

Protocolo de captação, processamento e armazenamento de membrana amniótica humana para uso oftalmológico

Protocol for procuring, processing, and storing human amniotic membrane for ophthalmic use

Daniel Caiado Fraga Lavagnoli¹, Kássio Assis¹, Patrícia Grativol Costa Saraiva¹, Fábio Petersen Saraiva¹, Luiz Guilherme Marchesi Mello^{1,2}

1. Departamento de Medicina Especializada, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, ES, Brasil.

2. Divisão de Oftalmologia e Laboratório de Investigação em Oftalmologia (LIM/33), Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

PALAVRAS-CHAVE:

Protocolos, Bancos de Tecidos; Membranas Extraembrionárias; Obtenção de Tecidos e Órgãos; Ferimentos e Lesões.

RESUMO

A membrana amniótica humana possui grande potencial terapêutico por suas características anti-inflamatórias, antimicrobianas e antiangiogênicas. Na Oftalmologia, seu uso está consolidado para o tratamento de lesões agudas e crônicas da superfície ocular, como defeitos corneanos persistentes e descemetocelose, e até mesmo em cirurgias eletivas, como a exérese de pterígio. O processo de obtenção da membrana amniótica para uso oftalmológico possui diversas etapas, que incluem a triagem clínica da doadora, captação da placenta com as membranas amniótica e coriônica, processamento, armazenamento e o monitoramento da qualidade da membrana amniótica. Assim, faz-se necessário o desenvolvimento de um protocolo a servir como orientação para a produção de enxertos de membrana amniótica preservando suas características terapêuticas e reduzindo os riscos inerentes ao seu uso em pacientes receptores. Apresentamos neste artigo um protocolo operacional padrão para captação, preparo e preservação da membrana amniótica para uso oftalmológico, de modo a possibilitar a reprodutibilidade segura deste processo.

KEYWORDS:

Protocols; Tissue banks; Extraembryonic membranes; Tissue and organ procurement; Wounds and injuries.

ABSTRACT

Human amniotic membranes have great therapeutic potential owing to their anti-inflammatory, antimicrobial, and antiangiogenic characteristics. In ophthalmology, their use is well established for treating acute and chronic lesions of the ocular surface, such as persistent corneal defects and descemetocelose, and even in elective surgeries such as pterygium excision. The process of obtaining amniotic membranes for ophthalmic use involves several steps, including clinically screening the donor, retrieving the placenta along with the amniotic and chorionic membranes, and processing, storing, and monitoring the amniotic membrane quality. Thus, it is necessary to develop a protocol to serve as a guideline for producing amniotic membrane grafts, preserving their therapeutic characteristics and reducing the risks inherent to their use in recipient patients. This study presents a standard operating protocol for procuring, preparing, and preserving amniotic membranes for ophthalmic use to enable the safe reproducibility of this process.

Autor correspondente: Daniel Caiado F. Lavagnoli. E-mail: caiadofragalavagnoli@gmail.com

Recebido em: 17 de Maio de 2023. **Aceito em:** 22 de Outubro de 2023

Financiamento: Declaram não haver. **Conflitos de Interesse:** Declaram não haver.

Como citar: Lavagnoli DC, Assis K, Saraiva PG, Saraiva FP, Mello LG. Protocolo de captação, processamento e armazenamento de membrana amniótica humana para uso oftalmológico. eOftalmo. 2023;9(4):181-92.

DOI: 10.17545/eOftalmo/2023.0051

 Esta obra está licenciada sob uma *Licença Creative Commons* Atribuição 4.0 Internacional.

INTRODUÇÃO

A placenta é um órgão efêmero materno-fetal, que possui diversas funções, destacando-se a troca de nutrientes da mãe para o feto e a eliminação de metabólitos fetais. Quatro diferentes estruturas membranosas estão envolvidas no desenvolvimento placentário do ser humano: o córion, o âmnio, o saco vitelino e o alantóide¹. Durante o desenvolvimento fetal, o âmnio ou membrana amniótica (MA), possui a função da proteção fetal contra estresse mecânico e desidratação. Contudo, também podem ser destacadas outras propriedades importantes como: as ações anti-inflamatória, antimicrobiana e antiangiogênica². Além disso, possui como propriedade uma imunogenicidade reduzida, contribuindo para sua aplicabilidade como enxerto.

