

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 15/03/2017.

JOSÉ LÚCIO PÁDUA GEMEINDER

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE UM SISTEMA DE
LIBERAÇÃO SUSTENTADA DE GENTAMICINA EM
BIOMEMBRANAS DE LÁTEX NATURAL**

**ASSIS
2016**

JOSÉ LÚCIO PÁDUA GEMEINDER

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE UM SISTEMA DE
LIBERAÇÃO SUSTENTADA DE GENTAMICINA EM
BIOMEMBRANAS DE LÁTEX NATURAL**

Dissertação apresentado à Faculdade de Ciências e Letras de Assis – UNESP – Universidade Estadual Paulista para a obtenção do título de Mestre em Biociências (Área de Conhecimento: Caracterização e Aplicação da Diversidade Biológica)

Orientador: Dr. Rondinelli Donizetti Herculano

ASSIS
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca da F.C.L. – Assis – Unesp

G322d Gemeinder, José Lúcio Pádua
Desenvolvimento e avaliação de um sistema de liberação sustentada de gentamicina em biomembranas de látex natural / José Lúcio Pádua Gemeinder. Assis, 2016.
59 f. : il.

Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências e Letras de Assis – Universidade Estadual Paulista.
Orientador: Dr Rondinelli Donizetti Herculano

1. Biomimética. 2. Fármacos. 3. Anti-infecciosos. 4. Materiais biomiméticos. 5. Engenharia biomédica. I. Título.

CDD 610.28

JOSE LUCIO PADUA GEMEINDER

AVALIAÇÃO DA LIBERAÇÃO SUSTENTADA DA
GENTAMICINA EMPREGANDO BIOMEMBRANAS DE LÁTEX
NATURAL COMO CARREADOR

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências e Letras – UNESP para a obtenção
do título de Mestrado Acadêmico em
Biotecnologia (Área de Conhecimento:
Caracterização e Aplicação da Diversidade
Biológica)

Data da Aprovação: 15/03/2016

COMISSÃO EXAMINADORA



Presidente: PROF. DR. Rondinelli Donizetti Merculano - UNESP/Assis



Membros: PROF. DR. Dario Abel Palmieri - UNESP/Assis



PROF. DR. Sergio Luiz de Souza Salvador - USP/Ribeirão Preto

*“Dedico este trabalho aos meus eternos amores,
minha esposa Adriana e a meu filho Luís Antônio pelo apoio
incondicional, pela nossa união e cumplicidade”*

AGRADECIMENTOS

A minha esposa Adriana e ao meu filho Luís Antônio pela paciência, compreensão dos momentos ausentes e incentivo ao longo deste trabalho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Rondinelli Donizetti Herculano por ter aceitado me orientar, pela paciência e sapiência das minhas dificuldades, pelo conhecimento adquirido e pelo novo amigo.

Aos meus pais Jorge e Regina, meus irmãos Márcio e César, apesar de distantes, pelo apoio, conselho e orientações nas decisões de minha vida.

À minha sogra Rose Mary e meu sogro Dante “*in memoriam*”, que continue olhando por nós como sempre fez.

A todos meus familiares, cunhados, cunhadas, tios, tias, primos, primas que de alguma forma me apoiaram nesta tarefa.

Ao Felipe Borges pelo seu apoio e aprendizado em poucos momentos que estivemos juntos.

Aos amigos de sala de aula da Pós, em especial à Vanessa Deprá, Amanda, Janine, Caio, Gabriela e Bruno, aquele abraço e obrigado por suas companhias.

À Prof^a. Cristiane, pois sem seu apoio não realizaria este feito, obrigado.

Ao meu ex-aluno, afilhado e agora colega de profissão Gabriel pelas conversas e troca de conhecimentos ao longo deste trabalho.

Aos técnicos da FIO: Fabiano, Jéssica, Abílio e Jakson pela colaboração nos trabalhos práticos realizados nesta Instituição.

À Faculdades Integradas de Ourinhos, em nome de seu diretor Prof. Bianor, por todo apoio e incentivo depositado em mim.

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram de alguma forma para realização deste trabalho

EPÍGRAFE

*“Sempre fazendo planos para o futuro ...
Sempre sendo surpreendido pelo presente.”*

(Paulo Coelho)

GEMEINDER, José Lúcio Pádua. **Desenvolvimento e Avaliação de um Sistema de Liberação Sustentada de Gentamicina em Biomembranas de Látex Natural**. 2016. 59 f. Dissertação (Mestrado em Biociências). – Faculdade de Ciências e Letras, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Assis, 2016.

