

院感监测那些事儿

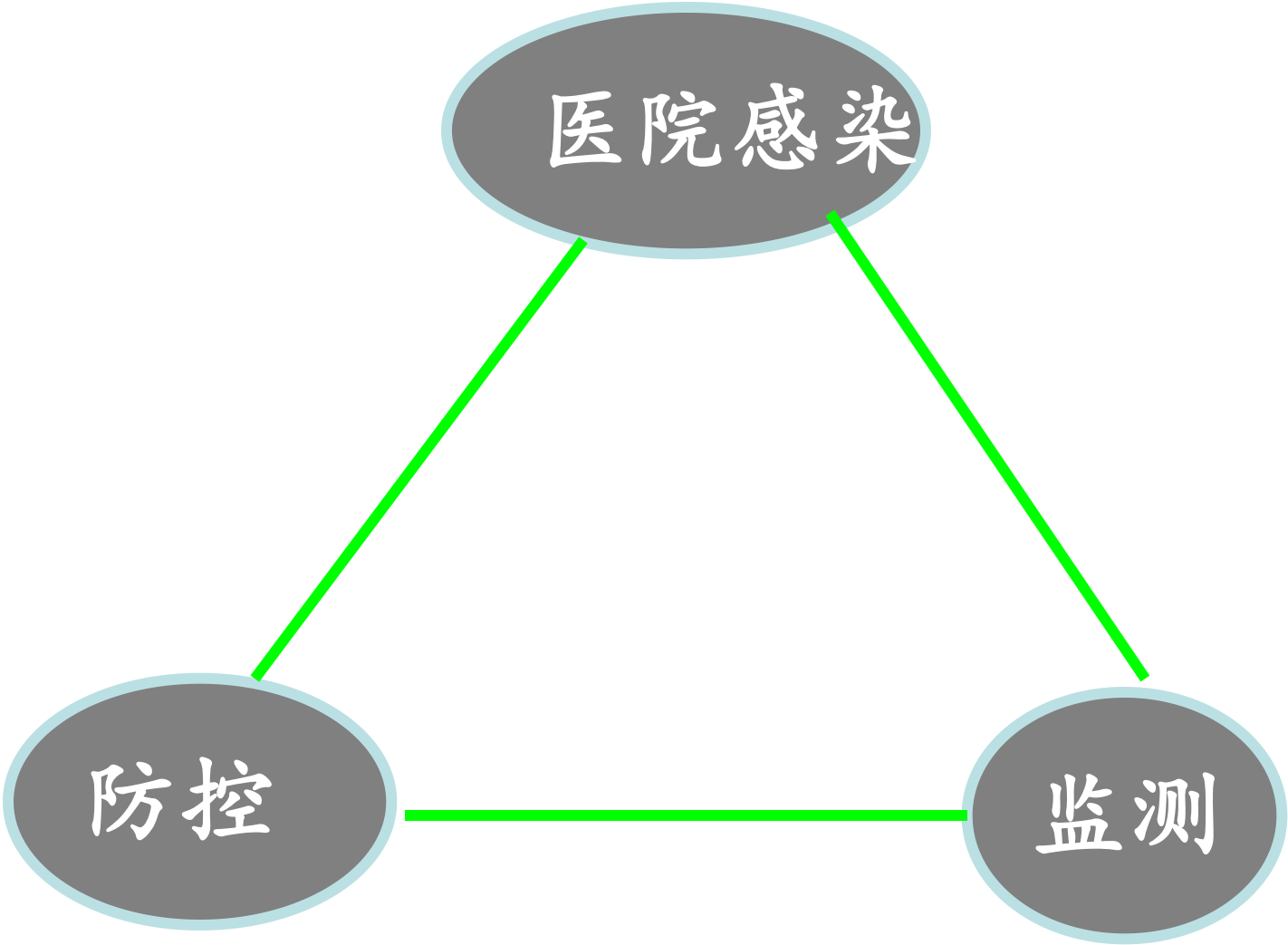
山东省立医院 临床医学检验部

白媛媛

淄博 20190623

医院感染

- 医院感染是全球医疗机构面临的难题
- 美国每年发生医院感染患者达**200万例**，**6万-9万**患者死于医院感染，经济负担**达数十亿美元**
- 在我国医院感染发病率为**6%-8%**，因感染引起的额外医疗费用仅抗生素应用及住院时间延长，**每例数万元**
- 每年有大量病人患医院获得性肺炎，血流感染，手术部位感染，尤其是**MDR**感染



院感监测相关行标

ICS 11.020
C 06

中华人民共和国

医疗机构环境表面清洁

Regulation for clear

2016-12-27 发布

中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会

ICS 11.020
C 05

中华人民共和国

医疗机构环境表面清洁

Regulation

2012-04-05 发布

ICS 11.020
C 05

中华人民共和国

医院消毒卫生标准

Hygienic standard for

2009-04-01 发布

2012-06-29 发布

中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会

中国国家标准

ICS 11.040.40
C 45

YY

中华人民共和国医药行业标准

YY 0572—2015
代替 YY 0572—2003

血液透析及相关治疗用水

Water for haemodialysis and related therapies

(ISO 13959, 2009, MOD)

2015-03-02 发布

2017-01-01 实施

国家食品药品监督管理总局 发布

医院感染监测要求

- 新建医院或未开展过医院感染监测的医院应**先开展全面综合性监测**。监测的时间应不少于2年。监测频率每月一次，连续监测一年后每季度一次
- 已经开展2年以上全面综合性监测的医院应开展**目标性监测**。目标性监测持续时间应连续6个月以上。
- 医院感染患病率调查每年至少开展一次。

全面性监测

目标性监测

VS

目标性监测优/缺点

优点

- ❧ 将有限的资源集中在高感染危险病区
- ❧ 重点放在有已知控制措施的感染上
- ❧ 灵活性，能够和其他控制策略结合起来
- ❧ 增加监测的有效性

缺点

- ❧ 仅能收集监测目标病人或危险的数据
- ❧ 漏掉未监测病区或病人的感染集聚或暴发

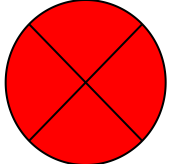
主要内容

01 环境卫生学监测

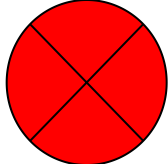
02 血液透析用水监测

03 院感监测报告





传播源



传播途径



易感人群

接触传播

空气传播

飞沫传播



环境卫生学监测的意义

- 清洁与消毒质量考核；
- 怀疑医院相关性感染（HAIs）来源与污染的环境有关；
- 环境感染控制的干预研究中的微生物考核指标；
- 现场评价清洁与消毒效果中的微生物指标；
- 其他研究目的，如环境表面采样方法与工具对微生物检出率的比对实验等。



空气消毒效果监测



手卫生消毒效果监测



物体和环境表面消毒效果监测



使用中消毒液监测

环境分级

- **I类环境**：为采用空气洁净技术的诊疗场所，分洁净手术部和其他洁净场所（布皿30min）
- **II类环境**：为非洁净手术部；产房；导管室；血液病病区、烧伤病区等保护性隔离病区；重症监护病区；新生儿室等（布皿15min）
- **III类环境**：为母婴同室；消毒供应中心的检查包装灭菌区和无菌物品存放区；血液透析中心室）；其他普通住院病区（布皿5min）
- **IV类环境**：为普通门（急）诊及其检查、治疗（注射、换药等）室；感染性疾病科门诊和病区。（布皿5min）

表 1 各类环境空气、物体表面菌落总数卫生标准

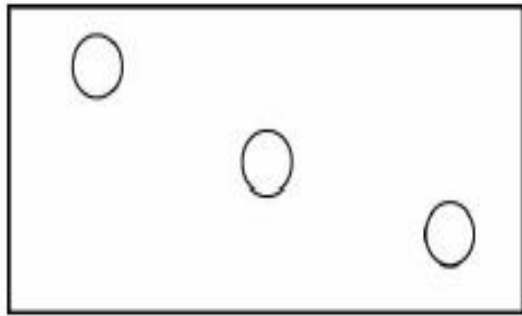
环境类别		空气平均菌落数 ^a		物体表面平均菌落数 CFU/cm ²
		CFU/皿	CFU/m ³	
I 类环境	洁净手术部	符合 GB 50333 要求	≤150	≤5.0
	其他洁净场所	≤4.0(30 min) ^b		
II 类环境		≤4.0(15 min)	—	≤5.0
III 类环境		≤4.0(5 min)	—	≤10.0
IV 类环境		≤4.0(5 min)	—	≤10.0

^a CFU/皿为平板暴露法,CFU/m³为空气采样器法。
^b 平板暴露法检测时的平板暴露时间。

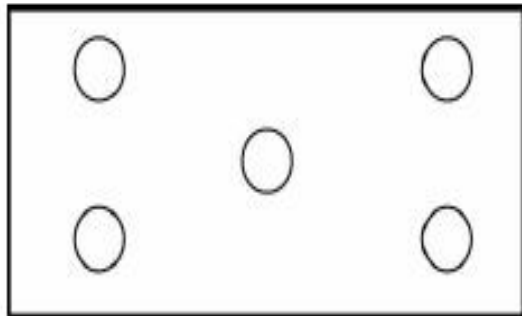
	采样时间	检测方法	结果计算
I 类	洁净系统自净后； 从事医疗活动前	平板暴露法 空气采样器法 GB50333	CFU/(皿·暴露时间)
II, III, IV	在消毒或规定的通风换气后； 从事医疗活动前	平板暴露法	

非洁净区域空气采样

布点方法:

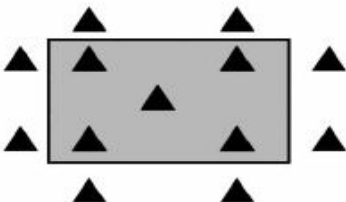
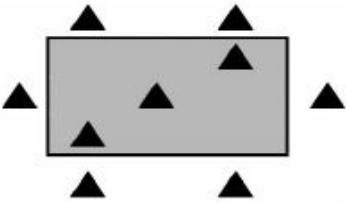
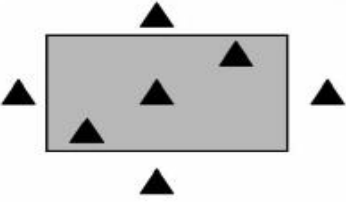


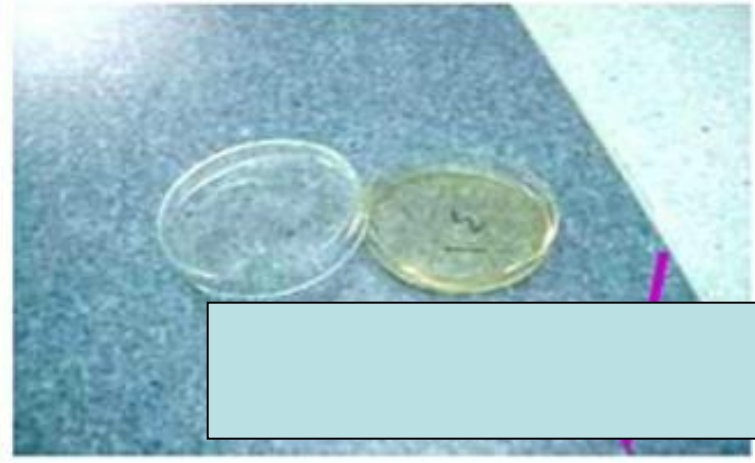
室内面积 $\leq 30\text{m}^2$ 布点图



室内面积 $> 30\text{m}^2$ 布点图

洁净手术室布皿

等级	空气洁净度级别		布点要求	细菌最大平均浓度 (个/ Φ 90皿·0.5h)	
	手术区	周边区		手术区	周边区
I	100级	1000级		0.2	0.4
II	1000级	10000级		0.75	1.5
III	10000级	100000级		2	4



采样注意事项

- 采样前首先做好个人准备和物品准备
- 采样前注意检查棉签、注射器等无菌物品是否在有效期内，包装有无破损、漏气等情况。
- 采样过程中，避免污染样品，规范操作。选取的样品要具有一定的代表性。
- 根据采样目的选择合适的采样时机。
- 采样前关好门窗，在无人走动情况下静止10min
- 采样时棉拭子要处于湿润状态，禁止使用干棉拭子采样。
- 采样后样品及时送检（4h内）

2

手卫生消毒效果监测

《医务人员手卫生规范》

- 2个方式：洗手、手消毒
- 5个时刻：两前、三后
- 6个步骤：内、外、夹、弓、大、立



六步洗手法



手卫生监测

手卫生采样方法

```
graph TD; A[手卫生采样方法] --- B[直接压印法]; A --- C[洗脱法]; A --- D[棉拭子涂抹法]
```

直接压印法

洗脱法

棉拭子涂抹法

棉拭子涂抹法

A. 4.2 采样方法

将浸有无菌 0.03 mol/L 磷酸盐缓冲液或生理盐水采样液的棉拭子一支在双手指曲面从指跟到指端来回涂擦各两次(一只手涂擦面积约 30 cm²),并随之转动采样棉拭子,剪去手接触部位,将棉拭子放入装有 10 mL 采样液的试管内送检。采样面积按平方厘米(cm²)计算。若采样时手上有消毒剂残留,采样液应含相应中和剂。

A. 4.3 检测方法

把采样管充分振荡后,取不同稀释倍数的洗脱液 1.0 mL 接种平皿,将冷至养琼脂培养基每皿倾注 15 mL~20 mL,36 °C ± 1 °C 恒温箱培养 48 h,计数菌落微生物。

A. 4.4 结果计算[如式(A. 3)]

$$\text{医务人员手菌落总数(CFU/m}^2\text{)} = \frac{\text{平均每皿菌落数} \times \text{采样液稀释倍数}}{30 \times 2}$$



医务人员的手易受暂居菌污染

培养皿显示：



每进行一次操作，可能增加100,000个细菌

~~依从性~~

全国院感质控调研报告

- 覆盖全国31个省级、地方共128所医疗机构
- 手卫生
 - 手卫生总时机数750次，执行手卫生386次，依从率51.5%
 - 洗手操作597次，正确次数380次，手卫生正确率63.7%

• 论 著 •

医务人员接触患者前手卫生执行情况 及其相关影响因素分析

韩 黎¹, 张高魁², 朱士俊², 郭燕红³, 李六亿⁴, 武迎宏⁵, 胡必杰⁶,
袁云娥², 魏 华², 索继江², 邢玉斌²

(1. 解放军疾病预防控制中心, 北京 100071; 2. 解放军总医院, 北京 100853; 3. 国家卫生部医政司, 北京 100044;
4. 北京大学第一医院, 北京 100034; 5. 北京大学人民医院, 北京 100044; 6. 上海复旦大学附属中山医院, 20003

摘要: 目的 探讨分析我国医务人员在接触患者前手卫生执行情况及相关影响因素。方法 采用现场观察的方法对北京、上海、广州 10 多所不同级别医院进行了手卫生行为的调查。结果 医务人员在接触患者前的手卫生执行率为 35%, 远低于接触患者后的手卫生执行率 56.5%; 接触患者前手卫生执行率以护士为最高, 占 39.3%; 从科室类别看, 妇产科最好而外科最差; 接触患者前进行手卫生清洁的医务人员, 在接触患者后手卫生执行率也较高, 且较多使用快速手消毒剂 (ABHR), 并且在医疗过程中正确使用手套的比率也较高, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 另外, 接触患者前手卫生执行率与病房内是否提供肥皂等洗手剂密切相关 ($P < 0.01$), 而与病房外其他洗手设施无关。结论 我国医务人员在接触患者前的手卫生意识相对薄弱, 这与人偏重自我防护忽视他人的意识有关, 除有针对性改善病房内洗手设施外, 加强培训、改变观念对促进手卫生执行水平的提高十分重要。

关键词: 医院感染; 管理; 手卫生

中图分类号: R181.3+1 文献标识码: A 文章编号: 1005-4529(2006)10-1135-03

表 1 不同职务、不同科室医务人员接触患者前、后手卫生执行率(%)

项 目	接触患者前		接触患者后		
	执行例数	执行率	执行例数	执行率	
不同职务	医生	65	34.5	219	61.0
	护士	84	39.3	231	53.8
	其他临床人员	15	26.8	42	48.2
	其他非临床人员	17	33.3	37	61.2
不同科室	内科	67	37.8	190	53.9
	外科	61	30.2	190	51.1
	妇产科	29	46.7	76	69.1
	儿科	26	37.1	73	76.8

表 2 接触患者前、后手卫生执行的相关性

接触患者前 手卫生	接触患者后手卫生		χ^2 值	P 值
	是	否		
是	126	19	17.5	0.01
否	185	113		

物体和环境表面消毒效果监测

- 范围：治疗台面、治疗车、门把手、内镜存放柜内壁、水龙头、听诊器、重要仪器设备表面、电筒、键盘等
- 方法：棉拭子涂抹法（棉签涂抹法）
- 材料：10ML的无菌生理盐水
- 采样：待物体表面消毒处理或消毒后4小时内采样，被采样面积 $\geq 100\text{cm}^2$ 时，用 $5\text{X}5\text{cm}^2$ 无菌规格板，放在被采样的物体表面上，无菌生理盐水采样液棉拭子1支，在规格板内往返涂抹5次，并随之转动棉签，连续采样1-4个规格板面积，采样后剪去接触工作人员手的部分，放入装盐水的采样液中，记录送检。被采样面积 $< 100\text{cm}^2$ 时或采样物体不规则时，棉签直接涂抹物体和取其全部表面



物体表面消毒合格标准

类别	范围	标准cfu/m ²	致病菌
I类	层流洁净手术室、层流病房	≤5	不得检出
II类	普通手术室、产房、婴儿室、早产儿室、隔离室、供应室无菌间、烧伤病房、重症监护室	≤5	不得检出
III类	儿科病房、妇产科检查室、注射室、换药室、治疗室、供应室清洁区、急诊室、化验室、各普通病房和房间	≤10	不得检出
IV	传染病房	≤15	不得检出

医疗器材卫生标准

监测种类	菌落总数	相关规范	备注
高度危险性	无菌	《医院消毒卫生标准》(GB15982-2012)	《医院消毒供应中心 第3部分:清洗消毒及灭菌效果监测标准》:消毒后直接使用的物品,每季度进行监测。
中度危险性	$\leq 20\text{CFU/件}$ (g或 100cm^2)		
低度危险性	$\leq 200\text{CFU/件}$ (g或 100cm^2)		
消毒后内镜	$\leq 20\text{cfu/件}$	《软式内镜清洗消毒技术规范》WS 507-2016	每季度应监测1次,监测方法应遵循WS/T 367的规定

使用中消毒剂标准

监测种类	菌落总数	相关规范
灭菌剂	0cfu/ml	《医院消毒卫生标准》 GB15982-2012 《病区医院感染管理规范》 WS/T510-2016
皮肤黏膜消毒液	≤10cfu/ml	
其他使用中消毒液	≤100cfu/ml	