A MA possui entre 0,02 e 0,5 mm de espessura total, sendo composta por cinco camadas distintas: epitélio, membrana basal, camada compacta, camada de fibroblastos e camada esponjosa (Figura 1)³. Ela foi

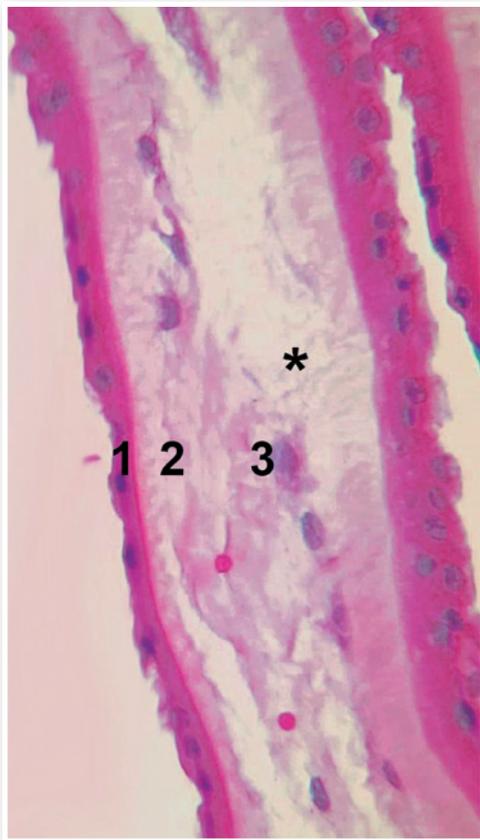


Figura 1. Corte histológico de amostra de membrana amniótica (Hematoxilina e Eosina, magnificação de 400x) evidenciando o epitélio com membrana basal (1), camada compacta (2), camada de fibroblasto (3) e espaço onde estaria localizada a camada esponjosa (*). (Figura cedida gentilmente pela Prof^a Renata Scarpat Careta).

utilizada pela primeira vez com finalidade terapêutica em 1910, mas somente 30 anos depois seu uso foi descrito na Oftalmologia, para o tratamento de simbléfaro². Atualmente, existem estudos sugerindo o benefício do uso da MA em diversas doenças oftalmológicas além do simbléfaro, como: queimaduras, síndrome de Stevens Johnson, necrose epidérmica tóxica, perfurações e afinamentos corneanos (por exemplo, descemetocel, úlcera neurotrófica, defeitos epiteliais), ceratopatia bolhosa, ceratopatia em faixa, insuficiência límbica, reconstrução conjuntival, esclerite, enxerto no tratamento de pterígio, tumores da superfície ocular e em cirurgias fistulizantes. Para que a MA possa ser utilizada, é necessária a realização de processos de preparo e armazenamento que objetivam a descontaminação do material e promoção de um ambiente o mais inerte possível em que o tecido possa ser conservado e suas propriedades mantidas. Há diferentes métodos de preservação como a desidratação, liofilização, reticulação química e criopreservação, que podem interferir na estrutura tecidual da MA e influenciar no seu processo de degeneração e no sucesso do tratamento⁴. Um estudo recente concluiu que a MA criopreservada é comparável à MA fresca no que diz respeito à integridade estrutural e retenção de componentes bioquímicos essenciais para funções biológicas, indicando que a criopreservação oferece um meio seguro e eficaz de preservação⁵.

Considerando a importância do estabelecimento de métodos padronizados para a obtenção da MA pronta para uso em procedimentos oftalmológicos, foi desenvolvido um protocolo operacional padronizado que estabelece fluxos e métodos para a captação, processamento e armazenamento de membrana amniótica.

MÉTODOS

Foram revisadas as normativas nacionais e recomendações internacionais de aplicabilidade da membrana amniótica humana na Oftalmologia, bem como a captação, preparo e armazenamento deste tecido, por meio de artigos científicos publicados no Pubmed, Scielo e Lilacs e legislação vigente, até 31 de outubro de 2022, utilizando as palavras-chave em português e inglês: membrana amniótica, âmnio, transplante, preservação, bancos de tecidos e banco de olhos. A partir desses dados, foi desenvolvido um protocolo operacional para garantir o cumprimento de boas práticas clínicas, terapêuticas e organizacionais.

RESULTADOS

Atribuições, competências e responsabilidades

O processo de captação e preparo do tecido, para estar apto ao uso, é feito de forma multidisciplinar, envolvendo a equipe de Médica e de Enfermagem do Banco de Olhos do serviço de Oftalmologia, do serviço de Ginecologia e Obstetrícia, do serviço de Patologia e do serviço de Microbiologia, conforme fluxograma descrito na Figura 2 e detalhado a seguir.

Etapas

1. Triagem de potencial doadora pela equipe do Banco de Olhos do serviço de Oftalmologia

1.1. Identificar uma possível doadora: puérperas maiores de 18 anos internadas na enfermaria de Obstetrícia (eleita aos critérios de inclusão) e que não possuam nenhum dos critérios de exclusão. Segundo o Regulamento Técnico do Sistema Nacional de Transplantes, Portaria Nº 2.600 – 28/10/2009⁶⁻⁹, e

pelos critérios do Banco de Olhos do Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), foram construídos as contraindicações absolutas a uma candidata à doação. São eles:

