, se possível, preservando os germes da microbiota normal. Para isso é necessário conhecer os germes responsáveis pelo tipo de infecção a ser tratada. O emprego indiscriminado dos antimicrobianos em pacientes é responsável pelo desenvolvimento de resistência microbiana. A expressão “resistente” significa que o germe tem a capacidade de crescer in vitro em presença da concentração que essa droga atinge no sangue, ou seja, o conceito é dose-dependente. No entanto, a concentração sanguínea de muitos antimicrobianos é inferior à concentração alcançada pelo mesmo em outros líquidos ou tecidos corpóreos, o que torna possível que a bactéria seja “resistente” a um determinado antibiótico no sangue, mas sensível se estiver em outro sítio (BARROS, et al, 1996).

O *Staphylococcus aureus* é um agente etiológico importante, e está associado à infecções adquiridas, incluindo enfermidades sistêmicas potencialmente fatais, infecções cutâneas, infecções oportunistas e intoxicação alimentar (LOWRY, 1998).

É recorrente principalmente em hospitais, postos, dentre outros locais vulneráveis para a ação do mesmo, devido à sua virulência e resistência aos antimicrobianos tornou-se um paradigma das infecções bacterianas, sendo considerado um dos principais patógenos. Sua frequência elevada e sua patogenicidade o tornam capaz de causar doenças tanto em indivíduos imunocomprometidos quanto em hígidos (LOWRY, 1998).

Os polímeros têm desempenhado um papel fundamental no avanço da tecnologia de liberação de drogas, proporcionando a libertação controlada de agentes terapêuticos

em doses constantes durante longos períodos, dosagem cíclica e liberação ajustável de fármacos tanto hidrofílicos quanto hidrofóbicos. De início, utilizando de materiais já disponíveis, o campo tem crescido muito, impulsionado em parte pelas inovações na área da engenheira química. Os modernos avanços na liberação de drogas estão agora em cima do desenho racional de polímeros adaptados para cargas específicas e construídos para exercerem funções biológicas distintas (LIECHTY, et al, 2010).

O látex extraído da seringueira *Hevea Brasilienses* vem sendo utilizado como sistema carreador, devido as suas características de biocompatibilidade e estímulo natural da angiogênese (LIECHTY, et al, 1998).

Este trabalho tem como objetivo incorpora o antibiótico amoxicilina em membranas confeccionadas com látex natural, estudar seu comportamento fármaco-membranas.

2. ANTIMICROBIANOS

O principal objetivo do uso de um antimicrobiano é o de prevenir ou tratar uma infecção, diminuindo ou eliminando os organismos patogênicos e, se possível, preservando os germes da microbiota normal. Para isso é necessário conhecer os germes responsáveis pelo tipo de infecção a ser tratada. O emprego indiscriminado dos antimicrobianos em pacientes é responsável pelo desenvolvimento de resistência microbiana. A expressão “resistente” significa que o germe tem a capacidade de crescer in vitro em presença da concentração que essa droga atinge no sangue, ou seja, o conceito é dose dependente. No entanto, a concentração sanguínea de muitos antimicrobianos é inferior à concentração alcançada pelo mesmo em outros líquidos ou tecidos corpóreos, o que torna possível que a bactéria seja “resistente” a um determinado antibiótico no sangue, mas sensível se estiver em outro sítio (BARROS, et al*,* 1996)

2.1. HISTORIA DOS ANTIMICROBIANOS

A descoberta da penicilina por Alexander Fleming, em 1928, é um dos acontecimentos mais marcantes da história da ciência, da medicina e da farmácia do século XX. Se conjugarmos a inovação científica com os benefícios ao nível da saúde pública e, consequentemente, os ganhos no plano da economia, podemos afirmar que a descoberta da penicilina foi a conquista mais relevante da do último século (LAX, 2004).

A utilização da penicilina como agente terapêutico só ocorreu em 1940, após o processo de industrialização da penicilina, especialmente em consequência da Segunda Guerra Mundial, onde foi observado um rápido crescimento na descoberta e desenvolvimento de novos antibióticos durante o período de 1940 a 1960, como mostra a tabela 1. (GUIMARÃES, MOMESSO E PUPO, 2010).

Nome	Data da descoberta	Micro-organismo
Penicilina	1929-40	Penicillium notatum
Tirotricina	1939	Bacillus
Griseofulvina	1939-45	Penicillium griseofulvum; Dierckx;
Estreptomicina	1944	Streptomyces griseus
Bacitracina	1945	Bacillus lincheniformis
Cloranfenicol	1947	Streptomyces venezuelae
Polimixina	1947	Bacillus polymyxa
Framicetina	1947-53	Streptomyces lavendualae
Clortetraciclina	1948	Streptomyces aureofaciens
Cefalosporina C, N e P	1948	Cephalosporium sp
Neomicina	1949	Streptomyces fradiae
Oxitetraciclina	1950	Streptoyces rimosus
Nistatina	1950	Streptomyces noursei
Eritromicina	1952	Streptomces erithreus
Espiramicina	1954	Stretomyces ambofaciens
Vancomicina	1956	Streptomyces orientalis
Kanamicina	1957	Streptomyces kanamyceticus
Ácido fusidico	1960	Fusidium coccineum
Lincomicina	1962	Streptomycs lincolnensis

Tabela 1: Surgimento dos antimicrobiano (In: CHAMBERS, et al, 1996 e LIVERMORE, et al, 1997).

Segundo GUIMARÃES, MOMESSO E PUPO, 2010:

> Entre os anos 1960-1980 foram introduzidos no mercado antibióticos semissintéticos eficazes para o tratamento de patógenos Gram positivo e Gram negativo, análogos aos antibióticos naturais já existentes. e os anos 1980-2000 é marcado pela modificação do mercado de antibióticos pela introdução da classe das fluoroquinolonas sintéticas.

2.2. CLASSIFICAÇÃO

Entre os diversos critérios adotados na classificação de antibióticos, os principais são: A) origem; B) biossíntese; C) ação predominante; D) mecanismo de ação; e E) estrutura química (BAHAL e NAHATA, 1992)

2.2.1. Origem

Segundo a origem, os antibióticos podem ser divididos nas seguintes classes: 1- produzidos por bactérias: bacitracina, polimixina, tirotricina; 2- produzidos por actinomicetos: estreptomicina, neomicina, oxitetraciclina; 3- produzidos por eumicetos: fumagilina, griseofulvina, penicilina (CHU, et al, 1992).

2.2.2. Biossíntese

Segundo a biossíntese, os antibióticos podem ser classificados em: 1- antibióticos derivados de aminoácidos: cloranfenicol, penicilinas, cefalosporinas; 2- antibióticos derivados de carboidratos: estreptomicina, gentamicina, lincomicina; 3- antibióticos derivados de acetato e propionato: griseofulvina, macrolídios, tetraciclinas; 4- antibióticos diversos: puromicina, rifamicinas (FERES, 1983).

2.2.3. Ação predominante

Segundo a ação predominante, os antibióticos podem ser classificados em: 1- ação sobre germes gram-positivos: bacitracina, eritromicina, penicilina; 2- ação sobre germes gram-negativos: canamicina, colistina, neomicina; 3- ação sobre micobactérias: canamicina, cicloserina, estreptomicina; 4- ampla ação: cloranfenicol, tetraciclina; 5- ação antimicótica: anfotericina, fungicidina, griseofulvina; 6- ação antiprotozoária: fumagilina, paromomicina (HANSH, 1990)

2.2.4. Mecanismo de ação

Segundo o mecanismo de ação, os antibióticos podem ser classificados em: 1- antibióticos de ação superficial que interferem no transporte ativo através da membrana: gramicidina, polimixina; 2- antibióticos que inibem a biossíntese de membrana: bacitracina, penicilina; 3- antibióticos que bloqueiam a biossíntese protéica: cloranfenicol; 4- antibióticos que impedem a ação de cofatores enzimáticos: tetraciclinas (PETERES, FRIEDEL e MCTAVISH, 1992).

2.2.5. Estrutura Química

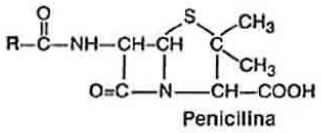
Segundo a estrutura química, os antibióticos podem ser classificados em: 1- derivados de monopeptídios: cicloserina, azaserina; 2- derivados do ácido 6-aminopenicilânico e análogos: penicilinas, cefalosporinas; 3- derivados de 2-amino-1,3-propanodiol: cloranfenicol; 4- derivados de hidrocarbonetos aromáticos: tetraciclinas, rifamicinas; 5- derivados macrolídicos: estreptomicina, neomicina, vancomicina; 6- antibióticos poliênicos: anfotericina, nistatina; 7- antibióticos polipeptídios: bacitracina, polimixina (LACAZ, 1975).

Entretanto, nenhuma delas é satisfatória. Por razões didáticas os antibióticos de interesse clínico podem ser classificados nas seguintes classes: 1- penicilinas; 2-

cefalosporinas; 3- monobactamas; 4- anfenicóis; 5- tetraciclinas; 6- polipeptídios; 7- poliênicos; 8- macrolídios; 9- aminoglicosídios; 10- ansamicinas; 11- antraciclinas; 12- lincomicinas; 13-nucleosídios; 14- glutarimidas; 15- poliéter ionóforos; 16- diversos (PROUST, 1998).

2.3. PELICILINAS

As penicilinas constituem um dos grupos mais importantes de antibióticos. As penicilinas foram, ao lado das cefalosporinas, o grupo dos antibióticos β-lactâmicos caracterizado por três aspectos estruturais em comum: a- estrutura β -lactama condensada; b- carboxila livre; e c- um ou mais grupo amino substituídos na cadeia lateral. Todas as penicilinas possuem a mesma estrutura geral β -lactâmica tiazolidínica. A intensidade da atividade antibacteriana depende da esterioquímica da cadeia lateral. As principais penicilinas estão mostradas na Figura 1 (MODAI, 1998).



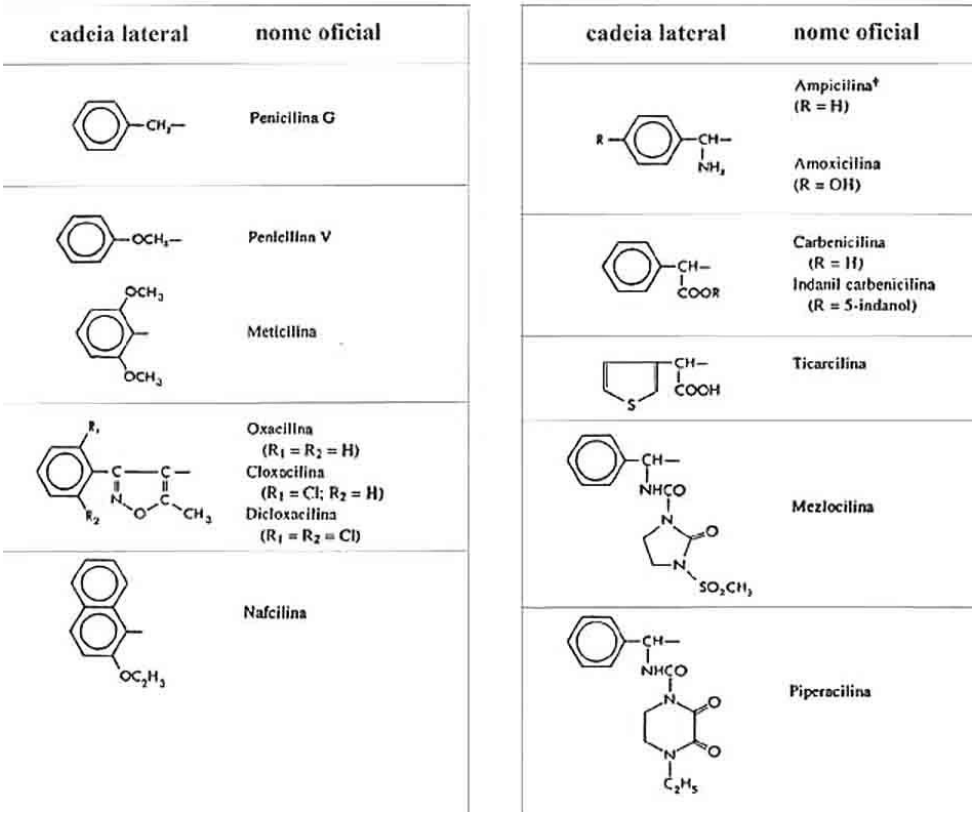


Figura 1. Estrutura das Principais Penicilinas (In: PROUST, 1998)

2.3.1. Mecanismo de Ação da Penicilina

Estes antibióticos possuem um anel β -lactâmico (anel ativo) em sua estrutura química, que interfere com a síntese do peptidioglicano da parede celular bacteriana. Após a sua fixação em sítios de ligação na bactéria, os antibióticos β -lactâmicos inibem a enzima de transpeptidação que forma ligações cruzadas das cadeias peptídicas ligadas ao arcabouço do peptidioglicano. O evento bactericida final consiste na ativação do sistema autolítico na parede celular, levando à lise da bactéria e posterior morte, (WERMUTH,1996).

