

ATP 生物荧光检测法对重症监护室 物体表面污染程度的评估价值*

倪洁^a, 陈宇明^b, 赵琦^a, 吴萍^a (复旦大学附属华山医院 a. 重症医学科; b. 检验科, 上海 200040)

摘要:目的 探讨腺嘌呤核苷三磷酸(ATP)生物荧光检测法对重症监护室(ICU)物体表面污染程度的评估价值。方法 2016年1~12月期间ICU内30组高频接触物体(每组包括床旁桌、监护仪、电脑键盘三种物体)被选为研究对象,每个物体在消毒前后均进行采样评测,每次采样时将物体表面均分为两处区域,分别通过ATP生物荧光检测法和细菌培养计数法来评估物体表面污染程度,归为ATP组和对照组。比较两组消毒前后的荧光检测值与菌落数,采用Pearson相关分析同一个样品荧光检测值与菌落数的相关性,并对两者的合格率进行Kappa一致性检验。结果 ①两组的呼吸机面板、床旁桌、电脑键盘消毒后的荧光检测值与菌落数均显著低于消毒前,差异均有统计学意义($t=8.107\sim26.393$, 均 $P<0.05$)。②Pearson分析结果表明无论是消毒前还是消毒后,呼吸机面板、床旁桌、电脑键盘的荧光检测值与菌落数之间均无显著相关性($r=0.199\sim0.338$, 均 $P>0.05$)。③消毒前后两组呼吸机面板、床旁桌、电脑键盘的检测合格率比较,差异均无统计学意义($\chi^2=0.000\sim1.404$, 均 $P>0.05$)。消毒前ATP组与对照组的合格率分别为0与8.9%,消毒后两组的合格率分别为86.7%与91.1%,一致性检测结果提示Kappa值=0.776(95%CI:0.575~0.978) >0.75 ,提示两者一致程度相当满意。结论 ATP生物荧光检测法能作为一种快速、简便的初筛方法,辅助细菌培养计数法评估ICU内物体表面污染程度,应用效果令人满意,值得临床推广应用。

关键词:腺嘌呤核苷三磷酸生物荧光检测法;细菌培养;污染程度;消毒质量

中图分类号:R446.5 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2017)06-089-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2017.06.025

Value of ATP Bioluminescence Assay for Assessing Object Surface Contamination Degree in Intensive Care Unit

NI Jie^a, CHEN Yu-min^b, ZHAO Qi^a, WU Ping^a (a. Intensive Care Unit; b. Department of

Clinical Laboratory, Huashan Hospital Affiliated to Fudan University, Shanghai 200040, China)

Abstract: Objective To investigate the value of adenosine triphosphate (ATP) bioluminescence assay for assessing object surface contamination degree in intensive care unit (ICU). Methods 30 groups of high frequency contact object (including ventilator panel, bedside table and computer keyboard) in ICU from January to December 2016 were enrolled for the study. Each object was sampled and evaluated before and after disinfection, and their surface was divided into two areas, whose surface contamination degree was evaluated by ATP bioluminescence assay and bacterial culture method that were classified as ATP group and control group. The fluorescence detection value and colony number were compared between two groups before and after disinfection. The correlation between the fluorescence detection value and colony number was analyzed by Pearson correlation in the same sample, and the Kappa consistency test was used for the qualification rates of two detections. Results ①The fluorescence detection value and colony number of ventilator panel, bedside table and computer keyboard after disinfection in two groups were significantly lower than that before disinfection ($t=8.107\sim26.393$, all $P<0.05$). ②Pearson analysis result showed that both before and after disinfection, the fluorescence detection value had no significant correlation with colony number of ventilator panel, bedside table and computer keyboard ($r=0.199\sim0.338$, all $P>0.05$). ③There were no significant differences in the qualification rate between two groups of ventilator panel, bedside table and computer keyboard before and after disinfection ($\chi^2=0.000\sim1.404$, all $P>0.05$). The qualification rate before the disinfection of ATP group and control group were 0 and 8.9%, and that after disinfection were 86.7% and 91.1%, whose Kappa consistency test result showed that the Kappa value was 0.776 (95%CI:0.575~0.978) >0.75 , so the consistency was quite satisfied. Conclusion ATP bioluminescence assay could be used as a rapid and handy preliminary screening to assist bacterial culture method to evaluate the object surface contamination in ICU, and the result was satisfactory and it would be worthy of clinical application.