- a) Sepses em atividade;
- b) Endocardite (bacteriana ou fúngica) em atividade;
- c) Linfomas ativos disseminados;
- d) Leucemias;
- e) Evidência clínica ou laboratorial de infecção por HIV, hepatite B ou C;
- f) Risco de transmissão de enfermidades causadas por príons: Doença de Creutzfeldt Jakob, doença neurológica de etiologia viral ou indeterminada, panencefalite subaguda esclerosante, encefalite viral ativa, encefalite de origem desconhecida, encefalopatia progressiva ou leucoencefalopatia multifocal progressiva;
- g) Raiva;
- h) Rubéola congênita;
- i) Síndrome de Reye;
- j) Meningite;
- k) Colonização por bactérias multirresistentes;
- l) Intoxicações a agrotóxicos;
- m) Leptospirose;
- n) Dengue em fase febril ou crítica;
- o) Malária;
- p) Encefalite herpética;
- q) Câncer em localização com maior probabilidade de produzir metástase (mama, pulmão, fígado, linfoma e leucemias, melanoma cutâneo e pâncreas);
- r) As seguintes doenças em atividade: câncer uterino, de colo de útero ou de canal vaginal, endometriose, endometrite, doença inflamatória pélvica, infecção intrauterina ou de canal vaginal pelo vírus do papiloma humano (HPV);

1.2. Abordagem e Acolhimento da gestante para o processo de doação da placenta.

Etapas vital que necessita de responsabilidade, respeito e cuidado para realizar a entrevista. De fato, isso se faz importante, pois o questionário apresentado à gestante investiga fatos pessoais, íntimos e comportamentais, necessitando dessa forma de um ambiente confortável para respondê-lo.

Entregar o Termo de Doação de Tecido Placentário (Figura 3), coletando assinaturas nas três vias. A primeira via será anexada ao prontuário médico, a segunda via será anexada ao prontuário de doação no Banco de Olhos e a terceira via será fornecida para a

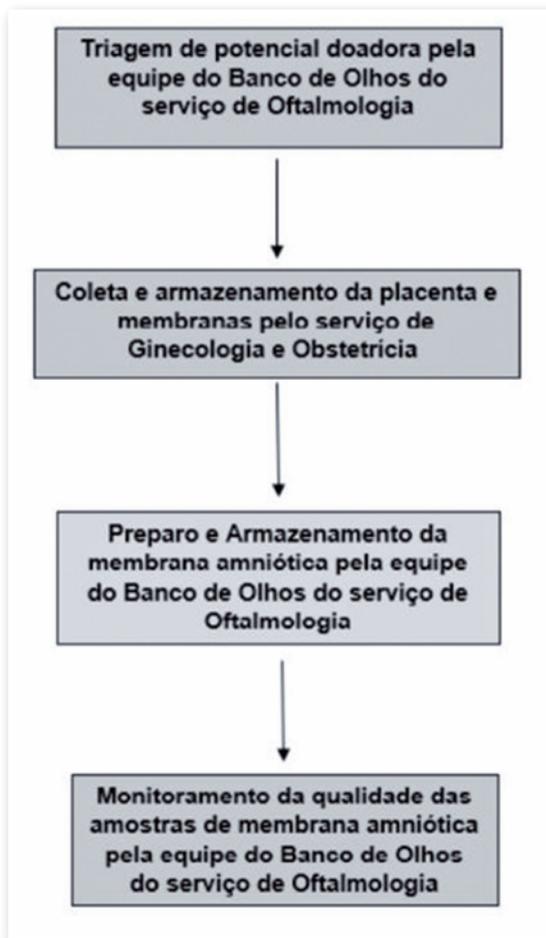


Figura 2. Fluxograma de captação, preparo e armazenamento da membrana amniótica.

TERMO DE DOAÇÃO DE TECIDO PLACENTÁRIO

Pelo presente instrumento, EU, _____, natural de _____, RG _____, emitido por: _____, CPF _____, residente e domiciliado à _____, bairro _____, na cidade de _____, estado de _____, CEP _____, telefone _____, na qualidade de _____ (doador, cônjuge, ascendente ou descendente), responsável pelo paciente _____, natural de _____, data de nascimento ____/____/____, RG nº: _____, CPF: _____, residente e domiciliado à _____, filiação _____, autorizo, por minha inteira responsabilidade e por livre e espontânea vontade, o procedimento de retirada de membrana amniótica e amostra sanguínea para realização de exames sorológicos, para fins de transplantes, objetivos terapêuticos e fins científicos, em conformidade com as disposições da Lei nº 9.434 de 04/02/1997, Lei nº 10.211 de 23/03/2001 e o Decreto nº 2.2.68 de 30/06/1997 e toda a legislação pertinente. Fica ressalvado que a utilização para fins científicos somente será permitida depois de esgotadas as possibilidades de utilização para transplante, conforme a Portaria GM nº 263 de 31/03/1999. As informações deste termo são de total responsabilidade do declarante, inclusive o grau de parentesco com o doador. Enfatizo que esta autorização é motivada apenas por razões humanitárias, sem expectativa de receber nenhuma forma de compensação.

_____, _____ de _____ de _____

Assinatura do Responsável
pela entrevista familiar

Assinatura da doadora
ou responsável

Figura 3. Termo de doação do tecido placentário.

potencial doadora. A recusa em assinar o Termo de Doação de Tecido Placentário será considerada critério de exclusão.

