

AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA MEMBRANA AMNIÓTICA HUMANA, APÓS PROCESSAMENTO DE ESTERILIZAÇÃO COM ÁGUA OZONIZADA, E SUBMISSÃO A PRESSÃO BAIXA COM RADIAÇÃO TÉRMICA

Aline Casarin dos Santos¹. alinecasarin1@hotmail.com; Luiz Fernando Ferreira de Oliveira¹. lfoliveira.luiz@gmail.com; Bianca Akemi Kawata^{2,3}. kawata.bianca@gmail.com; Sílvia Móbille Awoyama². silviamobile@gmail.com; Adriana Barrinha Fernandes Moretti^{2,3}. adriana.morett@animaeducacao.com.br (coorientadora); Carlos José de Lima^{2,3}. carlos.j.lima@animaeducacao.com.br (orientador).

¹ Graduação em Biomedicina, Campus São José dos Campos, Universidade Anhembi Morumbi.

² Centro de Inovação, Tecnologia e Inovação (CITE), São José dos Campos.

³ Programa de Mestrado/Doutorado em Engenharia Biomédica, Parque Tecnológico de São José dos Campos, Universidade Anhembi Morumbi.

RESUMO:

A membrana amniótica é um material biológico proveniente da placenta após o parto. Parte de sua constituição é composta por colágeno e células tronco, que apresentam propriedades biocompatíveis e permitem, por exemplo, a aplicação em implantes, sem apresentar efeitos colaterais. Para essa aplicabilidade, técnicas de limpeza e esterilização são necessárias a fim de evitar infecções microbianas. A utilização de água ozonizada corrente como método de esterilização se apresenta vantajosa, já que, tem baixo custo, é eficiente como microbicida e não gera resíduos químicos. Com a finalidade de permitir o armazenamento e transporte do biomaterial após esterilização, foi proposta a evaporação induzida utilizando uma câmara de baixa pressão, com a incidência simultânea de radiação térmica promovendo assim seu dessecamento, para ser posteriormente embalado e vedado. Buscando descobrir qual limite de tempo de



dessecamento ainda mantém a integridade da membrana amniótica, uma avaliação preliminar utilizando a técnica de análise histológica é adequada.

INTRODUÇÃO:

A membrana amniótica é um material biológico proveniente da placenta, é a face interna do tecido que delimita o saco amniótico preenchido por líquido amniótico e que fica em contato com o feto durante a gestação (ZUGAIB, 2015). É um material que normalmente após o parto é descartado pelo processo de incineração (FÉNELON et al., 2021). Devido a suas características biológicas é utilizada no tratamento de feridas e lesões. Tem em sua constituição células tronco, as quais apresentam propriedades de baixa imunogenicidade e anti-inflamatórias, além de ser flexível, elástica e permeável (CHEN et al., 2019; HAO et al., 2000; FÉNELON et al., 2021). Constitui-se também de colágeno, ácido hialurônico, fibronectina, laminina e proteoglicanos (FÉNELON et al., 2021; AWOYAMA, 2022), tais características biocompatíveis permitem, por exemplo, a aplicação em implantes sem apresentar efeitos colaterais, tal como rejeição a nível biológico (AWOYAMA, 2022; AWOYAMA et al., 2022). Para a utilização deste biomaterial técnicas de limpeza e esterilização são necessárias a fim de evitar problemas de infecção microbiana, neste sentido protocolos como a radiação gama e gás óxido de etileno têm sido utilizados como procedimentos padrão para a desinfecção/esterilização (AWOYAMA, 2022). No entanto, estes métodos apresentam algumas desvantagens, tais como, custo elevado de obtenção e manutenção, bem como também provável comprometimento à integridade do material biológico, além de não serem considerados ecologicamente convenientes (FERENCZY, 2020). Recentemente junto a bibliografia técnico/científica um outro método tem sido apresentado, trata-se da esterilização da membrana amniótica humana utilizando água ozonizada corrente, esse método apresenta algumas vantagens como menor custo, e não gerar resíduos químicos ao meio ambiente (AWOYAMA, 2022; AWOYAMA et al., 2022). Uma demanda relevante a ser considerada é a capacidade de armazenamento desse material biológico pós reprocessamento de esterilização, neste sentido, pode-se considerar duas opções, a primeira seria a disponibilidade de um equipamento, que permita a esterilização *in*

loco no mesmo ambiente clínico a qual o paciente se encontra para receber o implante, assim o risco de contaminação seria mínimo. A outra opção seria submeter a membrana amniótica a um segundo processamento, que é a remoção da água por evaporação induzida, produzindo assim o dessecamento do material biológico, para ser posteriormente embalado com vedação, a fim de permitir o armazenamento e transporte para o ambiente clínico. O processo de desidratação envolve o uso de uma câmara de baixa pressão (vácuo), com a incidência simultânea de radiação térmica, a questão a ser considerada, é qual limite de tempo de dessecamento ainda mantém a integridade da membrana amniótica. Para isso, uma avaliação preliminar utilizando a técnica de análise histológica é adequada. O objetivo desse estudo é de desenvolver uma técnica de processamento da membrana amniótica, utilizando um protocolo envolvendo baixa pressão e incidência de radiação térmica, neste sentido pretende-se avaliar qual melhor situação obtém-se o material biológico em sua condição íntegra, para fins de armazenamento.

