



## MÉTODOS DE PROCESSAMENTO DE DESINFECÇÃO E PRESERVAÇÃO DA MEMBRANA AMNIÓTICA HUMANA PARA USO CLÍNICO

Msc. Jessica Sthefanny Carvalho souza<sup>1,2</sup>; Dr. (a) Adriana Barrinha Fernandes<sup>1,2</sup>; Dr. Carlos José de  
Lima<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Anhembi Morumbi – UAM, São José dos Campos, SP, Brasil.

<sup>2</sup>Centro de Inovação, Tecnologia e Educação – CITÉ, São José dos Campos, SP, Brasil.

### Resumo

A membrana amniótica humana (MAH) tem se destacado como um biomaterial natural promissor na medicina regenerativa devido às suas propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas e de cicatrização. Este trabalho apresenta uma revisão sobre os principais métodos de desinfecção e preservação da MAH, abordando técnicas como criopreservação, liofilização, uso de glicerol, irradiação gama e a ação dinâmica da água ozonizada. A análise comparativa evidencia que a escolha do método influencia diretamente a integridade estrutural, a viabilidade celular e a bioatividade da membrana, fatores essenciais para seu uso clínico. Estudos recentes demonstram que métodos inovadores, como a ozonização dinâmica com água e a combinação com ultrassom, representam alternativas eficazes e seguras, preservando o potencial terapêutico da MAH. Dessa forma, o aprimoramento dos protocolos de processamento é fundamental para garantir a qualidade e a aplicabilidade do tecido em diferentes contextos clínicos.

**Palavras-chave:** membrana amniótica humana; preservação; medicina regenerativa.

## INTRODUÇÃO

A MAH é a camada mais interna das membranas fetais, composta por um epitélio cúbico simples, uma membrana basal espessa e uma matriz estromal avascular. Essa estrutura envolve o feto e o líquido amniótico durante a gestação, sendo obtida de placentas humanas após partos cesarianos de doadoras triadas e testadas segundo critérios éticos e sorológicos rigorosos. Devido à sua biocompatibilidade, baixa imunogenicidade e capacidade de integração tecidual, a MAH tem sido amplamente utilizada como curativo biológico em diferentes áreas da medicina regenerativa, como oftalmologia, dermatologia e odontologia. Seu uso favorece o fechamento de feridas, reduz a dor local e atua como uma barreira protetora que estimula o reparo epitelial e a regeneração tecidual (Parmar et al., 2025; Ferenczy et al., 2020; Niknejad et al., 2008).