环境卫生学监测方法

- 将送检平皿至 36 ± 1 度恒温培养箱48小时，计数菌落数，必要时分离致病性微生物
- 若怀疑与医院感染暴发有关时，应进行目标微生物监测

院感监测中致病菌的界定

- 没有规范明确规定致病菌的定义
- 金黄色葡萄球菌，溶血链球菌，铜绿假单胞菌，沙门菌群，大肠杆菌等
- 有感染聚集或疑似暴发时，监测目标菌

山东省立医院监测报告单				
No: 1634292559158191435				
项目: 消毒液染菌量监测			检测对象: 纯化水	
采样时间: 2019-05-23 11:42			监测结论: 不合格	
检测项目	结果	菌种鉴定	标准值	结果
菌落计数	稀布	鲍曼不动杆菌	0.0~100.0	cfu
菌落计数	0		0~100.0	cfu
菌落计数	1.0	嗜根考克氏菌	0.0~100.0	cfu

微生物检验在院感防控中的作用

规范标本送检，重视诊断鉴定技术，提高医院监测数据准确性

定期反馈病原菌及耐药监测资料，提高抗菌药物使用水平

监测环境微生物，更好的研究和控制外源性感染

主动介入基础与临床研究
利用科学控制感染

环境微生物与医院感染关系的争议

- 最早认为医院环境表面微生物污染与医院获得性感染关系不大。为此，美国从上个世纪七十年代中期开始，25%的医院逐渐减少环境微生物采样量或终止这项工作，最终大多数医院放弃环境表面的常规微生物学的监测
- CDC指南只推荐在暴发时开展环境监测
- 近十年来，尽管医院环境污染对于医院获得性感染的发生的因果关系仍存争议，但大量研究证据表明，HAIs的暴发流行与环境中病原微生物的存在，并长时间存活有关联。改善环境卫生质量可以减少院感的发生、终止院内感染的暴发流行。

Mallison GF, et al: *Am J Med* 1981;70:941–946.

Sehulster L, et al; *MMWR Recomm Rep* 2003;52:1–42.

Weber DJ, et al: *Am J Infect Control* 2010; 38(suppl):S25–S33.



常见病原体在无生命环境表面存活时间

病原体	存活时间	感染剂量
MRSA	7d~7m	4cfu
CD	>1y	7cfu
CR-AB	3d ~5m	250cfu
VRE	5d~4m	<10 ³ cfu

Kramer, BMC Infect Dis, 2006; Dancer SJ, LID 2008;
Chiang, Crit Care Med 2009; Dancer 2007, Hardy 2007

美国CDC对环境微生物引起院感的证据

- 细菌在污染物品中存活
- 从使用的污染物品中培养出细菌
- 污染物品表面或内部可有细菌生长
- 一些感染不能用其他传播途径解释
- 回顾性case-control研究显示暴露污染物品与感染相关
- 使用多种相似类型污染物品时可出现类似感染
- 前瞻性研究发现暴露与感染存在相关性及去除污染可消除疾病传播

Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee
(HICPAC) . Draft guideline for environmental infection control in
healthcare facilities. HICPAC, 2001, 1-198.

医院感染暴发流行的调查步骤

- 1、有资料提示医院感染暴发流行存在的可能
- 2、确立感染暴发的病例
- 3、证实流行的存在，除外假性暴发流行
- 4、绘制流行曲线，了解传染形式
- 5、文献复习
- 6、与部门负责人、微生物科主任、行政领导讨论
- 7、未发病者与感染病人、可疑传染源或媒介隔离
- 8、详细记录调查内容。复习感染病例记录，列出潜在的危险因素
- 9、制定临时控制措施
- 10、有关传染源和传播途径形成假设
- 11、采用病例对照研究或队列研究证明假设
- 12、微生物学上证明传染源和传播方式
- 13、更新控制措施。如果可能，改变政策和操作方法
- 14、继续监测，明确控制措施的有效性
- 15、向有关人员和医院感染管理委员会递交书面报告

ICS 11.020
005

WS

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T 524—2016

医院感染暴发控制指南

Guideline of control of healthcare associated infection outbreak



203 姜则山	12 呼吸机湿化罐	细菌
	13 护理台面	阴性
	15 呼吸机与气管切开接口	鲍氏不动杆菌
	20 空气过滤器接口	阴性
	23 病历夹	阴性
204 马玉敏	16 听诊器	阴性
	6 注射泵	阴性
218 杨锦文	1 桌子台面	阴性
209 钱兆玉	2 桌子台面	阴性
	3 护士手2	鲍氏不动杆菌 (多重耐药菌)
	5 护士手机	阴性
	14 浸泡抹布84消毒液	阴性
	11 护士手1	阴性
	17 大夫手1	阴性
	18 大夫手2	阴性
	21 护工手	阴性
	24 护士鼻拭子	阴性
	25 治疗台抹布	阴性
	26 转运车抹布	阴性
护士手2 (多重耐药菌)		
	AK	R
	CN	R
	TOB	R
	CIP	R
	LEV	R
	SXT	R
	TZP	R
	SAM	R
	SCF	R
	PRL	R
	MH	R
	IPM	R
	MEM	R
	FEP	R
	CAZ	R

分子分型技术在院感监测应用

从核酸分子水平上分析医院感染的发生，发展规律及机理，更加准确有效的进行医院感染管理控制，已成为当前国际医院感染管理研究中的重要方向

- 从患者分离株到病区周围环境株比较分析
- 从外源性感染到内源性感染
- 从某一病区、某一医院的暴发到大范围甚至世界范围的感染菌株的流行性分析

未开展分子分型技术怎么办？



同种同源

- 指易感人群同时或先后暴露于同一感染来源
- 同种医疗护理操作，使用相同批号的一次性物品，使用同一种消毒灭菌方法的物品，经同一医师或护士治疗的患者，同种微生物感染怀疑同一起来源等

为什么要进行透析用水的卫生学监测？

- 透析用水在生产、储存、运输和使用过程中，存在诸多污染环节
- 浓缩透析液是由透析用水与透析粉按比例混合而成
- 桶装浓缩透析液也必须与透析用水按一定的比例混合，才能进行血液透析治疗
- 透析用水的质量会影响透析液的质量，并进一步影响血液透析的质量
- 定期对透析用水开展细菌和内毒素监测，当监测结果达到干预值的时候，应该及时进行干预，防止酿成不良事件。

行业标准

I类环境	洁净手术部	符合 GB 50333 要求	≤150
	其他洁净场所	≤4.0(30 min) ^b	
II类环境		≤4.0(15 min)	—
III类环境		≤4.0(5 min)	—
IV类环境		≤4.0(5 min)	—

* CFU/皿为平板暴露法,CFU/m³为空气采样器法。
^b 平板暴露法检测时的平板暴露时间。

- 4.1.2 怀疑医院感染暴发或疑似暴发与医院环境有关时,应进行目标微生物检测。
- 4.2 医务人员手
- 4.2.1 卫生手消毒后医务人员手表面的菌落总数应≤10 CFU/cm²。
- 4.2.2 外科手消毒后医务人员手表面的菌落总数应≤5 CFU/cm²。
- 4.3 医疗器材
- 4.3.1 高度危险性医疗器材应无菌。
- 4.3.2 中度危险性医疗器材的菌落总数应≤20 CFU/件(CFU/g 或 CFU/100 cm²)，微生物。
- 4.3.3 低度危险性医疗器材的菌落总数应≤200 CFU/件(CFU/g 或 CFU/100 cm²)，微生物。
- 4.4 治疗用水
- 血液透析相关治疗用水应符合 YY 0572 要求;其他治疗用水应符合相应卫生标准
- 4.5 防护用品
- 医用防护口罩、外科口罩和一次性防护服等防护用品应符合 GB 19083、YY 04 要求。
- 4.6 消毒剂
- 4.6.1 灭菌剂、皮肤黏膜消毒剂应使用符合《中华人民共和国药典》的纯化水或无菌水的配制用水应符合 GB 5749 要求。

JCS 11.040.40
C 45

YY

中华人民共和国医药行业标准

YY 0572—2015
代替 YY 0572—2005

血液透析及相关治疗用水

Water for haemodialysis and related therapies

(ISO 13959,2009,MOD)

2015-03-02 发布

2017-01-01 实施

国家食品药品监督管理总局 发布



YY-0572-2015应用范围

- 本标准规定了血液透析，血液滤过，在线血液滤过**制备**透析浓缩液、透析液及血液透析器再处理**所用水**的最低要求
- 本标准不涉及水处理设备的操作
- 本标准不适用于透析液再生系统
- 本标准主要包含了化学污染物、**微生物和毒素的检测**

相关基本概念

- 干预水平 (action level)
 - 污染物的浓度，当达到该浓度时应采取干预措施阻断其升高至不可接受的水平
- 透析用水 (dialysis water)
 - 满足本标准的要求并适用于血液透析用途的水，包括透析液的制备用水，透析器的再处理用水，透析浓缩液的制备用水和在线置换液制备用水

透析用水微生物要求

- 透析用水的细菌总数应不超过100cfu/ml，干预水平应建立在系统微生物动力学之上，干预水平是最大允许水平的50%
- 透析用水中的内毒素含量不应超过0.25EU/ml，必须建立干预水平，是最大允许水平的50%。

国内外相关规范及标准

- 2005年8月卫生部颁布了委托中华医学会制定的《血液透析器复用操作规范》
 - 水质要求：应**定期检测**复用用水细菌和内毒素的污染程度。内毒素含量不得超过2 EU/ml，干预限度1EU/ml
 - 水质细菌学、内毒素检测时间：最初应每周检测1次，连续2次检测结果符合要求后，内毒素检测应**每3个月至少1次**

