

• 论 著 •

滤膜法、涂抹法和倾注法检测手术室内镜消毒效果的对比研究

邢嘉翌, 尹元, 王佳[△]
上海中医药大学附属上海市中西医结合医院检验科, 上海 200082

摘要:目的 比较滤膜法、涂抹法和倾注法检测手术室内镜消毒效果的能力。方法 随机选取该院 2019 年消毒后的手术室内镜 230 支为研究对象, 同一受检内镜均分别接受滤膜法、涂抹法及倾注法检测, 比较 3 种方法的检测合格率、病原菌检出率、菌落检出情况; 用 3 种方法检测 50 支手术室内镜, 计算检测的经济成本与时间成本。利用调查问卷对 36 所医院手术室内镜消毒效果检测方法的选择及影响因素进行调查。结果 滤膜法检测各类型手术室内镜消毒效果的检测合格率明显低于涂抹法及倾注法, 病原菌检出率明显高于涂抹法及倾注法, 差异有统计学意义($P<0.05$)。滤膜法检出菌落数 $>0\sim20$ 、 $>20\sim100$ 、 $>100\sim500$ 、 >500 CFU 的内镜数明显多于涂抹法及倾注法, 差异有统计学意义($P<0.05$)。滤膜法的经济成本及时间成本高于涂抹法及倾注法。36 所医院中, 滤膜法的使用率明显低于涂抹法及倾注法, 差异有统计学意义($P<0.05$)。在手术室内镜消毒效果检测方法选择的影响因素中, 36 所医院对经济成本的选择率明显高于检测合格率及时间成本, 差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 涂抹法及倾注法检测手术室内镜消毒效果的能力较滤膜法差, 建议各级医院在充分考量成本、效益及远期影响后, 在条件允许的情况下尽量积极采用滤膜法完成手术室内镜消毒效果的检测。

关键词:手术室内镜; 消毒效果; 滤膜法; 涂抹法; 倾注法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.12.018 中图法分类号:R446.5
文章编号:1673-4130(2021)12-1485-05 文献标志码:A

A comparative study of filter membrane method, smear method and pouring method in disinfection effect detection of operating room endoscope
XING Jiayi, YIN Yuan, WANG Jia[△]
Department of Clinical Laboratory, Shanghai Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200082, China

Abstract: **Objective** To compare the ability of filter membrane method, smear method and pouring method in the disinfection effect detection of operating room endoscope. **Methods** A total of 230 operating room endoscopes after disinfection in the hospital in 2019 were randomly selected as the research objects, the same endoscope was detected by filter membrane method, smear method and pouring method, compared the detection qualified rate, pathogenic bacteria detection rate, colony detection situation among the 3 methods. Fifty operating room endoscopes were detected by 3 methods, and evaluated the economic cost and time cost. The questionnaire was used to investigate the selection and influencing factors of the disinfection effect detection of operating room endoscope in 36 hospitals. **Results** The detection qualified rate of filter membrane method was significantly lower than that of smear method and pouring method, and the pathogenic bacteria detection rate was significantly higher than that of smear method and pouring method, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The number of endoscopic colonies detected by the filter membrane method $>0-20$, $>20-100$, $>100-500$, >500 CFU was significantly more than that of the smear method and the pouring method, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The economic cost and time cost of filter membrane method were higher than those of smear method and pouring method. In 36 hospitals, the use rate of the filter membrane method was significantly lower than that of the smear method and the pouring method, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** The ability of smear method and pouring method to detect the disinfection effect of the operating room endoscope is worse than that of the filter

作者简介:邢嘉翌,女,主管技师,主要从事微生物检验研究。 [△] 通信作者, E-mail:jiajia176@hotmail.com。
本文引用格式:邢嘉翌,尹元,王佳. 滤膜法、涂抹法和倾注法检测手术室内镜消毒效果的对比研究[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(12): 1485-1488.

ter membrane method. It is suggested that hospitals at all levels should actively use the filter membrane method to detect the disinfection effect of the operating room endoscope when the conditions permit after considering the cost, benefit and long-term influence.