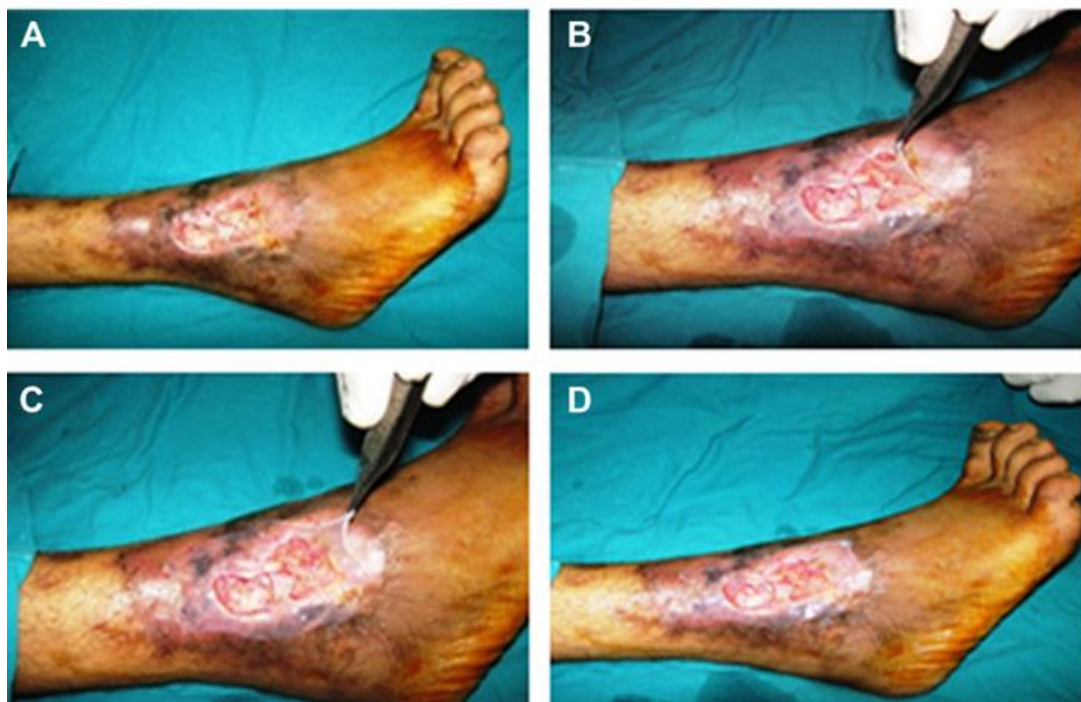
Do ponto de vista biológico e molecular, a MAH é composta por diversos componentes da matriz extracelular, incluindo colágenos tipos I, III, IV, V e VII, laminina, fibronectina e proteoglicanos, que fornecem sustentação estrutural e substrato adequado para adesão e proliferação celular. Além disso, contém fatores de crescimento, como o epidérmico (EGF), o básico de fibroblastos (bFGF), o vascular endotelial (VEGF) e o fator de transformação do crescimento beta (TGF- $\beta$ ), que estimulam a epitelização, a angiogênese e a síntese de matriz extracelular. A presença de citocinas anti-inflamatórias e propriedades antifibróticas e antimicrobianas contribui para um ambiente biológico propício à regeneração, inibindo a fibrose e o crescimento bacteriano. Essas características fazem da MAH um biomaterial natural de grande potencial clínico para reparo e regeneração tecidual (Kadkhoda et al., 2020; Niknejad et al., 2008; Koizumi et al., 2000; Schmiedová et al., 2024).

A aplicação clínica da MAH como curativo biológico tem demonstrado resultados promissores em diferentes áreas da medicina regenerativa, especialmente no tratamento de feridas crônicas. Estudos recentes evidenciam que o uso de produtos derivados da MAH, como membranas liofilizadas ou associadas à membrana coriônica, promove uma cicatrização mais rápida e completa em comparação com o tratamento convencional. Uma meta-análise publicada em 2022 demonstrou que pacientes com úlceras do pé diabético tratados com membranas amnióticas apresentaram uma taxa de fechamento completo da ferida significativamente superior à observada no grupo controle, reduzindo o tempo médio de cicatrização e a necessidade de



intervenções adicionais (MORO et al., 2022). De forma semelhante, um ensaio clínico de fase I relatou que a aplicação tópica de gel de membrana amniótica liofilizada resultou em redução média de 73% da área da ferida em nove semanas, em contraste com apenas 13% no grupo controle, confirmando o potencial da MAH em estimular o reparo tecidual e melhorar o prognóstico de feridas crônicas (KANTHA et al., 2023).

Nesse contexto, o estudo de ElHeneidy et al. (2016) demonstrou o potencial clínico da membrana amniótica humana como enxerto biológico eficaz na cicatrização de feridas crônicas. Em um ensaio clínico randomizado, pacientes tratados com MAH apresentaram cicatrização completa entre 14 e 60 dias, com redução da dor e melhora da granulação tecidual, em contraste com o grupo controle tratado com curativos convencionais. Esses resultados reforçam a eficácia da MAH como biomaterial seguro, acessível e promissor para o tratamento de úlceras refratárias (figura 1).