RESUMO

Sistemas de liberação de fármacos são fundamentais para promoção de ações terapêuticas, dentre eles os sistemas transdérmicos que representam uma alternativa frente às propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas dos fármacos. Através deste sistema é possível controlar sua liberação e manter a concentração por um longo período. Devido a ascensão da população idosa e das enfermidades que os acometem, o desenvolvimento destes sistemas é primordial para uma melhor adesão e conforto do paciente. Atualmente, diversos polímeros, principalmente os naturais, são usados para este fim. A membrana látex natural (NRL) extraída da seringueira *Hevea brasiliensis*, destaca-se por suas propriedades físicas, por ser um polímero renovável e extensamente utilizado para a produção de biomembranas. Vários estudos demonstraram atividades angiogênicas, de neovascularização, e de reparação tecidual deste biopolímero. O sulfato de gentamicina, um antimicrobiano da classe dos aminoglicosídeos, inibe o crescimento de vários micro-organismos Gram-positivos e Gram-negativos, agindo principalmente na inibição da síntese proteica bacteriana por ligação ribossomal (30S). Neste sentido, o objetivo deste estudo foi desenvolver um novo sistema de liberação sustentada incorporando o sulfato de gentamicina ao látex natural, utilizando-o como carreador do fármaco, aumentando a atividade deste biopolímero. Com o intuito de caracterizar as propriedades físico-química das biomembranas, foram utilizados alguns métodos como a microscopia eletrônica por varredura (MEV), resistência mecânica e a espectroscopia por infravermelho (FTIR-ATR), antes e após da incorporação do fármaco. Buscou-se entender o comportamento da taxa de liberação frente aos diferentes meios e verificar a atividade antimicrobiana após incorporação do fármaco no látex. As biomembranas foram preparadas por *casting*, em moldes de teflon®, seguida de secagem à temperatura ambiente. A imagem da MEV demonstrou a incorporação da gentamicina ao látex, observada na superfície da biomembrana. A resistência mecânica mostrou um aumento na tensão máxima com a incorporação da gentamicina quando comparada ao látex puro, apesar de não ter havido alteração no módulo de *Young*, 1,3 – 1,9 Mpa, valores reportados na literatura para NRL. Observou-se que no FTIR-ATR não houve mudança nos espectros após a mistura dos compostos, uma vez que as bandas de absorção foram preservadas e não houve novos picos. Com a liberação do fármaco em diferentes meios, durante 6 dias, foi possível constatar uma variação do *burst release* e do tempo de liberação, no qual destaca-se uma maior liberação em meio ácido e básico devido a uma maior biodisponibilidade de absorção nestes meios. O látex não alterou a atividade antimicrobiana da gentamicina frente às cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, predominante em infecções por queimaduras e feridas, apresentando respectivamente halos de inibição de 28,4 mm e 19,5 mm frente aos 15,0 mm referidos na literatura. Estes resultados reforçam que

o látex pode ser usado como um carreador de fármacos, mostrando ser uma alternativa interessante de curativo/adesivo para uso tópico.

Palavras-chave: Biomembrana de látex natural. Liberação sustentada. Atividade antimicrobiana. Biomaterial. Liberação de Fármaco.

GEMEINDER, José Lúcio Pádua. **Development and evaluation of a sustained released system of gentamicin in natural latex biomembranes.** 2016. 59 pp. Master`s dissertation in Bioscience – Faculdade de Ciências e Letras, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Assis, 2016.

ABSTRACT

Drug delivery systems (DDS) are fundamental to promoting therapeutic actions, including transdermal systems that represent an alternative for pharmacokinetic and pharmacodynamic drugs properties. Through this system it is possible to control its release and to maintain its concentration for a long period. Due to population ageing and the diseases that affect them, the development of these systems is the key to improve compliance and patient comfort. Nowadays, many polymers, especially from natural source are used for this purpose. The natural rubber latex (NRL) extracted from *Hevea brasiliensis* stands out for its physical properties, for being a renewable polymer and widely used for the biomembranes production. Several studies have showed angiogenic and neovascularization activities besides tissue repair of this biopolymer. Gentamicin sulfate, an aminoglycosides class antimicrobial, inhibits the growth of several Gram-positive and Gram-negative microorganisms, acting in the bacterial protein synthesis through ribosomal binding (30S). Therefore, the aim of this study was to develop a new sustained gentamicin sulfate release system using NRL as a drug carrier, increasing the activity of this biopolymer. In order to characterize the biomembranes physicochemical properties, they were analyzed by some methods like scanning electron microscopy (SEM), mechanical strength (by tension) and infrared spectroscopy (FTIR-ATR), before and after the drug incorporation. In addition, it was attempted to understand the release rate behavior among the different media and to verify the antimicrobial activity of the drug after its incorporation into the latex. The biomembranes were prepared by casting on Teflon® mold, and then dried at room temperature. The SEM micrographs proved the incorporation of the gentamicin into the latex, observed at the biomembrane surface. The mechanical strength showed an increase in the maximum stress with the gentamicin incorporation when compared to pure latex, although there have been no change in the Young`s modulus between 1.3-1.9 MPa, values reported in the literature for the NRL. It was observed in the FTIR-ATR that there was no change in the spectra after mixing the compounds, since the absorption bands have been preserved and there were no new peaks. The release of the drug in different media, for 6 days, showed a variation in the time and in the burst release, which highlights a higher release in acid and base media due to a higher absorption bioavailability in these media. The latex did not change the gentamicin antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* strains, prevalent in burns and wounds infections, showing inhibition halos of 28.4 mm and 19.5 mm against the 15.0 mm literature referred. These results emphasize that the NRL can be used as a drug carrier, showing to be an interesting alternative of a dressing/adhesive for topical use.