- **2010版血液净化标准操作规程（SOP）**

- 细菌培养应每月一次，要求细菌 $<200\text{cfu/ml}$ ，
采样部位为反渗水输入管路的末端

- 内毒素检测至少每3个月一次，要求内毒素 $<2\text{EU/ml}$ ，采样部位同前

- **美国医疗器械协会 (AAMI) 的标准**

- 透析用水细菌标准值应当 $<200\text{CFU/ml}$ ，内毒素 $<2\text{EU/ml}$
- 当细菌测定值超过 50CFU/ml 或内毒素测定值超过 1EU/ml 时即应采取干预措施

- **欧洲最佳实践指南 (EBPG) 标准**

- 透析用水细菌标准值应当小于 100CFU/ml
- 内毒素标准值应当小于 0.25EU/ml

监测频次

- 透析用水细菌培养每月一次，每台透析机每年至少检测一次
- 内毒素每季度一次，每台透析机每年至少检测一次

为什么要做微生物监测？

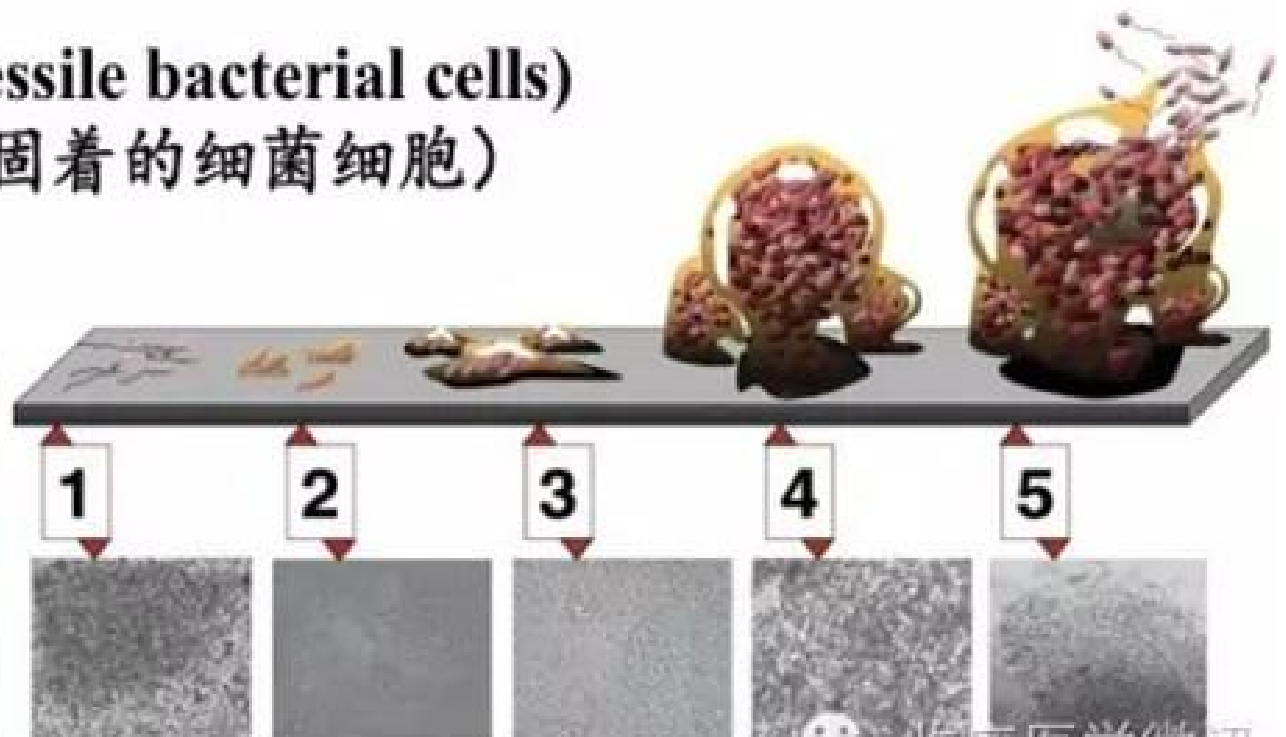


- 慢性肾病(CKD)是世界范围内危害人类健康的公共卫生问题
- 中国医院协会提供的数据，我国终末期肾衰的发病率为36.1/百万人口，并以每年10-15万人的速度在增加
- 透析患者中血液透析占90%左右，若微生物超标，引起的急性热原反应，不仅影响患者的远期透析效果，更关系到我国众多肾功能衰竭患者的身体健康和生存质量

控制细菌污染，监测内毒素含量

水中微生物的存在形式

- Planktonic (freely suspended cells)
浮游生物（自由悬浮的细胞）
- Biofilm(sessile bacterial cells)
生物膜（固着的细菌细胞）



生物膜和生物淤积

- 生物膜生长的程度依赖于有效的营养。
- 生物膜生长到一定程度，会导致细菌和内毒素的增加。
- 当生物膜达到这种阶段时，通常被称为生物淤积。
- 避免生物淤积的关键是延缓生物膜的发展。
- 系统的所有微生物控制策略主要是为了限制生物淤积。
- 最重要的是在血液透析系统操作前就应开始消毒过程。



微生物监测



内毒素监测



微生物监测

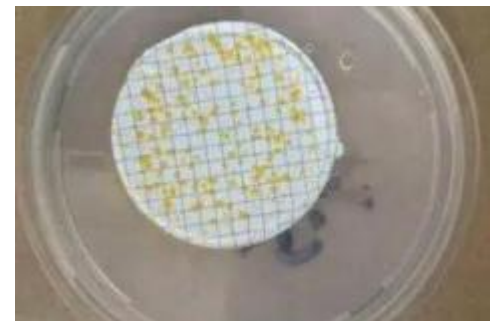
采样部位

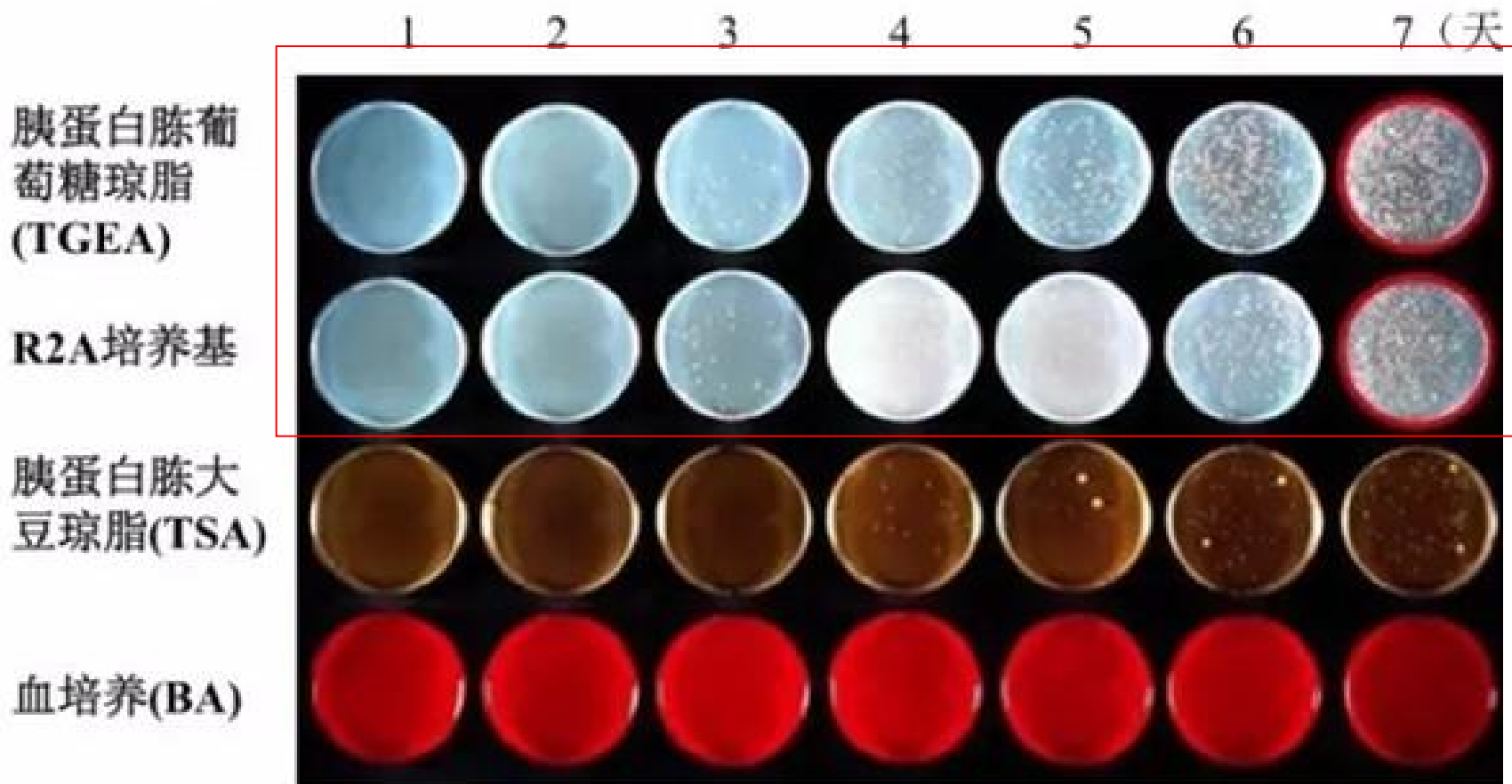
应在透析装置和供水回路的连接处收集试样



培养条件

- 标本采集后4h内送检，冷藏不超过24h
- 常规的微生物检测方法：倾倒平板法，涂布平板法，薄膜过滤法，**不接受接种环法**
- **上样量1ml，计量单位CFU/ml**
- 培养基的选择：TGEA, R2A; **不能选用血培养基和巧克力培养基**
- 培养温度17-23度，培养时间168h (7d)