Na Figura 2 podemos observar a ação da amoxicilina nos micro-organismo, onde o fármaco (setas laranjas), passam pela parede celular rica em, polímeros de N-

acetilglicosamina e N-acetil ácido muraminico em cadeias alternadas (peptidioglicano) que são as linhas azuis , se ligando as enzimas PBL (imagem verde), impedido assim a transpeptidação.

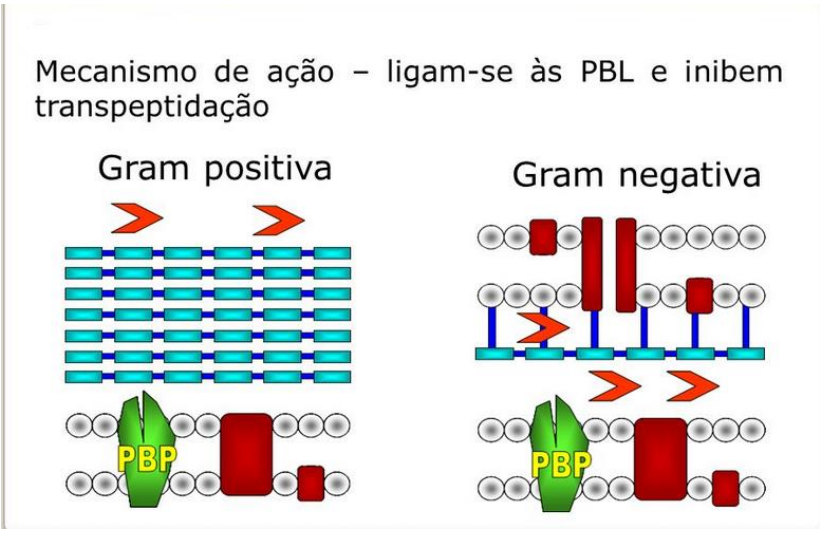


Figura 2. Mecanismo de ação da penicilina sintética amoxicilina (In: WERMUTH,1996)

2.3.2. Amoxicilina

A Amoxicilina que pertencente a classe das penicilinas semi sintéticas, tem ação de amplo aspecto tem rápida ação bactericida, interferindo na parede celular das bactérias (MICROMEDEX. 2015), a figura 3 mostra a estrutura molecular da amoxicilina.

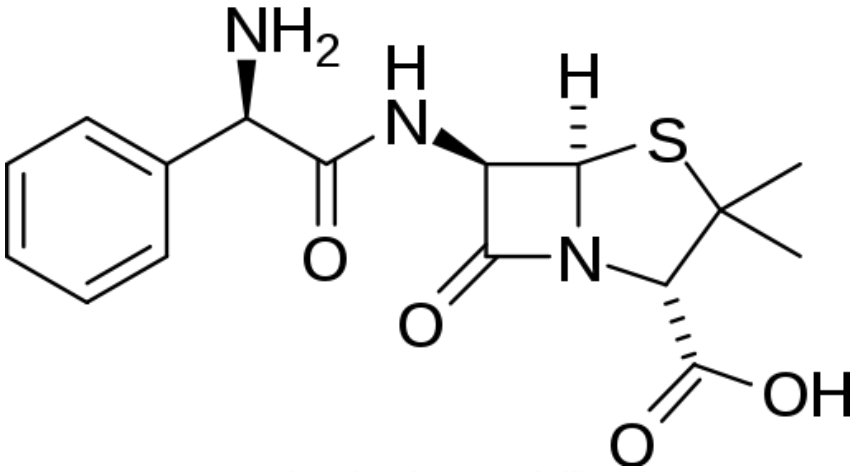


Figura 3. Estrutura Molecular da Amoxicilina (In: Soares, 2015)

2.3.2.1. Ação predominante

A amoxicilina, assim como os demais antibióticos, não é capaz de agir em todos os micro-organismo existentes.

Nos micro-organismos gram-positivos aeróbios é capaz de combater: *Enterococus faecalis, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus pyogenes, Streptococcus viridans, Staphylococcus aureus sensível à penicilina, espécies de Corynebacterium, Bacillus anthracis, Listeria monocytogenes*, dentre os anaeróbios age apenas em algumas espécies de *Clostridium*.

Nos micro-organismo gram-negativos aeróbios é capaz de combater: *Haemophilus influenzae, Escherichia coli, Proteus mirabilis*, espécies de *Salmonella*, espécies de *Shigella, Bordetella pertussis, espécies de Brucella, Neisseria gonorrhoeae, Neisseria meningitidis, Pasteurella septica, Vibrio cholerae, Helicobacter pylori* (ANVISA. 2015).

3. MICRO-ORGANISMOS

O termo micro-organismos se aplica a um grupo heterogêneo de seres que vivem como células independentes ou como agregados celulares: bactérias, protozoários, algas e fungos e, também, vírus. Salvo estes últimos, que estão na fronteira entre o vivo e o não vivo, os encontramos dentro dos três domínios em que se classificam os seres vivos: Bactéria, Archaea e Eukarya. Os microrganismos mostram uma diversidade surpreendente de estrutura e modo de vida. Alguns são procariontes, como as bactérias; outros eucariontes, como os protozoários, as algas e os fungos. Os aeróbios crescem se houver oxigênio, os anaeróbios, se não o houver. Formas livres colonizam todos os ambientes terrestres, desde o cume das montanhas até as profundezas dos oceanos. Mas há também parasitas que crescem à custa de outros seres vivos, onde encontram abrigo e alimento, e os que mostram diversos graus de dependência de outros seres vivos. Os autótrofos sintetizam seus alimentos a partir de dióxido de carbono; os fotossintéticos utilizam a luz como fonte de energia; e os quimiossintéticos, algumas reações químicas inorgânicas. Os heterótrofos dependem das moléculas orgânicas elaboradas pelos autótrofos que absorvem ou ingerem (CAMPBELL, e REECE, 2008)

3.1. *STAPHYLOCOCUS AUREUS*

O *S. aureus* é um agente etiológico importante, e está associado às infecções adquiridas, incluindo enfermidades sistêmicas potencialmente fatais, infecções cutâneas, infecções oportunistas e intoxicação alimentar (LOWRY, 1998).

3.1.1. Características

Os Staphylococos são micro-organismos procariontes que se apresenta em forma de cocos, o que diferencia desta espécie é a parede celular rica em, polímeros de N-acetilglicosamina e N-acetil ácido muraminico em cadeias alternadas (peptidioglicano) que são os principais componentes das bactérias gram positivas e gram negativas, e a produção de enzimas e toxinas (ROSSI et al, 2005) como mostra a figura 4.

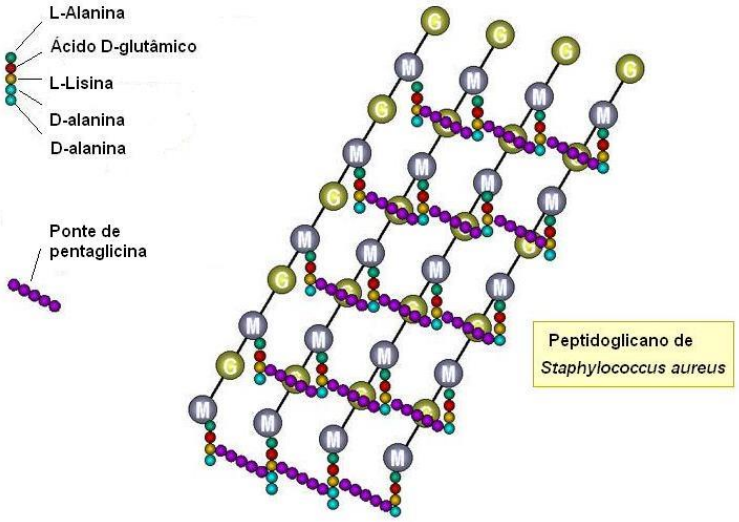


Figura 4. Camada de peptidioglicano do *S áureos* (In: MICROBIOLOGY, 2015)

O *S. áureus* é um micro-organismo capaz de causar desde pequenos furúnculos até sepse grave, sendo a principal bactéria causadora de doenças comunitárias e infecções hospitalares (IARIA, 1981).

S. aureus é uma das bactérias gram-positivas encontradas na microbiota do corpo humano, pode causar infecções superficiais e até algumas disseminadas com elevada gravidade, a sua importância clínica é devido a incidência de infecções hospitalares graves causadas por cepas multirresistente (TRABULSI, 2005).

Segundo Santos et. al. (1994), refere que o S. aureus tem aproximadamente entre 0,5 e 1,5µm de diâmetro, são imóveis, não esporulados e geralmente não encapsulados" este micro-organismo faz parte da família Micrococcaceae, do gênero *Staphylococcus*

podendo ser aeróbio ou anaeróbio facultativo, e de morfologia esférica, agrupadas em forma de cachos de uvas como mostra a figura - 5.

Figura 5. Foto de colônias de *S. áureos* (In: MRSAMEDICAL, 2015)

3.1.2. Recorrência e riscos que os *Staphylococus áureos* apresentam

Os *S. áureos* são encontrados nas regiões da nasofaringe, fossas nasais, podendo causar infecções simples na pele até uma infecção de caráter mais grave profunda em pacientes debilitados por doenças crônicas, traumas físicos, queimaduras e imunossupressoras, esta é uma das razões pelas quais as infecções estafilocócicas severas são mais frequentemente adquiridas em hospitais. Indivíduos que carregam o S. aureus e não apresentam sintomatologia são genericamente conhecidos como “portadores são assintomáticos”, sendo considerada uma das principais fontes de transmissão tanto da infecção nosocomial, quanto da comunidade (LU et al, 2005; ONONUGA, ONAOLAPO, 2005, SANTOS, DARINI, 2002), como mostra as figuras 6 e 7.

Figura 6. Identificação de *S. áureos* na mucosa (In: PATHOGEN PROFILE DICTIONARY)

Figura 7. Fotos de dermatites causadas por S áureos (In: MORAES. 2015)

Os *S. aureus* são capazes de promover processos infecciosos, tanto de origem hospitalar quanto comunitária, causados por bactérias do próprio indivíduo, de outros doentes ou de portadores sadios (MARTINS, 2002, TEIXEIRA e SANTOS, 2008; TORTORA, FUNKE e CASE, 2005).

Além dessas infecções o *Staphylococcus aureus* pode causar vários tipos de intoxicações determinadas por uma toxina, chamada esfoliatinas que são produzidas na área da infecção e levadas para áreas distantes através da corrente sanguínea. Uma dessas intoxicações pode ser alimentar, provocada pela ingestão de alimentos contaminados pela bactéria (TRABULSI; 2005).

