

Chemdye® PRO1 MICRO

Sistema de monitoramento de higiene

Protocolo de implementação para verificação de limpeza

Monitoramento absoluto de proteínas
*Uma abordagem de melhoria de
processos para Central de Materiais
Esterilizados*

1. Introdução

A transição na Central de Materiais Esterilizados (CMEs) de um paradigma baseado na suposição de limpeza para um modelo baseado em evidências documentadas representa uma evolução crítica na segurança do paciente, uma vez que se reconhece cada vez mais que as falhas de esterilização têm origem não no esterilizador, mas na etapa de lavagem. Embora frequentemente utilizados de forma intercambiável na prática clínica, limpeza e desinfecção são processos sequenciais, porém biologicamente distintos; a limpeza é uma ação física projetada para remover matéria orgânica e inorgânica, enquanto a desinfecção é uma ação bioquímica destinada à inativação de microrganismos. O sucesso da desinfecção depende totalmente da eficácia da limpeza, já que resíduos orgânicos retidos fornecem nichos protetores para bactérias, nutrientes para crescimento microbiano e neutralizam a atividade antimicrobiana dos agentes químicos. Isso é particularmente crítico no manejo de biofilmes — comunidades biológicas envoltas em uma matriz extracelular que podem ser até 1.000 vezes mais resistentes aos desinfetantes do que células planctônicas — representando uma das ameaças mais significativas ao reprocessamento eficaz.

A justificativa científica para utilizar proteína como principal marcador para verificação de limpeza, em vez de Adenosina Trifosfato (ATP), está em sua estabilidade estrutural e relevância clínica. O ATP é uma molécula lábil e instável que sofre autodegradação e indica apenas a presença de células vivas; conseqüentemente, não representa um desafio significativo para o processo de limpeza. Em contraste, as proteínas são os principais constituintes de todas as células e tecidos, caracterizadas por alta aderência ao aço inoxidável e extrema complexidade, tornando-se os resíduos mais difíceis de remover. Além disso, o teste de proteínas é o único método direto capaz de avaliar o risco de príons — proteínas patogênicas mal dobradas que não contêm DNA nem ATP e apresentam extrema resistência ao calor, vapor e desinfetantes químicos convencionais.

À medida que os dispositivos médicos se tornam cada vez mais complexos, a inspeção visual passou a ser uma ferramenta necessária, porém insuficiente, para garantir segurança. Esses métodos não conseguem detectar contaminação em nível molecular nem biofilmes em estágio inicial que podem levar a surtos de microrganismos multirresistentes.

Normativas regulatórias globais, incluindo HTM 01-01:2016, ISO 15883:2021, ANSI/AAMI ST98:2022

e ANSI/AAMI ST91:2021, abordaram essa lacuna na garantia da qualidade ao exigir ou recomendar comprovação objetiva da limpeza por meio de ensaios quantitativos de proteínas, estabelecendo limites críticos de ação. Ao integrar a verificação quantitativa rotineira à prática padrão da unidade por meio de análise de lacunas, frequência padronizada e rastreabilidade contínua, as CMEs podem transformar a simples verificação de limpeza em uma estratégia abrangente de gerenciamento de riscos, garantindo que cada dispositivo esteja quimicamente e biologicamente seguro para uso em pacientes.

Este protocolo descreve a implementação do monitoramento absoluto de proteínas utilizando o Sistema de Monitoramento de Higiene Terragene® Chemdye® PRO1 MICRO. Os resultados são expressos em microgramas (μg) de proteína residual total recuperada de uma face completa do instrumento. Essa abordagem permite que as CMEs estabeleçam uma linha de base de medição, detectem falhas de processo e promovam a redução progressiva da carga proteica ao longo do tempo por meio de ações corretivas direcionadas.

