



HONG KONG
ASIAWORLD-EXPO
亞洲國際博覽館

3RD TO 6TH
DECEMBER
2025



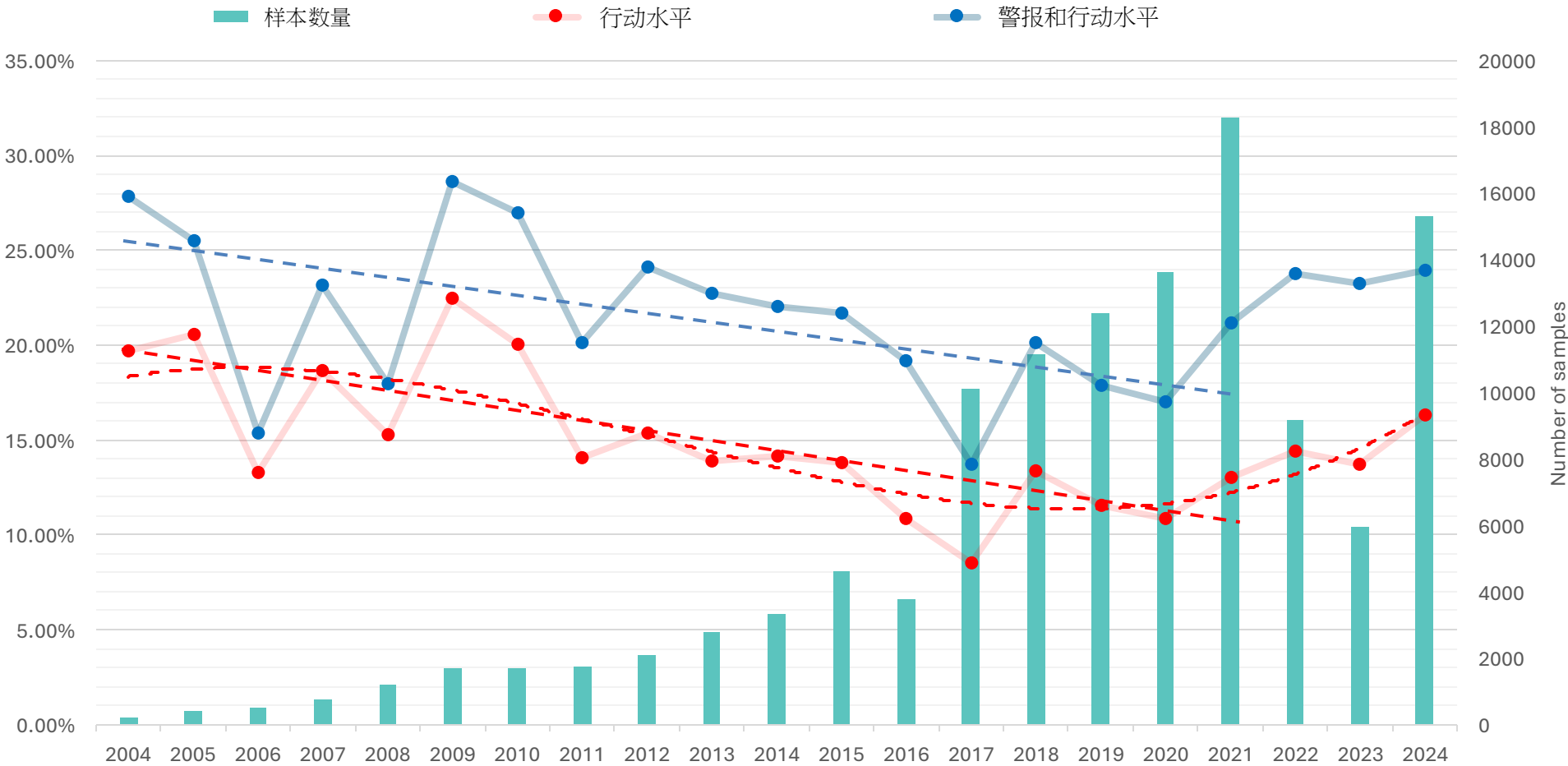
迈向内窥镜取样和培养的新型协调方法

姓名：Lionel Pineau
所属机构：EUROFINS



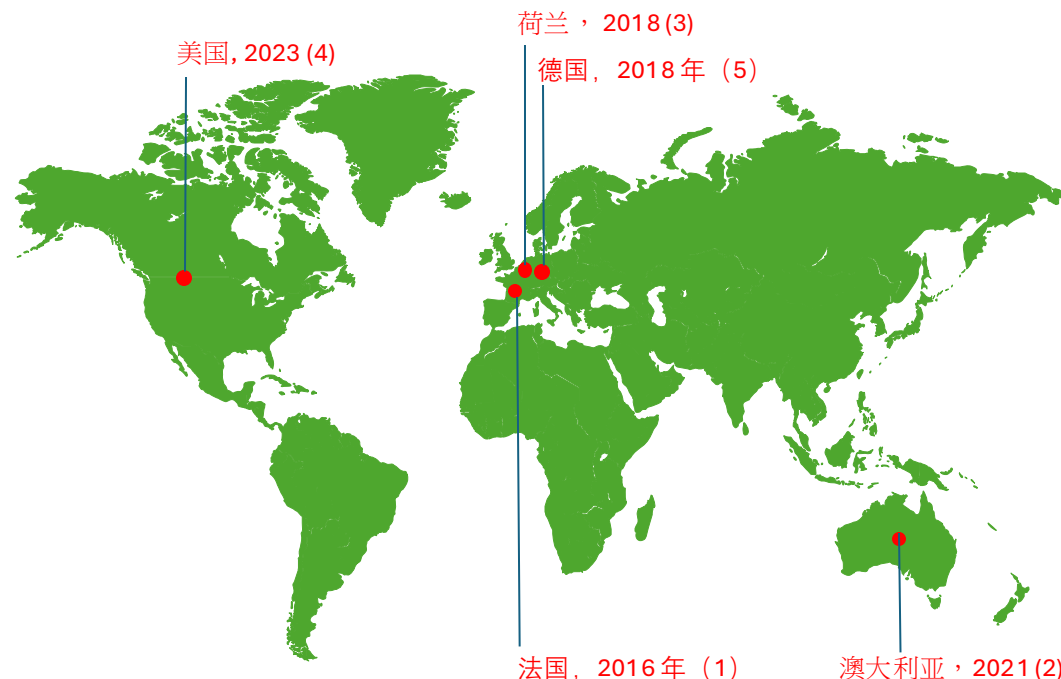
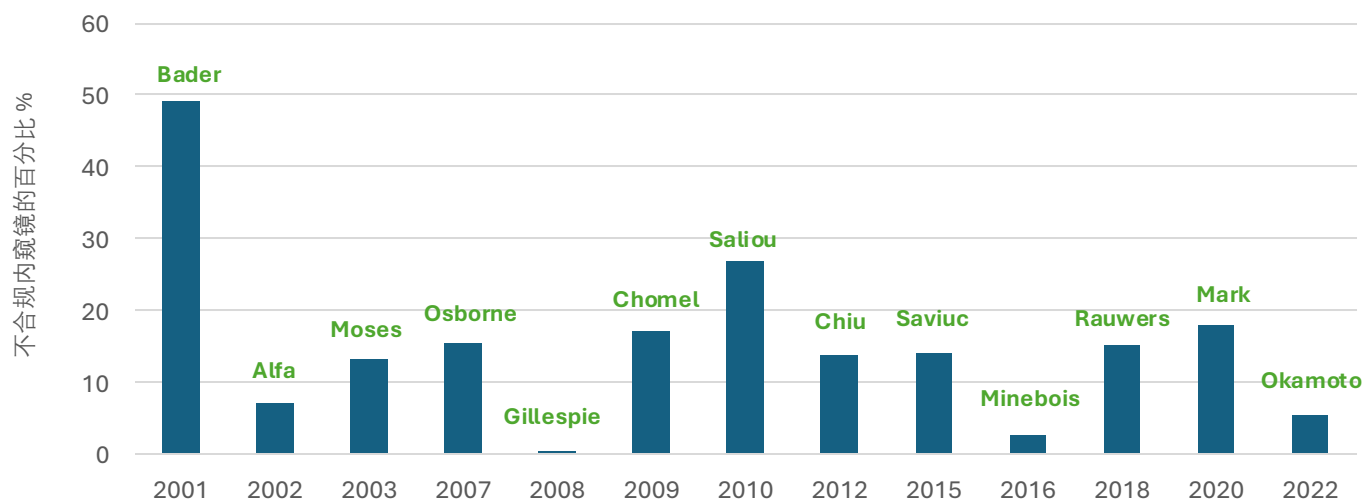
法国内窥镜微生物质量的演变