Keywords: Natural Rubber Latex. Sustained Release. Antimicrobial Activity. Biomaterial. Drug Release.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Cultura de <i>Hevea brasiliensis</i> : a) Cultura da seringueira, b) Extração do látex natural	18
Figura 2 -	Monômero de Cis-poliisopreno	19
Figura 3 -	Estímulo da angiogênese com o tratamento das biomembranas de látex natural: a) Controle, b) Tratamento	21
Figura 4 -	Casos de Úlceras Cutâneas Crônicas: Caso 1: a) Aspecto Clínico (A.C.) Inicial, b) A.C. após 3 meses; Caso 2: b) A.C. Inicial, b) A.C. após 30 dias; Caso 3: a) A.C. Inicial, b) A.C. após 2 meses; Caso 4: f) A.C. Inicial - Carcinoma de pele, g) A.C. após retirada do Carcinoma, h) A.C. após 4º dia do uso do biomembrana, i) A.C. após 2 meses do uso do biomembrana, j) A.C. após 4 meses do uso do biomembrana antes do enxerto, k) A.C. 1 semana após o enxerto	22
Figura 5 -	Membrana de látex natural utilizada como barreira mecânica: a) Técnica com o local da cirurgia e as regiões; b) Radiografias digitais do grupo tratado (A) e Grupo controle (B)	23
Figura 6 -	a) Ilustração Comercial da Gentamicina, b) Estrutura da Gentamicina	26
Figura 7 -	Látex Pré-vulcanizado da <i>Hevea brasiliensis</i>	29
Figura 8 -	Sulfato de Gentamicina Pó	30
Figura 9 -	Preparo das Biomembranas: a) Biomembrana no molde, b) Forma da Biomembrana seca, c) Espessura da Biomembrana 1,5mm, d) Flexibilidade e Elasticidade da Biomembrana	31
Figura 10 -	Máquina de Ensaio Mecânico EMIC DL 2000.....	32
Figura 11 -	Biomembranas para Ensaio: a) Biomembranas antes do ensaio, b) Biomembrana após ensaio	33
Figura 12 -	Equipamento de FTIR Bruker Tensor 27 com acessório ATR.....	34
Figura 13 -	Método de Difusão de Discos em Ágar: a) Zona (halo) de Inibição – sensibilidade/resistência, b) Ausência de Halo – resistência	35
Figura 14 -	Liberação de Fármacos em Matrizes Inertes	37
Figura 15 -	a) Espectro de Absorção da Gentamicina, b) Curva de Calibração	38
Figura 16 -	Curva de Liberação do Sulfato de Gentamicina pelas Biomembranas de Látex em Diferentes Meios	39

Figura 17 - Ensaio de Resistência Mecânica: a) Parte Linear Referente ao Módulo de Young, b) Curva Tensão x Deformação Específica	41
Figura 18 - Espectro FTIR – Espectros Estratificados: a) Látex, b) Látex + Sulfato de gentamicina 30 mg/mL, c) Sulfato de Gentamicina	44
Figura 19 - Imagem de MEV da Gentamicina em Pó (ampliação de 300 vezes)	45
Figura 20 - Imagem de MEV da Biomembrana de Látex Natural Puro (ampliação de 300 vezes)	45
Figura 21 - Imagem de MEV da Biomembrana de Látex Natural Incorporada com Gentamicina (ampliação de 300 vezes)	46
Figura 22 - Resultados dos Testes Microbiológicos com <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Escherichia coli</i> em Triplicata: a) Biomembrana de látex; b) Biomembrana de látex + gentamicina; c) Disco difusão/referência com 10 µg de gentamicina.	48

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Polímeros sintéticos e naturais utilizados na fabricação de sistemas de liberação sustentada	16
----------	--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Medidas da resistência mecânica	42
Tabela 2	Avaliação da atividade antimicrobiana da biomembrana.....	47

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
1.1 Látex Natural	17
1.2 Emprego da Biomembrana de Látex Natural na Liberação Sustentada	23
1.3 Sulfato de Gentamicina	25
2. OBJETIVOS	28
2.1 Objetivo Geral	28
2.2 Objetivos Específicos	28
3. MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1 Látex – <i>Hevea brasiliensis</i>	29
3.2 Sulfato de Gentamicina	29
3.3 Biomembranas Carreadoras do Sulfato de Gentamicina	30
3.4 Liberação do Sulfato de Gentamicina Carreado pela Biomembrana de Látex Natural	31
3.5 Ensaio de Resistência Mecânica – Tração	32
3.6 Espectroscopia por Infravermelho (FTIR-ATR)	33
3.7 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	34
3.8 Avaliação da Atividade Antibacteriana da Biomembrana	35
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.1 Liberação do Sulfato de Gentamicina	37
4.2 Ensaio de Resistência Mecânica.....	41
4.3 Espectroscopia por Infravermelho (FTIR-ATR)	43
4.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	44
4.5 Avaliação da Atividade Antibacteriana da Biomembrana	46
5. CONCLUSÃO	50
6. PERSPECTIVAS FUTURAS	52
7. REFERÊNCIAS	53

1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de um novo sistema de liberação de fármacos é fundamental na promoção das ações terapêuticas, contudo isto só é possível à medida que novas tecnologias são desenvolvidas, de forma a reduzir as limitações nas terapias existentes (ANSEL et al., 2013).