1.3. Proceder a identificação dos dados iniciais da doadora de MA (Figura 4), com nome, idade, hora da dequitação placentária, número do prontuário e familiares presentes;

1.4. Preencher a ficha de triagem clínica (Figura 5). O não preenchimento de todos os critérios obrigatórios impossibilitará a utilização do tecido doado, devendo este ser descartado em local apropriado:

- a) Parto a menos de 24 horas do dia a ser confeccionado o enxerto (critério obrigatório);
- b) Sem história de abuso de álcool, fumo ou drogas (critério obrigatório);

CÓDIGO BOIES: _____
NOME DO DOADOR _____ DATA DE NASCIMENTO: ____ / ____ / ____ IDADE _____ DATA DA DEQUITAÇÃO PLACENTÁRIA: ____ / ____ / ____ HORA: _____ RESPONSÁVEL PELA ENTREVISTA: _____ LOCAL: _____ INTERCORRÊNCIAS DURANTE O PROCEDIMENTO: _____ AMOSTRA SANGUÍNEA COLETADA: () SIM () NÃO - DATA: ____ / ____ / ____ ÀS ____ : ____ VIA DE COLETA DA AMOSTRA SANGUÍNEA: _____
RESPONSÁVEL PELO PROCESSO DE CAPTAÇÃO
DECLARO TER REALIZADO A CAPTAÇÃO DA MEMBRANA AMNIÓTICA DA DOADORA INFORMADA ACIMA NO DIA ____ / ____ / ____ ÀS ____ : ____ HS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO CASSIANO ANTONIO MORAES (HUCAM): ASSINATURA DO TÉCNICO BOIES: _____ COREN _____
EXAMES SOROLÓGICOS: HIV I e II / HTLV I e II / HBsAg / ANTI HBC TOTAL / ANTI HBs / ANTI HCV
O TEMPO DE CENTRIFUGAÇÃO DA AMOSTRA SANGUÍNEA (QUANDO HOVER): _____ CONTROLE DE TEMPERATURA DA CAIXA TÉRMICA Nº ____: ENTRADA DA AMOSTRA NA CAIXA MÁX. ____ E MÍN. ____, SAÍDA DA AMOSTRA MÁX. ____ E MÍN. ____ ENTREGA NO LABORATÓRIO DIA: ____ / ____ / ____ ÀS ____ : ____ H, RESPONSÁVEL: _____ RESULTADO RECEBIDO DIA: ____ / ____ / ____ ÀS ____ : ____ H, RESPONSÁVEL: _____ () NÃO REAGENTE () REAGENTE PARA: _____ () NÃO REALIZADA: _____ <div style="text-align: center; margin-top: 5px;">MOTIVO</div> <div style="float: right; border: 1px solid black; padding: 5px; margin-top: 10px;"> Nº ID LABORATÓRIO: </div>

Figura 4. Formulário de captação do tecido placentário e triagem laboratorial.

- c) Sem história de múltiplos parceiros nos últimos 9 meses (critério obrigatório);
- d) Avaliação dos exames de triagem do pré-natal (cartão da gestante), sendo excluída deste protocolo caso apresente algum destes exames positivos: HBsAg, Anti-HBc IgM e IgG, Anti-HCV, Anti-HIV-1, anti-HIV-2, VDRL, HTLV 1 e 2, CMV
- e) Preferencialmente partos a termo sem comorbidades associadas confirmadas ou suspeitas (Descolamento Prematuro de Placenta, Parto Prematuro, Crescimento Intrauterino Restrito, Malformações, Infecções venéreas ou congênicas, Mecônio durante parto, Sofrimento Fetal Agudo


HOSPITAL UNIVERSITÁRIO CASSIANO ANTÔNIO MORAES
 UNIDADE DO CENTRO DA VISÃO
 BANCO DE OLHOS DO ESPÍRITO SANTO
 PROCESSO DE DOAÇÃO DE MEMBRANA AMNIÓTICA