总计 (n=120725)



内窥镜取样和培养

- 实施内窥镜取样和培养程序对于定期评估内窥镜再处理是否足够至关重要。
- 许多权威机构和专业协会提出将内窥镜取样作为一项质量指标。文献研究表明，已经处理可以使用的内窥镜不合格率在0.4%至49.0%之间。



- (1) Instruction n° DGOS/PF2/DGS/VSS1/2016/220 du 4 juillet 2016 relative au traitement des endoscopes souples thermosensibles à canaux au sein des lieux de soins.
 (2) Gastroenterological Society of Australia (GESA). Infection prevention and control in endoscopy 2021.
 (3) Advisory Board Cleaning and Disinfection Flexible Endoscopes (SFERD). Professional standard handbook. Flexible endoscopes cleaning and disinfection. 2016.
 (4) FDA/CDC/ASM. Duodenoscope Surveillance Sampling and Culturing Protocols. 2018.
 (5) Hygiene Requirements for the Reprocessing of Medical Devices. Bundesgesundheitsbl 2012 · 55:1244–1310.



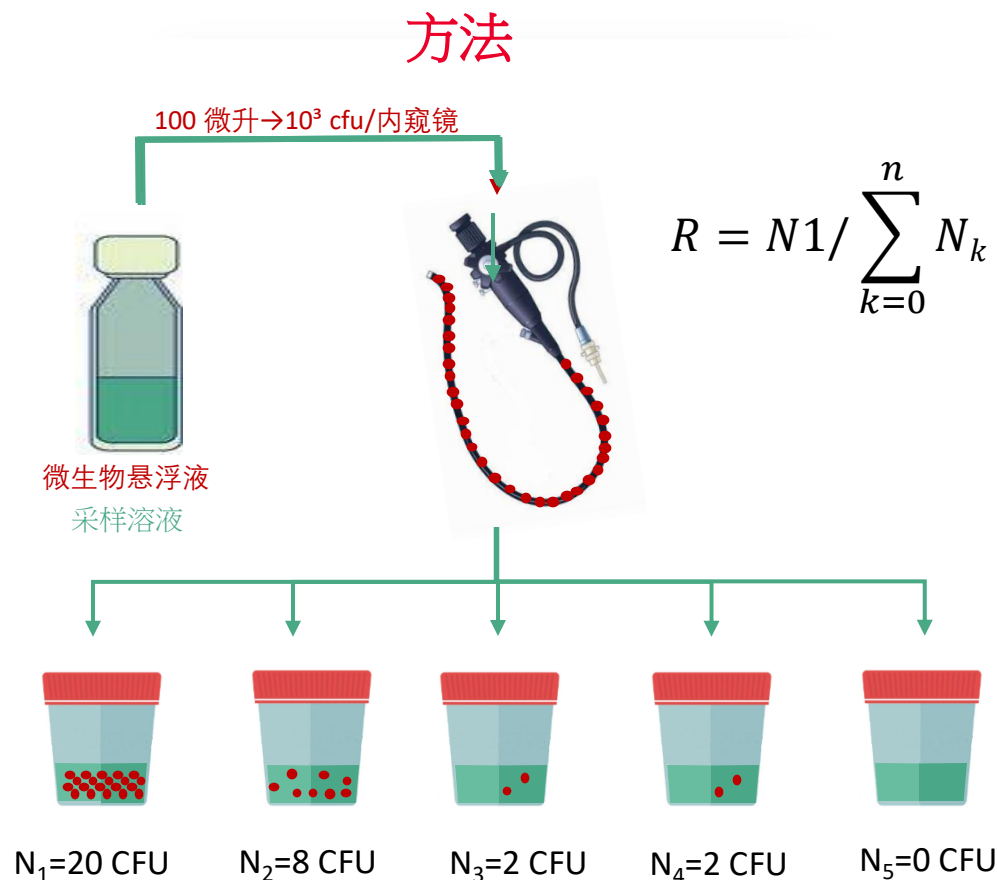
内窥镜取样/培养方法的提取效率

Objective 目的

- 比较六种十二指肠镜取样和培养方法的有效性。

Principle 原则

- 比较五种取样方法：德国、荷兰、法国、澳大利亚和美国（FDA）；
- 1种内窥镜：1种十二指肠镜（TJF-Q180V）；
- 检测3种微生物菌株：大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌，
- 测试3种微生物浓度：10 CFU/镜、100 CFU/镜和1000 CFU/镜；
- 运输时间：1小时和24小时，
- 每种条件下进行6次检测，即每种取样方法共进行6 × 2 × 3 × 3 = 108次检测，
- 重复采收率方法参照ISO 11737-1: 2018标准。