17-23度

改进培养方法的要素

- 培养介质

- 低营养成分培养基有TGEA培养基、R2A培养基、CPS培养基、DP琼脂培养基等。

- 孵育温度

- 35°C是最不适宜获得最高菌落数的温度，计数结果不及28°C时的14%，20°C时的20%。

- 孵育时间

- 细菌总数会随培养时间延长而增加。一般12-14d可达到最高计数，而在前6天，增长速率最快。

新型胰蛋白胨葡萄糖培养基用于透析用水细菌检测的临床适用性多中心研究

甘良英¹ 张晓军² 邓祥³ 姜埃利⁴ 左力¹

【摘要】目的 明确一种新型胰蛋白胨葡萄糖(tryptone glucose extract agar, TGEA)培养基用于透析用水细菌检测的临床适用性。**方法** 分别在4家血液透析中心的水处理系统出水口、回水口、血液透析机(进水软管连接到透析机的位置)及稀释后的透析液等4个点取样,使用TGEA涂布法(20℃, 168h)、TGEA薄膜过滤法(20℃, 168h)和营养琼脂培养基(37℃, 48h)作为对照培养基,以新型TGEA培养基(20℃, 168h)作为验证培养基,进行细菌培养并在培养结束后进行细菌菌落计数。**结果** TGEA涂布法、TGEA薄膜法和验证培养基的Log₁₀(菌落计数)3者间无显著性差异,均高于营养琼脂培养基($P=3.346$, $P=0.025$);菌落检出率TGEA涂布法、薄膜法和验证培养基均高于营养琼脂培养基,但多组间比较未见显著性差异($\chi^2=4.267$, $P=0.234$);Bland-Altman分析显示验证培养基与TGEA涂布法和薄膜法的一致性良好;验证培养基与TGEA涂布法和薄膜法菌落计数比值在0.5~1.5范围内。**结论** 新型胰蛋白胨葡萄糖培养基与经典TGEA涂布法和TGEA薄膜过滤法一致性好,操作简便,全过程可在常规环境下完成,具有良好的临床适用性。

【关键词】新型胰蛋白胨葡萄糖培养基;
中图分类号: R318.16 文献标识码:

表4 验证培养基与TGEA涂布法和TGEA薄膜法的菌落计数比值($n=10$)

	最小值	最大值	均值	标准差
验证培养基/TGEA涂布法	0.5	1.1	0.9	0.2
验证培养基/TGEA薄膜法	0.5	1.5	1.0	0.3

注:TGEA:胰蛋白胨葡萄糖;

R2A培养基配方 (2015药典)

- 酵母浸出粉 0.5
- 蛋白胨 0.5
- 酪蛋白水解物 0.5
- 葡萄糖 0.5
- 可溶性淀粉 0.5
- 磷酸氢二钾 0.3
- 无水硫酸镁 0.024
- 丙酮酸钠 0.3
- 琼脂 15.0
- 高压锅, 121° C高压灭菌15min, 调整pH值7.2 ± 0.2

TGEA培养基配方

- 胰蛋白胨 5g
- 葡萄糖 1g
- 牛肉粉 3g
- 琼脂 15g
- 纯化水 1000ml (符合2015中国药典)
- 质控菌株: ATCC25922, 25923, 27853

透析用水微生物超标处理措施

- 一旦超标，立即停止供水及治疗，查找原因，及时干预

超标原因	处理方法
反渗透机故障	对反渗透机进行检修和维护
反渗透机内形成生物膜	对反渗透机进行消毒或更换反渗透膜
输水主管道形成生物膜	彻底消毒输水主管道，更换管道也是不能除外的选项！
血透机输水软管形成生物膜	对输水软管进行消毒处理或更换输水软管

透析用水中检出的微生物种类

洛非不动杆菌、草绿色链球菌、溶血性葡萄球菌、阴沟肠杆菌、干燥棒状杆菌、鲍曼杆菌、产吡啶黄杆菌、门多萨假单胞菌、需氧芽孢杆菌、酵母样真菌等,其中绝大多数为革兰阴性细菌。



上海

液细菌计数 $>2\ 000$ CFU/mL。培养出的细菌以革兰阴性菌为主,包括:短黄杆菌、多食黄杆菌、司徒假单胞菌、门多萨假单胞菌、脲巴斯德菌、产吡啶黄杆菌、凝固酶阴性葡萄球菌、白喉棒状杆菌、溶血葡萄球菌、粪肠球菌等。



重庆

以革兰氏阴性杆菌为主

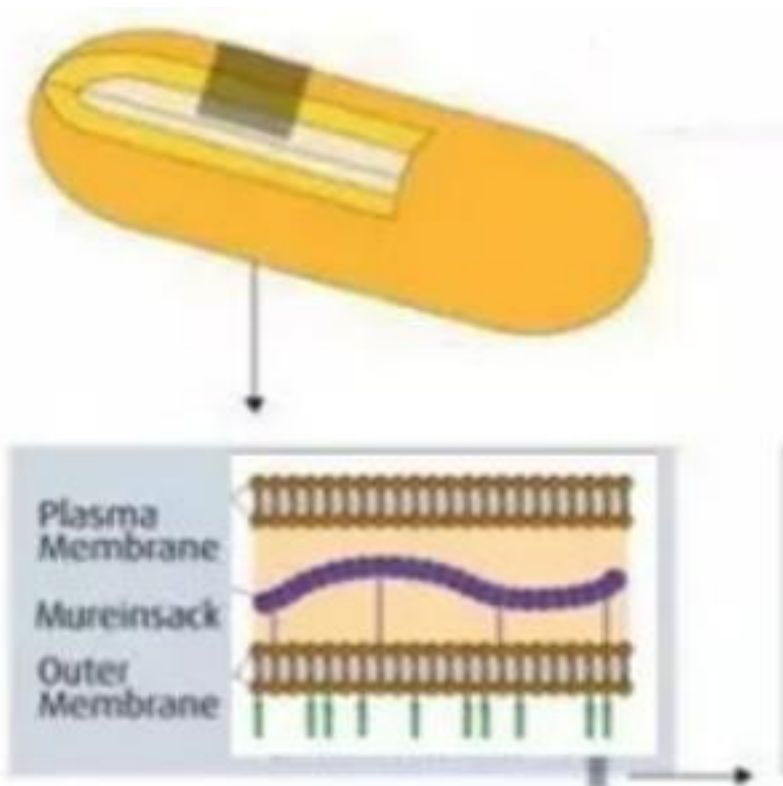
中国感染控制杂志, 2010
中国血液净化, 2005

2

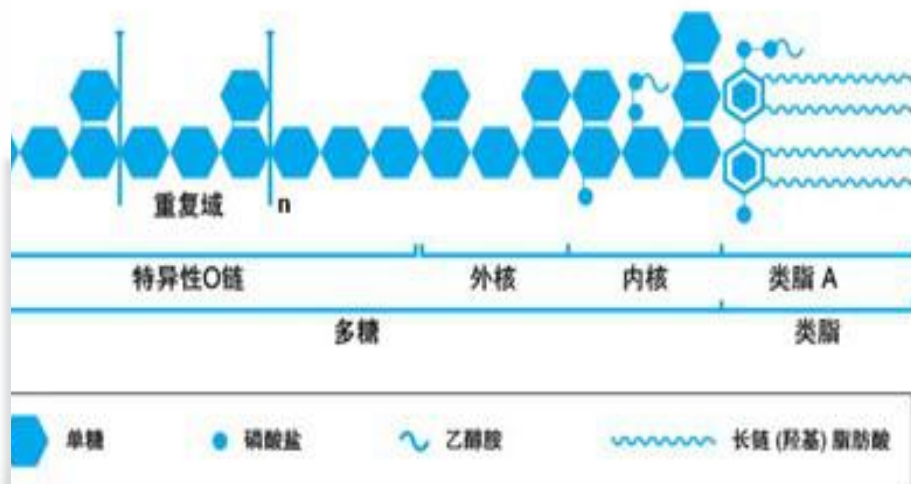
内毒素监测

分布在各种革兰阴性细菌的外膜上内毒素成分脂多糖 (LPS) 或脂低聚糖 (LOS)。

- 细菌生长时释放量低
- 细菌溶解时大量释放



脂多糖 (LPS) 结构示意图



内毒素的生物效应

内毒素



内毒素刺激巨噬细胞产生三大调节作用：
蛋白、氧自由基、血脂



与透析有关的内毒素污染源

- **来源于水前处理系统。**透析用水的处理系统包括：沉淀过滤器、软水器、活性炭过滤器等水质前处理系统，以及反渗透膜系统或去离子器和超过滤器等
- **来源于递送管道。**供水管路过长过宽，水流减缓，弯道、接口多、空置留管口等容易形成死腔，甚至会形成生物膜附着在管路的表面而有利细菌的滋生
- **来源于消毒盲区。**透析机进水口至机器内部透析液配比系统水箱处的连接管为消毒盲区；由于消毒液不经过此处，长期RO水冲洗后容易滋生细菌形成生物膜，导致内毒素超标。