2. Escopo e aplicabilidade

Este protocolo aplica-se a qualquer instituição de saúde que opere uma CME e processe instrumentos cirúrgicos e médicos rígidos reutilizáveis. Destina-se a:

- Unidades hospitalares de processamento estéril (DPE, CME, TSSU, UPSS)
- Clínicas odontológicas com fluxos de reprocessamento de instrumentos
- Distribuidores e especialistas de produto que apoiam a implementação junto aos usuários finais

NOTA: O sistema PRO1 MICRO fornece resultados qualitativos (cor) e quantitativos de proteínas. A leitura quantitativa requer um autoleitor/incubadora Bionova® (MiniPro, IC10/20FR ou IC10/20FRLCD). A interpretação visual semiquantitativa é possível utilizando a incubadora IC10/20 sem autoleitor.

3. O Sistema PRO1 MICRO

O Terragene® Chemdye® PRO1 MICRO baseia-se no microensaio BCA (Ácido Bicinchonínico), um método colorimétrico que detecta a redução de Cu(II) para Cu(I), mediada pelas ligações peptídicas das proteínas sob condições alcalinas a 60 °C. A coloração púrpura resultante é proporcional à

concentração de proteínas e é lida automaticamente pelos autoleitores Bionova® ou interpretada visualmente em comparação com um guia de cores

de referência. O sistema é calibrado contra Albumina de Soro Bovino (BSA), proteína de referência recomendada pela HTM 01-01 e ISO 15883-5.

Parâmetro	Valor	Referência
Limite de Detecção (LOD)	0.5 µg BSA	Relatório Técnico Rev. 7
Limite de Quantificação (LOQ)	1.0 µg BSA	Relatório Técnico Rev. 7
Faixa de quantificação	1.0 - 50.0 µg BSA	IFU Rev. 15
Temperatura de incubação	60 ± 2 °C	IFU Rev. 15
Tempo de leitura (MiniPro)	4 minutos	IFU Rev. 15
Tempo de leitura (IC10/20FR / IC10/20FRLCD)	7 minutos	IFU Rev. 15
Recuperação do swab (proteína fresca)	>85% em aço inoxidável	Relatório Técnico Rev. 7

3.1 Contexto regulatório

A HTM 01-01:2016, publicada pelo Departamento de Saúde do Reino Unido, estabelece que a proteína residual em qualquer face de instrumento após a limpeza não deve exceder 5 µg. Os resultados são medidos diretamente da superfície do instrumento por face, sem normalização pela área superficial. A diretriz também recomenda que as instituições monitorem o desempenho da limpeza ao longo do tempo utilizando gráficos de controle estatístico (framework IQAS: Individual Value Chart, Moving Range Chart, X-bar e R Charts), permitindo a detecção de desvios de processo e tendências de desempenho de longo prazo.

A ISO 15883-5:2021 estabelece a medição de proteínas por unidade de área superficial (µg/cm²) para validação de lavadoras desinfectoras, com um nível de Alerta ≥3 µg/cm² e um nível de Ação ≥6,4 µg/cm². Este protocolo aplica a lógica de medição por face da HTM 01-01 para apoiar programas de melhoria de processo em instituições que ainda não utilizam normalização por área superficial.

4. Seleção de instrumentos

A seleção de instrumentos é a decisão mais crítica em qualquer programa de verificação de limpeza. Os instrumentos monitorados devem representar o maior desafio ao processo de limpeza. Selecionar instrumentos fáceis de limpar produz resultados aparentemente aceitáveis, mas não fornece garantia real para os instrumentos que mais importam.

Os instrumentos devem ser selecionados com base nos seguintes critérios:

1. Complexidade estrutural: instrumentos com articulações, box locks, cremalheiras, mandíbulas serrilhadas ou fendas profundas têm prioridade máxima. Essas áreas consistentemente apresentam as maiores cargas de proteína residual após a limpeza.
2. Uso de alto risco: instrumentos que entram em contato com sangue ou são utilizados em procedimentos com alta exposição proteica, como cirurgias ortopédicas ou cardiovasculares.
3. Itens reconhecidamente problemáticos: instrumentos associados a incidentes prévios de reprocessamento, sujeira visível após a limpeza ou eventos de reclamação.
4. Representação por categoria: incluir pelo menos um item de cada grande grupo de instrumentos rígidos processados na CME.