Um método interessante para o transporte de fármacos são as formulações transdérmicas, que facilitam a passagem do fármaco através da pele, com a finalidade de atingir a circulação sanguínea e que representa uma alternativa em relação as propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas dos fármacos (SILVA et al., 2010)

Uma das vantagens de tal método consiste na capacidade de controlar a liberação do fármaco, com o intuito de manter a concentração desejada da droga durante um longo período de tempo sem atingir a concentração tóxica ou não alcançar o efeito terapêutico esperado (GINEBRA, TRAYKOVA, PLANELL, 2006).

Usadas como remédio há milhares de anos, as plantas representam um grande potencial de reserva natural de drogas, ainda inexplorados (MELO-REIS et al., 2010). Como exemplo desta reserva, configuram-se as florestas tropicais, o que denota seu grande potencial para encontrar compostos ativos, todavia apenas 1% das suas espécies foram investigadas pelo seu potencial farmacêutico (GURIB-FAKIM, 2006).

Inúmeros materiais, naturais ou sintéticos, são testados constantemente como sistemas carreadores de drogas e apresentam características próprias para manter a droga inserida e liberá-la em um sítio específico, progressivamente ou não (GINEBRA, TRAYKOVA, PLANELL, 2006). Atualmente, diversos polímeros sintéticos e naturais são utilizados no desenvolvimento de sistemas de liberação controlada (Quadro 1). Esses dispositivos 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).

Quadro 1 - Polímeros sintéticos e naturais utilizados na fabricação de sistemas de liberação sustentada.

POLÍMEROS SINTÉTICOS	POLÍMEROS NATURAIS E SEUS DERIVADOS
<p>Polímeros não biodegradáveis:</p> <ul style="list-style-type: none"> _ Acrilatos: poli (metacrilato de metila) (PMMA), poli (ácido acrílico) (PA), poli (metacrilato de 2-hidroxietila) (PHEMA); _ Acrilamidas: poliacrilamida, poli (N-isopropilacrilamida); _ Polidimetilsiloxano (PDMS); _ Polietilenoglicol (PEG); _ Copolímeros de acetato de etilenovinila (EVA); _ Polivinilpirrolidona (PVP). <p>Polímeros biodegradáveis:</p> <ul style="list-style-type: none"> _ Poliésteres: poli (ácido láctico) (PLA), poli (ácido glicólico) (PGA), poli (ácido láctico-co-glicólico) (PLGA), poli-ϵ-caprolactona (PLC), poli (diaxanona) (PDS); _ Poliortoésteres; _ Polifosfazenos; _ Polianidridos; _ Poliuretanas; _ Poliaminoácidos sintéticos. 	<p>Polímeros de base proteica:</p> <ul style="list-style-type: none"> _ Gelatina, albumina, colágeno, fibrina, proteína de soja. <p>Polissacarídeos:</p> <ul style="list-style-type: none"> _ Quitosana, dextrana, alginato, agarose, carragenina, sulfato de condroitina, ácido hialurônico, pectina, amido, derivados de celulose, celulose bacteriana. <p>Polihidroxicanoatos:</p> <ul style="list-style-type: none"> _ Poli (3-hidroxi-butirato), poli (3-hidroxi-butirato-co-3-hidroxi-valerato), cis- poliisopropeno (látex).

Fonte: MIRANDA, 2014.

Utilizado há tempos pelas indústrias, o látex natural da seringueira *Hevea brasiliensis* (*H. brasiliensis*), se insere neste contexto como um carreador de fármaco. Em 1996, foi relatado o primeiro resultado experimental do uso da biomembrana de látex da seringueira como substituto do esôfago cervical de cães (PAULO et al., 2005). Além disso, biomembranas produzidas deste biomaterial foram empregadas em próteses e enxertos médicos, devido às suas características de biocompatibilidade (SILVA, 2015), cicatrização (FRADE et al., 2004), estímulo natural à angiogênese (MRUÉ et al., 2004) e crescimento ósseo (ERENO et al., 2010).

O látex natural da *H. brasiliensis*, por defesa natural da planta é um cicatrizante. Detém notórias características físicas, por ser um material polimérico renovável e é extensamente utilizado para produção da biomembrana (película fina) (PAULO et al., 2005).

Com o intuito de aumentar a atividade cicatrizante da biomembrana de látex natural, o antibiótico gentamicina foi incorporado a este biopolímero. A gentamicina é indicada para o tratamento de meningite purulenta, pielonefrite, otite, infecções cutâneas, entre outros (MOULDS, JEYASINGHAM, 2010). Desta forma, foi desenvolvido um novo sistema de liberação sustentada eficaz que proporcionasse a liberação da gentamicina no sítio a ser tratado por períodos prolongados e em doses apropriadas.

A associação de fármacos em matrizes de látex natural é algo novo e de profunda relevância à pesquisa, pois a partir de simples modificação na morfologia do material, torna-se possível alterar o perfil da cinética de liberação *burst release* (curta duração), além do processo de liberação lenta (perfil estável), e o tempo de liberação.