Keywords: adenosine triphosphate bioluminescence assay; germiculture; contamination degree; disinfectant quality

作为医院危急重症患者的聚集地,重症监护病房(intensive care unit, ICU)是院内感染、多重耐药菌发生率最高的科室之一^[1]。患者周围的病房

环境是微生物的重要传播媒介,故ICU常定期进行病房的清洁消毒,包括床旁桌、监护仪、电脑键盘等医护人员、患者及其家属接触频率较高的物体,

* 作者简介:倪洁(1976—),女,本科学历,副主任护师,主要从事危重症护理和临床检验学的研究, E-mail: nijie30@hotmail.com。

建立物体表面的清洁消毒管理机制和评价体系,及时、有效地评价病房环境清洁效果,对预防和控制ICU的院内感染具有重要意义。细菌培养计数法是临床上检测物品消毒质量的“金标准”,可确定消毒后有无细菌残留,但检测时间很长,多需要48 h,且对操作的人员和场所要求较为严格,实施起来较为繁琐,费时费力,如何快速、灵敏地检测物体表面清洁质量是长期困扰医务人员的难题。腺嘌呤核苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP)生物荧光检测法是基于萤火虫发光原理,利用“荧光素酶-荧光素体系”快速检测样品内的ATP含量,借此来反映微生物或有机物的残留量,从而判断其卫生状况。近年来,国内已有研究开始探索ATP生物荧光检测法在快速测定细菌溶液内细菌总数^[2]、医疗器械清洗质量^[3]、医生手卫生依从性^[4]等方面的应用效果,但较少研究关注其在病房内的环境清洁程度的应用价值。本研究随机选取2016年1~12月期间复旦大学附属华山医院ICU内30组高频接触物体为研究对象,比较ATP生物荧光检测法和细菌培养计数法两者对物体表面污染程度的检测结果,旨在探讨前者在ICU内卫生状况的评估价值,为临床提供参考依据,报道如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取2016年1~12月期间复旦大学附属华山医院ICU内30组高频接触物体为研究对象,每组包括呼吸机面板、床旁桌、电脑键盘三种物体,每个物体在消毒前后均进行采样评测,采样时将物体表面均分为两处区域,分别采用ATP生物荧光检测法和细菌培养计数法评估物体表面污染程度,归为ATP组和对照组,两组各有样本180份,包括消毒前和消毒后各90份。

1.2 试剂与仪器 恒温培养箱(康恒电子科技有限公司);琼脂培养基(北京索莱宝科技有限公司);SystemSure Plus™ ATP手持式荧光检测仪及配套的AccuPoint取样器涂抹棒(美国Hygiena公司);“洁力佳”医用表面消毒巾(杭州朗索医用消毒剂有限公司)。

表1

两组消毒前后的荧光检测值与菌落数比较($n=30$)

研究对象	ATP组(RLU/cm ²)				对照组(cfu/cm ²)			
	消毒前	消毒后	t 值	P 值	消毒前	消毒后	t 值	P 值
呼吸机面板	220.62±66.83	4.08±1.03	17.745	<0.001	25.13±9.87	7.17±2.08	9.752	<0.001
床旁桌	123.66±28.73	3.13±1.06	22.963	<0.001	11.69±3.62	5.03±1.71	9.111	<0.001
电脑键盘	187.03±38.11	3.51±1.30	26.393	<0.001	15.59±6.08	6.13±1.97	8.107	<0.001
合计	177.10±56.03	3.57±1.58	16.959	<0.001	17.47±8.88	6.11±2.35	11.732	<0.001