**Figura 1.** Aplicação da membrana amniótica humana em úlceras crônicas de perna. Duas úlceras nas pernas em um paciente (A); aplicação da membrana amniótica sobre as úlceras (B e C); imagem do paciente após o enxerto de membrana amniótica (D).

**FONTE:** ElHeneidy et al. (2016), *International Journal of Women's Health*, 8, 225–231. Licença CC BY-NC 3.0.



Além das lesões cutâneas crônicas, a MAH também apresenta eficácia comprovada em queimaduras e lesões oftalmológicas. Em queimaduras químicas e térmicas da superfície ocular, a implantação da membrana favoreceu a re-epitelização e reduziu a inflamação em comparação ao tratamento médico isolado, proporcionando recuperação mais rápida e menor formação de cicatriz (YANG et al., 2024). Da mesma forma, em queimaduras de pele de espessura total, o uso da membrana amniótica “hyper-dry” estimulou a angiogênese, proliferação fibroblástica e formação de tecido de granulação, acelerando a fase proliferativa da cicatrização (ISHINO et al., 2020). Esses achados reforçam que a MAH atua não apenas como uma barreira biológica passiva, mas também como um biomaterial ativo que modula o ambiente inflamatório, favorece a regeneração e reduz complicações infecciosas e cicatriciais.

Este trabalho é uma revisão de literatura que analisa criticamente os métodos de desinfecção aplicados à MAH, com foco na segurança microbiológica e na preservação de suas propriedades biológicas. Diante do seu crescente uso como curativo biológico, especialmente em oftalmologia e dermatologia, torna-se essencial compreender os protocolos como antibióticos, radiação gama, glicerolização, ozonização e criopreservação afetam sua estrutura e funcionalidade. A revisão reúne e discute as principais evidências científicas sobre o tema, destacando avanços, limitações e perspectivas para o aprimoramento dos métodos de preparação e esterilização da MAH, visando seu uso clínico seguro e eficaz.

## MÉTODOS

A busca foi realizada nas bases *PubMed*, *Scielo*, *ScienceDirect* e *Google Scholar*, entre 2010 e 2025, nos idiomas inglês e português. Usaram-se os descritores: “*human amniotic membrane*”, “*disinfection*”, “*sterilization*”, “*preservation*”, “*cryopreservation*”, “*glycerolization*”, “*ozonation*” e “*gamma radiation*”. Foram incluídos artigos originais, revisões e estudos clínicos sobre desinfecção da MAH e seus efeitos estruturais e biológicos, excluindo-se trabalhos sem uso de tecido humano. Os estudos selecionados foram analisados quanto aos métodos, resultados, vantagens e limitações.



## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os diferentes métodos de desinfecção e preservação da MAH descritos na literatura entre 2010 e 2025 estão organizados na **Tabela 1**, mostra que os protocolos de preparo do biomaterial buscam sempre o equilíbrio entre segurança microbiológica e manutenção da bioatividade (matriz colagênica, fatores de crescimento e citocinas).