5. CONCLUSÃO

O desenvolvimento de novos sistemas de liberação de fármacos, cito os sistemas transdérmicos, o qual é primordial para diminuição de efeitos colaterais, reações adversas e uma melhor adesão do paciente ao tratamento.

O sulfato de gentamicina é considerado como um dos melhores aminoglicosídeos para o tratamento de infecções graves, principalmente as provocadas por micro-organismos Gram-negativos e Gram-positivos.

Vários pesquisadores mostraram que as biomembranas de látex natural são bioprodutos promissores na área biomédica/saúde, desta forma, neste trabalho, ao incorporar o antimicrobiano nestas membranas, potencializamos seus aspectos biofarmacológicos.

Os espectros de infravermelho mostraram que a presença das bandas de absorção em 1100 cm^{-1} e 617 cm^{-1} (fármaco), 2910 cm^{-1} e 2859 cm^{-1} (Látex), sugerem a integridade da estrutura da gentamicina após a mistura.

Os resultados da cinética de liberação reforçam que o látex natural pode ser empregado como um armazenador da gentamicina, onde observamos um *burst release* da gentamicina seguida de uma liberação sustentada em 5 diferentes meios, por 6 dias, destacando-se os tampões de pH 5,7 e 8,0, onde ocorreram as maiores liberações. Sugere-se a ocorrência deste fato devido os meios estarem mais carregados de polieletrólitos, tornado o fármaco mais biodisponível. Com este perfil, é possível diminuir uma infecção bacteriana à um curto espaço de tempo e reduzir a probabilidade de uma infecção recidiva.

As análises realizadas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) demonstraram que foi possível incorporar a gentamicina ao látex sem que ocorresse modificação estrutural, com cristais do fármaco adsorvido na superfície do biomaterial, corroborando com o perfil cinético de liberação.

As respostas da atividade antibacteriana realizadas *in vitro* revelaram que o látex incorporado com o sulfato de gentamicina não sofreu nenhuma alteração na sua função. Observou-se ainda que a bactéria *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, frequentemente encontrada em feridas infectadas, foram sensíveis à biomembrana.

Desta maneira, as biomembranas comportaram-se de forma satisfatória para futuros estudos no desenvolvimento de um curativo para uso tópico, barato e viável

tanto para as queimaduras, quanto para as feridas decorrentes de portadores de diabetes tipo II ou úlcera de pressão.

7. REFERÊNCIAS

- ABHILASH, G. et al. Preparation of low-protein natural rubber latex: Effect of polyethylene glycol. **Journal of applied polymer science**, v.114, n.2, p.806-810, 2009.
- AGOSTINI, D.L.S. **Caracterização do látex e da borracha natural que estimulam a angiogênese**: 2009. 101f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Materiais) – UNESP, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Presidente Prudente, 2008.
- _____. **Estudo dos componentes não isoprênicos do látex de *Hevea brasiliensis* indutores de angiogênese**: 2013. 114f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Materiais) – UNESP, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Presidente Prudente, 2013.
- AIELO, P.B. et al. Evaluation of sodium diclofenac release using natural rubber latex as carrier. **Materials Research**, v.17, p.146-152, 2014.
- ALMEIDA, E.V.S.; WAGNER, R. Análise da concentração de gentamicina comercializada nas farmácias de Curitiba-PR. **Saúde**, v.2, n.12, 2014.
- ALVAREZ, G.S. et al. Antibiotic-loaded silica nanoparticle–collagen composite hydrogels with prolonged antimicrobial activity for wound infection prevention. **Journal of Materials Chemistry B**, v.2, n.29, p.4660-4670, 2014.
- AMSTERDAM, D. **Antibiotics in laboratory medicine**. 6.ed. China: Wolters Kluwer, 2015 807p.
- ANSEL, H.C. et al. **Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos**. 9.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013, 716p.
- AQUINO, R.P. et al. Design and production of gentamicin/dextran microparticles by supercritical assisted atomisation for the treatment of wound bacterial infections. **International journal of pharmaceutics**, v.440, n.2, p.188-194, 2013.
- BARROS, N.R. et al. Diclofenac potassium transdermal patches using natural rubber latex biomembranes as carrier. **Journal of Materials**, v.2015, Article ID 807948, p.1-7, 2015.
- BEASLEY, M.M. et al. Comparison of transmission FTIR, ATR, and DRIFT spectra: implications for assessment of bone bioapatite diagenesis. **Journal of Archaeological Science**, v.46, p.16-22, 2014.
- BORGES, F.A. et al. Natural rubber latex coated with calcium phosphate for biomedical application. **Journal of Biomaterials Science**. p.1-22, 2015.
- BORGES, F.A. et al. Natural rubber latex: study of a novel carrier for *Casearia sylvestris* Swartz delivery. **ISRN Polymer Science**, v.2014, p.1-5, 2014.
- BOZZOLA, J.J.; RUSSELL, J.; LONNIE, D. **Electron microscopy: principles and techniques for biologists**. 2.ed. Boston: Jones and Bartlett, 1992. 542p.
- BRAGANÇA, F.C. Borracha natural e nanocompósitos com argila. **Quim. Nova**, v.32, n.3, p.818-826, 2009.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Fármacos Utilizados em Infecções**. 2015. Disponível em URL: http://www.anvisa.gov.br/divulga/public/livro_eletronico/Infeccao.html#_Toc24793946.