采样/培养方法

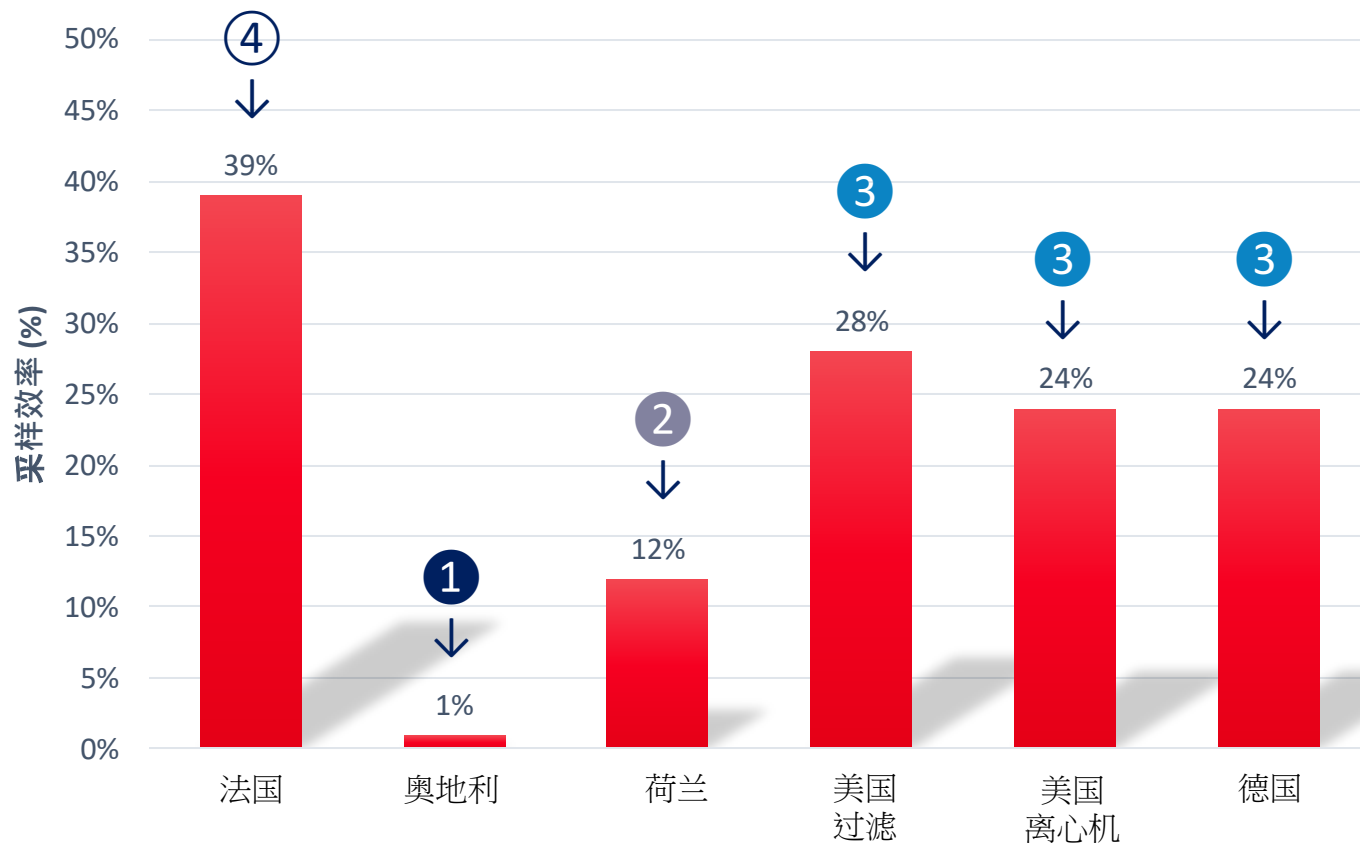
方法		法国	奥地利	荷兰	美国		德国
采样点	仪器管道	有	有 (FB ^a) [1]	有Y (FSBF ^e) [2]	有 (FBF ^b) [2]		有 (F) [2]
	抽吸/器械管道	有 (FSF) [3]	有 (F ^d) [3]	有Y (FSBF) [3]	沒有		有 (F) [3]
	空气/水管道	有 (FSF) [4]	有 (F ^d) [2]	有 (FSF) [4]	沒有		有 (F) [4]
	用刷子或棉签在清洁升降器的凹位（远端）	有 [1]	沒有	有 [1]	有 [1]		有 [1]
采样溶液		NDP + thio	无菌水	生理盐水 0.9%	无菌水		生理盐水 0.9%
在提取的样品中添加中和剂		沒有 (NDP + thio用于采样)	沒有	沒有	有 (NDP + thio)		有 (NDP + thio) 两次 浓缩溶液
样品体积（采样溶液+中和剂）		100 mL (远端) + 130 mL (管道)	30 mL	60 mL	82 mL		3 x 50 mL
摩擦器械管道（毛刷）		沒有	有	有	有		沒有
样本数量		2 (所有管道合并和远端)	1 (所有管道合并)	2 (所有管道合并和远端)	1 (器械管道&远端合并)		4 (所有管道分开&远端)
培养方法		过滤	离心	过滤	过滤	离心	过滤
样品提取所用总容积		230 mL	30 mL	60 mL	82 mL	82 mL	3 x 50 mL
分析的总样品量		230 mL	0.2 mL	60 mL	82 mL	82 mL	3 x 50 mL
分析的样品容积百分比		100%	6.6%	100%	100%	100%	100%
培养基		胰蛋白胨（大豆琼脂TSA）	血琼脂+麦康凯琼脂	R2A琼脂	血琼脂	血琼脂	血琼脂
培养时间		5天	5 days	3 days	3 days	3 days	2 days
培养温度		30°C	35°C then 28°C	35°C	35°C to 37°C	35°C to 37°C	36°C
根据来源的结果表达		CFU/内窥镜	CFU/mL	CFU/内窥镜	CFU/内窥镜	CFU/内窥镜	CFU/管道

(a) FSF: Flush-Suction-Flush, (b): FBF: Flush-Brush-Flush, (c): FB: Flush-Brush, (d) F: Flush, (e): FSBF: Flush-Suction-Brush-Flush. Y: Yes, N: No, NDP + thio: Neutralizing Pharmacopeia Diluent plus thiosulfate. [x]: figures in square brackets define the chronology in which channels/sites were sampled.



内窥镜取样 / 培养方法的采样效率

平均采样效率 (R)



$$R = N1 / \sum_{k=0}^n N_k$$

- ① 未使用中和剂，仅分析了注入溶液的6.6%。
- ② 未使用中和剂。
- ③ 采样后添加中和剂。
- ④ 使用中和剂溶液进行采样。



需要制定标准

目标

提供已完成处理，可再次用于临床的可重复使用耐热性软式内窥镜和内窥镜阀门进行微生物污染检测的采样要求、指导和分析方法。

提供在已处理的可重复使用软式内窥镜或内窥镜阀门中检测到微生物污染时应采取的措施和实施指南。

Stages in the Development of an ISO Standard



Proposal Stage

A need for a new standard is identified.
A New Work item Proposal (NP) is submitted to the relevant technical committee: ISO members vote to approve the project.



Preparatory Stage

A project leader is appointed.
A working group is formed.
A working draft (WD) of the standard is prepared



Committee Stage

Technical discussions and revisions take place within the committee.
A Committee Draft (CD) is developed and circulated for comments



Enquiry Stage

The Draft International Standard (DIS) is distributed for public review and comment.
Feedback is collected from stakeholders and national bodies.
The draft is revised accordingly



Approval Stage

The Final Draft International Standard (FDIS) is submitted for formal voting.
If approved, it moves to publication

2024-07-26



2024-07-26

ISO/NP 25224

医疗器械的灭菌 -
可重复使用、耐热性
软式内窥镜的取样和
培养方法

ISO/TC
198/WG17



采样条件

事件相关采样



■ 采样应按以下方式进行，但不限于：

- a) 按预定相隔时间进行常规采样;
- b) 收到新的、借用的或维修/保养后的内窥镜后需于72 小时内采样;
- c) 在已确定的疾病爆发期间采样;
- d) 用于内窥镜清洗消毒器和内窥镜储存柜的性能确认.
- e) 当特定内窥镜被确定为高风险时采样

采样时间



进行采样时间:

- a) 内窥镜再处理后立即采样（性能鉴定）；
- b) 有足够的相隔时间，未使用前采样；或
- c) 经过适当的储存期后采样（常规采样）



采样频率



对于具有一个或多个管道的内窥镜，应按以下方式进行常规采样：

- a) 每三个月最少对每个内窥镜产品系列中的一个代表性内窥镜进行采样，该内窥镜应使用相同的内窥镜连接器组（参见 ISO 15883-4:2018 表 C.1，注 a），并按照 ISO 15883-4:2018 附录 I 进行采样；
- b) 每年至少对每个内窥镜进行一次采样。

注 1：采样频率、内窥镜数量以及每个产品系列的内窥镜数量可根据医疗机构的风险评估或当地法规进行调整。

注 2：为确保过程的可靠性和可重复性，所有内窥镜应定期进行测试，而非同时进行。

- 对于无管道内窥镜，采样频率应基于使用或储存过程中污染风险的评估。
- 对于内窥镜清洗消毒机或内窥镜存储柜的性能鉴定，应根据设施内部风险评估，每年至少对使用相同内窥镜连接器组件的每种内窥镜产品系列的一个代表（参见 ISO 15883-4:2018 表 C.1，注 a）进行一次采样。



采样介质

液体采样介质



液体采样介质应为：

1. 等渗溶液 [例如蛋白胨水、磷酸盐缓冲液或0.9%氯化钠溶液（参见ISO 11737-1）]，并含有中和剂，用于中和内窥镜管道或内窥镜表面残留的消毒剂；或
2. 不含中和剂的等渗溶液。采集的样品应立即与等体积的预先加入的中和剂混合。