3.1.3. Mecanismo de resistência aos antimicrobianos

A resistência aos antimicrobianos em *S. aureus* pode ser codificada cromossomicamente ou mediada por plasmídeos. *Onde* possui três mecanismos distintos de resistência à meticilina: a) hiperprodução de beta - lactamases; b) presença de uma proteína ligadora de penicilina (PBP protein binding penicilin) alterada denominada PBP 2a; c) modificações na capacidade de ligação das PBPs (TOMAS, et al, 1989), como mostra a figura - 8

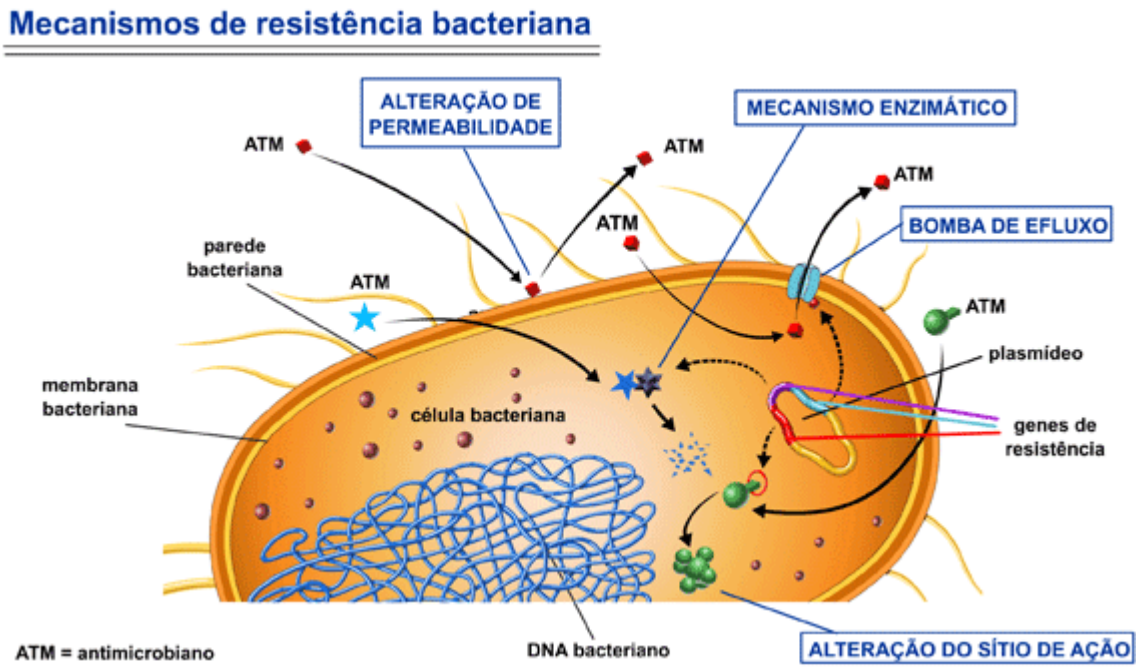


Figura 8. Mecanismo de Resistencia Bacteriana (In: Avisa, 2015)

De Lencastre et al. (1991) sugerem que os três mecanismos podem estar presentes numa mesma amostra, inclusive interagindo entre si que são eles a) hiperprodução de beta - lactamases; b) presença de uma proteína ligadora de penicilina (PBP protein binding penicilin) alterada denominada PBP 2a; c) modificações na capacidade de ligação das PBPs. Staphylococcus áureus possui cinco PBPs. As PBPs são enzimas que catalisam a etapa terminal da síntese da parede bacteriana e se localizam na membrana celular da bactéria. As PBP 1, 2 e 3 são essenciais e têm alta afinidade (sítios-alvo) com os antibióticos beta-lactâmicos, unindo-se a esses por ligações covalentes. A resistência à meticilina em estafilococos é devida à produção de uma PBP adicional, anômala, denominada PBP 2a, que apresenta baixa afinidade com os antibióticos beta-lactâmicos. Esta proteína alterada é codificada por um gene cromossômico denominado meca, que é responsável pela resistência intrínseca dos estafilococos meticilina a todos os antibióticos beta-lactâmicos (Chambers, 1997).

A frequência de *S. áureus* resistente à oxacilina (meticilina) varia conforme a região ou o hospital analisado. A título de exemplo, na cidade do Rio de Janeiro, no ano de 1998, a resistência à oxacilina foi de 27% entre amostras de S. aureus isoladas em um hospital (sem serviço de emergência), enquanto em outro hospital (com serviço de emergência) atingiu 58%. Felizmente, esses micro-organismos ainda mantêm boa sensibilidade à oxacilina e às cefalosporinas da primeira geração na maioria dos isolados do meio extra-hospitalar no Brasil, o que possibilita o uso destes antimicrobianos nas infecções estafilocócicas comunitárias (Oliveira, et al, 1999).

Desde a década de 1970, estafilococos meticilina resistentes tornaram-se a principal causa de infecções hospitalares no mundo. A vancomicina era o único antibiótico efetivo contra os mesmos, mas, em 1997, foram descritos Staphylococcus aureus com resistência à vancomicina e à teicoplanina. Tais estafilococos receberam a sigla VISA (Staphylococcus aureus com resistência intermediária à vancomicina) e atualmente são denominados simplesmente de VRSA (vancomycin resistente Staphylococcus aureus). Seu mecanismo de resistência está associado a uma ativação da síntese da parede celular. em virtude da produção elevada de componentes da parede celular (resíduos de mucopeptídeo) que reduzem a quantidade de antibiótico que chega ao seu local de ação membrana citoplasmática (Boyle-Vavra et al., 2001), ocorre hiperprodução das proteínas ligadoras de penicilinas PBP2 e PBP2', espessamento

da parede celular e aprisionamento das drogas. Estafilococos com resistência aos glicopeptídeos foram recentemente encontrados no Brasil. Registrou-se o isolamento de *Staphylococcus aureus* com resistência intermediária à vancomicina no Rio de Janeiro, em São Paulo e Porto Alegre e de estafilococos coagulase negativos resistentes à vancomicina e à teicoplanina em São Paulo (Otília Santos 1999; Mamizuka e Oliveira 2000).

4. LIBERADORES POLIMÉRICO

Os polímeros são compostos formados, geralmente, de moléculas grandes, (macromoléculas), obtidas pela combinação de moléculas pequenas (monômeros) esta combinação se dá por um processo chamado polimerização, podem se apresentar duas ocorrência a natural e a sintética (SECOLIN et al, 2015).

Os polímeros sintéticos são produzidos quimicamente, em geral, de produtos derivados de petróleo, eles podem oferecer uma infinidade de aplicações. São produzidos para atender cada aplicação requerida, o tamanho e composição química podem ser manipulados a fim de criar propriedades para quase todas as funções dos fluidos. Enquanto os polímeros naturais são aqueles que já existem na natureza , não sendo possível controlar e nem mesmo modificar suas estruturas para atender a cada necessidade (PETROCENTER, 2015).

Até o presente momento os polímeros vem sendo utilizados nas industriais com a finalidade de melhorar a qualidade de vida de todos, os principais polímeros e suas aplicações apresentados na tabela 2.

Polímeros	Aplicações
Poliestireno (esferovite)	Copos, caixas (CDs, cassetes e outras)
Polietileno	Baldes, sacos de lixo, sacos de embalagens
Polipropileno	Cadeiras, poltronas, para-choques de automóveis
Poliamida 6-6 (nylon 6-6)	Fibras, cordas, roupas
PVC (Policloreto de Vinilo)	Tubos
Plexiglas "Vidro plástico" Acrílicos	Plástico transparente muito resistente usado em portas e janelas, lentes de óculos.
Teflon	Revestimento interno de panelas
Borracha natural	Pneus, câmaras de ar, objetos de borracha
Amido	Alimentos, fabricação de etanol
Celulose	Papel, algodão, explosivos
Baquelite (fórmica)	Revestimento de móveis (fórmica), material eléctrico (tomadas e interruptores)
Poliuretano	Espumas rígidas e flexíveis; isolantes

Tabela 2. Exemplo de polímeros e suas aplicações existentes no nosso cotidiano (In: MARQUES, 2015)

Diversos polímeros sintéticos e naturais são utilizados no desenvolvimento de Sistemas de Liberação Controlada (SLC), (Tabela-3). Esses são projetados para terem propriedades cada vez mais específicas e adequadas ao fármaco a ser empregado e ao sítio a ser atingido (KANG,et al, 2006).

POLÍMEROS SINTÉTICOS	POLÍMEROS NATURAIS E SEUS DERIVADOS
Polímeros não biodegradáveis	***Polímeros de base proteica:***
Acrilatos: poli (metacrilato de metila) (PMMA), poli (ácido acrílico) (PA), Poli (metacrilato de 2-hidroxietila) (PHEMA)	Gelatina, albumina, colágeno, fibrina, proteína de soja
Acrilamida: policrilamida, poli (N-isopropilacrilamida)	***Polissacarídeos:***
Polidimetilsiloxano (PDMS)	Quitosana, dextrana, alginato, agarose, carragenina, sulfato de condroitina, ácido hialurónico, pectina, amido, derivados de celulose
Polietilenioglicol (PEG)	***Polihidroxialcanoatos:***
Copolímeros de acetato de etilenovinila (EVA)	Poli (3-hidroxibutirato), poli (3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato), cis-poliisopropeno
Polivinilpirrolidona (PVP)	
Polímeros biodegradáveis	
Poliésteres: poli (ácido láctico) (PLA), poli (ácido glicólico) (PGA), poli (ácido láctico-co-glicólico) (PLGA), poli-ε-caprolactona (PLC), poli (diaxanona) (PDS)	
Poliortoéster	
Polifosfazenos	
Polianidridos	

Tabela 3. Polímeros sintéticos e naturais utilizados na fabricação de sistemas de liberação controlada (In: COIMBRA, 2010).

4.3. LÁTEX NATURAL

O látex de borracha natural é extraído da seringueira *Hevea brasiliensis,* uma árvore originária da bacia hidrográfica do Rio Amazonas como mostra a figura – 9 As partículas de borracha presentes no látex representam 30-45% do volume total e 90% do peso seco do látex. Estas partículas são geralmente esféricas, ovoides, mas podem apresentar formato de pera, e variam consideravelmente em tamanho entre 60 Å e 5-6 µm (GOMEZ, MOIR,. 1979).

Figura 9. Extração do látex da serigueira *Hevea brasiliensis* (In: Herculano et al, 2009).

Elas consistem principalmente de poli(cis-1 4-isopreno) como mostra a figura – 10 um polímero de elevado peso molecular: 500-2000 kDa (D'AUZAC, JACOB, CHESTIN, 1989); as partículas são envolvidas por uma fina camada de fosfolipídios e proteínas, cargas negativas presentes nesta camada asseguram a estabilidade coloidal do meio (NAWAMAWAT, 2011)

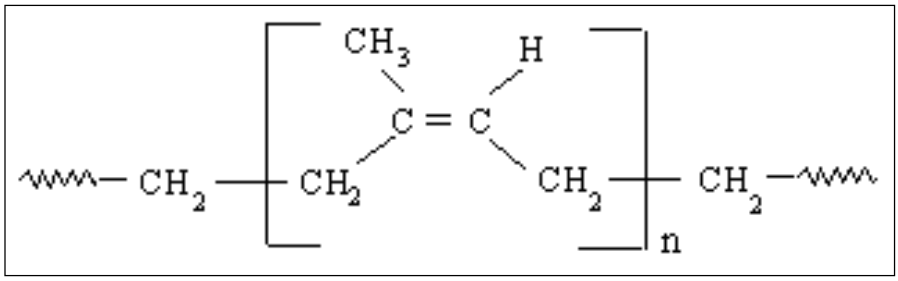


Figura 10. Monômero de poli (cis-1 4-isopreno) (In: MRUÉ, et al, 2004).

Os lipídios e fosfolipídios que formam está camada constituem 1,4 - 3,2% do peso da borracha e contêm 0,4 - 1,2% de lipídeos neutros como mostra a figura – 11 (HASMA e SUBRAMAUIAN,1986).

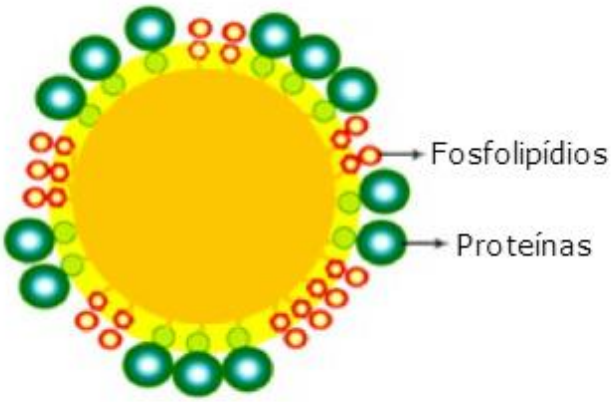


Figura 11. Lipidios e fosfolipidios das particulas de látex (In: Herculano et al, 2009).

A borracha natural é um material muito utilizado pelas indústrias para a fabricação de pneus, luvas, balões, peças para equipamentos médicos e odontológicos. Esse material é bem aceito devido as suas características físicas: elasticidade, plasticidade, resistência e propriedade de isolamento elétrico. Recentemente pesquisas vêm utilizando o látex extraído da *Hevea brasiliensis* também em aplicações biomédicas. Neste tipo de aplicação, o método de fabricação do látex utilizado é o NRLb (Natural Rubber Látex Biomedical), que evita a utilização de produtos químicos como os carbonatos e o enxofre (PINHO, SOUSA,SCHAUD, LACHAT, 2004). O NRLb foi proposto porque o NRL (utilizado anteriormente) apresentava reações alérgicas e citotóxicas (ALLARCON, MALITO, LINDE, BRITO, 2003).