2.2 同一个物品荧光检测值与菌落数的相关性分析 见表2。Pearson分析结果表明无论是消毒前还是消毒后,呼吸机面板、床旁桌、电脑键盘的荧光

1.3 方法

1.3.1 样品的采集、检测及消毒:在消毒前,采样人员将物体表面随机选取两处区域(10 cm×10 cm),然后戴无菌手套进行采样,一处区域将AccuPoint取样器涂抹棒自转式直线涂抹物体表面,然后立即用ATP生物荧光检测仪进行检测,记录荧光检测值,即相对光值单位(RLU)。在另一块区域,采样人使用无菌采样棉签直线涂抹物体表面,放入盛有10ml无菌生理盐水的试管内,立即送我院检验科,接种于营养琼脂培养基,于37℃孵箱培养48 h,之后在显微镜下记录菌落数然后采用“洁力佳”医用表面消毒巾(18 mm×25 mm,12 g)进行物品的消毒,S形擦拭2遍,每张消毒巾消毒擦拭面积1~2 m²后更换。擦拭结束后自然晾干,5 min后再次进行采样,方法与区域同消毒前。记录所有物品消毒前后的荧光检测值与菌落数。

1.3.2 评价标准:根据厂家推荐,荧光检测值以5RLU/cm²为临界值,若<5RLU/cm²,则认为该样本的卫生状况合格,反之不合格。根据《消毒技术规范》(2002版)Ⅲ类环境要求,菌落数以10cfu/cm²为临界值,若<10cfu/cm²,则认为该样本的卫生状况合格,反之不合格。

1.4 统计学分析 所有资料均采用SPSS19.0统计学软件进行统计分析,定性资料采用 χ^2 检验,定量资料以算术平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组比较用 t 检验。采用Pearson相关分析同一个样品荧光检测值与菌落数的相关性,并对两组的合格率进行Kappa一致性检验,若Kappa值>0.750,提示两者一致程度相当满意,若Kappa值<0.400,提示一致程度不够理想。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组消毒前后的荧光检测值与菌落数比较 见表1。结果表明,两组的呼吸机面板、床旁桌、电脑键盘消毒后的荧光检测值与菌落数均显著低于消毒前,差异均有统计学意义($t=8.107 \sim 26.393$, $P<0.05$)。

检测值与菌落数之间均无显著相关性($P>0.05$)。

2.3 两组消毒前后的检测结果分析 见表3和表4。结果表明,消毒前后两组呼吸机面板、床旁桌、

电脑键盘的检测合格率比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。消毒前 ATP 组无一份样本合格,对照组仅有 8 份样本合格,合格率为 8.9%。消毒后,ATP 组与对照组分别有 78 例,82 例合格,总

表 2

Pearson 分析结果

指标	消毒前			消毒后		
	呼吸机面板	床旁桌	电脑键盘	呼吸机面板	床旁桌	电脑键盘
r 值	0.226	0.258	0.199	0.301	0.338	0.289
P 值	0.230	0.169	0.292	0.106	0.068	0.121

表 3 消毒前后两组的检测合格率比较($n=30$)

研究对象	ATP 组	对照组	χ^2 值	P 值
消毒前 呼吸机面板	0(0)	24(80.0)	0.517	0.472
床旁桌	0(0)	28(93.3)	1.404	0.236
电脑键盘	0(0)	26(86.7)	1.404	0.236
消毒后 呼吸机面板	2(6.7)	26(86.7)	0.480	0.488
床旁桌	3(10.0)	28(93.3)	0.000	1.000
电脑键盘	3(10.0)	28(93.3)	0.185	0.667