JUSTIFICATIVA: Testar superfícies simples e planas produz resultados aparentemente aceitáveis, mas que não refletem a carga proteica real dos instrumentos que realmente importam. O objetivo é caracterizar e controlar o pior cenário. Se os instrumentos mais desafiadores forem aprovados, os instrumentos mais simples também serão.

5. Seleção da face do instrumento e consistência da amostragem

Cada face do instrumento apresenta uma geometria diferente e um nível distinto de desafio

ao processo de limpeza. Para este programa de monitoramento, uma face de cada instrumento selecionado é designada como face de referência para todos os eventos de amostragem. Essa face é selecionada uma única vez, documentada antes do início do programa e amostrada consistentemente em todos os testes subsequentes.

A face de referência deve ser aquela que apresenta as

características de maior risco: a face que expõe o box lock e a articulação, o mecanismo de cremalheira, as serrilhas das mandíbulas ou a geometria complexa da área de trabalho. A coleta com swab deve cobrir toda a superfície acessível dessa face, incluindo fendas e articulações, aplicando pressão firme durante todo o procedimento. A tabela a seguir fornece orientações sobre a seleção da face de acordo com o tipo de instrumento.

Tipo de instrumento	Face de referência para coleta com swab
Tesouras, pinças, porta-agulhas	A face que expõe o box lock e a articulação — realizar o swab em toda a face interna, aplicando pressão firme na fenda da articulação e girando o swab para acessar o mecanismo da articulação
Pinças hemostáticas, instrumentos com cremalheira	A face que apresenta os dentes da cremalheira e as serrilhas das mandíbulas — realizar o swab em todo o comprimento da mandíbula e em todo o mecanismo da cremalheira
Retratores e instrumentos amplos	A face côncava ou interna da lâmina — realizar o swab em toda a superfície acessível dessa face
Instrumentos odontológicos	A face da extremidade de trabalho com serrilhas ou geometria complexa — realizar o swab em todas as superfícies acessíveis dessa face

IMPORTANTE: Documente qual face foi selecionada para cada instrumento antes do início do programa. Fotografe-a ou forneça uma descrição escrita que qualquer operador possa reproduzir de forma independente. A seleção consistente da mesma face entre todos os operadores e em todos os eventos de teste é a base da comparabilidade dos resultados neste programa.

6. Procedimento de coleta com swab

6.1 Materiais

- Caneta de proteína Terragene® Chemdye® PRO1 MICRO (uma por instrumento)
- Autoleitor/incubadora Bionova® (MiniPro, IC10/20FR ou IC10/20FRLCD) para resultados quantitativos
- Incubadora Bionova® IC10/20 para interpretação visual semiquantitativa
- Luvas descartáveis e máscara cirúrgica
- Registro de monitoramento ou plataforma Bionova® Cloud

6.2 Condições pré-amostragem

- Permita que a caneta PRO1 MICRO se estabilize à temperatura ambiente (15–25 °C) antes do uso. Canetas frias produzem resultados subestimados.
- Realize a coleta imediatamente após o ciclo de limpeza, antes de qualquer etapa de secagem, embalagem ou esterilização.
- Não permita que os instrumentos sequem antes da coleta. Tempos prolongados de secagem reduzem significativamente a recuperação de proteínas pelo swab. Se uma retenção temporária

for inevitável, mantenha os instrumentos úmidos.

- Utilize luvas. Não toque na ponta do swab nem no interior do dispositivo.

6.3 Procedimento passo a passo

1. Retire a caneta PRO1 MICRO da embalagem.
2. Retire o swab do dispositivo. Aplique 2 gotas do umidificante fornecido na ponta do swab.
3. Realize o swab em toda a face de referência do instrumento: mova em padrão zigue-zague em uma direção e depois repita perpendicularmente. Aplique pressão firme e gire o swab continuamente para maximizar a recuperação da amostra, prestando atenção especial a fendas, articulações e áreas serrilhadas.
4. Recoloque o swab no dispositivo.
5. Ative pressionando firmemente a caneta para baixo.
6. Agite vigorosamente para baixo até que a solução fique verde e alcance a marca de volume de referência.
7. Agite vigorosamente para baixo por 15 segundos com o swab submerso.
8. Deslize o swab para cima sem removê-lo do dispositivo.
9. Agite vigorosamente para baixo novamente e colete solução até a marca de volume de referência.
10. Confirme que a ponta do swab esteja posicionada acima do cone de leitura.