Mrué et al. (2004) utilizaram a membrana de látex natural pela primeira vez como prótese de um segmento do esôfago cervical de cães. Neste estudo o látex funcionou apenas como uma prótese. No entanto, os resultados mostraram que o látex teve propriedade indutora de regeneração tecidual, sendo totalmente eliminado nas fezes dos animais após dez dias de pós-operatório. No lugar da prótese formou-se um “neo-esôfago” (MRUÉ, et al. 2004).

Sader et al. (2000) estudaram o comportamento da membrana de látex natural como substituto parcial do pericárdio de cães. Foram avaliados três grupos: grupo A, onde o pequeno pedaço do pericárdio foi removido e reimplantado imediatamente; grupo B,

em que o pequeno pedaço foi removido e substituído por um de látex natural, com 0,3 mm de espessura; grupo C, no qual o pequeno pedaço de látex tinha 0,7 mm de espessura. Em 50% dos animais do grupo B e C houve completa regeneração do pericárdio. Nos cães do grupo A foi observado um quadro de regeneração irregular do pericárdio. Os resultados mostraram que a membrana de látex foi satisfatória para a substituição parcial do pericárdio de cães.

Em estudo “in vivo” da biomembrana cório-alantóide de embriões de galinha, a membrana de látex natural foi usada por Alves (2003) para analisar o estímulo de atividade angiogênica causada por este material. Foi possível observar a indução de angiogênese no tecido onde a membrana de látex ficou em contato durante o experimento (ALVES. 2003)

Estudos de HERCULANO et al, 2009 têm demonstrado a utilização do látex natural extraído da seringueira *Hevea brasiliensis* como matriz para um SLC, mostrando resultados promissores para futuras aplicações biomédicas.

Devido às características citadas anteriormente, o látex da seringueira apresenta-se como um excelente candidato como matriz sólida de SLC. Na literatura é possível encontrar informações sobre a liberação controlada de alguns fármacos como Metronidazol (HERCULANO, et al. 2010), Ciprofloxacina (MURBACH, HERCULANO, 2001). Diclofenaco de sódio (AIELO, VILLELA, HERCULANO, 2012) e Diclofenaco de potássio (SCHMIDT, HERCULANO, SILVA, 2011); Proteínas - BSA (soro de albumina bovina) (HERCULANO, et al. 2009); extratos naturais como o extrato de Casearina (BORGES, et al, 2013); e nano partículas magnéticas (GIULIANO, HERCULANO, 2013).

5. APLICAÇÃO NO ENSINO MÉDIO

5.1. IMPORTANCIA DA INTERDICIPLINARIDADE E EXPERIMENTAÇÃO NO ENSINO

A adoção de uma abordagem interdisciplinar no ensino médio é uma das indicações dos documentos oficiais, tais como os Parâmetros Curriculares Nacionais (Brasil, 1999), as Orientações Curriculares para o Ensino Médio (Brasil, 2006), as Diretrizes Curriculares Nacionais para o Ensino Médio (Brasil, 1998), e pode ser considerada uma das maneiras de superar a fragmentação do conhecimento (Schinitman, 1987; Morin, 2002). Sendo um processo que precisa ser vivenciado para ser assimilado em sua complexidade, a interdisciplinaridade ganha importância na vida escolar à medida que os docentes passam a desenvolver de forma integrada um trabalho pedagógico, que capacita o estudante a se comunicar, argumentar, enfrentar problemas de diferentes naturezas e a elaborar críticas ou propostas de ação em torno de questões abrangentes da atualidade (HARTAMANN e ZIMMERMNN, 2007).

Por outro lado, estabelecer conexões entre discursos disciplinares pode dar ao estudante a oportunidade não só de aprender um determinado assunto por caminhos diferentes, possibilitando uma maior compreensão do que foi ensinado por aumentar o “ângulo de visão”, mas também o capacita a perceber como a ciência se insere em seu cotidiano (HARTAMANN, 2007). A integração da química com a física e a biologia, num trabalho pedagógico interdisciplinar, pode levar o estudante a ser capaz de estabelecer ligações de interdependência das ciências, possibilitando, dessa maneira, a construção de uma nova ideia de aprendizado.

Na análise de Thiesen (2008), na sala de aula ou em qualquer outro ambiente de aprendizagem, são inúmeras as relações que intervêm no processo de construção e organização do conhecimento. As múltiplas relações entre professores, estudantes e objetos de estudo constroem o contexto de trabalho dentro do qual as relações de sentido são construídas. Nesse complexo trabalho, o enfoque interdisciplinar possibilita o aprofundamento da compreensão da relação entre teoria e prática; aproxima o sujeito de sua realidade mais ampla; auxilia os estudantes na

compreensão das complexas redes conceituais; permite maior significado e sentido aos conteúdo da aprendizagem, possibilitando uma formação mais crítica, criativa e responsável. Ao se desejar um ensino que faça sentido para os estudantes A seção “Relatos de sala de aula” socializa experiências e construções vivenciadas em aulas de Química ou a elas relacionadas. Relato de uma Experiência Pedagógica Interdisciplinar no presente e não somente no futuro ou nunca mais, isto é, um ensino que tenha a ver com a vida cotidiana dos indivíduos, com os fatos e as questões do dia a dia, a necessidade da interdisciplinaridade e da contextualização surge naturalmente.

Segundo Machado (2000), contextualizar é uma estratégia fundamental para a construção de significações. À medida que se incorporam relações facialmente percebidas, a contextualização enriquece os canais de comunicação entre a bagagem cultural, quase sempre as formas explícitas ou explicitáveis de manifestação do conhecimento. A ideia de interdisciplinaridade oferece desafios que começam pelo próprio entendimento do significado que se pretende dar a ela.

Conforme Pontuschka et al. (2007), a interdisciplinaridade como princípio e atitude constitui foco de discussão para pesquisadores e educadores de vários níveis de ensino que, ao reconhecerem a complexidade do mundo pós-industrial e o processo de globalização, vivenciados pelos povos do mundo inteiro, estão cientes de que os saberes parcelares não conseguem resolver problemas que demandam conhecimentos específicos, relacionados a um objetivo comum e central.

De acordo com Hartmann (2007), o uso da interdisciplinaridade não é um trabalho de disputa entre as disciplinas, mas um serviço em conjunto, objetivando somente ampliar a visão do estudante a respeito de certos conhecimentos, consequentemente contribuindo na sua formação para a vida. Analisando o papel da experimentação no ensino de ciências.

Segundo Guimarães (2009), a experimentação pode ser uma estratégia eficiente para a criação de problemas reais que permitam a contextualização e o estímulo de questionamentos de investigação.

Ainda segundo o mesmo autor, para que se obtenha uma “significativa, as aulas experimentais não podem ser conduzidas como uma “receita de bolo”, mas sim de

forma investigativa, na qual os estudantes possam testar hipóteses, utilizando para isso os seus conhecimentos prévios, pois, segundo Ausubel, citado por esse autor, o que mais influência na “aprendizagem significativa é o que o aluno já sabe.

Conforme descrito por Santos e Schnetzler (1996), as atividades experimentais são relevantes quando caracterizadas pelo seu papel investigativo e sua função pedagógica em auxiliar o estudante na compreensão dos fenômenos.

Na concepção de Francisco et al. (2008), a experimentação investigativa é empregada anteriormente à discussão conceitual e visa obter informações que subsidiem a discussão, a reflexão, as ponderações e as explicações, de forma que o estudante compreenda não só os conceitos, mas a diferente forma de pensar e falar sobre o mundo por meio da ciência.

Esse mesmo autor aborda ainda a experimentação problematizadora, mostrando que esta vai além da experimentação investigativa, pois se utiliza continuamente da leitura, da escrita e da fala, objetos da linguagem indispensáveis na busca por uma “aprendizagem significativa”.

Uma grande importância na realização de atividades experimentais interdisciplinares é a de proporcionar aos estudantes oportunidades para o desenvolvimento de habilidades e competências, atitudes e valores, além da reconstrução de conceitos, atendendo à proposta explicitada nos Parâmetros Curriculares Nacionais do Ensino Médio (Brasil, 1999) e Orientações Educacionais Complementares aos Parâmetros Curriculares Nacionais (Brasil, 2002). Ainda segundo orientações contidas nesses documentos, os conteúdos a serem ensinados e as estratégias de ensino devem ser repensados, tendo em vista a formação de indivíduos que sejam capazes de se apropriar de saberes de maneira crítica e ética, devendo a aprendizagem estar associada às competências relacionadas aos quatro pilares da educação: saber fazer; saber conhecer; saber ser; e saber ser em sociedade, para que os conteúdos e as estratégias proporcionem aos estudantes oportunidades de desenvolver conceitos, habilidades e atitudes para conquista da cidadania plena.

5.2. A MICROBIOLOGIA E QUÍMICA

A Microbiologia é a ciência que se preocupa com o estudo dos microrganismos e de suas atividades. Estuda a forma, a estrutura, a reprodução, a fisiologia, o metabolismo e a identificação dos seres microscópicos. Estuda sua distribuição natural, suas relações recíprocas e com outros seres vivos, seus efeitos benéficos e prejudiciais sobre os homens e as alterações físicas e químicas que provocam em seu meio ambiente. Em sua maior parte, a Microbiologia trata com organismos microscópicos unicelulares. Nos indivíduos unicelulares todos os processos vitais são realizados numa única célula. Independentemente da complexidade de um organismo, a célula é, na verdade, a unidade básica da vida. No processo de reprodução, os organismos vivos mantêm uma identidade de espécie, possuindo potencialidades de alterações, buscando encontrar um modo especial de sobreviver. A tarefa dos microrganismos na natureza é algo sensacional, especialmente, quando se lembra de seu papel como regulador do equilíbrio entre seres vivos e mortos (CAMPBELL e REECE, 2008)

5.3. MATERIAIS E METODOS

5.3.1. Materiais

- Microscópio;
- Lupa, lâminas e lamínulas;
- Conta-gotas;
- Pinça de metal;
- 10 frascos de vidro;
- Filme PVC;
- 5 a 10 uvas bem maduras;
- Água de poça, lago ou rio;
- Fruta bem madura;
- Feno ou grama;
- Feijão;
- Queijo;
- Alface;
- Pão;
- Terra de jardim;
- Maisena;
- Pimenta do reino em grãos
- Elásticos;

5.3.2. Procedimento

Inicialmente deve-se enumerar todos os frascos;

No frasco um adicione as frutas cortadas;

No frasco dois adicione as uvas levemente esmagadas, juntamente com agua suficiente para cobri-las;

No frasco três adicione a agua de poço, lago ou rio;

No frasco quatro adicione o feno ou a grama, em quantidade suficiente para cobrir o fundo, junto com 200ml de agua;

No frasco cinco adicione alguns grãos de feijões, juntamente com 200ml de agua;

No frasco seis adicione um pedaço de queijo;

No frasco sete adicione algumas folhas de alface, juntamente com um pouco de agua;

No frasco oito adicione um pedaço de pão amanhecido exposto ao ar por 24 horas,

No frasco nove adicione cinco gramas de maisena misturada com 95 gramas de solo adubado, adicione agua suficiente para deixar a mistura pastosa;

No frasco dez adicione uma grama de pimenta do reino em grão, juntamente com 200ml de agua.

Após termina os passos acima deve-se cobrir os frascos com filme de pvc e deixá-los na sobra por um tempo de uma semana;

Após o discorrer do tempo retirar o filme de pvc dos frascos e observá-los no microscópio.

Após a observação dos frascos descreva e desenhem os organismos observados.

6. MATERIAIS E METODOS

6.1.MATERIAIS

- Látex Natural
- Liofilizador
- Nitrogênio líquido
- Pipetador Automático
- Agua deionizada
- Béqueres;
- Cubeta de quartzo;
- Membranas de látex;
- Pipeta Volumétrica de 5mL
- Espátula "Esterilizada"
- Tubo de ensaio estéreis 20mL
- Autoclave
- Cepas de Staphylococcus aureus
- Estufa microbiológica
- Placas de ágar BHI
- Inoculo preparado anteriormente
- Bico de Bunsen
- Pinça
- Membrana de látex
- Ponteiras de 1ml
- Amoxicilina (Medley)
- Agua deionizada
- Placas de vidro
- Espectrofotômetro de varredura;
- Pipetador automático;
- Ponteira de 1ml;
- Membranas de látex com amoxicilina.
- Caldo BHI - BD Brain Heart Infusion (Acumedia)
- Agar BHI - BD Brain Heart Infusion (Acumedia – Himedia)
- Placa de Petri
- Caldo de BHI (Acumedia)
- Alça de Drigalski
- Bico de Bunsen
- Alça de Drigalski
- Fluxo
- Pinça
- Membrana de látex

6.2.METODOS

6.2.1. Obtenção do Látex

O látex natural utilizado neste projeto de pesquisa foi adquirido da BDF Comércio de Produtos Agrícolas LTDA, Guarantã - SP. Este látex é obtido da mistura de dois clones: RRIM 600 e PB 235 (Lote: 01703/13). Depois da extração, o látex foi mantido em fase líquida através da adição de hidróxido de amônio corrigindo a acidez e estabilizando o meio ao pH igual a 10,20. Após adição do hidróxido de amônio, o material foi centrifugado a 8000g para retirar o excesso de proteínas contidas no látex natural.

