

PROCEDURĂ PRIVIND RECOLTAREA PROBELOR PENTRU DEPISTAREA INFECȚIILOR NOSOCOMIALE

Cod : PG. SPCIN.08

Data: 29.09.2014

APROBAT,
manager
Mitrut Diana



	Funcție	Nume si prenume	Semnătura	Data
Elaborat	RMC	Dr. Budea Adina		25.09.2014
Verificat	Director medical	Dr. Lupu Cristian		29.09.2014

**PROCEDURĂ PRIVIND RECOLTAREA PROBELOR
PENTRU DEPISTAREA INFECȚIILOR NOSOCOMIALE**

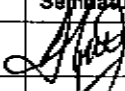
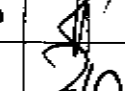
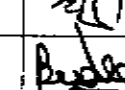

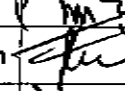

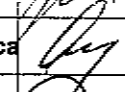

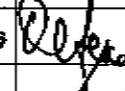


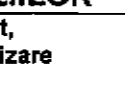
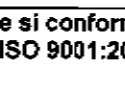


Tip document: Procedură generală ; Cod document : PG. SPCIN.08.

Ediția 1 2 3 4

Revizia 0 1 2 3

Exemplar nr.

LISTĂ DE DIFUZARE

Ex. nr.	Ediție/ revizie	Difuzare			Observații
		Departament	Nume și prenume	Semnătura	
1	1/0	Manager	Ing. Mitrut Diana		29.09.2014
2	1/0	Director Medical, CPU	Dr. Lupu Cristian		29.09.2014
3	1/0	Director financiar contabil	Ec. Pap Dalma		29.09.2014
4	1/0	RMC	Dr. Budea Adina		29.09.2014
5	1/0	Asistent coordonator	Dragoș Viorica		29.09.2014
6	1/0	Sef sectie	Dr. Naghi Emil		29.09.2014
7	1/0	Sef sectie	Dr. Marina Felician		29.09.2014
8	1/0	Sef sectie	Dr. Lupu Dorin		29.09.2014
9	1/0	Sef sectie	Dr. Giuroescu Silviu		29.09.2014
10	1/0	Sef sectie	Dr. Giuroescu Rodica		29.09.2014
11	1/0	Sef comp.	Dr. Ursu Codruta		29.09.2014
12	1/0	Sef comp.	Dr. Damian Ildiko		29.09.2014
13	1/0	Sef comp.	Dr. Olteanu Dragoș		29.09.2014
14	1/0	Sef comp.	Dr. Lupu Cristian		29.09.2014
15	1/0	Sef lab. analize med.	Bch. Berinde Viorica		29.09.2014

EVIDENȚA REVIZIILOR

Nr. Crt.	Ed./ Rev.	Pag.	Descriere continut, motivul reviziei, localizare	Data, semnătura persoanei care a efectuat revizia
1	1/0		Editare initiala pentru implementare si conformare la cerintele referentialelor SR EN ISO 9001:2008	

1. SCOPUL

Procedura stabilește modul de recoltare a probelor biologice pentru depistarea infecțiilor nosocomiale și interpretarea rezultatelor probelor recoltate.

2. DOMENIUL DE APLICARE

Prezenta procedură se aplică în toate secțiile, compartimentele și anexele spitalului.

3. DOCUMENTE DE REFERINȚĂ

- SR EN ISO 9001:2008 Sisteme de management al calității – Cerințe;
- Ordinul MS nr.972/2010, privind aprobarea standardelor de acreditare;
- Ordinul MS nr.261/2007, privind aprobarea Normelor tehnice privind curatenia, dezinfectia și sterilizarea în unitățile sanitare
- Ordinul nr. 916/2006 privind aprobarea Normelor de supraveghere, prevenire și control al infecțiilor nosocomiale în unitățile sanitare
- Ghid privind curatenia, dezinfectia și sterilizarea în unitățile de asistență medicală

4. RESPONSABILITĂȚI

Responsabil de proces = asistenți SPCIN + medic epidemiolog SPCIN+laborator spital

Echipe de proces = medic curant + medic șef secție+director medical+ SPCIN+ laborator spital

5. DESCRIEREA PROCEDURII

Pentru depistarea infecțiilor nosocomiale se vor recolta probe de sterilitate și aeromicroflora.