11. Incube imediatamente na incubadora Bionova® a 60 ± 2 °C.

CRÍTICO: Incube imediatamente após a ativação; não atrase o processo. Se estiver utilizando leitura visual (semiquantitativa), interprete o resultado dentro de 5 minutos após remover a caneta da incubadora. Resultados lidos após esse período são inválidos.

7. Interpretação dos resultados

O autoleitor reporta um resultado em µg de proteína equivalente a BSA recuperada da face do instrumento. A HTM 01-01 estabelece um limite de 5 µg por face do instrumento como nível máximo aceitável de proteína residual. A tabela abaixo fornece uma estrutura completa de interpretação, desde o limite de quantificação até contaminação grosseira, alinhada a essa referência.

Resultado do autoleitor	Classificação	Orientação
< 1 µg	Excelente	Abaixo do limite de quantificação. Proteína não detectável no limite de sensibilidade do método. Processo operando em seu melhor desempenho.
1 -5 µg	Aceitável — limite HTM 01-01 atendido	Dentro do limite HTM 01-01 de 5 µg por face. Continue o monitoramento rotineiro e acompanhe tendências de aumento.
5 -10 µg	Elevado — investigar	Excede o limite HTM 01-01. Revisar técnica de coleta com swab, condição do instrumento e parâmetros do ciclo da lavadora desinfectora. Reprocessar e repetir o teste após ação corretiva.
> 10 µg	Alto — agir	Contaminação significativa. Não prosseguir para esterilização. Investigação completa e ação corretiva necessárias antes do reprocessamento.
> 50 µg (reportado como >50)	Contaminação grosseira	O instrumento falhou na limpeza. Não esterilizar. Realizar limpeza manual completa. Investigar o ciclo da lavadora desinfectora.

NOTA: A HTM 01-01 estabelece 5 µg por face de instrumento como limite de ação. O valor do programa está em demonstrar uma redução mensurável e sustentada da linha de base em direção e abaixo desse limite ao longo de ciclos sucessivos de monitoramento.

8. Frequência de monitoramento

A HTM 01-01 recomenda um mínimo de 50 testes por trimestre para monitoramento rotineiro. A

frequência dos testes também deve ser adaptada à maturidade do programa e ao estado atual do processo de limpeza.

O seguinte cronograma em fases é recomendado:

Fase	Frequência	Objetivo
Linha de base — Semanas 1-2	Diário, todos os instrumentos selecionados	Gerar a primeira imagem objetiva do processo de limpeza. Estabelecer média e faixa por face de instrumento. Identificar os instrumentos com pior desempenho.
Melhoria — Semanas 3-8	2-3 vezes por semana, mesmos instrumentos	Acompanhar a resposta às ações corretivas. Confirmar que as intervenções produzem redução mensurável em relação à linha de base.
Rotina — Semana 9+	Semanal no mínimo (HTM 01-01 recomenda 50 testes/trimestre)	Acompanhar a resposta às ações corretivas. Confirmar que as intervenções produzem redução mensurável em relação à linha de base.
Após mudança ou manutenção da lavadora desinfectora	Imediatamente, painel completo de instrumentos	Revalidação após qualquer alteração de ciclo, troca de detergente, manutenção da lavadora desinfectora ou substituição de equipamento.

9. Roteiro de implementação

O roteiro a seguir descreve como construir um programa de verificação de limpeza desde o início utilizando este protocolo. As fases são sequenciais, mas os limites entre elas são flexíveis — a progressão para a próxima fase depende da obtenção de resultados estáveis e consistentes na fase atual, e não apenas do tempo de calendário.