Os resultados das análises realizadas no Lote nº 01703/13 estão listadas na Tabela 4:

Requisitos	**Valores**
Sólidos totais	61
Borracha Seca (DRC)	60
Diferença entre sólidos totais e borracha seca	1,00
NH_3	0,71
pH	10,20
Viscosidade	30 seg
Estabilidade mecânica	515
VFA	0,0136
Cor	Normal
Odor	Normal

Tabela 4. Parâmetros analisados no látex natural pela BDF – Comércio de Produtos Agrícolas LTDA.

6.2.2. Confecção das Membranas

A confecção das membranas contendo o fármaco Amoxicilina foi realizada pelo método desenvolvido por Miranda (2014) com pequenas modificações.

As misturas de 1 mL de látex natural e 2 mL das soluções de Amoxicilina (2,5 $mg.mL^{-1}$) foram colocadas em placas de vidro. As placas contendo as misturas foram submetidas a uma lamina de nitrogênio líquido durante 2 minutos. Após, foram colocadas no liofilizador em temperatura de -97°c e pressão de 56µHg por 24 horas para a obtenção das membranas como mostra as figuras 12, 13, 14 e 15.

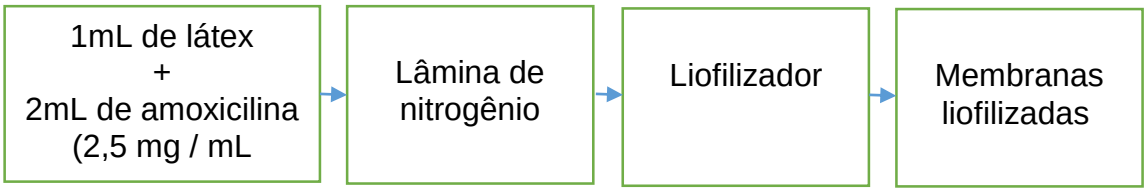


Figura 12. Fluxograma de confecção das membranas

Figura 13. Mistura de látex e farmaco colocadas nas placas de vidro

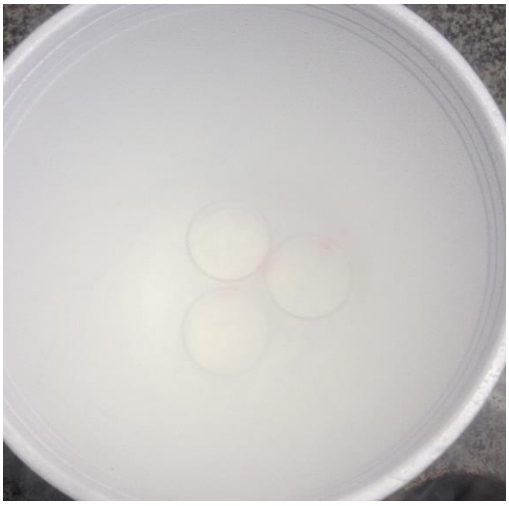


Figura 14. Placas sendo submetida a lâmina de nitrogênio.

Figura 15. Membranas Liofilizadas

6.2.3. Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A técnica de FTIR foi utilizada por permitir a identificação de grupos funcionais (aminas, amidas, anéis aromáticos, álcoois, fenóis, entre outros), além de proporcionar o estudo de possíveis interações entre o látex natural e o fármaco utilizado. O equipamento opera mediante a técnica de transformada de Fourier. Os espectros foram registrados na região compreendida entre, pelo método ATR (Refletância Total Atenuada) em um Espectrofotômetro FTIR - VERTEX 70 / BRUKER; fonte: Laser de HeNe (emite radiação na região do infravermelho médio); Detector: DLaTGS).

A espectroscopia de Reflexão Interna ou Refletância Total Atenuada (ATR) é uma técnica utilizada para se obter espectros no infravermelho de amostras como: pastas, adesivos e pós que não podem ser analisados pelos métodos convencionais, como pastilhas ou filmes.

6.2.4. Ensaio de liberação

Os ensaios de liberação foram realizados seguindo a metodologia utilizada por liberação estática desenvolvido por MURBACH et al, 2014 com pequenas modificações onde as membranas foram colocadas em béqueres contendo 100 mL de água deionizada e mantidos a temperatura ambiente. Alíquotas foram retiradas em tempos determinados e analisadas em espectrofotômetro de varredura para a determinação da cinética de liberação realizada pelas membranas de látex natural dopadas com amoxicilina.

6.4.5. Preparação dos Meios de Culturas

6.4.5.1. Procedimento de Preparo do meio Caldo BHI

O meio foi pesado e hidratado conforme as instruções do rotulo do fabricante, Após isso foi distribuído 5,0 ml do caldo em tubos com tampa de rosca; os tubos foram esterilizados em autoclave, respeitando o tempo pré estabelecido. Após o discorrer do tempo retirou – se os tubos da autoclave e deixou esfriar em temperatura ambiente.

6.4.5.2. Procedimento de Preparo do meio Ágar BHI

O meio foi pesado e hidratado em um Erlenmeyer conforme as instruções do rotulo do fabricante, Após foram esterilizados em autoclave, respeitando o tempo pré estabelecido para a total esterilização do meio, ao termino do discorrer do tempo

retirou – se dá autoclave, e ainda quente para a não houver a solidificação transferiu se 12 ml paras as placas de vidro.

6.2.6. Preparação do inoculo

O inoculo foi preparado no caldo BHI, onde com auxílio da alça de platina passou –se duas alçadas a cepa para o tudo controle de BHI, inoculo - se a 37° em estufa por 24hrs para a ativação completa do micro-organismo.

6.2.7. Semeadura

Primeiramente foi realizada as diluições do inoculo controle, onde foi retirado 1ml do inoculo controle e passado para um novo tubo contendo 5ml de caldo BHI, e repetiu esse procedimento até atingir a diluição -4, sempre retirando do tubo que já havia sido diluído.

As placas formam semeadas seguindo as mesmas diluições acima, retirando cerca de 0,1ml de cada tudo diluído e aplicando sobre a placa já com o ágar solidificado, com o auxílio da alça de Drigalski espalhou se o inoculo na placa em várias direções para que houvesse o crescimento do micro-organismo por toda placa.

6.2.8. Teste de inibição com aplicação das membranas

As membranas foram aplicadas com o auxílio de um pinça flambada e fria, nas placas foram colocadas no centro e fez um leva pressão sobre a mesma para melhor aderência ao meio, nos tubos as mesma só foram adicionadas ao meio, após isso foram incubadas em estufa 37° por 48hrs para a observação de crescimento dos possíveis halos de inibição.

Foi realizada também o controle da membrana, controle do fármaco, e o controle de crescimento

Após o período de incubação as placas foram observadas para ver o crescimento dos possíveis halo, e os micro-organismo presentes no tubo foram passados para as placas para ter se ter certeza se houve ou não a inibição do micro-organismo como mostra as figuras 16 e 17.

Figura 16. Aplicação das membranas nos tubos

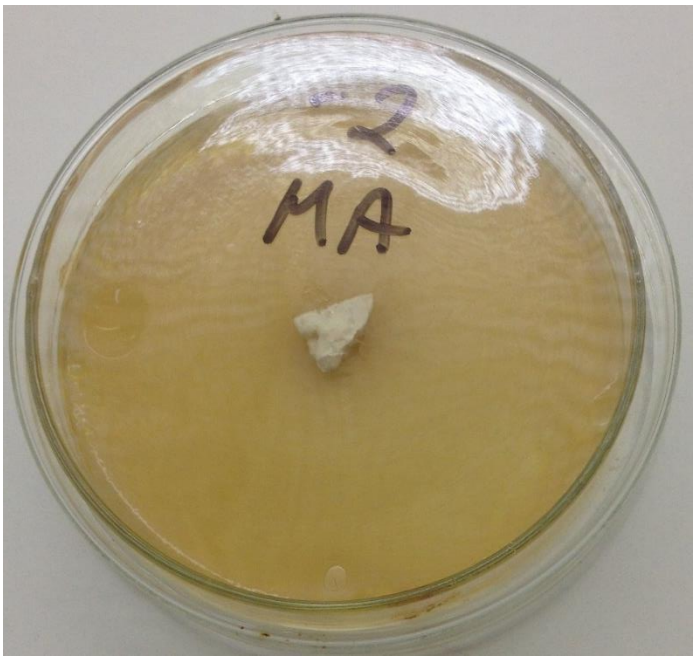


Figura 17. Aplicação das membranas nas placas

7. RESULTADO E DISCULSSÕES

7.1.ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFOMADA DE FOURIE (FTIR)

A Figura 18 mostra o espectro de FTIR para as membranas de látex natural, onde podemos identificar absorções características para o poli(*cis*-1,4-isopreno): 2960 e 1375 cm^{-1} deformação CH_3; 2916, 2852 e 1446 cm^{-1} deformação CH_2; 1661 cm^{-1} deformação C=C; e 836 cm^{-1} CH fora do plano, sendo esta absorção a mais importante para a identificação do látex natural, pois caracteriza a função $R_2C=CHR$ (*cis*-1,4).

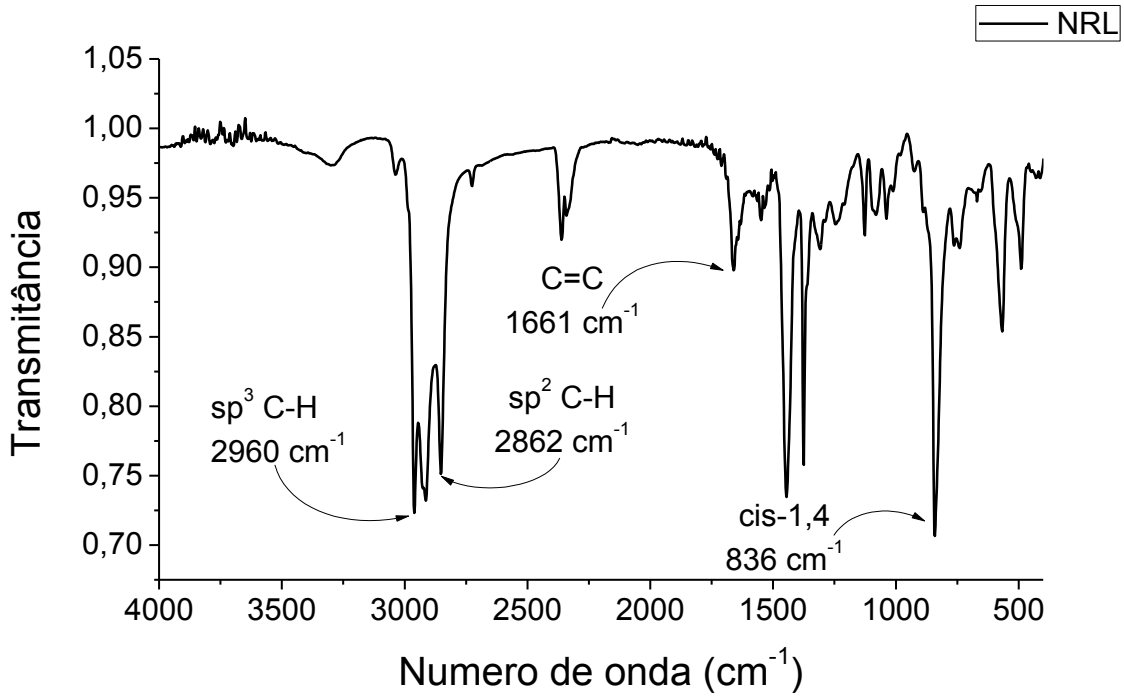


Figura 18. Espectro de Infravermelho para as membranas de Látex natural

A figura 19 mostra o espectro de FTIR para amoxicilina onde podemos observar uma banda a cerca de 3.470 cm^{-1} (vibração OH , NH alongamento) e picos característicos

em 1.769 cm^{-1}(C = O alongamento de β - lactâmico), 1,688 cm^{-1} (C = O alongamento de amida) e 1587 cm -1 (alongamento assimétricas de carboxilato).

