



SISTEMA HIDRODINÂMICO COM ÁGUA OZONIZADA E ULTRASSOM PARA DESINFECÇÃO DE MATERIAL BIOLÓGICO

**Tatiana Regina de Oliveira Heinzelmann¹; Carlos José de Lima (Dr.)²; Adriana Barrinha
Fernandes Moretti (Dra.)³**

¹ Universidade Anhembi Morumbi (UAM), Centro de Inovação, Tecnologia e Educação (CITÉ),
tatiheinzelmann@gmail.com;

² Universidade Anhembi Morumbi (UAM), Centro de Inovação, Tecnologia e Educação (CITÉ);

³ Universidade Anhembi Morumbi (UAM), Centro de Inovação, Tecnologia e Educação (CITÉ).

Resumo

Materiais biológicos têm sido amplamente empregados na engenharia de tecidos, e, para sua aplicação clínica, é essencial que passem por processos adequados de desinfecção. O presente estudo tem como objetivo avaliar a eficácia de um sistema hidrodinâmico que utiliza água ozonizada associada ao ultrassom na desinfecção de materiais biológicos. Como modelo experimental, fragmentos de membrana amniótica humana serão contaminados experimentalmente com *Staphylococcus aureus* na concentração de 0,5 McFarland (10^8 UFC/mL) e submetidos a diferentes protocolos de desinfecção no sistema hidrodinâmico. A eficácia do processo será avaliada por meio de testes microbiológicos, complementados por análises histológicas e de microscopia eletrônica de varredura (MEV) para avaliação da superfície do material. Espera-se que a associação entre água ozonizada e ultrassom seja eficaz na remoção dos microrganismos da superfície da membrana amniótica humana, demonstrando o potencial do sistema hidrodinâmico como uma alternativa viável para a desinfecção de materiais biológicos..

Palavras-chave: Membrana amniótica humana, Ozônio, Ultrassom



Introdução

Materiais biológicos têm sido amplamente empregados na engenharia de tecidos, sendo a membrana amniótica humana (MAH) um biomaterial amplamente promissor devido às suas propriedades regenerativas e ao seu potencial como curativo biológico. A MAH é a camada mais interna das membranas fetais, composta por três camadas histológicas (epitelial, membrana basal e estroma), apresentando uma matriz rica em colágeno, fibroblastos, proteínas estruturais e células-tronco pluripotentes, que conferem propriedades regenerativas e reparadoras. (MAMEDE et al., 2012; MUNOZ-TORRES et al., 2023).

Além disso, a MAH possui ação anti-inflamatória, antimicrobiana, antifibrótica e cicatrizante, favorecendo a regeneração tecidual e a cicatrização de feridas, o que a torna um biomaterial de grande interesse para aplicações clínicas e na engenharia de tecidos. Para seu uso clínico, a MAH deve ser submetida a processos adequados de desinfecção ou esterilização, a fim de garantir a eliminação de patógenos (AWOYAMA et al., 2023; BOTELHO et al., 2024).

O ozônio (O_3) é um potente agente oxidante, capaz de degradar matéria orgânica e eliminar microrganismos por meio da formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) em solução aquosa (LIMA; FELIX; CALIRDOSO, 2021). O ultrassom é amplamente utilizado no processamento de materiais biológicos, promovendo a remoção de microrganismos e resíduos das superfícies através da propagação de ondas acústicas e da cavitação (SANTOS et al., 2024).

A combinação de ozônio e ultrassom tem demonstrado elevado potencial microbicida, (PASSOS et al., 2014; FONSECA et al., 2015, HEINZELMANN et al., 2024). Com base nisso, o presente estudo visa avaliar a eficácia de um sistema hidrodinâmico que combina água ozonizada e ultrassom para a desinfecção de materiais biológicos.

Métodos

Este trabalho trata-se de um estudo experimental in vitro e comparativo. A MAH será coletada conforme determina as Normas Técnicas para o funcionamento dos bancos de sangue de cordão umbilical e placentário segundo a Resolução - RDC nº 190, de 18 de



julho de 2003. As voluntárias que aceitarem doar a MAH para o estudo assinarão o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), com aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa, de parecer nº 2.829.910.

Contaminação Experimental

Após a coleta, as MAH serão lavadas com solução fisiológica estéril para remoção dos resíduos biológicos e então separada em fragmentos de 5x5 cm.