Fase	Atividades	Resultado esperado
Linha de base — Semanas 1-2	Coleta diária de todos os instrumentos selecionados em sua face de referência. Registrar todos os valores em µg. Calcular média e faixa por instrumento. Identificar quais instrumentos e faces apresentam maior carga proteica.	Primeira caracterização objetiva do processo de limpeza. Identificação dos instrumentos de pior cenário e definição de níveis internos de alerta e ação.
Análise — Semanas 3-4	Identificar os instrumentos e faces com resultados acima do limite HTM 01-01 (5 µg). Investigar causas prováveis utilizando o framework de ações corretivas da Seção 10.	Causas raiz identificadas para resultados elevados. Ações corretivas selecionadas e documentadas.
Intervenção — Semanas 5-8	Implementar ações corretivas direcionadas. Continuar a coleta 2-3 vezes por semana nos mesmos instrumentos. Comparar todos os novos resultados com os valores da linha de base.	Redução mensurável e documentada dos níveis de proteína em relação à linha de base. Efetividade das ações corretivas confirmada.
Rotina — Semana 9+	Coleta semanal no mínimo. Revisar mensalmente os dados de tendência. Utilizar os gráficos de controle do Bionova® Cloud para monitorar estabilidade. Acionar investigação para qualquer resultado acima do limite HTM 01-01.	Controle sustentado do processo. Dados de tendência documentados. Evidência de monitoramento pronta para auditorias regulatórias.

OBJETIVO: O objetivo deste programa de monitoramento é promover uma redução progressiva e documentada da proteína residual por face do instrumento em direção e abaixo do limite de 5 µg estabelecido pela HTM 01-01. Qualquer redução sustentada em relação à linha de base constitui uma melhoria documentada da qualidade, mesmo antes que o limite seja atingido. Os dados gerados constituem evidência de que o processo de limpeza está sob medição, revisão e controle ativos.

10. Orientação para ações corretivas

O framework a seguir deve ser aplicado sempre que um resultado exceder 5 µg por face do instrumento (limite HTM 01-01), ou sempre que uma tendência consistente de aumento for detectada nos gráficos de controle, mesmo que os valores individuais permaneçam abaixo do limite.

Possível causa	Investigação	Ação corretiva
Ação mecânica insuficiente	Revisar parâmetros do ciclo da lavadora desinfectora: temperatura, tempo, pressão da água, funcionamento e cobertura dos braços aspersores	Ajustar o ciclo. Adicionar etapa de pré-limpeza manual para instrumentos complexos
Detergente inadequado	Verificar calibração da bomba dosadora e compatibilidade do detergente com o tipo de sujidade e material do instrumento	Recalibrar a dosagem. Considerar pré-tratamento enzimático para instrumentos muito sujos
Proteína seca antes da limpeza	Revisar o intervalo de tempo entre o uso do instrumento e o carregamento na lavadora desinfectora	Estabelecer tempo máximo de espera (<30 min). Manter os instrumentos úmidos até o início da limpeza
Erro na técnica de coleta com swab	Observar o operador executando o procedimento. Verificar cobertura total da face e aplicação do umidificante	Retreinar o operador. Repetir o teste utilizando técnica padronizada no mesmo instrumento

Possível causa	Investigação	Ação corretiva
Danos na superfície do instrumento	Inspecionar a superfície sob ampliação: corrosão, pitting, serrilhas danificadas	Retirar de uso. Reparar ou substituir o instrumento
Mau funcionamento da lavadora desinfectora	Verificar registro de manutenção da lavadora, estado dos filtros, integridade dos braços aspersores e documentação do ciclo	Realizar manutenção da lavadora. Executar requalificação completa QI, QO, QD antes de retornar ao uso rotineiro

11. Documentação e controle estatístico

Todas as atividades de verificação de limpeza devem ser documentadas.

Os registros constituem evidência regulatória, apoiam análises de tendência e são exigidos durante inspeções e auditorias.