采样溶液的容量



注入最小采样溶液容量应如下：

- 50 ml 抽吸和活检管道；
- 30 ml 空气和水管道；
- 10 to 30 ml 所有其他辅助管道。

注：每个管道注入的溶液体积至少应为该管道容积的两倍。

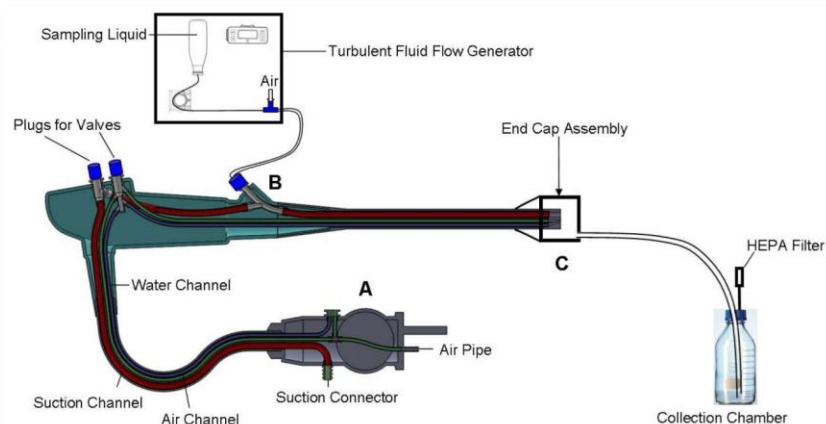
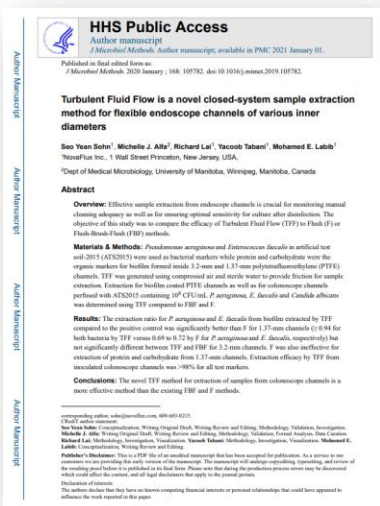
抽样方法



内窥镜管道应使用采样介质进行采样。内窥镜管道样本可以单独或混合采集。对于常规检测，建议混合采集所有内窥镜管道的样本。

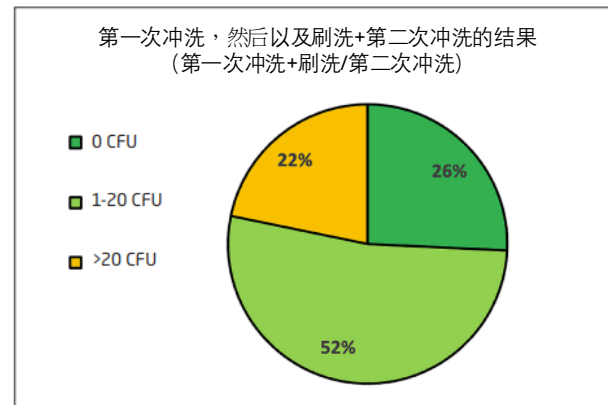
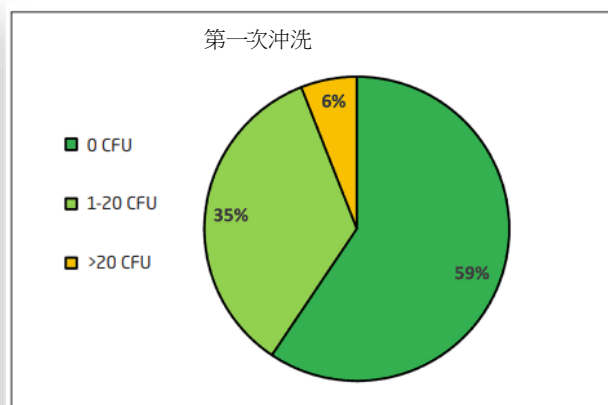


湍流



“与现有的FBF和F方法相比，新式的TFF方法提取结肠镜管道样本的效率更高”

Sohn S Y, Alfa M J, Lai R, Tabani Y, Labib M E Turbulent Fluid Flow is a novel closed-system sample extraction method for flexible endoscope channels of various inner diameters J Microbiol Methods. 2020 January ; 168: 105782



“研究结果显示，使用内窥镜清洁刷进行清洁后，再进行第二次刷洗，微生物的含量显着增加”。

M. Wehrl et al. Elution of working channels with the
flush-brush-flush-method for microbiological
testing of reprocessed endoscopes 2022.
Zentralsterilization, Volume 30, 2772-277

Percentage distribution of the n = 101 results obtained for the total colony count for the two test methods, divided into the categories 0 CFU, 1 – 20 CFU and > 20 CFU per working channel.

采样方法

采样方法



- 需要时（例如采收率低或校正系数高），所有可刷洗管道的取样方法均应包含刷拭（例如冲洗 - 刷洗 - 冲洗法），以提高污染物的采收率。

对于所有其他管道，可采用冲洗法或冲洗-抽吸-冲洗法。

注1：文献中描述了顺行或逆行冲洗取样方向。

注2：冲洗-抽吸-冲洗法取样过程中可透过在注射器阀门反复进行。

采样刷



- 采样刷应为无菌的。
- 刷子的尺寸应与待采样管道/区域或表面的直径和长度相匹配，并符合内窥镜制造商使用说明中的规格要求。
- 所有与这些刷子配合使用的工具（例如，用于在刷子穿过管道后剪掉刷头的剪刀）均应为无菌的。

[5] Buss A., Been M., Borgers R. et al. Endoscope disinfection and its pitfalls - requirement for retrograde surveillance cultures. Endoscopy. 2008, 40(04) pp 327-332

[8] Wehrl M. et al. Elution of working channels with the flush-brush-flush method for microbiological testing or reprocessed endoscopes – Part 1: Description of the method and microbiological results if the field study. Zentr Steri. 2022, 30(5) pp 272-277



无菌样品培养基

无菌采样刷

无菌镊子

采收率校正因子



- 采样方法应进行验证（例如，通过接种产品验证或重复采收验证），以证明能够采收内窥镜管道、内窥镜表面或内窥镜阀门上存在的细菌。至少应使用 3 个样本（装置）来确定采收率校正因子。
- 采收率校正因子，应能够在结果表达。
- 结果应能表示每个内窥镜或阀门上的活菌总数 (X) 并根据公式计算采收率校正因子 (RCF) (1)（参见 ISO 11737-1)

$$X = \frac{Y}{RCF_1} + \frac{Z}{RCF_2} \quad \text{位置} \quad (\text{公式1})$$

- X 每个内窥镜（或阀门）的校正微生物数量;
- Y 用于对管道（或阀门）进行采样的采样溶液总容积中计算的微生物数量
- RCF1 用于对管道（或阀门）进行采样的方法的采收率校正因子
- Z 用于对外部表面进行采样的采样溶液总容积中计算的微生物数量;
- RCF2 用于对外部表面进行采样的方法的采收率校正因子

