



# ATP的生物 发光与清洁

洗手、刷牙，清除污物、杀灭病菌，看似常规小事，其实不然。它与预防疾病、增进身体健康，保障食品、药品、半导体元件、航天器材等相关工业制品的安全品质，提升医院、餐馆、托儿所等各类公共场所服务水平有着密切关系。一句话：清洁、消毒是件关乎百姓福祉以及和谐、文明社会建设的重要实事。

## 洁净要看还要验

何谓清洁？《现代汉语词典》对“清洁”的释义是“没有尘土、油垢等”；“消毒”则指“用物理方法或化学药剂杀死致病微生物”的过程。但是，从应用卫生学角度考察：清洁、消毒既是清理、去除污物和微生物的卫生保健措施和过程，

又应当反映过程后人体、物体表面或环境空间的实际清洁状况，两者既相互关联又各具独立含义。怎么做才能既节省人力、节省资源，又确实达到清洁（包括消毒，下同）效果的呢？建立一套科学有效，甚至可以定量监测的清洁效果评价体系至关重要。因此，有关研究深受各国重视与关注。

经济的快速发展，促使百姓安全、健康意识日益提高。微生物学、分子生物学以及相关光电显示技术的进步，使清洁效果的评价方法与工具日趋完善。早先，人们只能凭借感官直觉判断清洁状况。随着微生物学细菌培养、活细胞平皿计数技术的建立，使得在微观层面上评价清洁状况成为现实。20世纪70年代以后，基因克隆技

北京人居环境生态条件已有明显改善，但若干中小型食品生产加工单位饮食摊点、公共服务部门场所设施的微观清洁卫生水平离“世界城市”要求还有很大差距。

发达国家（欧盟、北美、日本等）均已将ATP生物发光检测方法列入相关卫生标准检测方法并建立与其对应的卫生“评价体系”和“卫生基准值制度”。

撰文 金振华

术的广泛应用，催生了生物发光关键试剂——萤火虫荧光素酶、d-荧光素的工业化生产，加上相关光电计量仪表、选择性生化检测试剂的研发，使得多项能对人体、物体表面清洁效果进行实时监测的卫生快检技术付诸实用。

目前，各国通用的清洁效果评价方法有如下三类，即看、数、验。

看——目测或感官评价：看一看是否存在肉眼可见的污物或变化，通过嗅觉与触摸判断是否存在异味和/或异常触感。

数——微生物学计数：借助微生物学操作方法，让样品中原本看不见的细菌细胞，通过特定培养基的保温、培育，让单个细菌细胞不断分裂、繁殖，形成数以万计、肉眼可见的细胞





ATP生物发光法作为一种新的食品卫生状况测定方法，可以用于餐饮类等公共场所的现场卫生学检测

菌群（菌落）。然后，通过计数确定每平方厘米面积，或每立方厘米体积的菌落形成单位数（cfu/cm<sup>2</sup>）。必要时，可再进行致病菌化验。

验——基于与ATP（即三磷酸腺苷）相关的生物发光检测，并用相对荧光单位（RLU）表示其量值。

### 越脏，光越亮

萤火虫为何能发光？因其体内可以合成产生荧光反应的全部化学物质：三磷酸腺苷（ATP）、萤火虫荧光素酶、d-荧光素。与此同时，在有氧分子、镁离子存在的条件下，萤火虫荧光素酶能催化d-荧光素和ATP发生氧化反应，并发出荧光。这一过程可以用下列反应式表示：



实验证明：只要具备上述条件，不仅萤火虫，即便在试管中同样能实现荧光反应。而且，每当反应系统中的荧光素酶、d-荧光素处于过量状态时，发射荧光的强弱取决于ATP数量。