内毒素监测的临床意义

- 引起急性热原反应透析开始1小时左右，出现恶寒、寒颤，或伴恶心、呕吐，体温升至38°C左右。患者可产生低血压，肌肉痉挛，头痛，发热等症状，严重可导致休克
- 长期内毒素刺激，会造成透析的长期并发症如腕管综合症和慢性炎症反应
- 定期监测可有效防止在透析过程中因系统本身内毒素含量超标而引起的患者炎症，提高透析安全性

内毒素检测方法

- 2010版中国药典指出：“利用**鲎试剂**来检测或量化由革兰氏阴性菌产生的细菌内毒素，以判断供试品中细菌内毒素的限量是否符合规定的一种方法。细菌内毒素检查包括两种方法，即凝胶法和光度测定法，后者包括浊度法和显色基质法。供试品检测时，可使用其中任何一种方法进行试验。当测定结果有争议时，除另有规定外，以凝胶法结果为准。”



1

接取大约 2ml 透析用水样本与采样瓶中，用于以下实验。



2

用配套的滴管移取 0.5ml 透析用水样本于 SPL 管中，轻轻振摇，注意不要引起气泡。



3

用滴管移取 0.25ml SPL 溶液，用于步骤 4。



4

把步骤 3 所取的 0.25ml SPL 溶液移于 PPC 管中，轻轻振摇，注意不要引起气泡。



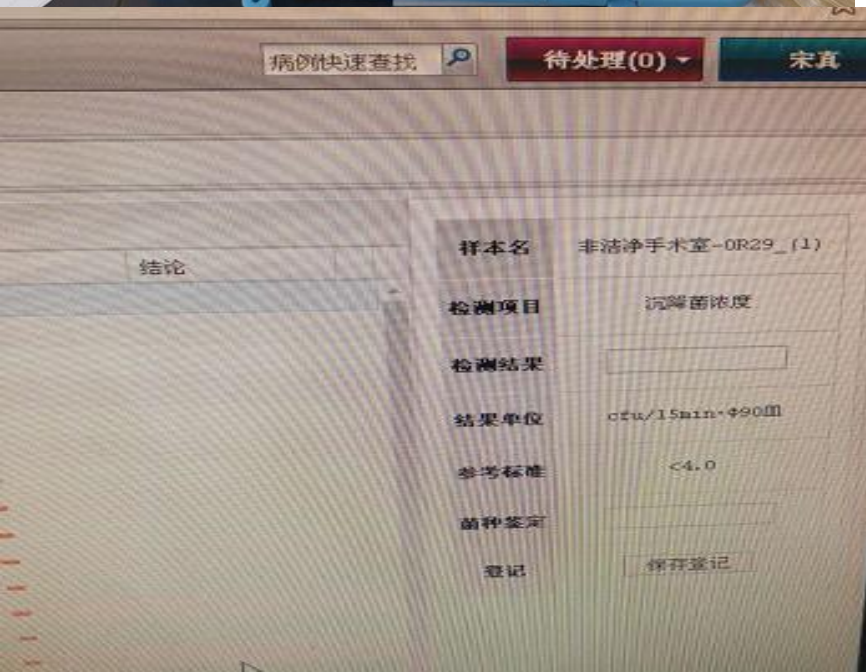
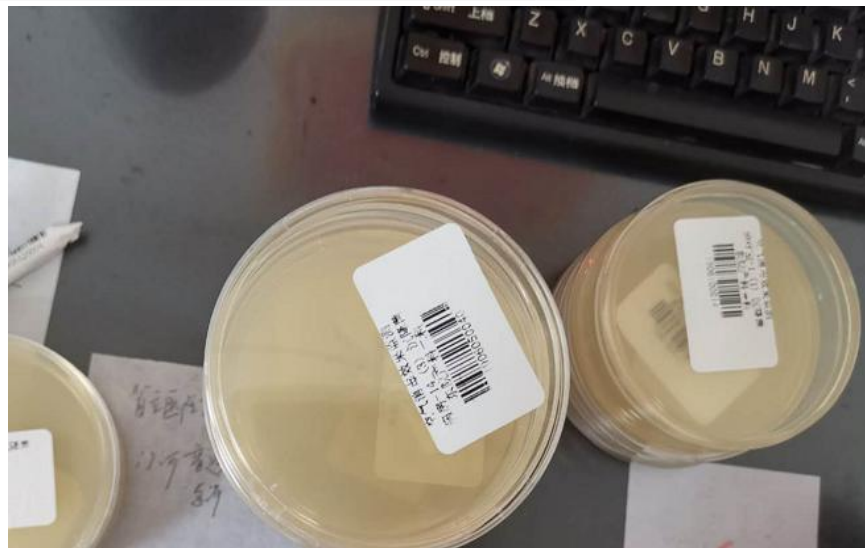
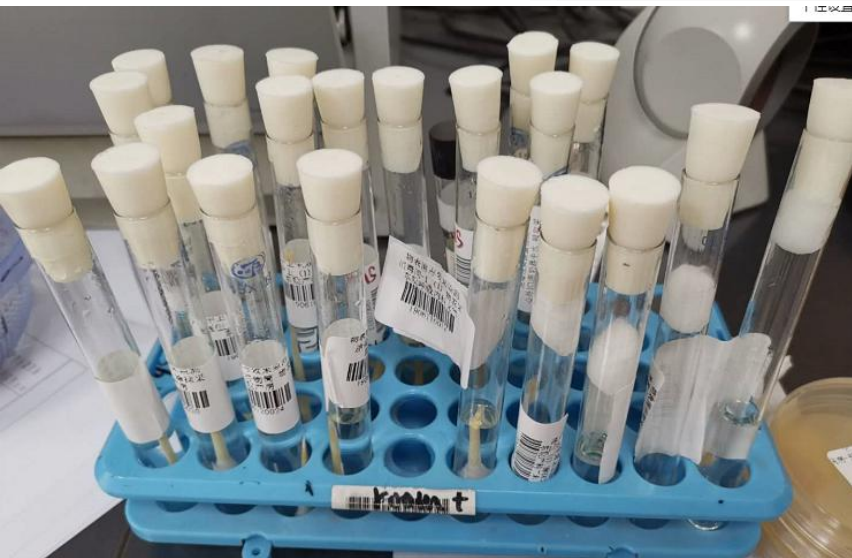
5

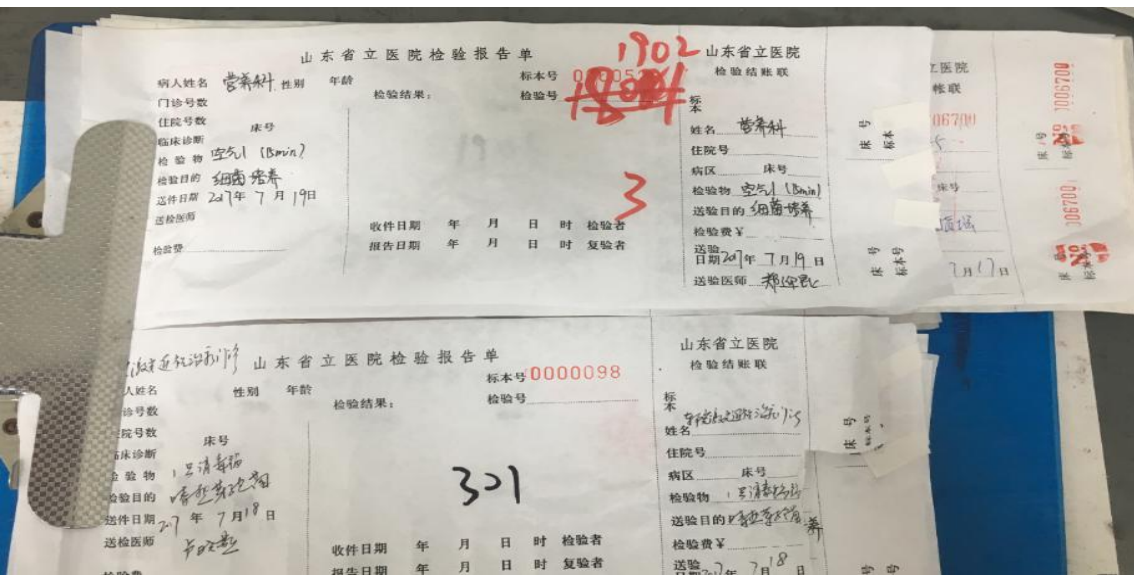
把供试品管（SPL）和供试品阳性管（PPC）放入 $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 的恒温器上温育质检报告上说明的时间，温育期间避免振动。



PPC	SPL	结果
+	+	检测透析液样本细菌内毒素大于或等于0.25EU/mL。
+	-	检测透析液样本细菌内毒素小于0.25EU/mL。
-	+	实验无效，应重复实验。
-	-	实验无效，应重复实验。

03 院感监测报告





传统纸质

信息化



“杏林院感实时监测系统”
“环境卫生学监测系统”

目标监测 病例查询 消毒灭菌监测 消毒灭菌监测

抗菌耐药性监测

病例日志表 病例日志表 抗菌耐药性及替加环素使用情况 送检阳性率(科室) 送检阳性率(标本) 检出菌科分布 检出菌株分布 重点菌种 ESBL统计 多重耐药性分析 耐药分析 耐药结果统计 耐药趋势分析 耐药趋势分析