Acesso em: 02 out. 2015.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão**: Norma Aprovada M2-A8. Substitui a Norma M2-A7, v.20, n.1 do CLSI (NCCLS): Clinical and Laboratory Standards Institute. 8.ed. v.23, n.1, 2003.

BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. **Manual de procedimentos básicos em microbiologia clínica para o controle de infecção hospitalar**. Brasília; Brasil. Ministério da Saúde, 2001. 52p.

CABRERA, F.C. et al. Characterization of natural rubber/gold nanoparticles SERS-active substrate. **Journal of Applied Polymer Science**, v.130, n.1, p.186-192, 2013.

CAMPELO JÚNIOR, J.H. Estimativa da transpiração em seringueira. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria, v.8, n.1, p.35-42, 2000.

CAMPOS, M.G.N. et al. In vitro gentamicin sustained and controlled release from chitosan cross-linked films. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v.20, n.2, p.537-542, 2009.

CARMO, C.A.F. de S. et al. Estimativa do estoque de carbono na biomassa do clone de Seringueira RRIM 600 em solos da Zona da Mata, Minas Gerais. **Embrapa Solos. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, 2003.

CLSI - **M100-S23 Suggested Grouping of US-FDA Approved Antimicrobial Agents That Should Be Considered for Routine Testing and Reporting on Nonfastidious Organisms by Clinical Laboratories**, 2013.

DALL'ANTONIA, A.C. et al. Mechanical and thermal characterization of compounds of natural rubber of the clones: GT 1, IAN 873, PB 235 and RRIM 600. **Polímeros**, v.19, n.1, p.63-71, 2009.

DIAS, B.L. **Síntese, caracterização e nanoestruturação de esferas funcionais submicrométricas**. 2011. 72f. Dissertação (Mestrado em Física) - Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2011.

DWIVEDI, C. et al. Fabrication and Assessment of Gentamicin Loaded Electrospun Nanofibrous Scaffolds as a Quick Wound Healing Dressing Material. **Current Nanoscience**, v.11, n.2, p.222-228, 2015.

ERENO, C. et al. Latex use as an occlusive membrane for guided bone regeneration. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v.95, n.3, p.932-939, 2010.

FERNANDES, F.P. et al. Sistemas de liberação tópica: síntese, caracterização e estudos antimicrobianos. In: **ANAIS ... Congresso Brasileiro de Polímeros**, v.10, 2009, Foz do Iguaçu, PR. Disponível em URL:<
<https://www.ipen.br/biblioteca/cd/cbpol/2009/PDF/1009.pdf>>. Acesso em: 13 out. 2015.

FERREIRA, M. et al. Angiogenic properties of natural rubber latex biomembranes and the serum fraction of *Hevea brasiliensis*. **Brazilian Journal of Physics**, v.39, n.3, p.564-569, 2009.

- FONTANIVE, V.C.P. et al. Aspectos físicos e biológicos de nanopartículas de ferritas magnéticas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v.35, n.4, p.549-558 2015.
- FRADE, M.A.C. et al. Curativo de biomembrana vegetal e hipersensibilidade. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.86, n.5, p.885, 2011.
- FRADE, M.A.C. et al. Management of diabetic skin wounds with a natural latex biomembrane. **Med. Cutan. Iber. Lat Am.**, v.32, n.4, p.157-162, 2004.
- FRUTOS, P. et al. A validated quantitative colorimetric assay for gentamicin. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.21, n.6, p.1149-1159, 2000.
- GARAMYCIN. **Online pharmacy**. Disponível em URL<<https://www.medicinep.com/garamycin-for-the-topical-treatment-of-both-primary-and-secondary-skin-1984.html>>. Acesso em: 11 nov. 2015.
- GENTAMICIN SULFATE. **G-biosciences**. Disponível em URL<<http://www.gbiosciences.com/ResearchProducts/GentamicinSulfate.aspx>>. Acesso em: 11 nov. 2015.
- GINEBRA, M.P.; TRAYKOVA, T.; PLANELL, J.A. Calcium phosphate cements as bone drug delivery systems: a review. **Journal of Controlled Release**, v.113, n.2, p.102-110, 2006.
- GOMES, D.R.; SPERANDIO, H.V.; CALDEIRA, M.V.W. Aspectos técnicos à implantação de viveiros de seringueira. **Encontro Latino Americano De Iniciação Científica**, v.13, 2012.
- GONÇALVES, P.S. et al. Desempenho de clones de seringueira da série IAC 300 na região do planalto de São Paulo, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.2, p.131-138, fev. 2002.
- GUIDELLI, E.J. et al. Silver nanoparticles delivery system based on natural rubber latex membranes. **Journal of Nanoparticle Research**, v.15, n.4, p.1-9, 2013.
- GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular Aspects of Medicine**, v.27, n.1, p.1-93, 2006.
- HERCULANO, R.D. **Desenvolvimento de membranas de látex natural para aplicações biomédicas**. 2009. 151f. Tese (Doutorado em Física Aplicada à Medicina e Biologia) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.
- HERCULANO, R.D. et al. Metronidazole release using natural rubber latex as matrix. **Materials Research**, v.13, n.1, p.57-61, 2010.
- HEVEA. **LOOKFORDIAGNOSIS**. Disponível em URL<http://www.lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?term=Hevea&lang=1>. Acesso em: 09 nov. 2015.
- HEVEA BRAZILIENSIS SEED. **CNSEED**. Disponível em URL<<http://www.cnseed.org/hevea-brasiliensis-seed.html>>. Acesso em: 09 nov. 2015.
- HUANG, Y.C. et al. Biphasic release of gentamicin from chitosan/fucoidan nanoparticles for pulmonary delivery. **Carbohydrate Polymers**, v.138, p.114-122, 2016.