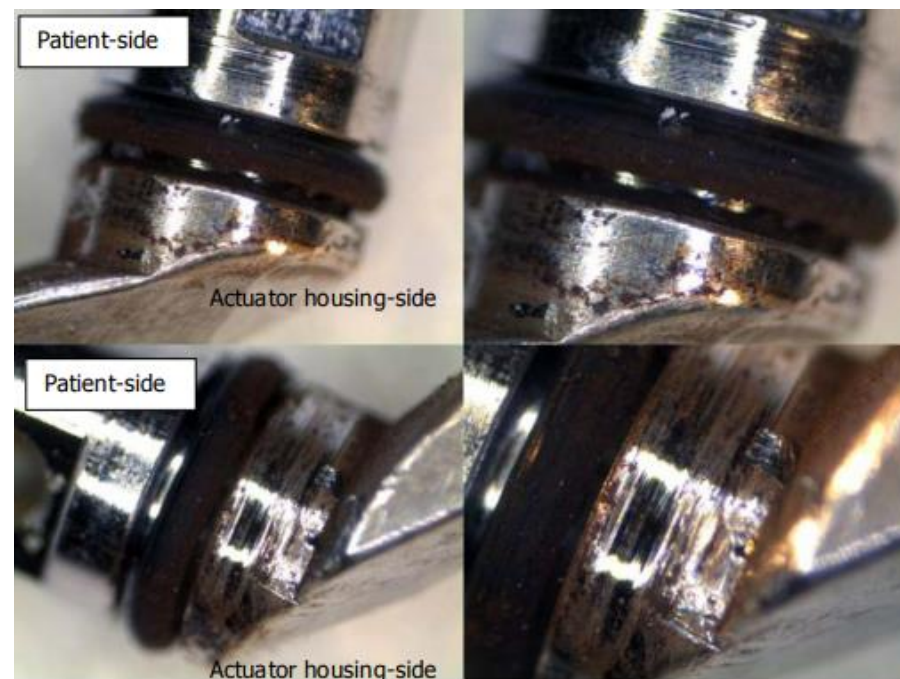
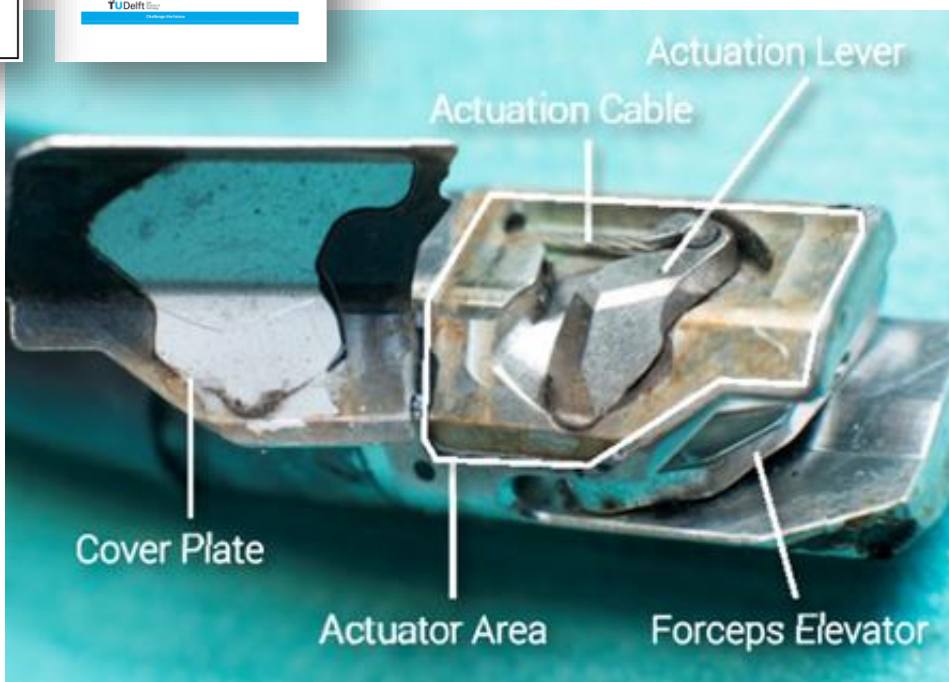
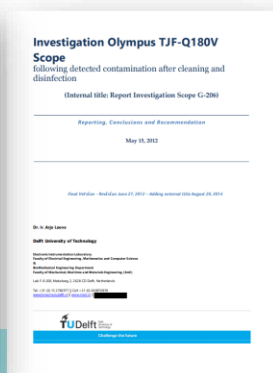
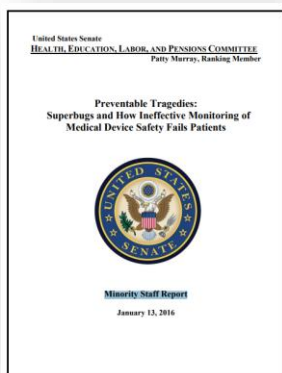


十二指肠镜

与十二指肠镜相关的多重耐药病原体暴发.

“所有现有和未来的窥镜在密封件、操動区域和 O 形圈都需要直接和认真地依據Scope G-206進行验证.”

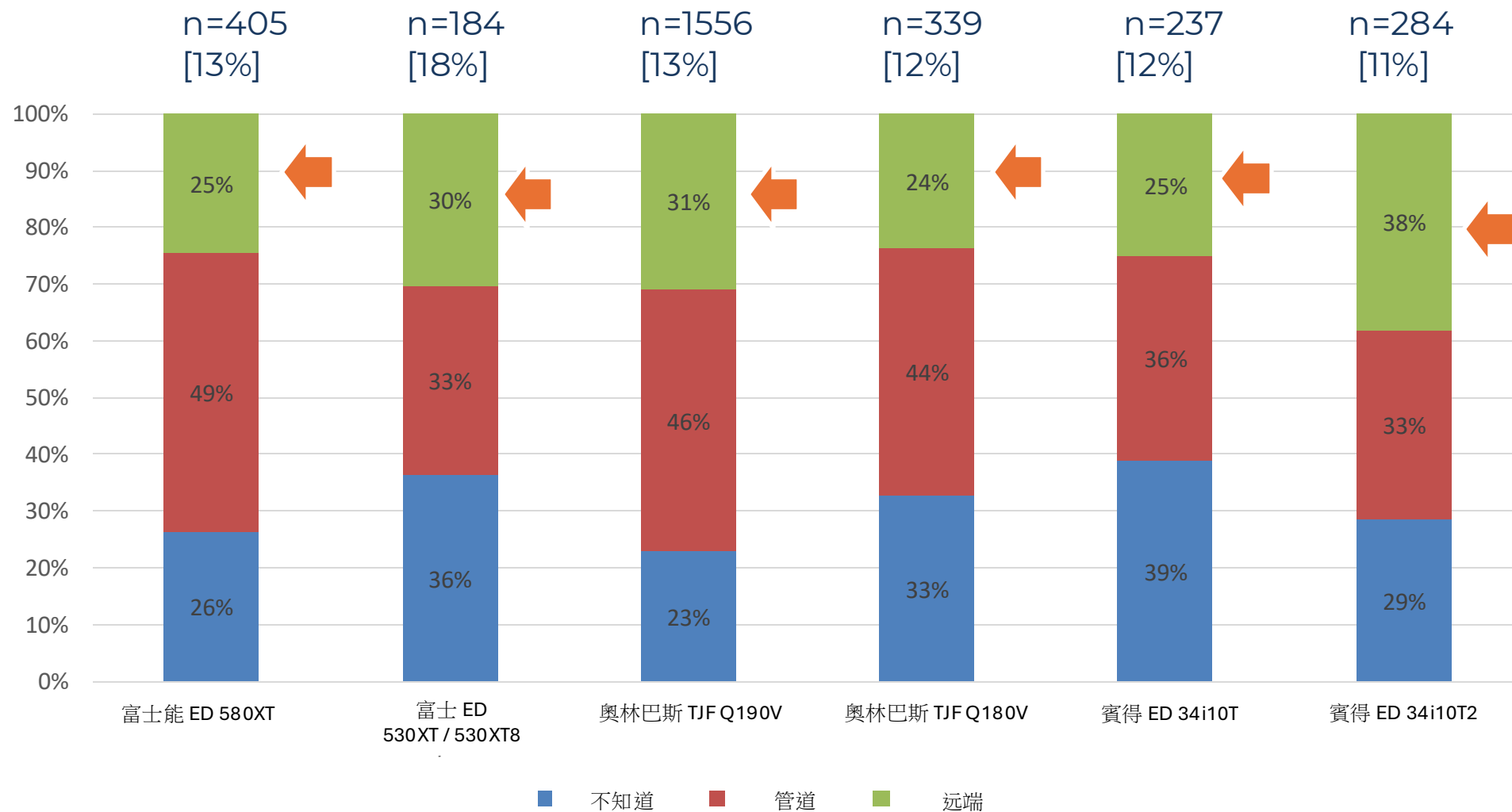
Dr. Ir. Arjo Loeve, Delft University of Technology, “Investigation Olympus TJF-Q180V scope: Following detected contamination after cleaning and disinfection” (May 15, 2012)