表 4 消毒后两组全部样本的检测相关性分析

对照组	ATP 组		合 计
	合格份数	不合格份数	
合格份数	78	4	82
不合格份数	0	8	8
合 计	78	12	90

3 讨论 作为细胞能量的来源,ATP 广泛存在于各类的生物体内,通常情况下其含量较为恒定,可用于判断样品中微生物与其他生物的残余量。ATP 快速检测法最早用于评估食物加工物体表面的清洁度,近年来,国内外开始逐渐将其应用于卫生医疗机构的感染控制监测,其检测时间短(通常只需 15s 左右),简便易行,总体效果令人满意^[5~10]。Huang 等^[11]研究比较了目测、微生物培养、ATP 生物荧光检测法 3 种环境检测方法,认为 ATP 生物荧光检测法是一种较为客观、敏感、快速的医院清洁评价方法。丁欢等^[12]研究结果表明 ATP 生物荧光检测法能快速、方便地初筛软式内镜消毒质量,与细菌培养计量的结果具有高度一致性,可辅助后者进行软式内镜消毒质量的监控。

本研究结果表明,ICU 内呼吸机面板、床旁桌、电脑键盘这三类物品消毒前的污染程度均较重,尤其是呼吸机面板,ATP 组无一份样本合格,对照组的合格率也仅为 8.9%,消毒后的检测结果提示其污染程度有了明显改善,荧光检测值与菌落数均显著降低,提示有必要定期进行 ICU 内的物品消毒。进一步分析表明消毒前后三组物品的荧光检测值与菌落数之间均无显著相关性($P>0.05$),提示临床上不能根据荧光检测值来估算细菌含量,ATP 生物荧光检测法尚不能替代传统的

合格率分别为 86.7% 和 91.1%,一致性检测结果提示 Kappa 值=0.776(95%CI:0.575~0.978),该值 >0.75 ,提示两者一致程度相当满意。

细菌培养计数法。刘锐等^[13]研究同样表明对于经过初步清洗后的内镜而言,ATP 生物荧光法与细菌培养计数法的检测结果之间不存在明显的线性关系。这可能是由于其不仅能检测细菌含有的能量,还能检测出其他有机物的能量^[14],其难以鉴别出细菌和其他污染物,结果容易受到微生物种类、光度计的种类、残留消毒剂、被测物体形状等因素的影响^[15],给临床上判断污染物的类别提出了很高的挑战。但是,两组消毒前后的检测合格率比较无显著差异,消毒后检测结果的一致程度令人满意,提示 ATP 生物荧光检测法能有助于提示物体表面的染菌情况,可初步、快速地判断物体表面的污染程度,如果检测不合格则应加强物体的清洗消毒,必要时可反复检测。

综上所述,ATP 生物荧光检测法能作为一种快速、简便的初筛方法,辅助细菌培养计数法评估 ICU 内物体表面污染程度,应用效果令人满意,值得临床推广应用。

参考文献:

- [1] 孙 谦,刘 培,屈青云.湘雅医院临床分离鲍曼不动杆菌耐药变迁及临床分布特征[J].现代检验医学杂志,2017,32(3):67-70.
Sun Q, Liu P, Qu QY. Clinical distribution and resistant transition of clinical isolated *Acinetobacter baumannii* in Xiangya hospital[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2017, 32(3): 67-70.
- [2] 陆 烨,胡国庆,陆龙喜,等.ATP 生物荧光技术快速测定细菌总数的应用研究[J].中国消毒学杂志,2013,30(7):613-615,618.
Lu Y, Hu GQ, Lu LX, et al. Research on feasibility of ATP bioluminescence determination of the total number of bacteria[J]. Chinese Journal of Disinfection, 2013, 30(7): 613-615, 618.
- [3] 李宝珍,史 婧,李 倩.应用 ATP 生物荧光检测法评价医疗器械清洗质量[J].中国感染控制杂志,2016,15(1):59-60,63.
Li BZ, Shi J, Li Q. Application of ATP bioluminescence assay in evaluating cleaning quality of medical devices[J]. Chinese Journal of Infection Control, 2016, 15(1): 59-60, 63.
- [4] 张 辰,张文静,谭慧琼,等.ATP 生物荧光检测法提高 ICU 轮科医生手卫生依从性的效果[J].中国感染控制杂志,2014,13(3):152-154.