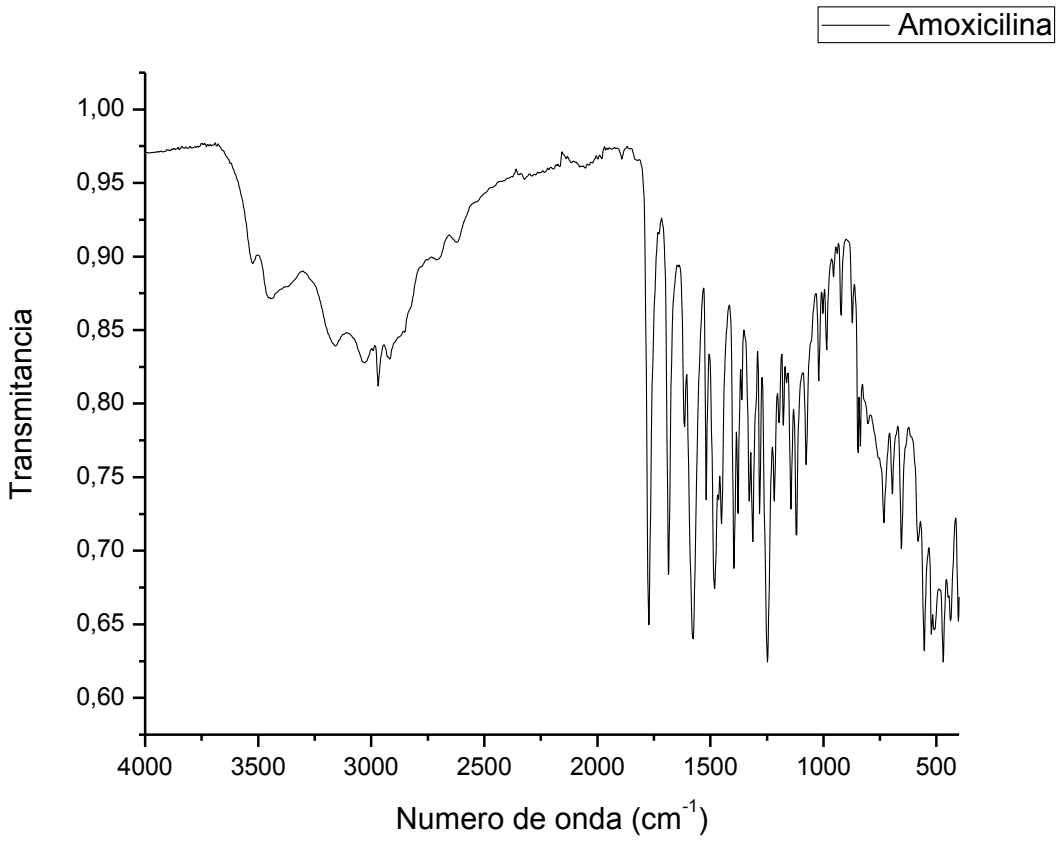


Figura 19. Espectro de Infravermelho da Amoxicilina

A figura 20 mostra o espectro de FTIR para a membrana NRL com Amoxicilina , onde podemos observar absorções características tanto para o NRL quanto para a Amoxicilina. Adicionalmente foram observadas diferenças nas bandas de absorção: em 3000 cm^{-1} (deformação OH e NH alongamento) onde o aumento da banda indica maior quantidade de interações do tipo ligação de hidrogênio; Esta observação evidenciam a incorporação do fármaco na matriz polimérica, e que estes não interagem covalentemente.

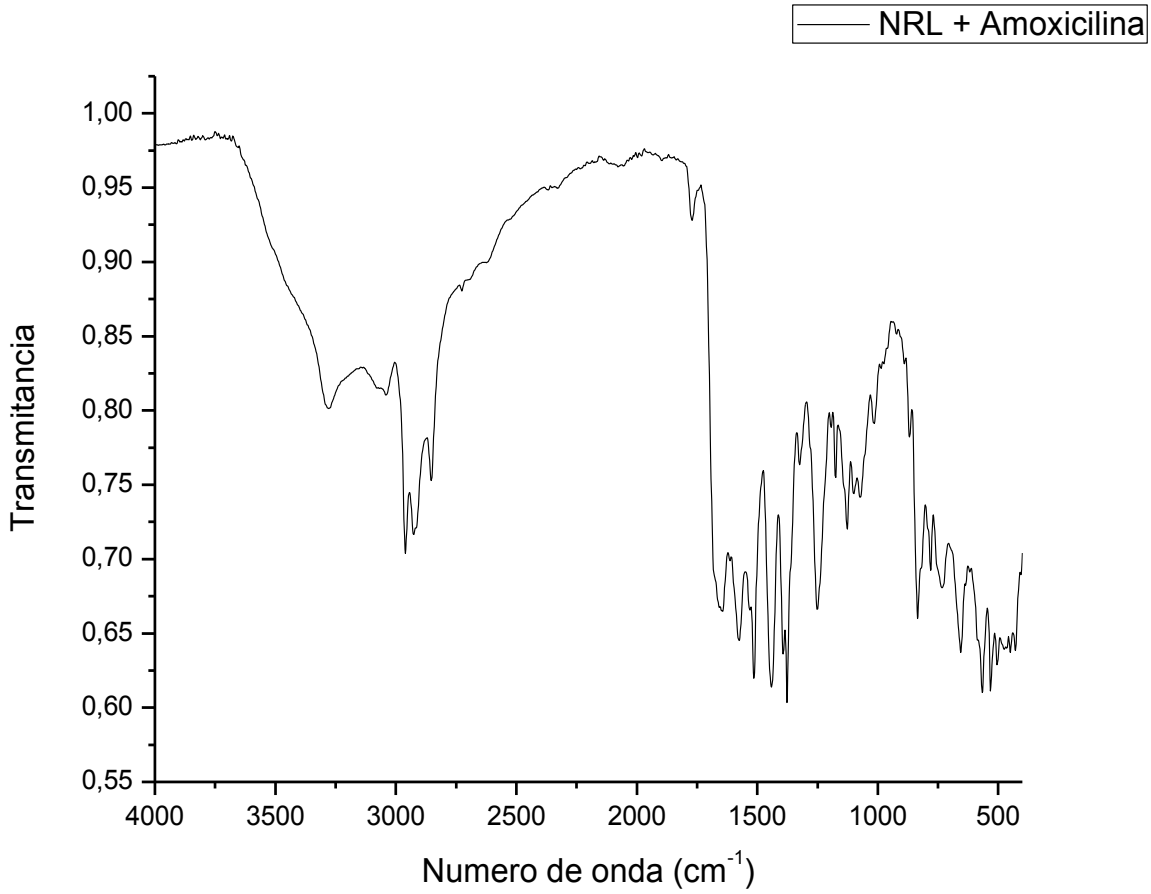


Figura 20. Espectro de Infravermelho para as membranas dopadas de Amoxicilina

7.2. IDENTIFICAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE FÁRMACO EM SOLUÇÃO

Para a identificação da quantidade de fármaco liberada pelas membranas de látex natural durante os ensaios de liberação foi construída uma curva de calibração, Esta curva foi obtida utilizando diferentes concentrações do fármaco, dissolvidos em água. As leituras das absorbâncias apresentadas pelas soluções de diferentes concentrações do fármaco foram realizadas no comprimento de onda de 230 nm (comprimento de onda de maior absorção para a amoxicilina). O espectro e a curva obtida é apresentada nas figuras 21 e 22.

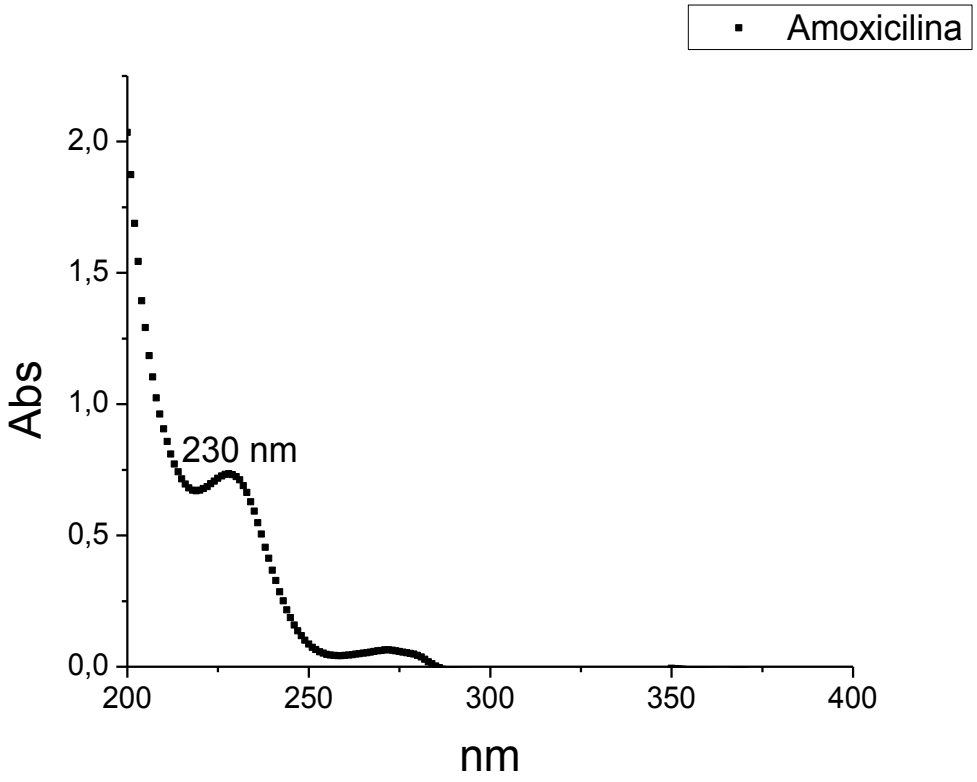


Figura 21. Espectro de Absorbância da Amoxicilina.

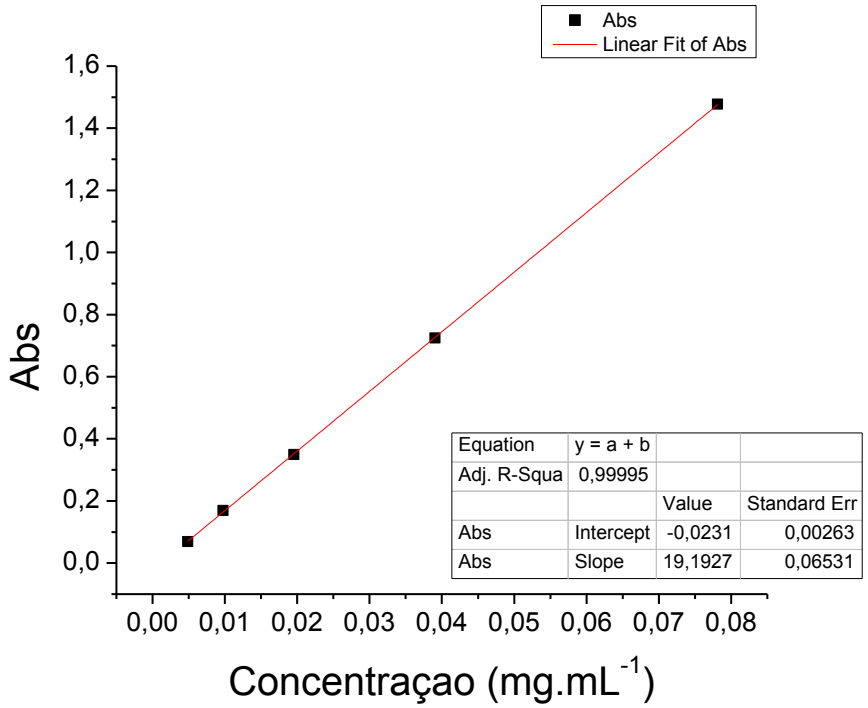


Figura 22. Curva de Calibração

7.3. CINETICA DE LIBERAÇÃO

As membranas funcionalizadas com Amoxicilina foram capazes de liberar em um período de 96 horas (4 dias) até 72 % de todo o fármaco incorporado nas membranas. A cinética de liberação para a Amoxicilina foi obtida utilizando a função bi exponencial: $y(t) = y_0 + A_1e^{-t/\tau 1} + A_2e^{-t/\tau 2}$, onde y (t) é a quantidade fármaco liberado pelas membranas em função do tempo t, y_0 é a quantidade inicial de fármaco nas membranas, os valores para as constantes A_1 e A_2 são respectivamente -179,03662 e -59,34621, e os tempos característicos τ_1 e τ_2 são 0,40989 e 10,5673, respectivamente.