Murray, Patty. 可预防的悲剧：超级细菌以及医疗器械安全监测不力如何导致患者受害. s. d.
<https://www.help.senate.gov/imo/media/doc/Duodenoscope%20Investigation%20FINAL%20Report.pdf>



十二指肠镜污染(2019-2024)

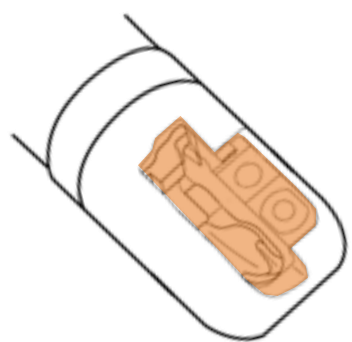


外部形状复杂

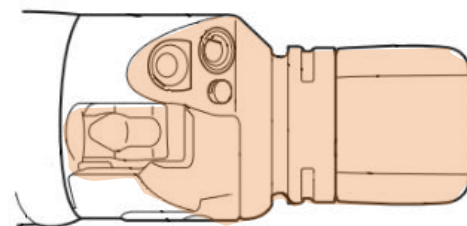
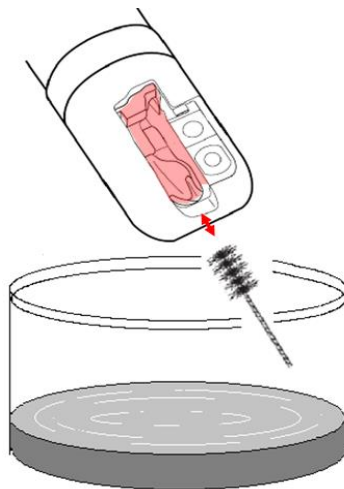