Nome da Doadora:						
Nome do Entrevistado:		Fone:				
QUESTIONÁRIO			SIM	NAO	ESPECIFIQUE	
01	Possui alguma doença uterina: endometrite, endometriose, HPV, mioma uterino, síndrome de ovário policístico, câncer uterino.					
02	Possui alguma doença? (Ex.: Tuberculose, hepatite, AIDS, sífilis, diabetes, algum tipo de câncer?).					
03	Teve leucemia blástica, linfoma de khodgkin ou linfosarcoma?					
04	Foi hospitalizado ou fez algum tratamento de saúde nos últimos 12 meses?					
05	Tomava algum medicamento regularmente?					
06	Fez tratamento com hormônio de crescimento? Qual?					
07	Foi submetido a procedimento Cirúrgico?					
08	Fazia hemodiálise, quimioterapia ou radioterapia? Qual?					
09	Qual a ocupação (trabalho) da doadora?					
10	Portadora de malária, ou residiu/visitou regiões endêmicas de malária? Quando?					
11	Foi exposta ou foi contaminada por algum tipo de substância tóxica?					
12	Recebeu algum tipo de vacina ou reforço, nos últimos 6 meses? Qual?					
13	Fez tatuagem, piercing, maquiagem definitiva ou retoques, nos últimos 12 meses?					
14	Parceiro (a) recebeu transfusão de sangue ou derivados nos últimos 12 meses?					
15	Apresentou algum desses sintomas nos últimos 12 meses: suores excessivos, perda de peso, febre contínua ou diarreia persistente?					
16	Fez ou fazia uso de drogas ilícitas (Ex.: maconha, cocaína, crack)? Qual?					
17	Fez exames ginecológicos regularmente (Papanicolaú)?					
18	História de doenças sexualmente transmissíveis?					
19	Fumante? quanto tempo? Consumo de álcool? quantidade?					
20	Relaciona intimamente com pessoas do mesmo sexo?					
21	Já teve relação com pessoas portadoras de doenças como hepatite, AIDS, sífilis ou outra doença transmissível pelo sangue?					
22	Foi detida (preso) nos últimos 12 meses? Por quanto tempo?					
23	Ele (a) teve rubéola congênita?					
24	Esteve em viagem nos últimos 15 dias? Para onde? Quando retornou?					
25	Teve contato com pessoas que viajaram nos últimos 15 dias?					
26	Apresentou sintomas gripais nos últimos 30 dias (coriza, tosse, febre etc)?					
27	Teve contato com pessoas que apresentaram sintomas gripais nos últimos 15 dias?					
28	Teve contato com pessoas que tiveram diagnóstico positivo para Covid-19?					
29	Fez 06 ou mais consultas de pré-natal?					
30	Fez consulta de pré-natal no primeiro trimestre?					
31	Foi submetida a todos os exames de pré-natal preconizados pelo MS?					
32	Teve alguma intercorrência durante o pré-natal?					
Comentários do Entrevistador:						
Nome do Entrevistador:			Cargo/Função:			
Assinatura:						
DATA: __/__/__						
Assinatura do entrevistado (doadora ou responsável)						

Figura 5. Formulário de história clínica e social da doadora.

ou Crônico, Ruptura Prematura de Membranas, Endometrite) (critério facultativo).

1.5. Coletar amostras de sangue da doadora e preencher a ficha de triagem laboratorial (Figura 4). A positividade para um (ou mais) dos exames impossibilitará a utilização do tecido doado, devendo este ser descartado em local apropriado.

2. Coleta e armazenamento da placenta e membranas pelo serviço de Ginecologia e Obstetrícia

- Higienizar as mãos conforme procedimento operacional padrão do Serviço de Controle de Infecção Hospitalar;
- Após dequitação placentária, estando devidamente paramentado com equipamento de proteção in-

dividual (óculos, máscara e luva estéril), colocar a placenta e membranas de uma potencial doadora em um saco coletor;

- Fechar e identificar o saco coletor com nome completo e número de prontuário da parturiente;
- Armazenar o saco coletor por até 24h (a contar a partir do horário do parto) em um ambiente com temperatura controlada entre 2°C e 8°C;
- Descartar em local apropriado o saco coletor que ficou armazenado por mais de 24h.

3. Preparo da membrana amniótica pela equipe do Banco de Olhos do serviço de Oftalmologia

3.1 Após identificação de uma doadora, preenchimento de toda a documentação e autorização para uso da membrana amniótica, transportar o saco coletor identificado contendo a placenta e membranas placentárias diretamente para o Banco de Olhos em caixa isotérmica em temperatura interior de 2 a 8 °C.

3.2. Separação e preparo inicial da membrana amniótica

- Higienizar as mãos conforme protocolo da unidade;
- Paramentar-se com equipamento de proteção individual (óculos, touca, máscara, capote estéril e luva estéril) e distribuir os campos estéreis na área de trabalho;
- Separar o conjunto membrana amniótica e membrana coriônica do restante da placenta com tesoura estéril, mantendo a face epitelial da membrana amniótica (face interna das membranas) sempre voltada para cima;
- Devolver o restante da placenta para o saco coletor;
- Lavar de forma abundante a membrana amniótica e córion com solução fisiológica de ringer lactato;
- Separar manualmente a membrana coriônica da membrana amniótica e colocar o córion junto ao restante da placenta em saco coletor para o descarte adequado do material;
- Dispor duas cubas e preenchê-las com a solução 1 (preparo da solução 1 conforme arquivo suplementar "Descritivo das soluções 1 e 2");
- A membrana amniótica é dividida em duas partes, sendo cada uma colocada em uma cuba/bacia estéril e irrigada abundantemente com ringer lactato estéril para remoção manual e mecânica de sangue e debris, trocando o ringer lactato de acordo com a necessidade;
- Colocar as membranas limpas nas cubas conten-

do a solução 1 (Figura 6), e aguardar 30 minutos;

- Retirar as luvas e capote estéril;
- Higienizar as mãos.