**Tabela 1** Principais métodos de desinfecção e preservação da MAH descritos na literatura (2010–2025).

| MÉTODO                              | PROCEDIMENTO                                                                                                                   | VANTAGENS PRINCIPAIS                                                                                                                                     | LIMITAÇÕES                                                                                                                                            | REFERÊNCIAS                              |
|-------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| <b>Glicerolização (85–98%)</b>      | Consiste na imersão da MAH em solução de glicerol concentrado, seguida de armazenamento refrigerado ou à temperatura ambiente. | Método simples, de baixo custo e fácil execução; apresenta boa conservação estrutural e propriedades antimicrobianas; não requer equipamentos complexos. | Reduz a viabilidade celular e a atividade de fatores de crescimento; exige lavagem prévia antes do uso clínico; limitada preservação de bioatividade. | FERENCZY et al., 2020; ZIDAN, 2015.      |
| <b>Criopreservação</b>              | Envolve o congelamento controlado do tecido em meio crioprotetor (ex.: DMSO), mantendo a integridade estrutural e molecular.   | Preserva colágeno, fatores de crescimento e matriz extracelular; mantém alta bioatividade e propriedades terapêuticas; amplamente validada.              | Requer infraestrutura e cadeia fria contínua; elevado custo operacional; risco de formação de cristais de gelo se o congelamento não for controlado.  | WITT et al., 2022; HOFMANN et al., 2023. |
| <b>Liofilização (freeze/drying)</b> | Processo de secagem a baixa temperatura e pressão, removendo a água sem comprometer a estrutura tridimensional do tecido.      | Permite armazenamento prolongado à temperatura ambiente; facilita transporte e manuseio; preserva                                                        | Pode degradar proteínas termossensíveis e reduzir alguns fatores bioativos; requer reidratação antes do uso clínico.                                  | HOFMANN et al., 2023.                    |



|                                                                 |                                                                                                                             |                                                                                                       |                                                                                                                        |                                                                  |
|-----------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|
|                                                                 |                                                                                                                             | parcialmente a arquitetura colagênica.                                                                |                                                                                                                        |                                                                  |
| <b>Radiação gama</b>                                            | Utiliza radiação ionizante (geralmente Cobalto-60) para esterilizar o tecido após o processamento.                          | Alta eficácia esterilizante; elimina bactérias, vírus e fungos; processo controlável e padronizável.  | Pode causar fragmentação de colágeno e perda de proteínas bioativas.                                                   | KIM et al., 2023.                                                |
| <b>Descontaminação com antibióticos (protocolos assépticos)</b> | A MAH é submetida à imersão em soluções contendo antibióticos, seguida de secagem asséptica.                                | Boa redução da carga microbiana; mantém morfologia e estrutura da matriz; evita exposição a radiação. | Eficácia limitada contra esporos e vírus resistentes; requer controle rigoroso de assepsia e validação microbiológica. | MARSIT et al., 2019.                                             |
| <b>Água ozonizada</b>                                           | A desinfecção é realizada por exposição da MAH a fluxo contínuo de água ozonizada, isoladamente ou combinada com ultrassom. | Elevada eficácia antimicrobiana; preserva a integridade estrutural e colagênica.                      | Ainda requer padronização de parâmetros (concentração, tempo de exposição).                                            | AWOYAMA et al., 2022; BOTELHO et al., 2024; SANTOS et al., 2024. |



## CONCLUSÕES

A MAH mantém grande relevância clínica por suas propriedades que favorecem cicatrização, controle da inflamação e regeneração tecidual. Os métodos de desinfecção e preservação buscam equilibrar ação antimicrobiana e manutenção da bioatividade.

Técnicas tradicionais, como glicerolização e criopreservação, ainda são eficazes, mas limitadas quanto à viabilidade celular. Novas abordagens, como a água ozonizada, mostram bons resultados, garantindo descontaminação com mínima degradação estrutural.

Esses avanços indicam uma tendência de modernização e sustentabilidade, embora ainda falte padronização e validação clínica. Reforça-se, assim, a importância de pesquisas contínuas para aprimorar as técnicas e ampliar o uso seguro da MAH como curativo biológico.