5.1. Controlul aeromicroflorei

Cunoașterea concentrației bacteriene din aer în sălile spitalului reprezintă un indiciu asupra riscului de infecție

Selectarea încăperilor: se aleg încăperile în care riscurile de infectare pentru asistați pot fi mai mari, cum sunt săli de operație, săli de naștere, săli de reanimare, săli de pansamente, saloane pentru prematuri, bucătărie dietetică

Metoda de recoltare: metoda sedimentării Koch

Material și mod de recoltare: pentru fiecare încăpere se folosesc 2 grupe de cutii Petri cu diametru de 10cm, fiecare grupă cuprinzând:

- o placă cu geloză nutritivă 2%, pH=7,4-7,6
- o placă cu geloză 5-10%

Ambele medii proaspete dar suficient de uscate pentru a nu avea lichid de condensare pe suprafață.

Ritm de recoltare:

Secții medicale: recoltarea se face o dată pe lună

Secții chirurgicale (bloc operator, ATI, sala nașteri) recoltarea se face de două ori pe lună.

Loc de expunere: - o grupă de plăci se expun în mijlocul încăperii, pe o masă

- a doua grupă se expune într-un colț al încăperii, la înălțimea unei mese (60-100 cm de la pardosea)

- numărul de plăci pentru o încăpere: 1-2 plăci Petri

Mod de expunere: ridicarea capacelor cutiilor Petri și așezarea lor, cu deschiderea în jos alături de plăcile cu mediu.

Timp de expunere: din momentul ridicării capacelor, timpul este strict cronometrat, cutiile Petri urmând a fi lăsate deschise 5,10 sau 15 minute, în funcție de încărcătura microbiană(la încărcătura microbiană mare, timp de expunere redus)

Examinarea probelor: toate cutiile cu recolte, fără a mai fi deschise, se termostatează la 37°C, timp de 24 de ore pentru geloză sânge și încă 24 de ore la temperatura camerei, pentru geloză simplă.

Concomitent se incubează și un cuplu de plăci cu medii, preparate în același lot, dar care nu au fost expuse.

Prin acest control se urmărește:

-numărul de germeni pe m³ aer

-numărul de germeni hemolitici(stafilococ, streptococ patogen pe m³ aer)

Numărul de germeni se stabilește prin numărarea coloniilor crescute pe suprafața gelozei simple, iar numărul germeilor hemolitici prin coloniile cu zonă de hemoliză dezvoltate pe geloză sânge.

Plăcile martori nu trebuie să prezinte colonii.

Raportarea la m³ aer se face prin aplicarea formulei:

$N \times 10\ 000 / S \times K = \text{nr. germeni / m}^3 \text{ aer}$

N= număr colonii pe suprafața plăcii Petri

S= suprafața mediului în cm²

K= coeficientul timpului de expunere(5 minute =1, 10 minute= 2, 15 minute =3)

Interpretarea rezultatelor:

Denumirea spațiilor controlate (grupe)	Limite maxime admise					
	La 10-15 min după efectuarea curățeniei și dezinfecției			În timpul lucrului		
	Nr.total de germeni/m ³	Stafilococ patogen/ 1placă	Streptococ beta hemolitic/ 1placă	Nr.total de germeni/m ³	Stafilococ patogen/ 1placă	Streptococ beta hemolitic/ 1placă
A. Laboratorul de soluții perfuzabile,depozitul de sterile, spațiile de preparare și proporționare din bucătăriile de lapte și biberonerii, saloane de prematuri	200	0	0	300	0	0
Sălile de intervenții chirurgicale bișnuite, sălile de nașteri, aloanele de nou-născuți	300	0	0	300	0	0
aloanele de copii sub 1 an, sălile de alăptare, saloane ATI	500	0	0	1000X		0