IMBULUZQUETA, E. et al. Novel bioactive hydrophobic gentamicin carriers for the treatment of intracellular bacterial infections. **Acta biomaterialia**, v.7, n.4, p.1599-1608, 2011.

KANG, H.S. et al. 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, n.1, p.386-394, 2006.

KORZYBSKI, T.; KOWSZYK-GINDIFER, Z.; KURYLOWICZ, W. **Antibiotics**: origin, nature and properties. Poland: Elsevier, 2013 526p.

LI, B. et al. Biocompatibility and antibacterial activity of plasma sprayed titania coating grafting collagen and gentamicin. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v.83, n.4, p.923-930, 2007.

MADOFF, C.; PEREYRA, F. Complicações Infeciosas Queimaduras. In: KASPER, D.L.; FAUCI, A.S. **Doenças Infeciosas de Harrison**, 2.ed. Porto Alegre: AMGH, p.309-312, 2015.

MAHENDRA, L. et al. (D, L- Lactide)-Gentamicin Composite Coated Orthopaedic Metallic Implant. **International Journal of Science and Nature**, v.4, n.3, p.522-529, 2013.

MARTINDALE – **Martindale**:The Complete Drug Reference. 37.ed. London: Pharmaceutical Press, 2011. 4113p.

MATRAB, T. et al. Scanning electron microscopy investigation of molecular transport and reactivity within polymer brushes. **Chem. Phys. Chem.**, v.11, n.3, p.670-682, 2010.

MELO-REIS, P.R. et al. Angiogenic activity of *Synadenium umbellatum* Pax latex. **Brazilian Journal of Biology**, v.70, n.1, p.189-194, 2010.

MERCK - **Merck Index**. 14.ed. Rahaway: Merck, 2000. 2520p.

MINELLI, E.B. et al. Antimicrobial activity of gentamicin and vancomycin combination in joint fluids after antibiotic-loaded cement spacer implantation in two-stage revision surgery. **Journal of chemotherapy**, v.27, n.1, p.17-24, 2015.

MIRANDA, M.C.R. **Obtenção e estudos físico-químicos de biomembranas conjugadas de látex e peptídeos bioativos**. 2014. 70f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Instituto de Química – Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2014

MORGANO, M.A.; MORIYA, C.; FERREIRA, M.M.C. Determinação Quantitativa do Teor de Sacarose em açúcar cristal por Espectroscopia FT-IR/ATR e Regressão Multivariada. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.6, p.77-83, 2003.

MOULDS, R.F.W.; JEYASINGHAM, M.S. Gentamicin: a great way to start. **Australian Prescriber**, v.33, n.5, p.134-135, 2010.

MRUÉ, F. et al. Evaluation of the biocompatibility of a new biomembrane. **Materials Research**, v.7, n.2, p.277-283, 2004.

MURBACH, H.D. et al. Ciprofloxacin release using natural rubber latex membranes as carrier. **International Journal of Biomaterials**, v.2014, p.7, 2014.

NCCLS. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerovically**; Approved Standat – eight edition. NCLLS document M7-A8. NCLLS, Wayne, Pennsylvania USA, 2009, 65p.

NEVES JUNIOR, W.F.P. et al. Elastic properties of natural rubber tubes produced by dip-coating. **Journal of Applied Polymer Science**, v.100, n.1, p.702-707, 2006.

OLIVEIRA, J.A.Ap. et al. Miringoplastia com a utilização de um novo material biossintético. **Brazilian Journal of Otolaryngology**, São Paulo, v.69, n.5, p.649-55, 2003.

OLIVEIRA, J.F.P.; CIPULLO, J.P.; BURDMANN, E.A. Aminoglycoside nephrotoxicity. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, São José do Rio Preto, v.21, n.4, p.444-452, 2006.

PAULO, N.M. et al. Membrana de látex da seringueira (*Hevea brasiliensis*), com e sem polilissina a 0, 1% e tela de marlex na reconstrução de defeitos iatrogênicos da parede abdominal de ratos. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo, v.20, p.305-310, 2005.

PICHAYAKORN, W. et al. Deproteinized natural rubber latex/hydroxypropylmethyl cellulose blending polymers for nicotine matrix films. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v.51, n.25, p.8442-8452, 2012a.

PICHAYAKORN, W. et al. Preparation of deproteinized natural rubber latex and properties of films formed by itself and several adhesive polymer blends. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v.51, n.41, p.13393-13404, 2012b.