PALAVRAS-CHAVE: Membrana amniótica, avaliação biológica, vácuo.

MÉTODOS:

A Membrana Amniótica Humana será fornecida pela Instituição Santa Casa de Misericórdia da cidade de Pindamonhangaba-SP, proveniente de parto cesárea de mulher soronegativa. Nesse sentido já foi providenciado o certificado de aprovação fornecido pelo Comitê de Ética da Universidade Anhembi Morumbi, conforme código CAAE 95144818.8.0000.5492, com o número do parecer: 2.829.910.

O material deverá ser processado no Laboratório do CITE (Centro de Inovação, Tecnologia e Educação), localizado nas dependências do Parque Tecnológico de São José dos Campos-SP, onde será submetido a desinfecção/esterilização através do sistema hidrodinâmico utilizando água ozonizada corrente (AWOYAMA, 2022). Após este protocolo o material será segmentado em amostras, as quais um conjunto triplicata servirá para análise direta, sendo enviado para processamento histológico em laboratório externo, este conjunto será considerado o controle. As demais amostras serão submetidas ao protocolo de exposição a pressão baixa e atuação simultânea de radiação térmica a fim de produzir o dessecamento, considerando 3 tempos distintos:



15, 30 e 45 minutos. Posteriormente as amostras serão reidratadas utilizando soro fisiológico 0.9%, acondicionadas em frascos com formaldeído e enviadas a laboratório externo especializado em processamento histológico para confecção das lâminas, a fim de permitir futura análise em microscópio óptico invertido.

RESULTADOS ESPERADOS E DISCUSSÃO:

Avaliando os três conjuntos de membranas processadas pela baixa pressão e incidência de radiação térmica, tem-se a expectativa de que quando comparadas com a amostra controle estejam com sua constituição biológica e integridade o mais semelhante possível. Neste sentido tem-se a expectativa de que um dos tempos de atuação tanto da baixa pressão, quanto da incidência da radiação térmica, demonstre melhor condição da membrana em termos de integridade física e biológica. Nesta situação este trabalho irá atuar em avaliar especificamente a integridade biológica da membrana amniótica utilizando a histologia.

REFERÊNCIAS:

AWOYAMA, Sílvia Móbille. **Desinfecção de membrana amniótica humana a partir de um sistema hidrodinâmico desenvolvido com água ozonizada**. 2022. 68 f. Tese (Doutorado em Engenharia Biomédica) - Universidade Anhembi Morumbi. São José dos Campos, 2022.

CHEN, Xing. *et al.* Antifibrotic Effects of Decellularized and Lyophilized Human Amniotic Membrane Transplant on the Formation of Intrauterine Adhesion. **Exp Clin Transplant**. 2019 Apr;17(2):236-242. doi: 10.6002/ect.2017.0284. Epub 2018 Sep 25. PMID: 30251940.

DUARTE, Ian Goedert Leite. **Membrana amniótica como curativo biológico na cicatrização de feridas cutâneas com perdas de substância: estudo experimental em ratos**. 2014. 68 f. [Doutorado em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia]. Belo Horizonte: UFMG, 2014. Disponível em: <



https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/BUOS-9Q3GR4/1/tese_ian_gl_duarte_2014.pdf> Acesso em 10 set. 2023.

FÉNELON, Mathilde et al. Applications of Human Amniotic Membrane for Tissue Engineering. **Membranes**, v.11, n. 6, p.01-27, 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2077-0375/11/6/387>> Acesso em 28 ago. 2023.

HAO, Yanxia et al. Identification of antiangiogenic and antiinflammatory proteins in human amniotic membrane. **Cornea**, v. 19, n. 3, p. 348-352, 2000. Disponível em: <https://journals.lww.com/corneajrnl/fulltext/2000/05000/identification_of_antiangiogenic_and.18.aspx> Acesso em: 23 set. 2023.

ZUGAIB, Marcelo. **Zugaib obstetrícia básica**. 1ed.São Paulo: Editora Manole, 2015. E-book. ISBN 9788520455746. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788520455746/>. Acesso em: 23 set. 2023

FOMENTO:

O trabalho teve a concessão de Bolsa pelo Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Tecnológica e Inovação (PIBITI), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