Key words: operating room endoscope; disinfection effect; filter membrane method; smear method; pouring method

手术室内镜具有材料特殊、结构复杂及精确度高的特点,其使用完毕后的消毒难度较大,严重影响消毒成功率^[1]。手术室内镜消毒效果的传统检测方法以涂抹法和倾注法为主^[2]。近年来,随着检测技术的不断革新,采用滤膜法对手术室内镜消毒效果进行检测逐渐被临床所重视,但因对滤膜法检测效果及成本控制的综合性研究较少,目前其在临床上尚未得到广泛应用^[3]。本研究采用滤膜法、涂抹法和倾注法 3 种方法分别检测手术室内镜,并对比分析其检测效果及检测成本,旨在寻求手术室内镜消毒效果检测的最佳方法,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机选取本院 2019 年消毒后的手术室内镜 230 支为研究对象,其中胃镜 84 支,肠镜 66 支,纤维支气管镜(简称纤支镜)62 支,胆道镜 8 支,鼻咽镜 10 支。纳入标准:手术室内镜均分别接受了滤膜法、涂抹法及倾注法 3 种方法的检测。排除标准:(1)手术室内镜仅接受了 1 种或两种方法的检测;(2)手术室内镜已确定受到污染。选取邻近省市的 36 所医院,调查其手术室内镜消毒效果检测方法的选择及影响因素,其中三甲医院 14 所、三乙医院 8 所、二甲医院 8 所、二乙医院 6 所。本研究通过本院医学伦理委员会批准备案。

1.2 方法

1.2.1 采样方法 选取消毒后的手术室内镜,用无菌注射器抽取 30 mL 洗脱液从内镜活检口注入,对内镜管径进行冲洗,收集冲洗后的洗脱液标本并送检。

1.2.2 检测方法 将收集的 30 mL 洗脱液标本离心、混匀后备用,所有检测均在无菌环境下进行。(1)涂抹法:取 1 mL 洗脱液标本,均分为 2 份后利用无菌吸管滴至含 20 mL 凝固琼脂的培养皿(直径 100 mm)中,利用无菌 L 棒将洗脱液标本均匀涂抹直至干燥,随后置于(35±2)℃ 恒温箱中培养 72 h。(2)倾注法:取 1 mL 洗脱液标本,均分为 2 份后倾注至含 20 mL 融化琼脂的培养皿(直径 90 mm)中,边倾注边缓慢摇匀至琼脂凝固,随后置于(36±2)℃ 恒温箱中培养 72 h。(3)滤膜法:利用滤膜(0.5 μm)对剩余洗脱液标本 28 mL 进行滤过、浓缩,然后取滤膜分别置入 2 份含 20 mL 凝固琼脂的培养皿(直径 100 mm)中,随后置于(36±2)℃ 恒温箱中培养 72 h。

1.2.3 相关指标计算方法 检测合格率=消毒合格的内镜数/采样内镜数×100%(消毒合格标准参照文献[4])。病原菌检出率=培养出菌落的内镜数/采样内镜数×100%^[5]。滤膜法菌落检出数计算方法:当滤膜上的菌落可计数时,菌落检出数=2 份培养皿的平均菌落数+滤膜上的菌落数;当滤膜上的菌落不可计数时,菌落检出数=2 份培养皿的平均菌落数×50^[6]。

1.3 观察指标 (1)比较 3 种方法分别用于胃镜、肠镜、纤支镜、胆道镜及鼻咽镜时的检测合格率。(2)比较 3 种方法分别用于胃镜、肠镜、纤支镜、胆道镜及鼻咽镜时的病原菌检出率。(3)比较 3 种方法分别用于手术室内镜时的菌落检出情况。(4)比较 3 种方法分别用于 50 支手术室内镜检测时的经济成本及时间成本,经济成本:滤膜法经济成本包括抽滤系统、滤膜、75%乙醇消毒剂及无菌纱布,其中抽滤系统属于固定资产,其经济成本以年折旧成本计算^[7];其余两种方法依照常规耗材计算成本。时间成本:分别使用 3 种方法检测 50 支内镜洗脱液,计算每种方法的总花费时间及单支平均花费时间。(5)对选取的 36 所医院发放本院统一设计的调查问卷,主要内容包括:医院目前使用的手术室内镜消毒效果检测方法,影响检测方法选择的因素(包括经济成本、时间成本及方法的检测合格率,为不定项选择,各医院可根据实际情况选择 1~3 项)。调查问卷设计完毕后导入微信公众平台“问卷星”,发送给各医院进行统一填写。