PRABHU, P. et al. Investigation of hydrogel membranes containing combination of gentamicin and dexamethasone for ocular delivery. **International Journal of Pharmaceutical Investigation**, v.5, n.4, p.214, 2015.

RADHAKUMARY, C.; SREENIVASAN, K. Gentamicin induced formation of gold nanoparticles as an assay protocol for its detection. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v.443, p.326-330, 2014.

RIPPEL, M.M. et al. Skim and cream natural rubber particles: colloidal properties, coalescence and film formation. **Journal of colloid and interface science**, v.268, n.2, p.330-340, 2003.

RIPPEL, M.M.; LEITE, C.A.P.; GALEMBECK, F. Elemental mapping in natural rubber latex films by electron energy loss spectroscopy associated with transmission electron microscopy. **Analytical chemistry**, v.74, n.11, p.2541-2546, 2002.

ROMEIRA, K.M. et al. Evaluation of *Stryphnodendron sp.* release using natural rubber latex membrane as carrier. **Journal of Applied Sciences**, v.12, n.7, p.693, 2012.

ROSENKRANTZ, B.E. et al. Gentamicin sulfate. **Analytical profiles of drug substances**, v.10, p.731, 1981.

ROUABHIA, M. et al. Production of biocompatible and antimicrobial bacterial cellulose polymers functionalized by RGDC grafting groups and gentamicin. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v.6, n.3, p.1439-1446, 2014.

SALAZAR, M.J.C. **Desenvolvimento de nanopartículas de quitosana-gelatina e quitosana-colágeno visando a liberação de fármacos**. 2015. 114f. Tese (Doutorado em Ciência – Química Orgânica) - Universidade de São Paulo, 2015.

- SANGUANSAP, K. et al. Composite natural rubber based latex particles: a novel approach. **Polymer**, v.46, n.4, p.1373-1378, 2005.
- SANTOS, A. et al. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, Rio de Janeiro, v.43, p.413-423, 2007.
- SANTOS, R.S. Parasitismo de ovos de *Leptopharsa heveae* Drake & Poor por *Erythmelus tingitiphagus* (Soares) em plantios de seringueira com aplicação de produtos fitossanitários. **Revista Ceres**, Viçosa, v.61, n.3, p.350, 2014.
- SARABIA-SAINZ, A. et al. Formulation and characterization of gentamicin-loaded albumin microspheres as a potential drug carrier for the treatment of *E. coli* K88 infections. **International Journal of Drug Delivery**, v.4, n.2, p.209, 2012.
- SILVA, J.A. et al. Administração cutânea de fármacos: desafios e estratégias para o desenvolvimento de formulações transdérmicas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v.31, n.3, p.125-131, 2010.
- SILVA, R.G. **Eficácia da biomembrana de látex natural incorporada com extrato de *stryphnodendron barbatimão mart.* Na cicatrização de úlceras cutâneas crônicas.** 2015. 134f. Dissertação (Mestrado em Biociências) – Faculdade de Ciências e Letras – Universidade Estadual Paulista, Assis, 2015.
- SILVEIRA, L.M. da S. et al. Metodologias de atividade antimicrobiana aplicadas a extratos de plantas: comparação entre duas técnicas de ágar difusão. **Rev. Bras. Farm.**, v.90, p.2, 2009.
- SINGH, B.; SHARMA, S.; DHIMAN, A. Design of antibiotic containing hydrogel wound dressings: biomedical properties and histological study of wound healing. **International Journal of Pharmaceutics**, v.457, n.1, p.82-91, 2013.
- SUSSMAN, G.L.; BEEZHOLD, D.H.; KURUP, V.P. Allergens and natural rubber proteins. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, Milwaukee, v.110, n.2, p.S33-S39, 2002. Supplement.
- SZANISZLO, B.; CRISTINA, L.; BOJIȚA, M. Indirect Determination of Gentamicin by Derivative Spectrophotometry. **Acta Medica Marisiensis**, v.57, n.5, p.516-518, 2011.
- TAMANNA, T.; BULITTA, J.B.; YU, A. Controlling antibiotic release from mesoporous silica nano drug carriers via self-assembled polyelectrolyte coating. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v.26, n.2, p.1-7, 2015.
- TORRES, M.A. et al. Produção e caracterização de microesferas de quitosana modificadas quimicamente. **Polímeros Ciência e Tecnologia**, São Carlos, v.5, n.4, p.306, 2005.
- TRECCO, A. et al. Liberação de componentes do extrato de *Casearia sylvestris* Swartz empregando membranas de látex natural como suporte. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v.35, n.1, p.89-95, 2014.
- USP. **The United States Pharmacopoeia**. 29.ed. Rockville: United States Pharmacopoeial Convention, Easton: Merck, 2006.
- VAN DE BELT, H. et al. Surface roughness, porosity and wettability of gentamicin-loaded bone cements and their antibiotic release. **Biomaterials**, v.21, n.9, p.1981-1987, 2000.

ZIMMERMANN, M. et al. Biocompatibility and resistance test of latex membranes in dogs. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.6, p.1719-1723, 2007.