由于所有生物都存在ATP，构成日常污物的尘埃、污泥、食物残渣、动物残骸，以及血液、尿液、汗液、乳液等所有活体排泄物，和生活、生产污水一样包

含ATP，或能成为微生物迅速滋生的营养条件。基于这一事实，每当待检样品中的细菌和/或污物数量越多时，其ATP量就越大，反应后发出的荧光值也就越高。换句话说：清洁效果越差，样品里所含ATP量就越高，表现出的就是荧光越强的现象。

### “光”芒四射

20世纪70年代后期，在北美、欧盟等国，ATP生物发光技术在食品安全分析中的应用研究已经取得一定的进展。20世纪末，这些国家还相继出台了包括ATP生物发光方法在内的评价清洁效果的新措施。

为什么ATP生物发光技术在这些国家受到如此的重视呢？这主要是基于ATP生物发光原理建立的检测方法具有3个优点。

第一就是快速，一至几分



人体、物体表面或环境空间在消毒以后，是否达到清洁状态，还需要检验

钟就可获得检测结果。

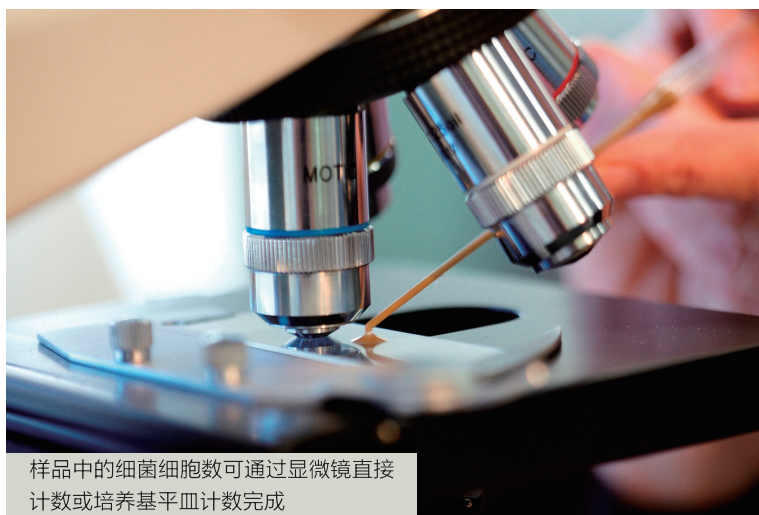
第二就是准确，检样中低于 $1/10^{12}$ 克分子的ATP就足以产生可计量的荧光反应。

第三就是简便，不需特别培训就能掌握操作方法。此法不仅用于清洁效果评价，还可用于抗菌素杀菌及灵敏度、相关酶及代谢物检测、生物威胁（如细菌武器）预警监测、环境监测、生命科学研究等。

科研人员曾用它和目测评价作了比较，得出的结论就是看着干净不一定真的干净。

英国卫生防疫人员曾以4家英国医院的儿科、外科监护病房、治疗室、浴室、水闸房为对象，在其清洁前后，对诸如门把、厕所冲洗按钮、坐便器、手推车、橱柜、床头柜、电冰箱、水龙头开关等27种容易引发交叉感染器物的表面进行取样检测。