1.4 统计学处理 采用 SPSS26.0 软件进行数据分析。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 种方法的检测合格率比较 滤膜法检测各类型手术室内镜消毒效果的检测合格率明显低于涂抹法及倾注法,差异有统计学意义($P<0.05$),而涂抹法和倾注法间检测合格率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

2.2 3 种方法的病原菌检出率比较 滤膜法对各类型手术室内镜的病原菌检出率明显高于涂抹法及倾注法,差异有统计学意义($P<0.05$),而涂抹法和倾注法的病原菌检出率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

2.3 3 种方法的菌落检出情况比较 滤膜法检出菌

落数>0~20、>20~100、>100~500、>500 CFU 的内镜数明显多于涂抹法及倾注法,差异有统计学意义($P<0.05$),而涂抹法和倾注法检出各水平菌落的内镜数比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

表 1 3 种方法的检测合格率比较

方法	胃镜($n=84$)		肠镜($n=66$)		纤支镜($n=62$)		胆道镜($n=8$)		鼻咽镜($n=10$)	
	合格例数(n)	合格率(%)	合格例数(n)	合格率(%)	合格例数(n)	合格率(%)	合格例数(n)	合格率(%)	合格例数(n)	合格率(%)
滤膜法	64	76.19	54	81.82	46	74.19	6	75.00	6	60.00
涂抹法	81	96.43	62	93.94	58	93.55	8	100.00	10	100.00
倾注法	80	95.24	61	92.42	56	90.32	8	100.00	10	100.00
χ^2	15.847		8.402		10.195		5.021		6.698	
P	<0.001		<0.001		<0.001		<0.001		<0.001	

表 2 3 种方法的病原菌检出率比较

方法	胃镜($n=84$)		肠镜($n=66$)		纤支镜($n=62$)		胆道镜($n=8$)		鼻咽镜($n=10$)	
	检出例数(n)	检出率(%)	检出例数(n)	检出率(%)	检出例数(n)	检出率(%)	检出例数(n)	检出率(%)	检出例数(n)	检出率(%)
滤膜法	66	78.57	45	68.18	41	66.13	5	62.50	6	60.00
涂抹法	3	3.57	4	6.06	3	4.84	0	0.00	0	0.00
倾注法	4	4.76	5	7.58	4	6.45	0	0.00	0	0.00
χ^2	9.747		8.792		7.218		8.925		7.926	
P	<0.001		<0.001		<0.001		<0.001		<0.001	

表 3 3 种方法的菌落检出情况比较(n)

方法	n	0	>0~20	>20~100	>100~500	>500
		CFU	CFU	CFU	CFU	CFU
滤膜法	230	104	27	31	47	21
涂抹法	230	169	25	17	10	9
倾注法	230	167	25	14	16	8
χ^2				13.043		
P				<0.001		

2.4 3 种方法的经济成本及时间成本比较 滤膜法的经济成本及时间成本(包括总成本和单支平均成本)高于涂抹法及倾注法,而涂抹法和倾注法的经济成本及时间成本(包括总成本和单支平均成本)差异较小。见表 4。

表 4 3 种方法的经济成本及时间成本比较

方法	n	经济成本(元)		时间成本(s)	
		总成本	单支平均成本	总成本	单支平均成本
滤膜法	50	365.50	7.31	6 150	123
涂抹法	50	325.65	6.52	3 250	65
倾注法	50	317.23	6.34	3 150	63

2.5 36 所医院手术室内镜消毒效果检测方法的选择及影响因素调查 36 所医院中,滤膜法的使用率(8.33%)明显低于涂抹法(47.22%)及倾注法

(44.44%),差异有统计学意义($P<0.05$),见表 5。在手术室内镜消毒效果检测方法选择的影响因素中,36 所医院对经济成本的选择率(83.33%)明显高于检测合格率(63.33%)及时间成本(58.33%),差异有统计学意义($P<0.05$),见表 6。