3.3. Preparo final das amostras de membrana amniótica em capela de fluxo laminar para armazenamento

- Higienizar as mãos conforme protocolo padrão da unidade;
 - Higienizar a capela de fluxo laminar antes de manipulá-la conforme protocolo padrão da unidade;
 - Separar os frascos estéreis de conservação da membrana amniótica (Figura 7), de acordo com o modo de preservação que as membranas estarão;
- OBS: O frasco estéril selecionado é de acordo com a temperatura do local em que ele será preservado. Os destinados para temperaturas de 2 a 8° são feitos de polipropileno ou polietileno, com tampa de rosca simples, já os feitos para suportar temperaturas de até - 85 °, são feitos de polipropileno reforçado, com tampa acoplada, fechamento hermético e duplo lacre.
- Higienizar as mãos conforme protocolo da unidade;
 - Paramentar-se com EPI, capote estéril e luva estéril e distribuir os campos estéreis na área de trabalho na capela de fluxo laminar
 - Introduzir os frascos de conservação da membrana amniótica na capela de fluxo laminar, abri-lo e colocá-lo na área estéril;
 - Organizar sobre a bancada da capela o material estéril a ser utilizado e abri-lo de forma a não o contaminar, com auxílio de um ajudante que não esteja paramentado, bem como os outros materiais de consumo a serem utilizados;
 - Dispor sobre o campo impermeável estéril o papel de nitrocelulose, pinças, tesoura e bisturi;
 - Dispor sobre o papel de nitrocelulose a membrana amniótica com a face epitelial voltada para cima;
 - Iniciar o corte dos pedaços de 2,5 x 2,5 cm (Figura 8) e colocar cada pedaço de membrana amniótica com o papel de nitrocelulose em um frasco de conservação contendo 10 ml da solução 2 (preparo da solução 2 conforme arquivo suplementar "Descritivo das soluções 1 e 2");
 - Colocar um pedaço de membrana amniótica em um tubo contendo BHI (Brain Heart Infusion) e encaminhar para o serviço de Microbiologia (para pesquisa de fungos, bactérias e germes inespecíficos, bacterioscopia e antibiograma), incubando por até 15 dias;



Figura 6. Membrana amniótica sendo colocada em cuba com a solução 1 com epitélio voltado para cima.



Figura 8. Membrana já aplicada em papel de nitrocelulose, sendo cortadas em tamanhos próximo a 1 polegada para serem colocados em solução 2 para conservação.



Figura 7. Frasco para conservação para temperaturas mais altas (A) e frasco de criopreservação (B).

Legenda: Na figura 7 são vistos os frascos que podem ser utilizados para conservação da membrana amniótica. Sendo o (A) destinado para conservação em temperaturas de 2 a 8 °C, o que permite conservar o material por até 3 meses. Já o frasco (B) é indicado para criopreservação e suporta temperaturas de -75 a -85 °C, permitindo conservar o material por até 2 anos.

- Enviar para análise no setor de Patologia um frasco contendo uma amostra de membrana amniótica, assim como o saco coletor contendo a placenta e a membrana coriônica;
- Desprezar as lâminas na caixa específica para material perfurocortante;

- Retirar os materiais da capela após o término do procedimento e encaminhá-los ao expurgo;
- Retirar EPIs;
- Higienizar as mãos conforme protocolo padrão da unidade;
- Calçar luva de procedimentos;
- Identificar os frascos de conservação das membranas amnióticas com etiqueta contendo: identificação do produto (membrana amniótica e tamanho), número do prontuário de doação no Banco de Olhos, nome do responsável pelo preparo, temperatura de armazenamento, data do preparo, data de validade da membrana amniótica (2°C a 8°C: 3 meses; -75 e -85°C: 2 anos) (10) (11); e lacrar os frascos;
- Manter os frascos refrigerados em geladeira (2°C a 8°C) ou em freezer (-80 °C°).

4. Monitoramento da qualidade das amostras de membrana amniótica pela equipe do Banco de Olhos do serviço de Oftalmologia

Após o preparo e armazenamento das amostras de membrana amniótica, é necessário o monitoramento mensal dos lotes por meio de inspeção visual externa e envio de uma amostra para análise microbiológica e histopatológica. Dessa forma o material só continuará sendo liberado para uso se não apresentar

alteração à inspeção visual externa, sinais de infecção no exame microbiológico e histopatológico ou sinais de necrose tecidual avançada no exame histopatológico. O resultado dessas análises deverá ser armazenado no prontuário de doação no Banco de Olhos, mediante preenchimento da ficha de monitoramento da qualidade das amostras (Figura 9).

Caso seja identificado algum problema com a membrana fornecida para uso, o médico que a utilizou deverá notificar o Banco de Olhos por escrito sobre o problema ocorrido e o fornecimento de amostras daquele lote será paralisado até que a situação seja averiguada com o responsável técnico pelo Banco

de Olhos, que definirá se as amostras serão descartadas ou mantidas para uso. Os dados deverão ser anotados no prontuário de doação no Banco de Olhos.