11.1 Requisitos mínimos de registro por evento de teste

- Data e hora da coleta
- Identificação do instrumento (tipo, código, número do conjunto ou ID único)
- Face de referência coletada (e referência à documentação da área ou fotografia)
- Resultado do autoleitor (μg)
- Classificação (Aceitável / Elevado / Alto)
- Ação corretiva realizada, quando aplicável
- Nome do operador

11.2 Gráficos de controle estatístico

A HTM 01-01 recomenda monitorar o desempenho da limpeza ao longo do tempo utilizando o framework IQAS.

A plataforma Bionova® Cloud gera automaticamente os seguintes gráficos de

controle a partir dos resultados armazenados:

- Individual Value Chart (X Chart): plota cada resultado individualmente para detectar desvios e valores fora de padrão
- Moving Range Chart (MR Chart): monitora a variabilidade do processo entre resultados sucessivos
- X-bar e R Charts: utilizados quando múltiplos instrumentos do mesmo tipo são amostrados por evento

Os gráficos de controle devem ser revisados no mínimo mensalmente, e os resultados devem ser apresentados nas revisões de gestão da qualidade da CME. Um deslocamento acima do limite de controle ou uma tendência consistente de aumento em resultados consecutivos é um sinal para investigação, mesmo que os valores individuais permaneçam abaixo do limite de $5 \mu\text{g}$.

DICA: Assim que o programa gerar pelo menos 20–25 pontos de dados por instrumento, defina níveis internos de alerta e ação a partir dos dados da linha de base (por exemplo, o percentil 75 e o percentil 95 dos valores da linha de base). Esses limites definidos pela própria instituição permitem detectar desvios do processo mais cedo do que utilizando apenas o limite da HTM 01-01.

12. Primeiros passos — Checklist de implementação

Etapa	Ação	Responsável
1	Selecionar 3–5 instrumentos mais desafiadores de cada categoria principal da CME.	Supervisor da CME
2	Definir e fotografar a face de referência de cada instrumento. Armazenar a documentação no registro de monitoramento	Supervisor da CME
3	Configurar a incubadora Bionova®. Confirmar temperatura operacional de $60 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$	Técnico da CME
4	Treinar todos os operadores no procedimento de coleta com swab (Seção 6). Enfatizar cobertura completa da face e seleção consistente da área	Especialista de Produto
5	Iniciar coleta diária da linha de base — mínimo de 2 semanas	Operadores da CME

Etapa	Ação	Responsável
6	Calcular média e faixa por face do instrumento. Identificar instrumentos acima de 5 µg	Supervisor da CME
7	Definir níveis internos de alerta e ação a partir dos dados da linha de base. Documentar no POP	Qualidade / Supervisor
8	Implementar ações corretivas para instrumentos com resultados elevados (Seção 10)	Supervisor da CME
9	Continuar a coleta 2-3x por semana. Confirmar redução mensurável em relação à linha de base	Operadores da CME
10	Migrar para monitoramento rotineiro semanal. Gerar gráficos de controle no Bionova® Cloud	Supervisor da CME
11	Revisar tendências e gráficos de controle mensalmente nas reuniões de qualidade	Gerente da Qualidade

Referências

- Health Technical Memorandum HTM 01-01 (2016). Management and decontamination of surgical instruments (medical devices) used in acute care. Department of Health, London, UK.
- ISO 15883-5:2021. Washer-disinfectors – Performance requirements and test method criteria for demonstrating cleaning efficacy.
- ISO 15883-1:2006. Washer-disinfectors – Part 1: General requirements, terms and definitions and tests.
- ANSI/AAMI ST98:2022. Decontamination and reprocessing of medical devices in health care settings.
- APSIC Guidelines for Decontamination and Reprocessing of Medical Devices. Asia Pacific Society of Infection Control.
- Terragene® Chemdye® PRO1 MICRO – Instructions for Use, Rev. 15 (03.2024).
- Terragene® Chemdye® PRO1 MICRO – Technical Report: Characterization and Validation of the BCA Protein Quantification, Rev. 07 (01.2022).
- Smith, P.K., et al. (1985). Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal Biochem* 150:76-85.
- Secker, T.J. et al. (2011). Adsorption of prion and tissue proteins to surgical stainless steel surfaces. *J Hosp Infect* 78, 251-255.