## REFERÊNCIAS

- AWOYAMA, S. M.; CARVALHO, H. C.; DE SOUZA BOTELHO, T.; DOS SANTOS, S. I. S.; BUENDIA PALACIOS, D. A.; SAN MARTÍN HENRÍQUE, S.; FERNANDES, A. B. Disinfection of human amniotic membrane using a hydrodynamic system with ozonated water. *Ozone: Science & Engineering*, v. 45, n. 1, p. 28–40, 2022. DOI: 10.1080/01919512.2021.2022452.
- BOTELHO, T. *et al.* Evaluation of dynamic ozonated water as a novel disinfection method for human amniotic membrane. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, v. 18, n. 3, p. 145–156, 2024.
- ELHENEIDY, Hossam *et al.* Amniotic membrane can be a valid source for wound healing. *International journal of Women's Health*, p. 225–231, 2016.
- FERENCZY, P. A. H. *et al.* Comparison of preparation and preservation techniques of amniotic membrane. *Revista Brasileira de Oftalmologia*, v. 79, n. 3, p. 158–164, 2020.
- HOFMANN, N. *et al.* Preparation of human amniotic membrane for grafting: processing and storage considerations. *Frontiers in Transplantation*, v. 2, p. 1–12, 2023.
- ISHINO, Y. *et al.* Hyper-dry amniotic membrane accelerates wound healing in full-thickness skin burn injury model by promoting fibroblast migration and angiogenesis. *Burns & Trauma*, v. 8, n. tkaa014, p. 1–12, 2020. DOI: 10.1093/burnst/tkaa014.
- KADKHODA, Z. *et al.* Effect of amniotic membrane dressing on pain and healing of burn wounds. *Journal of Wound Care*, v. 29, n. 6, p. S22–S28, 2020.
- KANTHA, B. P. *et al.* Safety and efficacy of lyophilized human amniotic membrane gel for chronic non-healing wounds: a phase I clinical study. *Indian Journal of Plastic Surgery*, v. 56, n. 3, p. 234–243, 2023. DOI: 10.1055/s-0043-1775447.
- KIM, J. H. *et al.* Effects of gamma irradiation sterilization on structural and biochemical properties of human amniotic membrane. *Applied Sciences*, v. 13, n. 4, p. 2147, 2023.
- KOIZUMI, N. *et al.* Growth factor mRNA and protein in preserved human amniotic membrane. *Current Eye Research*, v. 20, n. 3, p. 173–177, 2000.
- MARSIT, N. M. *et al.* Validation and assessment of an antibiotic-based, aseptic decontamination manufacturing protocol for therapeutic, vacuum-dried human amniotic membrane. *Scientific Reports*, v. 9, 2019.
- MORO, M. L. *et al.* Efficacy of human amniotic membrane allograft in the management of diabetic foot ulcers: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Foot and Ankle Research*, v. 15, n. 1, p. 52, 2022. DOI: 10.1186/s13047-022-00575-y.
- NIKNEJAD, H. *et al.* Properties of the amniotic membrane for potential use in tissue engineering. *European Cells and Materials*, v. 15, p. 88–99, 2008.
- PARMAR, U. P. S. *et al.* Amniotic membrane transplantation for wound healing. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 26, n. 4, p. 2156, 2025.



SANTOS, F. D. R. P. *et al.* De-epithelization of the human amniotic membrane using a system involving ozonated water and ultrasound. *Bioengineering*, v. 11, n. 10, p. 987, 2024.

SCHMIEDOVÁ, I. *et al.* Clinical evaluation of AMNIODERM+® human amniotic membrane dressing. *Biomedicines*, v. 12, n. 2, p. 305, 2024.

WITT, J. *et al.* Cryopreservation in a standard freezer:  $-28^{\circ}\text{C}$  as an alternative storage temperature for human amniotic membranes. *Journal of Clinical Medicine*, v. 11, n. 4, 2022.

YANG, L. *et al.* Clinical outcomes of amniotic membrane transplantation in chemical and thermal ocular burns: a comparative cohort study. *Cornea*, v. 43, n. 5, p. 621–629, 2024. DOI: 10.1097/ICO.0000000000003415.

ZIDAN, S. M. Maximizing the safety of glycerol preserved human amniotic membrane: virucidal activity and practical considerations. *Cell and Tissue Banking*, v. 16, n. 4, p. 595–602, 2015.

#### **FOMENTO:**

O presente trabalho conta com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Os autores agradecem ao Instituto Ânima pelo apoio concedido ao projeto de pesquisa.