DISCUSSÃO

A realidade dos serviços oftalmológicos no Brasil no que diz respeito ao uso da membrana amniótica ainda é limitada aos grandes centros de pesquisa e universidades. Parte desse cenário se deve à estrutura hospitalar e laboratorial necessária para possibilitar a captação, processamento, armazenamento, monitorização e aplicação do material nos pacientes indicados.

AVALIAÇÃO DE TECIDO – MEMBRANA AMNIÓTICA	
Formulário	
DE CÓDIGO BO/ES/MA: _____	ATÉ CÓDIGO BO/ES/MA: _____
TOTAL DE FRAGMENTOS: _____	VALIDADE LOTE: __/__/____
DATA DA PRESERVAÇÃO: __/__/__ HORA: ____:____ RESPONSÁVEL: _____	
DATA DA AVALIAÇÃO: __/__/__ HORA: ____:____ RESPONSÁVEL: _____	
INTERVALO DE TEMPO DENTRE A CAPTAÇÃO E A PRESERVAÇÃO: _____	
MEIO: GLICERINA PURA	FABRICANTE: _____
VENC. DO MEIO: __/__/____	LOTE: _____
CLASSIFICAÇÃO DO LOTE	
<input type="checkbox"/> VIÁVEL	<input type="checkbox"/> INVIÁVEL
OBS: _____	

RESULTADO DE EXAMES	

____/____/____	_____
DATA	HORA

RESPONSÁVEL TÉCNICO PROJETO	

Figura 9. Ficha de avaliação da qualidade do tecido.

Visto isso, é de extrema importância que resoluções como a conferida pela Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária RDC Nº 55, DE 11 DE DEZEMBRO DE 2015⁸, sejam formuladas com o intuito de padronizar os Bancos de Tecidos. Dessa forma, são estabelecidos requisitos técnico-sanitários mínimos para o seu funcionamento, visando à segurança e qualidade dos tecidos fornecidos para uso terapêutico⁸, de modo a possibilitar que novos centros possam ser formados e mais pessoas possam usufruir desse recurso.

É notório observar que um processo com tantas etapas precisa de uma equipe multidisciplinar coesa, formada por profissionais treinados e capacitados, que atuarão desde o momento de triagem clínico e laboratorial da gestante até o monitoramento da amostra para liberação do uso do material⁴. Tão importante quanto o recurso humano no processo, é imprescindível o acesso a uma estrutura adequada para o armazenamento correto do material, um laboratório para análise anatomopatológica e um laboratório para pesquisa de possíveis microrganismos contaminantes da membrana. Dessa forma, é possível produzir um enxerto cirúrgico com boa qualidade estrutural e com poucos riscos de contaminação para ser utilizado em benefícios de pacientes com doenças oftalmológicas. Além disso, a preservação e o armazenamento a longo prazo de materiais biológicos, não só oferece a vantagem de boa disponibilidade por um maior período, mas também reduz o risco de transmissão de doenças^{10,11}.

O uso da membrana amniótica na Oftalmologia é uma das principais opções terapêuticas para doenças da superfície ocular refratárias à terapia clínica, especialmente as que envolvem alterações no processo de cicatrização e da barreira física ocular. Até o presente momento, ainda não foi publicado na literatura científica um artigo orientando a coleta, preparo, armazenamento e monitoramento das amostras de membrana amniótica humana conforme normas bra-

sileiras e padrões internacionais de qualidade. O desenvolvimento de um protocolo clínico como descrito neste artigo é essencial para garantir a qualidade das amostras de membrana amniótica, diminuir os riscos aos pacientes e difundir o uso deste tecido na prática oftalmológica diária.

REFERÊNCIAS

1. Brolio MP, Ambrósio CE, Francioli AR, Morini AC, Guerra RR, Miglino MA. A barreira placentária e sua função de transferência nutricional. *Rev Bras Reprod Anim.* 2010;34(4):222-232.
2. Alió JL, Abad M, Scorsetti DH. Preparation, indications and results of human amniotic membrane transplantation for ocular surface disorders. *Expert Rev Med Devices.* 2005;2(2):153-60.
3. Fairbairn NG, Randolph MA, Redmond RW. The clinical applications of human amnion in plastic surgery. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2014;67(5):662-75.
4. Jirsova K, Jones GLA. Amniotic membrane in ophthalmology: properties, preparation, storage and indications for grafting—a review. *Cell Tissue Bank.* 2017;18(2):193-204.
5. Hettiarachchi D, Dissanayake VH, Goonasekera HW. Optimizing amniotic membrane tissue banking protocols for ophthalmic use. *Cell Tissue Bank.* 2016;17(3):387-97.
6. Saúde Md. PORTARIA Nº 2.600, DE 21 DE OUTUBRO DE 2009 Aprova o Regulamento Técnico do Sistema Nacional de Transplantes. In: Ministro Gd, editor. *Diário Oficial da União* 2009.
7. Saúde Md. PORTARIA DE CONSOLIDAÇÃO Nº 4, DE 28 DE SETEMBRO DE 2017 Consolidação das normas sobre os sistemas e os subsistemas do Sistema Único de Saúde. In: Ministro Gd, editor. *Diário Oficial da União* 2017.
8. Colegiada D. RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA – RDC Nº 55, DE 11 DE DEZEMBRO DE 2015. In: Sanitária ANdV, editor. *Diário Oficial da União* 2015.
9. Saúde Md. RESOLUÇÃO Nº 67, DE 30 DE SETEMBRO DE 2008. In: Sanitária ANdV, editor. *Diário Oficial da União* 2008.
10. Maral T, Borman H, Arslan H, Demirhan B, Akinbingol G, Haberal M. Effectiveness of human amnion preserved long-term in glycerol as a temporary biological dressing. *Burns.* 1999;25(7):625-35.
11. Dua HS, Gomes JA, King AJ, Maharajan VS. The amniotic membrane in ophthalmology. *Surv Ophthalmol.* 2004;49(1):51-77.