A cinética de liberação da Amoxicilina por membranas de látex natural confeccionadas em liofilizador utilizando as proporções de látex natural e solução de fármaco 1:2 apresenta duas etapas durante a cinética de liberação: (i) liberação inicial rápida (“burst release”) em um período de 8 horas, liberando 42% de todo o fármaco presente nas membranas, seguida de (ii) liberação mais lenta de 30% do fármaco em um período que se estende 24- 96horas, como mostra a figura 23.

Durante a confecção das membranas funcionalizados com o fármaco uma parcela deste cristaliza na superfície das membranas sendo liberada nas primeiras horas de ensaio sendo responsável pelo “burst release” (a primeira etapa da cinética de liberação). A segunda etapa desta cinética (etapa lenta) depende da capacidade de difusão do meio aquoso entre os poros presentes nas membranas, o fluido permeia as membranas carreando o fármaco através de ligações de hidrogênio entre a água e o fármaco.

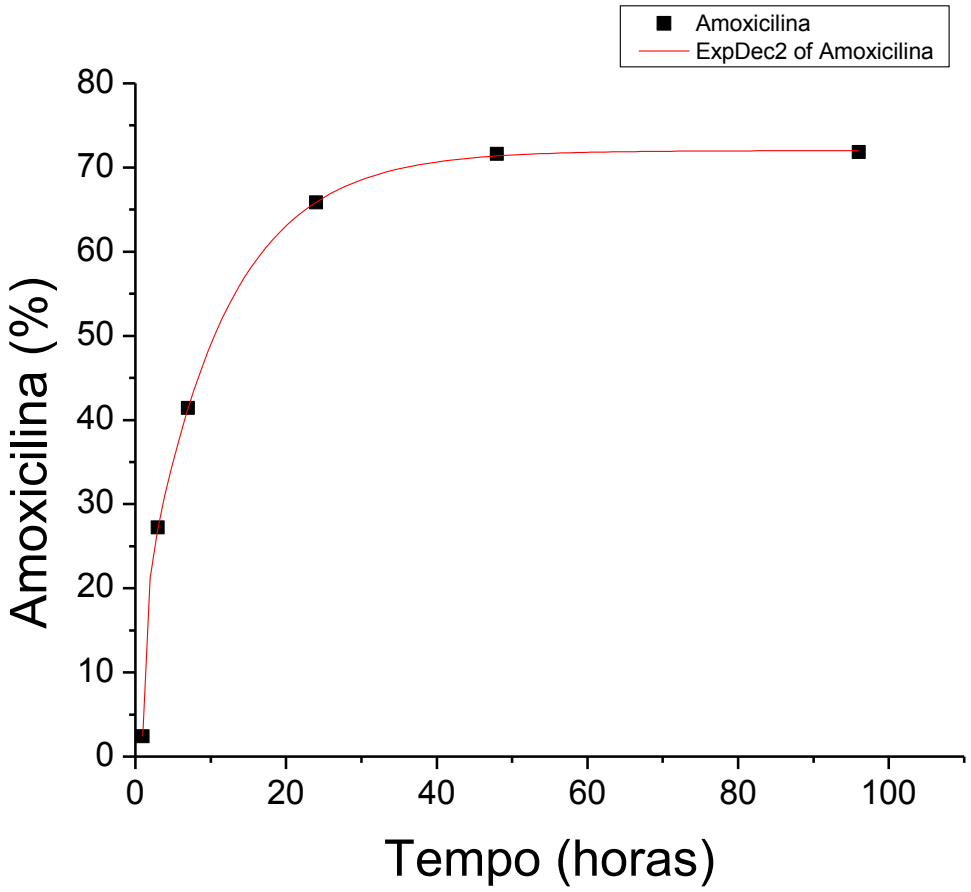


Figura 23. Cinetica de Liberaçao da Amoxicilina

7.3. TESTE DE INIBIÇÃO

A figura 24 nos mostrou o controle do crescimento do micro-organismo por toda placa.

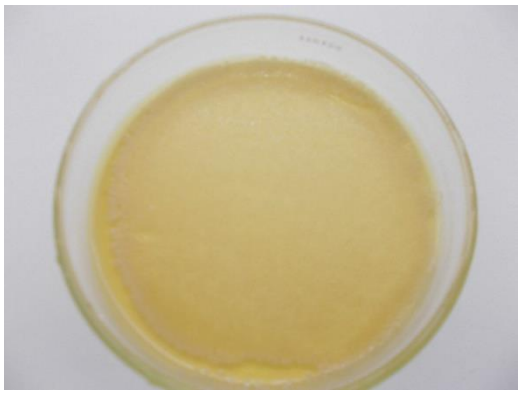


Figura 24. Controle de crescimento

A figura 25 mostrou que as membranas dopadas com amoxicilina não foram capazes de inibir o crescimento do micro-organismo Staphylococos Áureos, pois não foi possível observar nenhum halo de inibição em nenhuma das amostras analisadas.

Figura 25. Placas com aplicação da membrana para verificação de halo

A figura 26 mostrou também que as membranas não foram capazes de inibir o crescimento em meio liquido, pois o mesmo apresenta turvação o que e característica de crescimento microbiológico.

Figura 26. Teste de inibição em meio liquido

A figura 27 é prova de que a membrana não foi eficaz no meio liquido, pois deste foi transferido para as placas para ver se realmente não houve inibição e como resultado mesmo após a adição da membrana durante o período de incubação houve o crescimento de micro-organismo por toda placa mostrando que ele não foi eficaz neste teste.

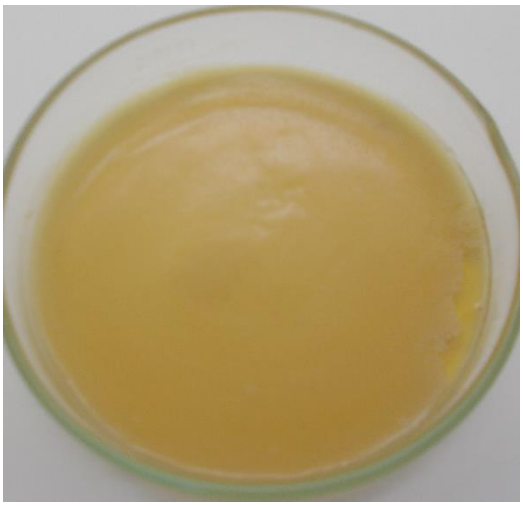


Figura 27. Prova de ausência de inibição no teste em meio liquido

A figura 28 é uma prova de que o fato da membrana não ter sido eficaz não está no fármaco utilizado, pois o mesmo foi desenvolvido para a destruição do micro-organismo u, pois a sua utilização sem a intervenção da membrana obteve resultado satisfatório, mostrando que o problema encontrasse na membrana e não nele.

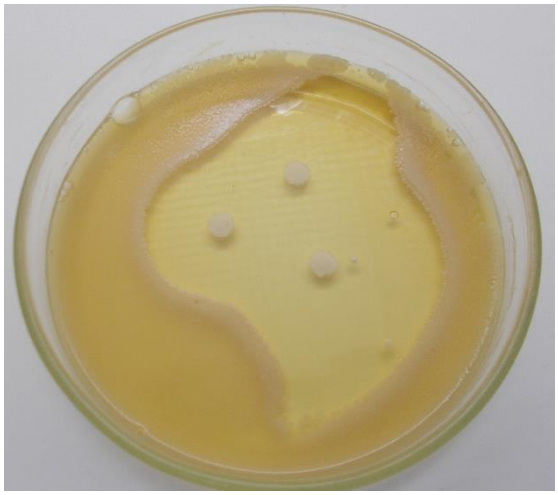


Figura 28. Teste com a Amoxicilina sem intervenção da membrana de látex

8. CONCLUSÃO

Os espectros de FTIR para a membrana de látex natural e para a Amoxicilina permitiram a identificação de grupos funcionais característicos para estes, além disso a análise de FTIR para a membrana de látex natural impregnada com Amoxicilina não apresentou nenhuma banda de absorção adicional, provando a ausência de interação covalente entre o fármaco e a matriz polimérica. Estes resultados demostram a capacidade de as membranas de látex natural funcionarem como matriz sólida na liberação sustentada de Amoxicilina.

Os ensaios de liberação *in vitro* da Amoxicilina sustentada por membranas de látex natural mostrou que a matriz polimérica é capaz de manter o fármaco estável após a incorporação e confecção das membranas, e posteriormente, proporcionar uma gradual liberação da substância quando carreada através de interações do tipo ligação de hidrogênio pela solução difundida no interior das membranas. A matriz mostrou-se eficaz na liberação sustentada de Amoxicilina por 8 horas, liberando neste período aproximadamente 42% de todo o fármaco incorporado. A matriz ainda foi capaz de liberar mais 30% de fármaco no período que se estende entre 24 - 96 horas.

Os teste em cultura do micro-organismo para verificar a eficiência do fármaco incorporado nas membranas, mostrou não tão ser eficaz, pois o mesmo não foi capaz de inibir o crescimento dos micro-organismo. Com este resultado pode ser entendido que houve a perda, ou degradação do fármaco durante algum processo na realização do trabalho ou até mesmo a concentração presente nas membranas não foi o suficiente para um resultado positivo.

Com base nos resultados obtido durante a realização do trabalho concluímos que o látex natural extraído da Seringueira *Hevea brasiliensis* pode ser utilizado como matriz sólida em futuras investigações quanto a liberação tópica de Amoxicilina, porem necessita de outros teste para melhor desempenho.

REFERENCIAS

AIELO, P. B.; VILLELA, A. e HERCULANO, R. D. “Avaliação da liberação controlada do Diclofenaco de sódio empregando biomembrana de látex natural como carreador”. In: Congresso Latino-Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais. 7. 2012. Natal. Brasil. **Anais. Natal: [SLABO]**. Ref. 06-052. 2012

ALLARCON, J. B; MALITO, M; LINDE, H. e BRITO, M. E. M. “Alergia ao látex”. **Revista Brasileira de Anestesiologia**. vol.53, nº 1, 2003.

ALVES MCO. **Teste da angiogênese estimulada por membranas de látex natural**. 2003. 70p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2003.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Bulário Eletrônico da Anvisa**. Disponível em: <http://bulario.bvs.br> Acesso em: Jun/2015

Bahal, N. and Nahata, M.C. - The new macrolide antibiotics azithromycin, clarithromycin, dirithromycin, and roxithromycin. Ann. Pharmacother., 26: 46-55, 1992.

BARROS, E. et al. Antimicrobianos – Consulta rápida. **Artes Médicas.** 2ª ed. 1996.

BORGES, F. A.; PERRI, E. G.; DOS SANTOS, A. G.; TRECCO, A. e HERCULANO, R. D. “Temperature influence in the extract release of Casearia sylvestrisusing NRL biomembrana”. In: Brazilian MRS Meeting.12. 2013. Campos do Jordão. Anais. Rio de Janeiro: **SBPMat**. Ref. 6JXT.

CAMPBELL, N.A. & REECE, J.B. Biology. 8th edition. San Francisco, Pearson Benjamin Cummings, 2008.

COIMBRA, P. M. A. **"Preparação de sistemas de liberação controlada de fármacos com base em polímeros de origem natural"**. 2010. 242p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade de Coimbra, p.242. Coimbra, 2010.

CHAMBERS HF, SANDE MA, Antimicrobial Agents,, Goodman & Gilman's **The Farmacological Basis of Therapeutics,** 1996, Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW, Gilman AG eds, cap. 43, pg. 1029.

Chu, S.-Y.; Sennello, L.T.; Bunnell, S.T.; Wilson, D.S.; and Sonders, R.C. - **Pharmacokinetics of clarithromycin, a new macrolide, after single ascending oral doses.** Antimicrob. Agents Chemother., 36:2447-53, 1992.

D'AUZAC, J.; JACOB, J. L. e CHESTIN, H. **"Physiology of Rubber Tree Latex"**. CRC, Boca Raton, FL, 470 p. 1989.