Cepas de *Staphylococcus aureus* serão cultivadas em meio TSA (Tryptic Soy Agar - Liofilchem®) e incubadas por 24 horas à 37°C para serem utilizadas no preparo de suspensões bacterianas, com concentração ajustada para 0,5 McFarland (108 UFC/mL). Os fragmentos de MAH serão então inoculados e mantidos em estufa à 37°C por 60 minutos.

Desinfecção das amostras

O sistema hidrodinâmico irá operar com uma concentração de ozônio de 48 mg/L e ultrassom de 40 KHz e 50 W acústico.

Após a contaminação, os fragmentos de MAH serão submetidos a diferentes protocolos de desinfecção no sistema hidrodinâmico por 5, 10 e 15 minutos, conforme demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1. Protocolo de desinfecção das amostras

Grupos	Descrição do Protocolo
Grupo Controle	A MAH não será submetida à desinfecção
Grupo O ₃	Desinfecção da MAH somente com água ozonizada
Grupo US	Desinfecção da MAH somente com ultrassom
Grupo O ₃ +US	Desinfecção da MAH com água ozonizada e ultrassom



Análise Microbiológica

Fragmentos da MAH serão semeados diretamente na superfície do meio de cultura TSA, a fim de avaliar a presença de crescimento microbiano no material. As placas serão incubadas a 37 °C por 48 horas para posterior leitura dos resultados.

Análise Histológica e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Após os procedimentos de desinfecção, os fragmentos de membrana amniótica humana serão preparados para análises morfológicas por microscopia óptica e eletrônica, permitindo a caracterização detalhada da superfície da membrana e a identificação de possíveis alterações morfológicas decorrentes dos processos de desinfecção.

Resultados e Discussões

Espera-se que este estudo comprove a eficácia do sistema hidrodinâmico na desinfecção de fragmentos de membrana amniótica humana contaminados experimentalmente. Além disso, prevê-se evidenciar a ação sinérgica entre o fluxo de água, o efeito mecânico do ultrassom na remoção de biofilmes e o poder oxidante do ozônio, resultando em uma desinfecção mais eficiente do material biológico.

Referências

AWOYAMA, S. M. et al. Disinfection of Human Amniotic Membrane Using a Hydrodynamic System with Ozonated Water. *Ozone: Science & Engineering*, v. 45, n. 1, p. 28-40, 2022. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01919512.2021.2022452>.

BOTELHO, T. et al. Sterilization of Human Amniotic Membrane Using an Ozone Hydrodynamic System. *Ann Biomed Eng* 52, 1425–1434. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10439-024-03467-3>

FONSECA, P. M. et al. Disinfection of Dental Instruments Contaminated with *Streptococcus mutans* Using Ozonated Water Alone or Combined with Ultrasound. *Ozone: Science and Engineering*, v. 37, n. 1, p. 85–89, 2015. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01919512.2014.904740>

HEINZELMANN et al. Disinfection of Surgical Instruments Using a Hydrodynamic System



with Ozonated Water and Ultrasound: Preliminary Study. *Ozone: Science & Engineering*, 46(5), 455–463. 2024. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01919512.2024.2312904>

LIMA, M.; FELIX, E.; CARDOSO, A. Aplicações e implicações do ozônio na indústria, ambiente e saúde. *Química Nova*, v. 44, n. 09, p. 1151-1158, 2021. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/C8CDZCz4tnLqVr6Hr8LsYsd/?format=pdf&lang=pt>

MAMEDE, A. C. et al. Amniotic membrane: From structure and functions to clinical applications. *Cell and Tissue Research*, v. 349, n. 2, p. 447–458, 2012. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00441-012-1424-6>.

MUNOZ-TORRES, J. R. et al. Biological properties and surgical applications of the human amniotic membrane. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, v. 10, n. January, p. 1–20, 2023. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9868191/>.

PASSOS, T. M. et al. Comparative Analysis of Ozone and Ultrasound Effect on the Elimination of *Giardia* spp. Cysts from Wastewater. *Ozone: Science and Engineering*, v. 36, n. 2, p. 138–143, 2014. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01919512.2013.864227>.

SANTOS, F.D.R.P. et al. De-Epithelization of the Human Amniotic Membrane Using a System Involving Ozonated Water and Ultrasound. *Bioengineering (Basel)*, 11(10):987, 2024. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11504975/>

Fomento:

T. R. O. Heinzelmann agradece à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

A. B. Fernandes e C. J. de Lima agradecem ao Instituto Ânima e Universidade Anhembi Morumbi.

A. B. Fernandes agradece ao CNPq pela bolsa de produtividade, processo nº 310708 /2021-4.