时间 @

时间类型: 送检时间

从: 2019-06-05

到: 2019-06-11

地区: 全院 中心医院 内科

菌株名称	阳性数	阳性率(%)	耐药数	耐药率(%)	ESBL阳性数	ESBL阳性率(%)	多重耐药数	多重耐药率(%)	耐药率(%)	耐药率(%)	耐药率(%)
革兰阳性	62	12	19.35	9	14.52	8	12.9	6	9.68	4	
革兰阴性	23	3	13.04	5	21.74	5	21.74	3	13.04	0	
真菌	6	1	16.67	1	16.67	1	16.67	0	0	0	

目标监测 病例查询 消毒灭菌监测 消毒灭菌监测

抗菌耐药性监测

病例日志表 病例日志表 抗菌耐药性及替加环素使用情况 送检阳性率(科室) 送检阳性率(标本) 检出菌科分布 检出菌株分布 重点菌种 ESBL统计 多重耐药性分析 耐药分析 耐药结果统计 耐药趋势分析 耐药趋势分析

时间 @

时间类型: 送检时间

从: 2019-06-05

到: 2019-06-11

地区: 全院 中心医院 内科

科室: 内科

菌株名称	阳性数	阳性率(%)	耐药数	耐药率(%)	ESBL阳性数	ESBL阳性率(%)	多重耐药数	多重耐药率(%)	耐药率(%)	耐药率(%)	耐药率(%)
革兰阳性	62	12	19.35	9	14.52	8	12.9	6	9.68	4	
革兰阴性	23	3	13.04	5	21.74	5	21.74	3	13.04	0	
真菌	6	1	16.67	1	16.67	1	16.67	0	0	0	
其他	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
其他	2	1	50	0	0	50	0	0	0	0	
其他	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

目标监测 病例查询 消毒灭菌监测 消毒灭菌监测

抗菌耐药性监测

病例日志表 病例日志表 抗菌耐药性及替加环素使用情况 送检阳性率(科室) 送检阳性率(标本) 检出菌科分布 检出菌株分布 重点菌种 ESBL统计 多重耐药性分析 耐药分析 耐药结果统计 耐药趋势分析 耐药趋势分析

时间 @

时间类型: 送检时间

从: 2019-06-05

到: 2019-06-11

地区: 全院 中心医院 内科

科室: 内科

全院检出菌分布

菌种	占比
革兰阳性	6.45%
革兰阴性	6.45%
真菌	3.23%
其他	1.61%
其他	11.29%
其他	12.9%

检测管理 检测 客户管理 统计

登记审核

日期: 2019年06月

检测项目: 全部已检

无异常样本数量统计 全部审核 取消审核 删除样本清单

审核日期	编号	条码	检测结果	检测室	检测对象	检测项目	送检单位	样本名	审核	结论
08-12	0158	1906050020			病房-15	空气消毒效果监测	东院产科二科	病房-15_(0)	--	
08-11	0158	1906050021			治疗室-1	空气消毒效果监测	东院产科二科	治疗室-1_(1)	--	
08-10	0158	1906050022			治疗室-1	空气消毒效果监测	东院产科二科	治疗室-1_(2)	--	
6-05	0158	1906050023			治疗室-1	空气消毒效果监测	东院产科二科	治疗室-1_(3)	--	
6-03	0158	1906050024			医生	手卫生效果监测	东院产科二科	医生_(1)	--	
		12-52			护士	手卫生效果监测	东院产科二科	护士_(1)	--	
		12-53			换药室-1	物表消毒效果监测	东院产科二科	换药室-1_(1)	--	
		12-51			治疗室-1	物表消毒效果监测	东院产科二科	治疗室-1_(1)	--	
		12-08			病房-14	空气消毒效果监测	东院产科二科	病房-14_(1)	--	
		12-00			病房-14	空气消毒效果监测	东院产科二科	病房-14_(2)	--	
		12-00			病房-14	空气消毒效果监测	东院产科二科	病房-14_(3)	--	
		12-11			非洁净手术室-0	空气消毒效果监测	手术室	非洁净手术室-0	--	
		12-2			非洁净手术室-0	空气消毒效果监测	手术室	非洁净手术室-0	--	
		12-4			非洁净手术室-0	空气消毒效果监测	手术室	非洁净手术室-0	--	
		12-3			非洁净手术室-0	空气消毒效果监测	手术室	非洁净手术室-0	--	
		12-1			非洁净手术室-0	空气消毒效果监测	手术室	非洁净手术室-0	--	
		12-01			病房-预防接种室	空气消毒效果监测	东院产科一科	病房-预防接种室	--	
		12-00			病房-预防接种室	空气消毒效果监测	东院产科一科	病房-预防接种室	--	
		12-02			病房-预防接种室	空气消毒效果监测	东院产科一科	病房-预防接种室	--	
		12-06			病房-10	空气消毒效果监测	东院产科一科	病房-10_(1)	--	
		12-03			病房-10	空气消毒效果监测	东院产科一科	病房-10_(2)	--	
		12-07			病房-10	空气消毒效果监测	东院产科一科	病房-10_(3)	--	
		12-49			治疗室-1	物表消毒效果监测	东院产科一科	治疗室-1_(1)	--	
		12-85			治疗室-1	空气消毒效果监测	东院产科一科	治疗室-1_(1)	--	
		12-84			治疗室-1	空气消毒效果监测	东院产科一科	治疗室-1_(2)	--	

样本名: 病房-15_(1)

检测项目: 沉降菌浓度

检测结果:

结果单位: cfu/3min*10

参考标准: <4.0

审核意见:

登记:

>> 按监测项目分组显示

监测区域	监测对象	监测等级	本	开启状态	次数	进展	结果	(不包含本月)	检
空气消毒效果监测									
内镜洗消区域	治疗室-手术1	III类环境	每3月一次	✓ 已开启	2	未执行		■ ■	
内镜洗消区域	治疗室-手术3	III类环境	每3月一次	✓ 已开启	2	未执行		■ ■	
内镜洗消区域	治疗室-手术2	III类环境	每3月一次	✓ 已开启	2	未执行		■ ■	
物表消毒效果监测									
内镜洗消区域	治疗室-手术1	III类环境	每3月一次	✓ 已开启	2	未执行		■ ■	
内镜洗消区域	治疗室-手术3	III类环境	每3月一次	✓ 已开启	2	未执行		■ ■	
内镜洗消区域	治疗室-手术2	III类环境	每3月一次	✓ 已开启	2	未执行		■ ■	
手卫生效果监测									
内镜洗消区域	医生	卫生手消毒	每3月一次	✓ 已开启	2	材料准备		■ ■	
内镜洗消区域	护士	卫生手消毒	每3月一次	✓ 已开启	2	材料准备		■ ■	
医疗用品消毒效果监测									
内镜洗消区域	腹腔镜-软镜1	高度危险性物品	每1月一次	✓ 已开启	3	送检		■ ■ ■	
内镜洗消区域	腹腔镜-软镜2	高度危险性物品	每1月一次	✓ 已开启	3	送检		■ ■ ■	
消毒感染菌量监测									
其他监测区域	万福金安	灭菌	每3月一次	✓ 已开启	0	材料准备			

山东省立医院监测报告单

No: 1632301170910302174

科室: 东院感染管理办公室 项目: 空气消毒效果监测 检测对象: 分娩间
 采样者: 顾安曼 采样时间: 2019-05-20 11:14 监测结论: 合格

采样点	检测项目	结果	平均值	菌种鉴定	标准值	结果单位
分娩间-分娩室_(1)	沉降菌浓度	0	0		0.0~4.0	cfu/15min·φ90皿
分娩间-分娩室_(2)	沉降菌浓度	0				
分娩间-分娩室_(3)	沉降菌浓度	0				

检验者: 宋真
 送检时间: 2019-05-20 11:14
 备注:

空气培养

监测要求

监测规范 | 采样要求 | 检测要求

打印

《GB 15982-2012 医院消毒卫生标准.pdf》

表 1 各类环境空气、物体表面菌落总数卫生标准

环境类别		空气平均菌落数*		物体表面平均菌落数 CFU/cm ²
		CFU/皿	CFU/m ³	
I类环境	洁净手术部	符合 GB 50333 要求		≤150
	其他洁净场所	≤4.0(30 min) [‡]		
II类环境		≤4.0(15 min)		≤5.0
III类环境		≤4.0(5 min)		≤10.0
IV类环境		≤4.0(5 min)		≤10.0

* CFU/皿为平板暴露法,CFU/m³为空气采样器法。
 ‡ 平板暴露法检测时的平板暴露时间。

《GB 50333-2013 洁净手术部建筑技术规范》

表 3.0.2-1 洁净手术室用房的分级标准

监测要求

打印

《GB洁净手术部建筑技术规范GB50333-2013》

表 3.0.2-1 洁净手术室的分级标准

洁净用房等级	沉降法(浮游法)细菌最大平均浓度		空气洁净度级别		参考手术
	手术区	周边区	手术区	周边区	
I	0.2cfu/30min·Φ90皿(5cfu/m ³)	0.4 cfu /30min·Φ90 皿(10cfu/m ³)			假体植入、某些
II	0.75 cfu /30min·Φ90 皿(25cfu/m ³)	1.5 cfu /30min·Φ90 皿(50cfu/m ³)			
III	2 cfu /30min·Φ90 皿(75cfu/m ³)	4 cfu /30min·Φ90 皿(150cfu/m ³)			
IV	6cfu/30min·Φ90 皿				