表 5 36 所医院对 3 种方法的使用情况

方法	三甲医院 (n)	三乙医院 (n)	二甲医院 (n)	二乙医院 (n)	合计 [n (%)]
滤膜法	2	1	0	0	3(8.33)
涂抹法	7	3	4	3	17(47.22)
倾注法	5	4	4	3	16(44.44)
χ^2					23.458
P					<0.001

表 6 36 所医院手术室内镜消毒效果检测方法选择的影响因素

影响因素	三甲医院 (n)	三乙医院 (n)	二甲医院 (n)	二乙医院 (n)	合计 [n (%)]
经济成本	9	7	8	6	30(83.33)
时间成本	4	4	7	6	21(58.33)
检测合格率	5	4	8	6	23(63.89)
χ^2					14.139
P					<0.001

3 讨 论

3.1 手术室内镜消毒效果检测的意义及现状分析 近年来,随着医疗技术的发展与设备的不断更新,手术室内镜诊疗技术已取得了较快的进展,成为临床重要的辅助检查手段。手术室内镜具有较高的精密性及复杂性,加之病原微生物形成生物膜的能力较强,因此其消毒的难度较高,消毒的成功率易受多种因素的影响^[8]。如何防控内镜污染是当前临床关注的热点问题,一旦消毒不当可能引发病原菌流行性感染,甚至出现多重耐药菌感染的风险。研究显示,近十年来上报的因内镜导致的暴发性感染大部分与逆行胰胆管造影术有关,其主要原因为内镜消毒不彻底^[9-10]。

消毒效果的评估是对消毒程序的落实、消毒设备的运行及消毒能力进行综合判断的过程。消毒效果的评估方法可分为微生物法及非微生物法,以微生物法为主要的评估方法^[11]。当前手术室内镜消毒效果的主要检测方法包括滤膜法、涂抹法和倾注法等,传统检测方法以涂抹法和倾注法为主。近年来,滤膜法用于手术室内镜消毒效果的检测逐渐被临床所重视^[12]。

3.2 3 种方法检测手术室内镜消毒效果的结果分析 检测方法的准确度越高,越有利于发现消毒不合格的手术室内镜,及时进行纠正,防止出现交叉感染^[13]。本研究中,滤膜法的检测合格率明显低于涂抹法及倾注法,提示相较于涂抹法和倾注法,滤膜法的检测效果较好,能更准确地检测出消毒不合格的手术室内镜,也提示传统涂抹法和倾注法可能出现漏检的情况,将部分消毒不合格的手术室内镜判定为合格,存在引发交叉感染,甚至流行性感染的风险。既往研究中,滤膜法检测手术室内镜消毒效果的检测合格率普遍为 85%~90%^[14],而本研究中滤膜法检测手术室内镜消毒效果的检测合格率为 60.00%~81.82%,与上述研究结果存在一定差异,出现该结果可能与本院滤膜法检测技术的使用时间较短,人员技术水平还需提高,设备条件也还需优化有关。

比较 3 种方法用于手术室内镜消毒效果检测时的病原菌检出率和菌落检出情况,结果表明,滤膜法的病原菌检出率明显高于涂抹法及倾注法,滤膜法检出菌落数 $>0 \sim 20$ 、 $>20 \sim 100$ 、 $>100 \sim 500$ 、 >500 CFU 的内镜数明显多于涂抹法及倾注法;而涂抹法和倾注法的病原菌检出率及检出各水平菌落的内镜数比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。提示相较于滤膜法,传统涂抹法及倾注法检测手术室内镜消毒效果时具有一定的假阴性率,而滤膜法可以更有效地检测出内镜洗脱液标本中的真实病原菌情况,可准确、客观地反映手术室内镜的消毒效果。