通过对993项目测评价数据、1099项ATP生物发光评价数据、1074项微生物学数据的



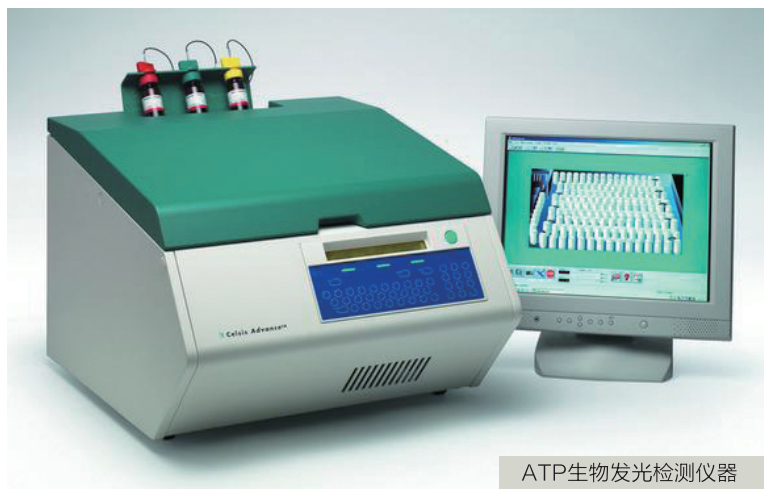
样品中的细菌细胞数可通过显微镜直接计数或培养基皿计数完成

可靠性对比和/或数理统计，结果表明：目测合格表面仍然残留高水平肉眼看不见的有机污物和微生物。因此，目测不能作为医院、病房、食品、药品加工一类场所清洁效果的可靠依据，也无法为进一步清洁提供有效建议。但是，它仍可作为完整评价体系的第一步骤，因为直觉的清洁对病人或消费者而言仍至关重要。

科研人员也用它和微生物计数方法作了比较。

ATP生物发光检测可在几分钟内取得包括有机污物、微生物在内的总体卫生状况评价数据，而微生物学计数则至少需要48小时才能得到。为了确定ATP生物发光检测的适用范围及两种方法所得结果的相关关系，研究人员同时采用这两种方法，检测了厨房、食品（肉类、蔬菜、面点等）加工部门的18种原料切割、加工调制、烹调用具，并对得到的280个数据进行相关性和差异显著性分析。

结果表明：当采用上述两种方法检测清洁处理前的各种检样时，所得数据显著相关；检测清洁后的检样时则未必相关，即荧光值高者未必菌落数就多。这说明去除污物的清洁过程虽能去除部分微生物，但不能消灭微生物或使其减少到可接受的水平。因此，“清洁”被界定为污物的物理移位和/或其过程。要杀灭病菌或让微生物总数减少到可接受水平，必



ATP生物发光检测仪器

须使用消毒剂,进行“消毒”处理。清洁与消毒,两者既相互关联又各具独立含义。

那么,ATP生物发光能完全取代微生物计数法吗?我们再来看一个研究。

当局部地区同住或家庭人员中出现可通过粪便——口和/或呼吸道途径传播的疾病时,患病危险随生态小环境(家具、设施)中微生物量增加而提高。为搞清二者关系,作为控制和阻断传染链的依据,必须取得环境微生物量与发病率之间的系列动态数据。鉴于微生物学检测需要较长时间,可否采用ATP生物发光检测作为替代?为此,美国科研人员曾对纽约上曼哈顿一杂居区进行了调研,共取得225例人手、219例家具表

面的微生物学检测数据和221例生物发光检测数据。分析表明:由于ATP生物发光检测无法区分污物,抑或细菌导致荧光数值变化,因此,ATP生物发光法不能替代以确定微生物载量为目的的微生物学检测。

综上所述,ATP生物发光检测最为鲜明的技术特点在于:能准确、定量、快捷地提供包括有机污物和微生物在内的实时检测数据。当它在20世纪70年代末问世后,欧洲、北美等国率先将其应用于从“农场(原料)到餐桌(食品)”的保障食品安全的全程卫生监测中。接着,又进一步推广到如饭店、剧院、医院、托儿所等这种检测项目多、需要快速得到结果,以便及时采取改进措施,防患于未然

的卫生检测中。

因此,建立包括目测、常规微生物学及ATP生物发光检测在内的“卫生评价体系”,制定不同卫生评价方法的“卫生基准值国家标准”,因时、因地、因需要而异地选择清洁效果评价方法,将有助于提高卫生监测效率与总体卫生水平,推进文明、和谐、宜居、健康城市的建设进程。■

#### 作者简介

金振华,中国科学院遗传与发育生物学研究所研究员,从事微生物及分子遗传学研究工作多年,曾在国内外学术刊物发表实验论文30余篇,发明专利两项,享受国务院颁发的政府特殊津贴。

(责编 桑新华)

ATP生物发光法在国外医院应用得比较多