De Lencastre HSA, Figueiredo AS, Urban C, Tomasz A. Multiple mechanisms of methicillinresistance and improved methods for detection in clinical isolates of S. aureus. **Antimicrob Agents Chemother** 35: 632-639, 1991

Feres, H. - **Pro-drug of b-Lactam Antibiotics**. In: Drug of Today, 19:499- 538, 1983.

GIULIANO, C. B. e HERCULANO, R. D. "Evaluation of ciprofloxacin and magnetic nanoparticles delivery system employing natural latex membranes as carrier". In: Brazilian MRS Meeting. 12. 2013. Campos do Jordão. Anais. Rio de Janeiro: **SBPMat**. Ref. 6KCS.

GOMEZ, J. B. e MOIR, G. F. J. **"The Ultracytotogy of Latex Vessel in *Hevea brasiliensis*"**. Monography nº. 4. Malaysian Rubber Research Development Board, Kuala Lumpur, 76 p. 1979.

GUIMARÃRES, Denise Oliveira. MOMESSO, Luciano da Silva. e PUPO, Mônica Tallarico. “ Antibióticos: Importância terapêutica e perspectivas para descoberta e desenvolvimento de novos agentes. Revista **Química Nova**. Vol. 33, n° 3. p.667-669. 2010

HANSH, C. - **Comprehensive Medicinal Chemistry, v.I, Pergamon Press**, New York. p.39-80. 1990.

HASMA, H. e SUBRAMAUIAN, A. “Composition of lipids in latex of Hevea brasiliensis clone RRIM 501”. **Journal of Natural Rubber Research**. 1, 30-40. 1986.

HERCULANO, R. D.; SILVA, C. P.; ERENO, C.; GUIMARÃES, S. A. C.; KINOSHITA, A. e GRAEFF, C. F. O. “Natural rubber latex used as drug delivery system in guided bone regeneration (GBR)”. **Materials Research**, v.12, nº 2, p.253-256, 2009

HERCULANO, R. D.; GUIMARÃES, S. A. C.; BELMONTE, G. C.; DUARTE, M. A. H.; OLIVEIRA, O. N. J.; KINOSHITA, A.; e GRAEFF, C. F. O. “Metronidazole release using natural rubber latex as matrix”. **Materials Research**. v.13, nº 1, p.57-61, 2010.

IARIA, Sebastião Timo. Staphylococcus aureus enterotoxigênico em doces cremosos vendidos em padarias e confeitarias do município de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 15, n. 3, jun. 1981.

KANG, H. S.; PARK, S. H.; LEE, Y. G. e SON, T. I. “Polyelectrolyte complex hydrogel composed of chitosan and poly(gamma-glutamic acid) for biological application: preparation, physical properties, and cytocompatibility”. **Journal of Applied Polymer Science**. v. 103, p. 386-394, 2006.

Lacaz, C.S. - **Antibióticos**, 3ª ed., Edgard Blucher, São Paulo, 1975.

LAX, Eric, 2004 - **The Mold in Dr. Florey's Coat: the story of the penicillin miracle**, New York, H.Holt.

LIECHTY, W. B.; KRYSCIO, D. R.; SLAUGHTER, B. V. e PEPPAS, N. A. "Polymers for Drug Delivery Systems". Annual **Review of Chemical and Biomolecular Engineering**. 2010; 1:149–173. Doi: 10.1146/annurev-chembioeng-073009-100847.

Livermore DM, Williams JD, b -Lactams: Mode of Action and Mechanisms of Bacterial Resistence, Antibiotics in Laboratory Medicine, 1996, Ed. Williams & Wilkins, Lorian V ed., cap. 12, pg. 502-503. 3 - Greenwood D, Historical Introdution, Antibiotic and Chemotherapy, 1997, Ed. Churchill Livingstone, O'Grady F, Lambert HP, Finch RG, Greenwood D eds, cap. 1, pg. 2-9.

LOWY, F.D. Staphylococcus aureus infections. New England **Journal of Medicine**. V.339, p.520-532, 1998.

LU, P. et al. Risk factors and molecular analysis of community methicillin-resistant Staphylococcus aureus carriage. **Journal Clin. Microbiol**., Washington, DC, v. 43, n. 1, p.132- 139, 2005.

Mamizuka EM, Oliveira GA. **Isolamento de cepas de Staphylococcus aureus com sensibilidade reduzida à vancomicina em hospital brasileiro**. Pharm Bras 6: 7-8, 2000.

MARTINS, L. T. Staphylococcus. In: TRABULSI, L. R. et al. **Microbiologia**. 3ª ed. São Paulo: Editora Atheneu, Cap.18, p. 149-156, 2002.

MICROBIOLOGY. **Book online**. Disponivel em: < http://www.microbiologybook.org/Portuguese/chapter_4_bp.htm> Acesso em: Jun/2015

MICROMEDEX (R). **Health Care Series: Micromedex, Greenwood Village**, Colorado. Disponível em: <http://www-thomsonhccom.ez49.periodicos.capes.gov.br/micromedex2/librarian/CS/A07B07/PFActionId/pf.HomePage> Acesso em: Jun/2015.

Modai, J. - The clinical use of macrolide. **Journal Antimicrob**. Chemother., 22(Suppl.B): 145-53, 1988.

MORARES, L.P. **Causas, sintomas e tratamento de Impetigo**. Disponivel em: http://www.alunosonline.com.br/biologia/impetigo-causas-sintomas-tratamento.html> Acesso em : Jun/2015.

MURBACH, H. D. e HERCULANO R. D. **"Liberação sustentada de Ciprofloxacina empregando biomembrana de látex"**. In: Jornada Farmacêutica da Universidade Estadual Paulista. 58. 2001. Araraquara. Anais. São Paulo: Ed. UNESP. Não paginado.

MURBACH, Heitor dias; OGAWA, Guilherme Jaques; BORGES, Felipe Azevedo; MIRANDA, Matheus Carlos Romeiro; LOPES, Rute; BARROS, Natan Roberto; MAZALLI, Alexandre Vinicius Guedes; SILVA, Rosangela Gonçalves; CINMAN, José Luiz Ferreira; DRAGO, Bruno de Camargo e HERCULANO, Rondinelli Donizetti. "Ciprofloxacin Release Using Natural Rubber Latex Membranes as Carrier". **International Journal of Biomaterials**. vol. 2014, p. 7, 2014.

MRMEDICAL. **Colônia de Estafilococos Áureos**. Disponivel em: <http://www.mrsamedical.com/MRSA%20bacterium.jpg> Acesso em: Jun/2015.

MRUÉ, F.; COUTINHO-NETTO, J.; CENEVIVA, R.; LACHAT,J. J.; THOMAZINI, J. A. e TAMBELINI, H. “Evaluation of the biocompatibility of a new biomembrane”. **Journal of Materials Research**. v. 7, nº 2, p. 277- 283, 2004.

NAWAMAWAT, K.; SAKDAPIPANICH, J. T.; HO, C. C.; MA, Y.; SONG, J. e VANCSA, J. G. “Surface nanostructure of *Hevea brasiliensis* natural rubber látex particles”. Colloids and Surfaces A: **Physicochemical and Engineering Aspects**. 390 (2011) 157–166.

Oliveira ALC, Damasco PV, Melino TL, Souza DC, Oliveira VM, Pinto AM, Solari CA, Frajhot L, Fioravanti FA, Klôh MI. Prevalência de MRSA em um Hospital Universitário do RJ. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 32(supl 1):432, 1999.

ONONUGA, A.; OYI, A. R.; ONAOLAPO, J. A. Prevalence and susceptibility pattern of methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolates among healthy women in Zaria, Nigéria. Afr. **Journal Biotechnol**, Nairobi, v. 4, n. 11, p. 1321-1324, 2005.

Otilia SHLR. Perfil de sensibilidade do S. aureus e S. epidermidis no Hospital Municipal Souza Aguiar, 1o semestre de 1998. **Rev Soc Bras Med Trop** 32 (sup 1): 423, 1999.

Pathogen Profile: **Dictionary**. Disponível em: <http://www.ppdictionary.com/bacteria/gnbac/aureus.htm> Acesso: Out 2015.

Peters, A.J.; Friedel, H.A.; McTavish, D. - Azithromycin - **a review of its antimicrobial activity, pharmacokinetic properties, and clinical efficacy. Drugs**, 44:750-90, 1992.

PETROCENTE. **Polimeros Naturais**. Disponivel em: < http://falandodquimica.weebly.com/uploads/2/4/5/2/2452165/aula_03_polimeros_-_final.pdf> Acesso: Out 2015.

PINHO, E. C. C. M.; SOUSA, S. J. F.; SCHAUD, F. e LACHAT, J. J. “Uso experimental da biomembrana de látex na reconstrução conjuntival”. **ABO-Arquivos Brasileiros de Oftamologia**. 67, nº. 1, p. 27-32, 2004.

Proust, J.R. - **Rifamixin: Information** Update. Drug Future, 23(11):468, 1998.

ROSSI, F.S.; Ceccon, M.E.J.R.; Krebs, V.L. Infecções Estafilocócicas Adquiridas nas Unidades de Terapia Intensiva Neonatais. **Pediatria**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 38-47, 2005.

Sáez-Llorens X, Castrejón de Wong MM, Castaño E, De Suman O, de Moros D, DeAtencio I. Impacto de uma política de restrição de antibiótico sobre os gastos hospitalares e suscetibilidades bacterianas: uma lição de uma instituição pediátrica de um país em desenvolvimento**. Pediatr Infect Dis J**. 19 Mar 2000 (3): 200-6.

SADER, S. L.; COUTINHO-NETTO, J.; BARBIERI- NETO, J.; MAZZETTO, S. A.; ALVES, J. R. P.; VANNI, J. C. e SADER, A. A. “Substituição parcial do pericárdio de cães por membrana de látex natural”. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**. v. 15, nº 4, p. 338-344, 2000.

SANTOS, B. M. O; DARINI, A. L. C. Colonização por Staphylococcus aureus em portadores são relacionados de uma creche de Hospital Universitário. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 35, p. 160-172, 2002.

SANTOS, A. L. et al. Staphylococcus aureus: visitando uma cepa de importância hospitalar. **J. Bras. Patol. Lab**., Rio de Janeiro, v. 43, n. 6, p. 413-423, 1994.

SCHMIDT, R. S.; HERCULANO, R. D. e SILVA, R. M. G. “Avaliação da liberação controlada de fármaco (diclofenaco de potássio) utilizando a biomembrana de látex de mangabeira como carreador”. In: Jornada Paulista de Plantas Medicinais. 10. 2011. Assis. **Anais. Assis**: Faculdade de Ciência e Letras de Assis, UNESP. Não paginado.

SECOLIN, Erika da Silva; FALCETTA, Filipe Antônio Marques; CHAGAS, Gabriela Almeida; URASAKI, Igor Beletti Mutt e Souza, Vinicius. **Polímeros e suas aplicações** em nosso cotidiano. Disponível em: < http://www.ppdictionary.com/bacteria/gnbac/aureus.htm> Acesso: Out, 2015.

SOARES, Felipe.M. Penicilina G. Disponível em: <http://qnint.sbq.org.br/qni/popup_visualizarMolecula.php?id=lyQzWsCfZW2orcNLTL9x4YfxKyaEmMYNJIwJxhwLhSc_0BjtuCe27gjf23tAcxWtnnXJQjsMCGeaxWtXIS8zFg> Acesso: Out 2015.

TEIXEIRA, M.; SANTOS, M. V. Responsabilidade no controle de infecção. **Revista Assoc. Paulista Cirurgiões- Dentistas**, v. 53, n. 3, p. 177-189, 2008.

Tomasz A, Drugeon HB, Lencastre HM, Jabes D, McDougal L, Bille J. New mechanism for methicillin-resistance in S. aureus: clinical isolates that lack the PBP2a gene and contain normal penicilin-bindig proteins with modified penicilin-binding capacity. **Antimicrob Agents Chemother** 33: 1869-1874, 1989.

TORTORA, G. J; FUNKE, B. R.; CASE C. L. Bactérias. In: TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 8. Ed., Porto Alegre: Artmed, 2005.

TRABULSI LR. Aspectos médicos da resistência bacteriana a drogas. **Revista de Microbiologia** (São Paulo) (supl espec): 1-30, 1973.

WEATHERALL, M., 1990 - **Antibiotics and medicines in: "In search of a cure. A history of pharmaceutical discovery** Oxford, Oxford University Press, p. 161-186.

Wermuth, C. - **The Practice of Medicinal Chemistry. Academic** Press, New York, 1996