- 1 复杂形状（例如十二指肠镜或超音波内视镜的远端）进行采样时，应采用刷拭和用采样液冲洗或刷拭和浸泡采样液的方法。采样过程中可能需要操作升降器等活动部件。

注意：其他关键表面（例如球囊固定处、阀缸、控制旋钮）可根据风险评估结果进行采样。



十二指肠镜



线性超声镜



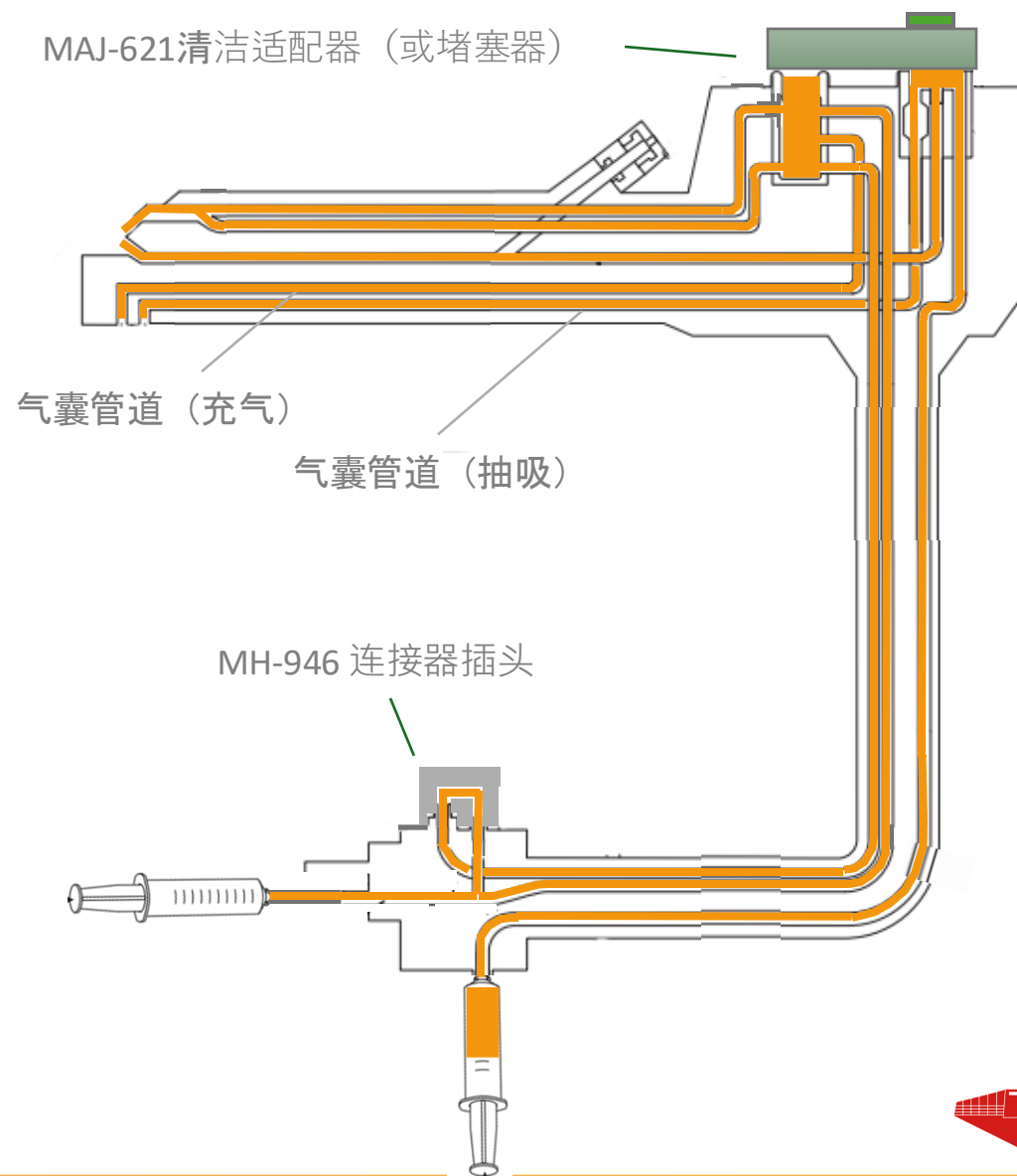
超声内窥镜

奥林巴斯 GF-UE190

- 使用 MAJ-621 清洁适配器（或堵塞器）和 MH-946 连接器插头

⚠ 无法确保球囊管道（抽吸部分）已正确取样。

⚠ 无法确保已对气囊管道（充气部分）进行充分取样。

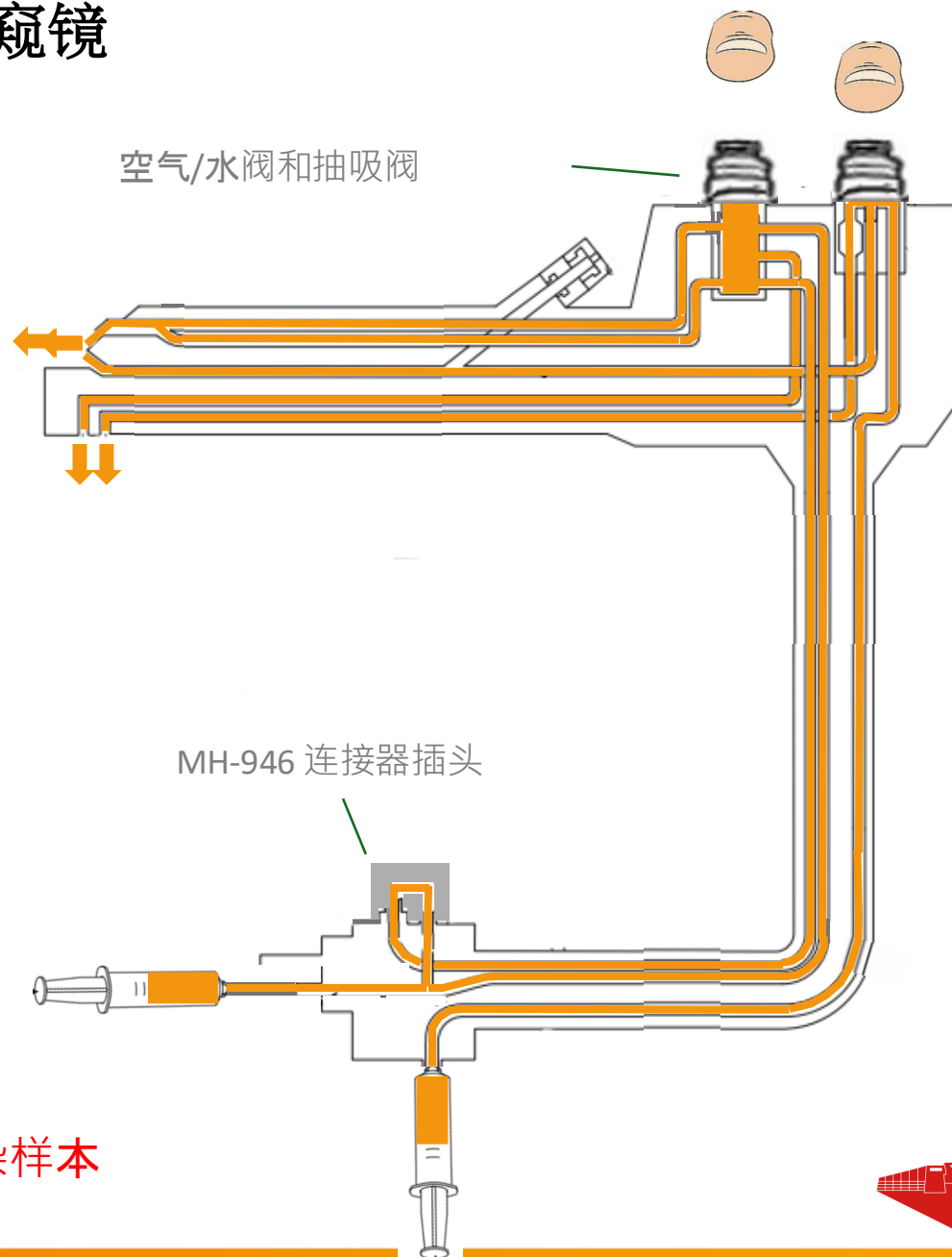


超声内窥镜

奥林巴斯 GF-UE190

使用空气/水和抽吸阀以及 MH-946 连接器进行采样。

- 将抽吸阀按下至第一档，进行抽吸/器械管道采样。
- 将抽吸阀按下至第二档，进行球囊管道取样（抽吸）
- 堵塞空气/水阀孔在空气管道采样，
- 将空气/水阀按下至第一档，进行水管道取样
- 将空气/水阀按下至第二档，进行球囊管道（充气）采样，



空气/水阀和抽吸阀有可能会污染样本



比较两种超声内窥镜采样方法的有效性

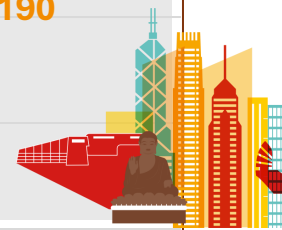
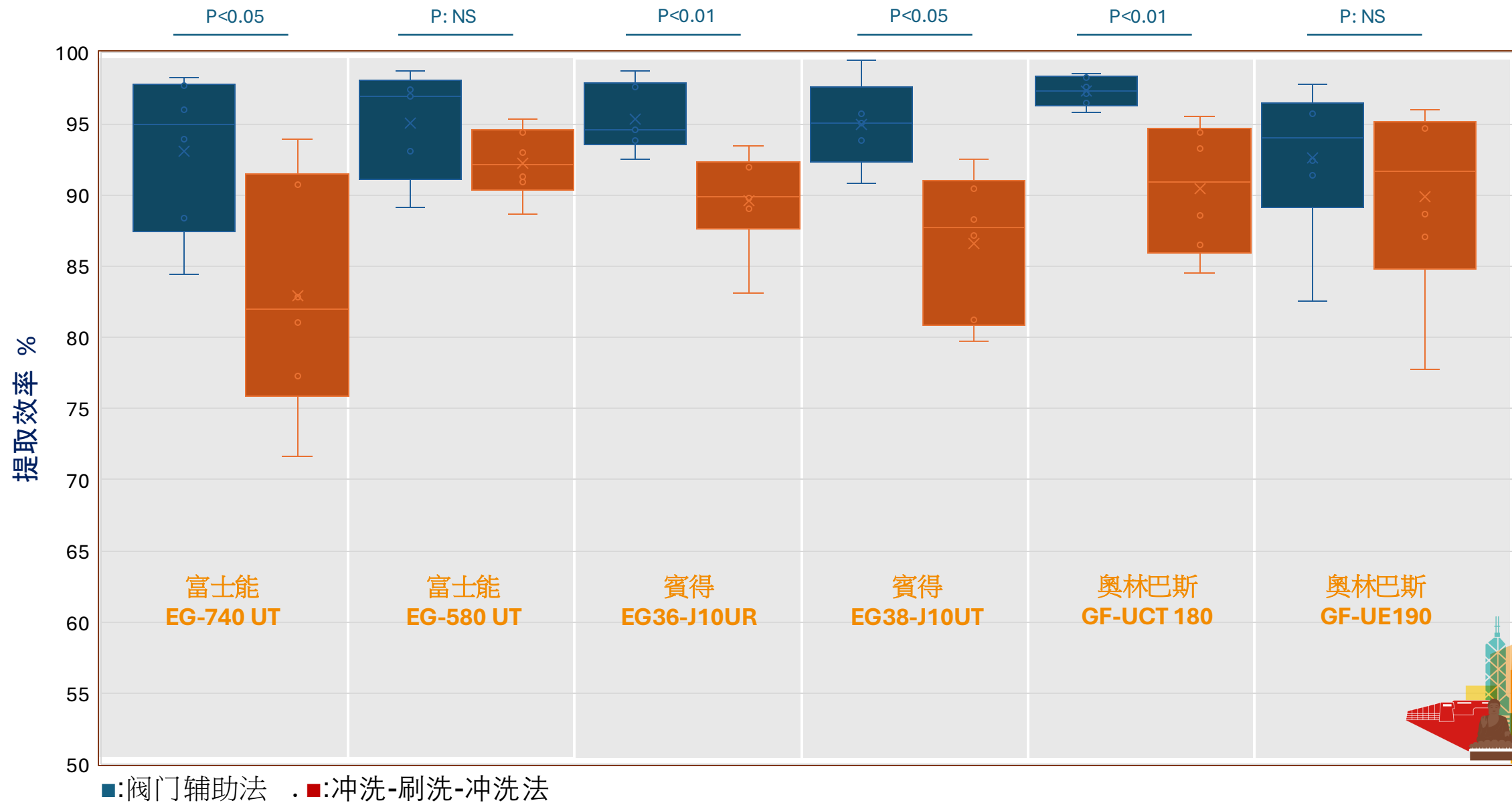
目的

- 本研究旨在确定两种超声内窥镜采样方法（“阀门辅助”（VA）法和“冲洗-刷洗-冲洗”（FBF）法）的有效性。

原理

- 内窥镜按照内窥镜制造商的使用说明（IFU）进行人工再处理，并用溶于0.5%氯化钠溶液的微生物悬液（含有大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌）进行人工污染。
- 培育30分钟后，使用已测试的采样方案对内窥镜进行5次连续采样。样本在5°C下保存1小时（运输时间），并使用相应测试方案中推荐的方法测定每个样本中存在的微生物数量。每种采样方案的生物负荷采收率按照ISO 11737-1:2018标准计算。
- 测试了 6 款内窥镜：富士能 EG-740UT,富士能 EG-580UT, 宾得 EG36-J10UR, 宾得EG38J10UT, 奥林巴斯 GF-UCT180,奥林巴斯 GF-UE190。