(下转 95 页)

- Zhang C, Zhang WJ, Tan HQ, et al. ATP bioluminescence assay for monitoring effectiveness of hand hygiene compliance of rotating doctors in an intensive care unit[J]. Chinese Journal of Infection Control, 2014, 13(3): 152-154.
- [5] Arroyo MG, Ferreira AM, Frota OP, et al. Effectiveness of ATP bioluminescence assay for presumptive identification of microorganisms in hospital water sources[J]. BMC Infect Dis, 2017, 17(1): 458.
- [6] Richard RD, Bowen TR. What orthopaedic operating room surfaces are contaminated with bioburden? a study using the ATP bioluminescence assay[J]. Clin Orthop Relat Res, 2017, 475(7): 1819-1824.
- [7] 刘 晓. 医疗器械清洗应用 ATP 生物荧光检测法的检测效果分析[J]. 中国卫生标准管理, 2016, 7(6): 188-189.
- Liu X. Detection and analysis of effect of cleaning medical instruments by ATP bioluminescence assay[J]. China Health Standard Management, 2016, 7(6): 188-189.
- [8] Ho YH, Wang LS, Jiang HL, et al. Use of a sampling area-adjusted adenosine triphosphate bioluminescence assay based on digital image quantification to assess the cleanliness of hospital surfaces[J]. Int J Environ Res Public Health, 2016, 13(6): 576.
- [9] Lewis BD, Spencer M, Rossi PJ, et al. Assessment of an innovative antimicrobial surface disinfectant in the operating room environment using adenosine triphosphate bioluminescence assay[J]. Am J Infect Control, 2015, 43(3): 283-285.
- [10] Amodio E, Dino C. Use of ATP bioluminescence for assessing the cleanliness of hospital surfaces: a review of the published literature (1990~2012)[J]. J Infect Public Health, 2014, 7(2): 92-98.
- [11] Huang YS, Chen YC, Chen ML, et al. Comparing visual inspection, aerobic colony counts, and adenosine triphosphate bioluminescence assay for evaluating surface cleanliness at a medical center[J]. Am J Infect Control, 2015, 43(8): 882-886.
- [12] 丁 欢, 刘承军, 肖 长. ATP 生物荧光技术应用于软式内镜消毒质量检测的可行性研究[J]. 医疗卫生装备, 2017, 38(5): 107-109.
- Ding H, Liu CJ, Xiao C. Study on feasibility of ATP bioluminescence technology applied to disinfection quality monitoring of flexible endoscope[J]. Chinese Medical Equipment Journal, 2017, 38(5): 107-109.
- [13] 刘 锐, 浦 春, 李小宁. ATP 生物荧光法评价内镜清洗效果的对比研究[J]. 现代检验医学杂志, 2013, 28(6): 104-105, 109.
- Liu R, Pu C, Li XN. Contrastive study on ATP bioluminescence assay for evaluating the effect of endoscopic cleaning[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2013, 28(6): 104-105, 109.
- [14] Paciello L, Falco FC, Landi C, et al. Strengths and weaknesses in the determination of *Saccharomyces cerevisiae* cell viability by ATP-based bioluminescence assay[J]. Enzyme Microb Technol, 2013, 52(3): 157-162.
- [15] Brown E, Eder AR, Thompson KM. Do surface and cleaning chemistries interfere with ATP measurement systems for monitoring patient room hygiene? [J]. J Hosp Infect, 2010, 74(2): 193-195.