5.2. Controlul microbiologic al suprafețelor și inventarului moale

Controlul dezinfecției suprafețelor și al inventarului moale este un mijloc de apreciere a stării de curățenie din unitatea sanitară

Selectarea materialului controlat:

Prelevările de probe se fac de pe pereții de faianță sau uleiați, mese, tăbliile paturilor, pături, cearșafuri.

Materiale necesare:

- șablon metalic cu latura interioră de 5 sau 10 cm, sterilizat
- tampon de vată hidrofobă steril, în tub cu 1ml ser fiziologic peptonat 1‰
- tub de 9 ml ser fiziologic peptonat 1‰
- un tub cu geloză înclinată
- un tub cu bulion lactozat, un tub de fermentație Durham
- o placă cu mediu selectiv (ADCL, Mac Conkey)
- o placă cu mediu AABTL
- un tub cu mediu hiperclorurat lichid
- o placă cu geloză-sânge
- o placă cu mediu Chapman
- două plăci Petri sterile
- pipete sterile

Mod de recoltare:

Fiecare probă se recoltează cu un tampon de vată hidrofobă, răsucită și legată cu ață la capătul unei tije de lemn, umezită, înainte de folosire, în 1 ml apă peptonată 1‰.

Cu acest tampon vom șterge o suprafață delimitată de un șablon metalic pătrat, cu latura interioară de 5 sau 10 cm, sterilizat.

Ștergerea suprafeței se face trecând tamponul de 2-3 ori în sensuri diferite, cu rotirea lui concomitentă, pe toată suprafața delimitată de șablon

Ritm de recoltare:

Sectii medicale: recoltarea se face o dată pe lună

Sectii chirurgicale (bloc operator, ATI, sală nașteri) recoltarea se face de doua ori pe luna.

Examinarea probelor:

Pentru a preveni uscarea tampoanelor, însămțarea se va face în cel mult 2 ore după recoltare. La fiecare tampon se adaugă 9 ml apă peptonată 1‰. După un reapaus de 10-15 minute, se face o agitație puternică pentru omogenizarea concentrației bacteriene, obținându-se suspensia brută de lucru.

- Se cercetează - numărul de germeni pe cm²
- prezența bacilului coli
 - prezența proteus
 - prezența stafilococului hemolitic

Pentru determinarea numărului de germeni, din suspensia brută se mai face o diluție 1/10 în apă peptonată 1‰. Atât din suspensia brută, cât și din diluția zecimală se vor încorpora câte 1ml în geloză 2%, topită și răcită la 45-50°C, turnată în cutii Petri.

După 48 de ore de incubație se numără coloniile dezvoltate pe cele 2 plăci ale fiecărei probe. Media coloniilor dezvoltate pe ambele plăci se raporează la 1cm² de suprafață sau inventar moale după formula:

Suspensia brută X 10 + diluția zecimală X 100/2X suprafața șablonului=germeni/ cm²

Pentru determinarea prezenței bacilului coli se însămânțează 2ml din diluția brută de buliom lactozat cu tub de fermentație Durham, după 48 de ore făcându-se treceri pe mediile Lavin, AABTL sau Mac Conkey și confirmări biochimice pentru tuburile care au fermentat lactoza cu producere de gaz.

Pentru bacilul proteus se însămânțează 1ml din diluția brută la baza unei geloze înclinată, urmărindu-se apariția fenomenului de cățărare caracteristic.