3.3 3 种方法检测手术室内镜消毒效果的成本分析 比较 3 种方法用于检测手术室内镜消毒效果时的经济成本及时间成本,结果表明,滤膜法的经济成本及时间成本明显高于涂抹法及倾注法,而涂抹法和倾注法的经济成本及时间成本差异较小。滤膜法的经济成本较高的原因在于其检测过程中需要使用抽滤系统、滤膜、无菌纱布等耗材,而这些耗材成本较高;时间成本较高的原因在于滤膜法的操作步骤较多,且操作过程中不同批次内镜进行检测时需要及时消毒设备以保障结果的准确性,因此工作量较大,耗时较长。尽管滤膜法的推广不可避免地会带来经济及时间成本的提升,但鉴于内镜污染对患者造成的危害及对医院造成的损失较大,滤膜法的推广使用是有必要的^[15]。

此外,本研究对 36 所医院检测方法的选择及影响因素进行调查,结果显示,在检测方法的选择中,滤膜法的使用率(8.33%)明显低于涂抹法(47.22%)及倾注法(44.44%),而经济成本是影响检测方法选择的主要原因,提示目前大部分医院均常规选用涂抹法及倾注法进行手术室内镜消毒效果检测,且限制其换用滤膜法的主要影响因素是经济成本。分析其原因在于大部分医院的现有设备、技术水平及工作习惯均偏向于涂抹法及倾注法,更换为滤膜法需要成本与效益的综合考量。

3.4 本研究结果的评价与反思 本研究存在部分有待完善的问题,包括:(1)对滤膜法经济成本和时间成本的控制仍然具有改进的空间,后续研究中应进一步改良检测方法,积极推进该方法的临床推广应用;(2)本研究样本量较小,为单中心研究,且研究时间有限,结果有待于后续进一步行大样本、多中心、长时程的研究以证实。

综上所述,传统的涂抹法及倾注法检测手术室内镜消毒效果的能力较滤膜法差,建议各级医院在充分考量成本、效益及远期影响后,在条件允许的情况下尽量积极采用滤膜法完成手术室内镜消毒效果的检测,从而有效控制因手术室内镜消毒不彻底造成的感染,充分保障患者安全。

参考文献

- [1] HARIYANTO S D, SRIANI T, PRIHANDANA G S. Fabrication of hydroxyapatite disc as filtration membrane in waste water treatment system[J]. Appl Mech Rev, 2016,842(1):461-466.
- [2] LI W, ZHANG R, WANG H, et al. Digital image colorimetry coupled with multichannel membrane filtration enrichment technique to detect low concentration dyes [J]. Analytical methods, 2016,8(14):2887-2894. (下转第 1494 页)

- jury in mice via liver M1 macrophages[J]. *Immunol Lett*, 2017, 181: 87-93.
- [11] SHANKAR-HARI M, DATTA D, WILSON J, et al. Early prediction of sepsis using leukocyte surface biomarkers: the expres-sepsis cohort study [J]. *Intensive Care Med*, 2018, 44(11): 1836-1848.
- [12] KATIRA B H, ENGELBERTS D, OTULAKOWSKI G, et al. Abrupt deflation after sustained inflation causes lung injury[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2018, 198(9): 1165-1176.
- [13] LI Y, WANG Q, CHEN H, et al. Epidemiological features and risk factor analysis of children with acute lung injury [J]. *World J Pediatr*, 2012, 8(1): 43-46.
- [14] QUINTON L J, WALKEY A J, MIZGERD J P. Integrative physiology of pneumonia[J]. *Physiol Rev*, 2018, 98(3): 1457-1464.
- [15] 欧海燕, 段娅娟, 陈兰. 外周血单核细胞 NLRP3 炎性小体对脓毒症急性肺损伤患者病情严重程度的诊断价值[J]. *实用医学杂志*, 2020, 36(3): 380-384.
- [16] RAUVALA H, ROUHIAINEN A. Physiological and pathophysiological outcomes of the interactions of HMGB1 with cell surface receptors[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1799(1/2): 164-170.
- [17] SAMMAR M, SIWETZ M, MEIRI H, et al. Expression of CD24 and Siglec-10 in first trimester placenta: implications for immune tolerance at the fetal-maternal interface [J]. *Histochem Cell Biol*, 2017, 147(5): 565-574.
- [18] ZHANG Z, LIU Q, LIU M, et al. Upregulation of HMGB1-TLR4 inflammatory pathway in focal cortical dysplasia type II[J]. *J Neuroinflammation* 2018, 15(1): 27.
- [19] MACHAIRAS N, TSILIMIGRAS D I, MORIS D. CD24 as a novel predictive biomarker in patients with hepatocellular carcinoma: friend or foe? [J]. *J Invest Surg*, 2018, 33(6): 542-543.
- [20] TANAKA T, NARAZAKI M, MASUDA K, et al. Regulation of IL-6 in immunity and diseases[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2016, 941: 79-88.
- [21] LI Y, ZHONG X, CHENG G, et al. Hs-CRP and all-cause, cardiovascular, and cancer mortality risk: a Meta-analysis[J]. *Atherosclerosis*, 2017, 259: 75-82.
- [22] REID B M, DOOM J R, ARGOTE R B, et al. Pathways to inflammation in adolescence through early adversity, childhood depressive symptoms, and body mass index: a prospective longitudinal study of Chilean infants[J]. *Brain Behav Immun*, 2019, 86: 4-13.