Descritivo das soluções 1 e 2
1. Solução 1
1.1. Itens necessários (todos com conteúdo estéril)

Substância e apresentação	Quantidade e diluição
Gentamicina - Ampola 80mg/2ml	Diluir, com água destilada, 1 ampola de 2ml para 10ml
Penicilina benzatina - Ampola 1.200.000U/4ml	Diluir, com água destilada, 1 frasco para 20ml
Ciprofloxacino - Bolsa 200mg/100ml	1 bolsa, protegida da luz
Anfotericina B - Ampola 50 mg	Diluir, com água destilada, 02 ampolas para 20 mL, protegido da luz
Água destilada - Ampola 10ml	5 ampolas
Ringer lactato - Bolsa 1000ml	1 bolsa de 1 litro (serão utilizados 850ml)

1.2. Concentrações finais

Gentamicina 80 μ g/ml
 Penicilina benzatina 1200U/ml
 Ciprofloxacino 200 μ g/ml
 Anfotericina B 100 μ g/ml

1.3. Volume final

- 1 litro

1.4. Preparo

Misturar 10 ml da solução de Gentamicina, 20 ml da solução de Penicilina benzatina, 01 bolsa de 100 ml de Ciprofloxacino e 20 ml da solução de Anfotericina B com 850 ml de Ringer Lactato (para completar 01 litro de volume final de solução).

2. Solução 2
2.1. Itens necessários (todos com conteúdo estéril)

Substância e apresentação	Quantidade e diluição
Gentamicina - Ampola 80mg/2ml	Diluir, com água destilada, 1 ampola de 2ml para 10ml – serão utilizados 5ml
Penicilina benzatina - Ampola 1.200.000U/4ml	Diluir, com água destilada, 1 frasco para 20ml – serão utilizados 10ml
Ciprofloxacino - Bolsa 200mg/100 ml	1 bolsa de 100ml, protegida da luz – serão utilizados 50ml
Anfotericina B - Ampola 50 mg	Diluir, com água destilada, 02 ampolas para 20mL, protegido da luz
Água destilada - Ampola 10ml	8 ampolas
Glicerina P.A. - Frasco 1000ml	2 frascos de 1 litro (serão utilizados 925 ml de cada frasco)

2.2. Concentrações finais

Gentamicina 40 μ g/ml
 Penicilina benzatina 600U/ml
 Ciprofloxacino 100 μ g/ml
 Anfotericina B 50 μ g/ml

2.3. Volume final

- 1 litro

2.4. Preparo

- Misturar bem 5ml da solução com Gentamicina, 10ml da solução com Penicilina benzatina, 50ml de Ciprofloxacino e 10ml da solução com Anfotericina B com 925ml de Glicerina PA (para completar 1 litro de volume final de solução). Repetir o preparo para produzir 2 litros da solução 2.

3. Notas técnicas

3.1. As soluções 1 e 2 foram baseadas nos antimicrobianos já aplicados em outros processos de conservação (4), tendo sido realizadas alterações na escolha das medicações respeitando o espectro de ação e disponibilidade das medicações.

3.2. Concentrações e respectivos antimicrobianos utilizados nas referências adquiridas: 50 μ g/ml de penicilina, 50 μ g/ml de estreptomicina, 100 μ g/ml de neomicina e 2,5 μ g/ml de anfotericina B. (4)

INFORMAÇÃO DOS AUTORES



» **Daniel Caiado Fraga Lavagnoli**
<https://orcid.org/0000-0002-2783-3753>
<http://lattes.cnpq.br/7138201543100306>



» **Patrícia Grativol Costa Saraiva**
<https://orcid.org/0000-0002-1083-9980>
<http://lattes.cnpq.br/89444400266170157>



» **Kássio Assis**
<https://orcid.org/0000-0002-0226-1816>
<http://lattes.cnpq.br/9733413369910165>



» **Fábio Petersen Saraiva**
<https://orcid.org/0000-0002-1196-8872>
<http://lattes.cnpq.br/4779368875052793>



» **Luiz Guilherme Marchesi Mello**
<https://orcid.org/0000-0001-8347-2393>
<http://lattes.cnpq.br/0620671396588526>