Pentru determinarea prezenței stafilococului hemolitic cu caractere de patogenitate, se amestecă 2-3ml din suspensia brută în părți egale cu mediu lichid hiperclorurat. După 24 de ore la 37°C se fac trecerile pe medile Chapman (solid) și geloză sânge 5-10%

Interpretarea rezultatelor:

Denumirea spațiilor controlate	Limite maxime admisibile/ cm ² la 10-15min după curățenie și dezinfectări	
	Numărul total de germeni	Stafilococ patogen, E.coli enteropatogen, Proteus
A.Laboratorul de soluții perfuzabile,depozitul de sterile, spațiile de preparare și proporționare din bucătăriile de lapte și biberoneriei, saloane de prematuri	2	0
B.Sălile de intervenții chirurgicale obișnuite, sălile de nașteri, saloanele de nou-născuți	2	0
C.Saloanele de copii sub 1 an, sălile de alăptare, saloane ATI	3	0

5.3.Controlul utilajului din blocurile alimentare

Controlul utilajului din blocurile alimentare.

Controlul microbiologic al veselei, tacâmurilor și utilajelor folosite la pregătirea, transportul și servirea mesei la persoanele asistate poate da indicații asupra măsurilor preventive împotriva infecțiilor cu cale de pătrundere digestivă.

Selectarea obiectelor

Controlul microbiologic se efectuează pe tacâmuri, vase și unelte de bucătărie, veselă, în iminența de a fi folosite (deci sosite curate). Controlul se face la bucătăria spitalului, precum și la oficiile și saloanele din spital.

Material și modul de recoltare

Pentru recoltări, se folosesc tampoane din vată hidrofobă, răsucite și legate cu ață la capătul unei tije de lemn, umezite, înainte de folosire, în 1 ml apă peptonată 1%. Pentru fiecare obiect se folosește câte un tampon astfel pregătit, ștergându-se insistent și cu rotirea tamponului pe fața internă a a vaselor de bucătărie și veselei, porțiunea uneltelor debucătărie și a tacâmurilor care vine în contact cu alimentele, buzacănilor și paharelor (fața internă și externă) etc.

Ritm de recoltare:recoltarea se face semestrial.

Examinarea probelor.

Peste tampoanele cu recolte se adaugă 9 ml apă peptonată 1%. Tamponul se lasă 10-15 minute în repaus, după care se face o agitare puternică pentru eliberarea germeilor de pe vată și omogenizarea lor în lichidul de suspensie.

Prin controlul microbiologic se urmărește prezența următorilor germeni:

- a. bacilul *E. coli enteropatogen*;
- b. bacilul *Proteus*;
- c. *Stafilococul* cu caractere de patogenitate.
- d. prezența bacilului coli enteropatogen se urmărește prin însămânțarea a 1ml din suspensia 1/10 în bullion lactozat sau BBLV cu tub de fermentare Durham, incubarea timp de 48 ore la 37-41°C, subcultivarea pe mediu Levin sau Mac Conkey și AABTL, din probele care au produs fermentația zahărului cu eliberare de gaz.
- e. Prezența bacilului *Proteus* se stabilește prin fenomenul de cătărare pe o geloză 1,5-2% înclinată, la baza căreia s-a depus 1ml din suspensia de germeni, cu incubare la 37°C, timp de 24 de ore.
- f. Pentru depistarea stafilococului patogen se amestecă 2-3ml din suspensia microbiană cu o cantitate egală de mediu de îmbogățire hiperclorurat lichid, iar după 24 de ore de termostatare se face trecerea pe geloză sânge 5-10% și mediu solid Chapman. Coloniile pozitive și hemolitice vor fi cercetate pentru prezența coagulazei și a fibrinolizei, precum pentru producerea enterotoxinei.

Interpretarea rezultatelor

Nu se admite prezența nici unuia dintre germenii sus-menționați.

În anchetele epidemiologice se pot cerceta și alți germeni.

Nu se admite prezența germenilor patogeni.

6. ANEXE

Buletine de laborator privind rezultatele analizei probelor