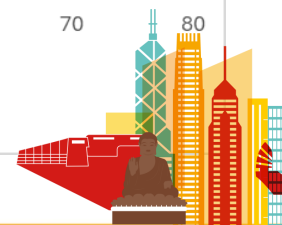
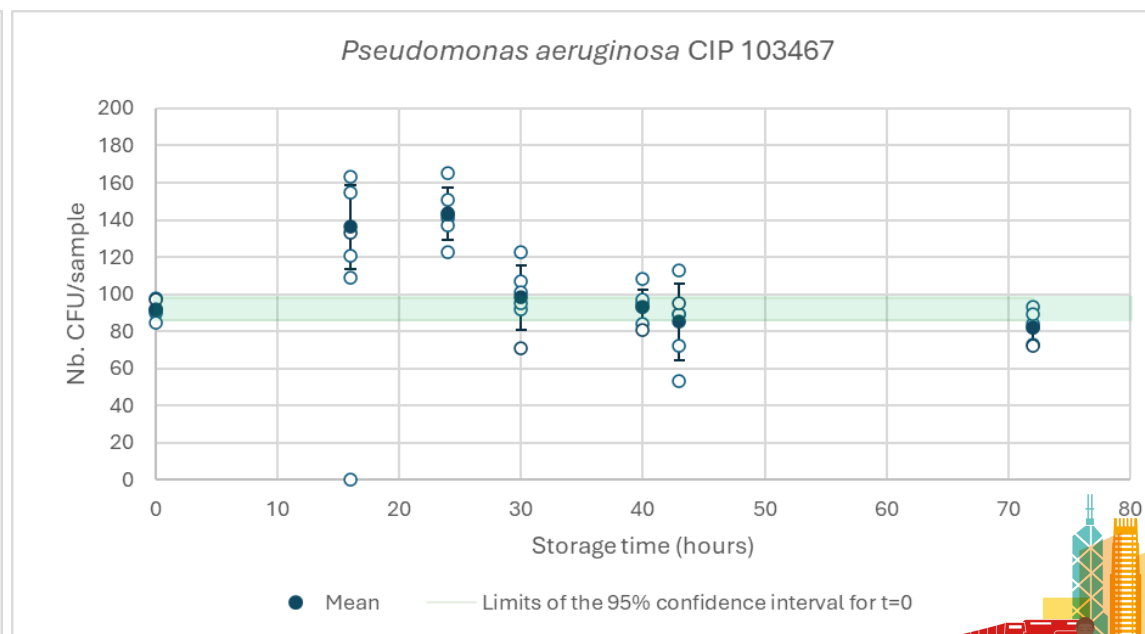
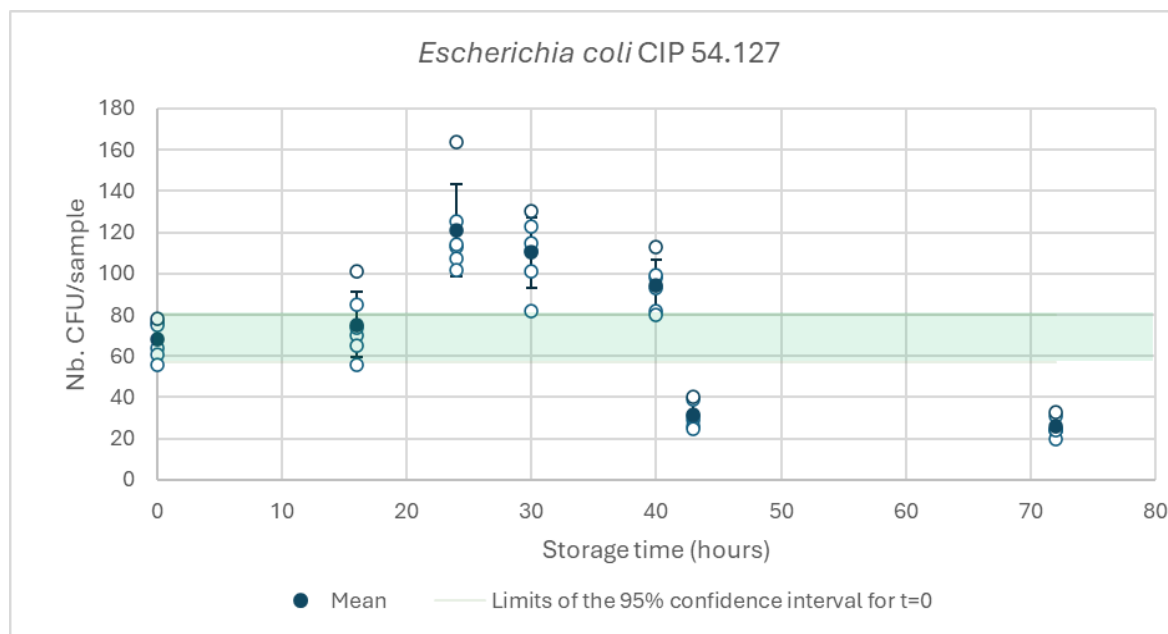
运输条件



样品应保存在 $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ 的温度下，并尽快进行培养，理想情况下应在 24 小时内进行，最长不超过 48 小时。

注意：培养时间过长可能会影响培养方法的准确性。

如果使用其他采样溶液，或因运输时间过长而导致培养和孵育延迟，则应进行验证。



培养方法



- 文献中描述了几种样品分析方法，例如过滤[1][2]或离心（参见GENSA 2025附件B）（see Annex B, GENSA 2025）
 - 建议分析方法是使用最大孔径为0.45 μm的滤膜过滤。
 - 如果其他分析方法经过验证适用于预期用途，且不逊于本文件中规定的分析方法亦可采用。
- 注：过滤法已被证明比其他培养方法（例如离心法）具有更高的采收率。[3].

Incubation conditions



- 应使用非选择性培养基，例如平板计数琼脂（PCA）、R2A、血琼脂或胰蛋白胨大豆琼脂（TSA），来测定样品中嗜氧性细菌的总数。
- 将培养皿在 30 °C – 35 °C 下培养三天，然后在 20 °C – 25 °C 下培养两天。

- [1] ALFA M., SINGH H. Contaminated flexible endoscopes: Review of impact of channel sampling methods on culture results and recommendations for root-cause analysis. Infect Control Hosp Epidemiol. 2022, 43(5) pp 623-638
- [2] PINEAU L., ALFA M., RADIX C. Endoscope sampling and culturing methods. J Hosp Infect. 2024, 149 pp 36-45
- [3] EL BOUJNOUNI H., NAIT BALLA K., BELKADI B., RAHOUTI M. Comparison between the recovery rate of three concentration protocols of water samples intended for analysis by Molecular Biology: Membrane filtration, filtration on gauze pad and centrifugation. Saudi J Biol Sci. 2022, 29(3) pp 1592-1597. doi: 10.1016/j.sjbs.2021.11.004. Epub 2021 Nov 11. PMID: 35280573; PMCID: PMC8913413.



阐释标准



	Number of viable bacteria (CFU) per endoscope (or valve)			
	<1	1-19	20 - 100	>100
Total aerobic flora (a)			Alert level	Action level
Indicator organisms		Action level	Action level	Action level
(a) Local regulations can specify different values for Total aerobic flora count.				

指示細菌



- 指示細菌是指与内窥镜使用部位感染相关的微生物。选择合适的指示菌时，至少应涵盖以下微生物：
- 大肠杆菌；
 - 铜绿假单胞菌和其他假单胞菌科细菌；
 - 不动杆菌属；
 - β -溶血性链球菌；
 - 非典型分枝杆菌（根据内窥镜的预期用途）；
 - 酵母菌（根据内窥镜的预期用途）；
 - 真菌（根据内窥镜的预期用途）。



结论



微生物采样和检测方案的标准化对于确保结果的一致性、可靠性和临床意义至关重要。

采用循证指南有助于促进不同医疗机构间实践的协调一致，加强质量控制，促进实验室间结果的一致性，增强数据共享，并提高患者安全。

感谢...