(收稿日期: 2020-11-06 修回日期: 2021-02-11)

(上接第 1488 页)

- [3] ABDULLAH M, KUMAR A, HAN-MO C, et al. WEO position statement on hygiene in digestive endoscopy: focus on endoscopy units in Asia and the Middle East[J]. *Dig Endosc*, 2017, 29(1): 3-15.
- [4] WU Q, ZHANG Z, CAO G, et al. Impact of polymeric membrane breakage on drinking water quality and an on-line detection method of the breakage[J]. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng*, 2017, 52(12): 1126-1132.
- [5] 黄茜莎, 刘波, 张翔, 等. 滤膜法与涂抹法检测内镜清洗消毒效果及成本比较[J]. *中国感染控制杂志*, 2019, 18(6): 571-576.
- [6] LI J, LORI-JAYNE L H, READ D S, et al. The effect of filtration method on the efficiency of environmental DNA capture and quantification via metabarcoding[J]. *Mol Ecol Resour*, 2018, 18(5): 1102-1114.
- [7] 卢珊, 刘聚源, 张波, 等. 消化内镜处理模式的辩证思考与探索[J]. *中华医院感染学杂志*, 2017, 27(24): 125-127.
- [8] CHENNOU F, BONNEAU-FORTIN A, PORTOLESE O, et al. Oral Lorazepam is not superior to placebo for lowering stress in children before digestive endoscopy: a double-blind, randomized, controlled trial[J]. *Paediatric Drugs*, 2019, 21(12): 159-161.
- [9] 杨娜娜. 消化内镜消毒灭菌效果的影响因素分析与质量管理分析[J]. *甘肃科技*, 2019, 35(14): 121-122.
- [10] ICHIHARA S, UEDO N, GOTODA T. Considering the esophagogastric junction as a zone[J]. *Dig Endosc*, 2017, 29(Suppl 2): 3-10.
- [11] SHIWAKU H, YAMASHITA K, HASEGAWA S. Double-scope method for creating a straight submucosal tunnel during peroral endoscopic myotomy[J]. *Dig Endosc*, 2018, 30(2): 267-268.
- [12] BANG J Y, SHANTEL H M, HASAN M K, et al. Endoscopic ultrasonography-guided biopsy using a Franseen needle design: initial assessment[J]. *Dig Endosc*, 2017, 29(3): 338-346.
- [13] 朱剑. 消化内镜消毒灭菌效果的影响因素分析及质量控制[J]. *中西医结合护理*, 2017, 3(9): 171-173.
- [14] TYBERG A, SHARAIHA R Z, FAMILIARI P, et al. Per Oral Endoscopic Myotomy (POEM) as a salvation technique post heller: an international experience[J]. *Dig Endosc*, 2018, 30(1): 52-56.
- [15] KLEIN A, GIZBAR M, BOURKE M J, et al. Validated computed cleansing score for video capsule endoscopy [J]. *Dig Endosc*, 2016, 28(5): 564-569.

(收稿日期: 2020-08-15 修回日期: 2021-03-04)