注：1.浮游法的细菌最大平均浓度采用括号内数值。细菌浓度是相换算的结果。
2.眼科专用手术室周边区比手术区可低2级。

监测要求

打印

在洁净系统自净后与从事医疗活动前采样；

布点部位
手术区最
周边区最

导出为Word文档 打印

山东省立医院监测报告单

No: 1630936386344326844

科室: 东院手术室 项目: 空气消毒效果监测 检测对象: III级洁净手术室
 采样者: 周学通 采样时间: 2019-04-24 09:28 监测结论: 合格

采样点	检测项目	结果	平均值	菌种鉴定	标准值	结果单位
III级洁净手术室-OR15_(1)	沉降菌浓度	0	0		0.0~2.0	cfu/30min·Φ90皿
III级洁净手术室-OR15_(2)	沉降菌浓度	0				
III级洁净手术室-OR15_(3)	沉降菌浓度	0				
III级洁净手术室-OR15_(4)	沉降菌浓度	0				
III级洁净手术室-OR15_(5)	沉降菌浓度	0				
III级洁净手术室-OR15_(6)	沉降菌浓度	0				
III级洁净手术室-OR15_(7)	沉降菌浓度	0				
III级洁净手术室-OR15_(8)	沉降菌浓度	0				
III级洁净手术室-OR15_(9)	沉降菌浓度	0				
III级洁净手术室-OR15_(10)	沉降菌浓度	0				

检验者: 宋真 审核者: 郝莹莹
 送检时间: 2019-04-24 09:28 报告时间: 2019-04-26 09:06

申请时间
2019-04-16
2019-04-26

任务结论
[不合格]
[合格]

任务单号:
1630935916287628505
手卫生效果监测

准备 → 采样 → 送检 → 警告

报告单

导出为Word文档 | 打印

山东省立医院监测报告单

No: 1630935916287628505

科室: 东院手术室 项目: 手卫生效果监测 检测对象: 护士
 采样者: 周学通 采样时间: 2019-04-24 09:29 监测结论: 不合格

采样点	检测项目	结果	菌种鉴定	标准值	结果单位
护士刘欣怡	手菌落计数	稀布		0.0~10.0	cfu/cm2
护士司继吐	手菌落计数	0		0.0~10.0	cfu/cm2
护士杨鲁飞	手菌落计数	0		0.0~10.0	cfu/cm2
护士侯晓恒	手菌落计数	0		0.0~10.0	cfu/cm2

检验者: 宋真 审核者: 郝莹莹
 送检时间: 2019-04-24 09:29 报告时间: 2019-04-26 09:04
 备注:

医护人员手

2019-04-16
2019-04-26

任务单号:
1631837175428416895
手卫生效果监测

准备 → 采样 → 送检

报告单

导出为Word文档 | 打印

山东省立医院监测报告单

No: 1631837175428416895

科室: 东院手术室 项目: 手卫生效果监测 检测对象: 护士
 采样者: 周学通 采样时间: 2019-05-08 08:08 监测结论: 合格

采样点	检测项目	结果	菌种鉴定	标准值	结果单位
护士刘欣怡	手菌落计数	10.0		0.0~10.0	cfu/cm2

检验者: 宋真 审核者: 郝莹莹
 送检时间: 2019-05-08 08:08 报告时间: 2019-05-10 09:20
 备注:

消毒液染菌量

报告XX

导出为Word文档 | 打印

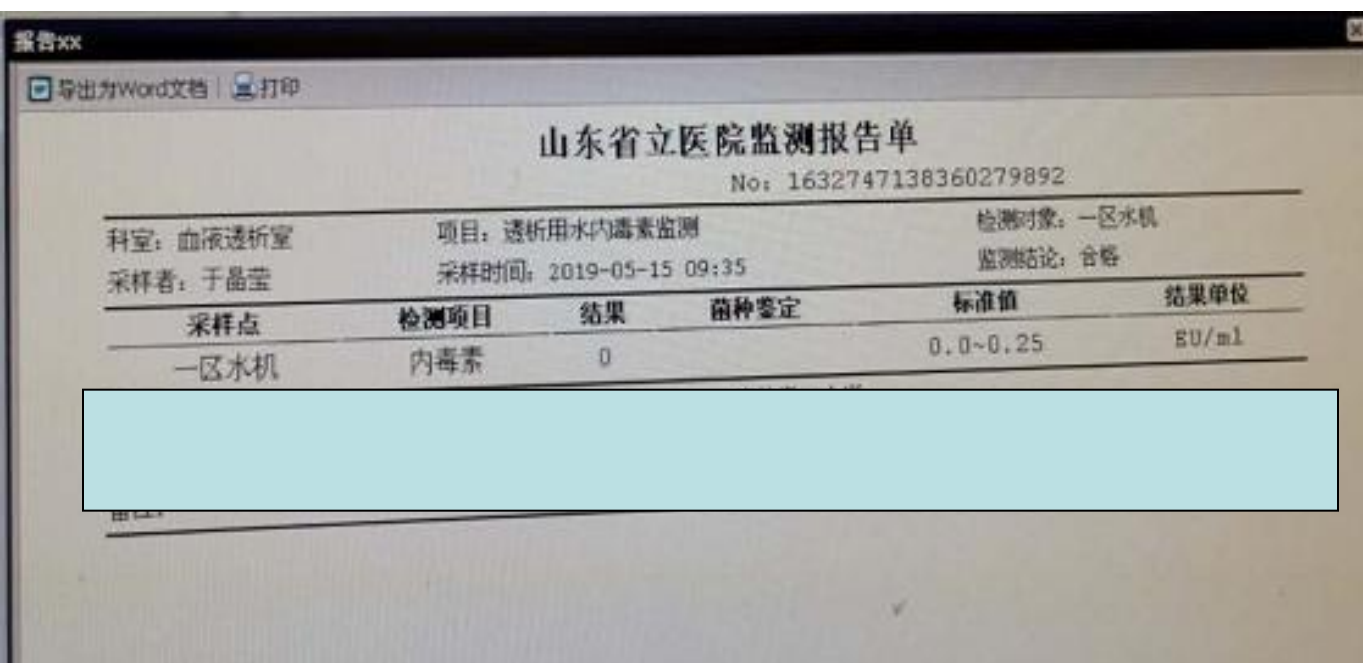
山东省立医院监测报告单

No: 1628403013731223437

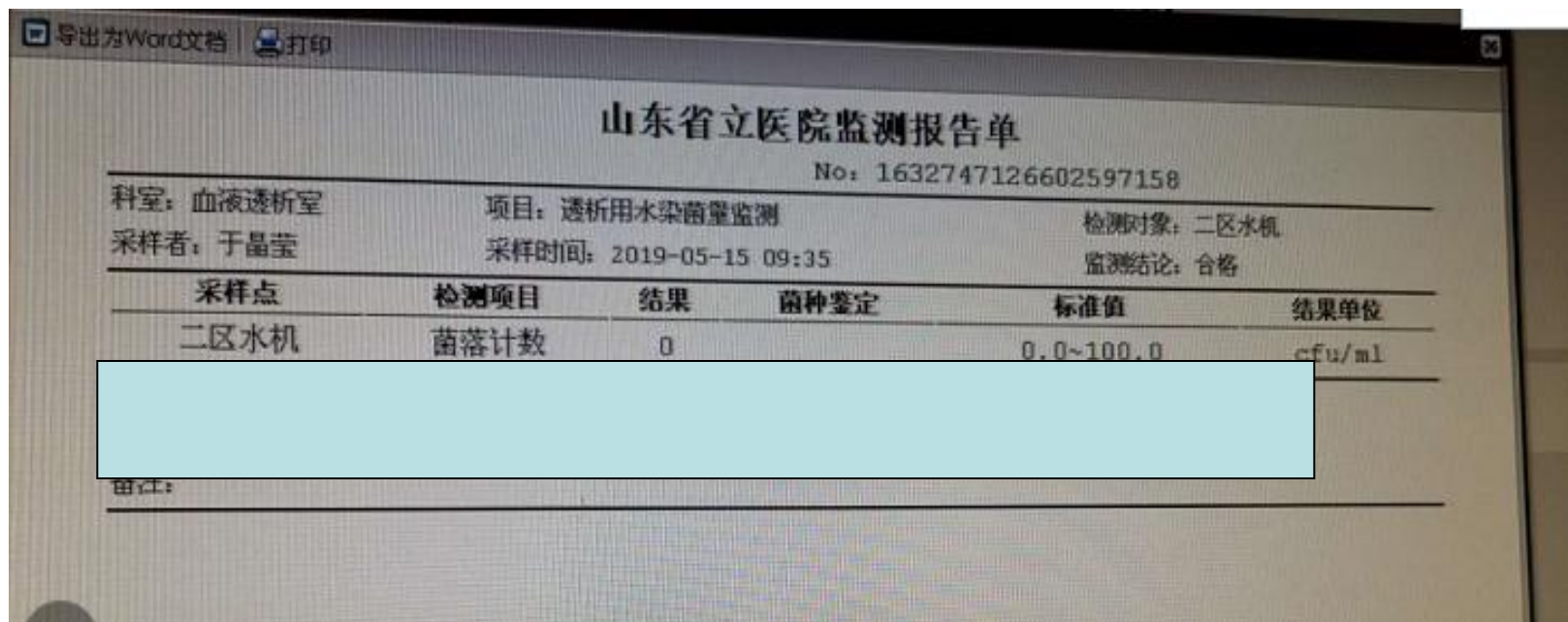
科室: 东院手术室	项目: 消毒液染菌量监测	检测对象: 安尔碘
采样者: 周学通	采样时间: 2019-03-19 23:02	监测结论: 合格

采样点	检测项目	结果	菌种鉴定	标准值	结果单位
安尔碘 (1)	菌落计数	0		0.0~10.0	cfu/ml

备注:



透析用水







谢谢！