

## 选择和采用最佳的 ATP 微生物 筛选方案的主要考虑因素

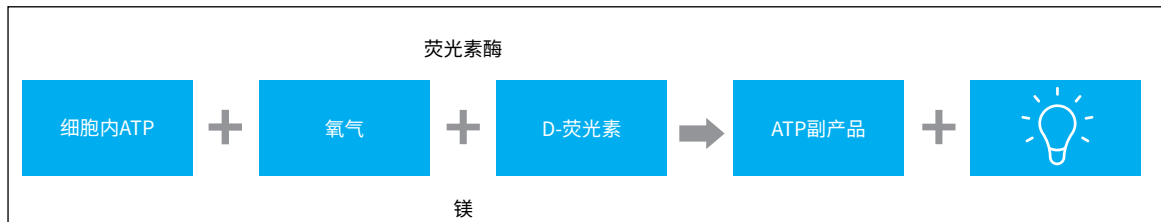
### 简介

三磷酸腺苷 (ATP) 生物发光检测法已成为一项被广泛采用的行业标准, 适用于对经过超高温瞬时灭菌以及延长货架期杀菌的产品进行微生物快筛。

本文件将介绍 ATP 检测法所具有的独特性质和优势, 并对选择和采用高效检测方案的关键性考虑因素进行概述。

### ATP 基本知识

图1. ATP 反应



细胞内 ATP 是生物体内存在的代谢能源物质。可利用酶促荧光素酶反应, 以极高的灵敏度和特异性来进行识别和测量是否存在 ATP。荧光素酶是一种能使萤火虫发光的天然酶, 即辅酶复合物荧光素-荧光素酶, 其可以将 ATP 能转化为光子。然后, 用光度计来测量可检测的光能, 并将其转换为表示样品中细胞内 ATP 浓度的相对光单位 (RLU)。

表1. 方法比较: ATP vs. 培养法

检测方法(单位)	检测参数	优点	局限性	技术困难度
ATP (相对光单位)	检测微生物细胞内的总 ATP	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 高灵敏度/特异度</li> <li>· 自动化流程</li> <li>· 客观、定量的结果</li> <li>· 周转时间 (TAT)* 非常短可以加快产品投放</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 需要消耗非微生物 ATP</li> <li>· 需要与样品基质相关的阈值从而确保准确性</li> </ul>	低
微生物培养 (菌落总数)	检测活的、能与培养基/培育相容的微生物	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 高灵敏度/特异度</li> <li>· 半定量的结果</li> <li>· 便宜</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 需要筛选培养基</li> <li>· 主观解析需要专门技术</li> <li>· 手动流程</li> <li>· 周转时间 (TAT)* 较长会对产品投放造成延迟</li> </ul>	较高

\*TAT = 周转时间

## 选择最佳 ATP 检测系统时的主要考虑因素

### 1. 有效消除游离 ATP 背景噪音

消除游离的、非微生物的以及体细胞的 ATP 是确保高水平的检测特异性的重要步骤。海净纳™ RapiScreen™ 检测利用专有试剂溶液中的腺苷三磷酸双磷酶来有效地消除游离 ATP 的干扰,同时保持最佳的细胞内 ATP 检测灵敏度(图 2)。这一步骤降低了假阳性结果的风险,因为当出现假阳性结果,需要进行确证试验,延迟产品投放,进而产生相关的额外的直接和间接成本。

**图2. RapiScreen 低接种物细胞内 ATP 敏感性测试。**

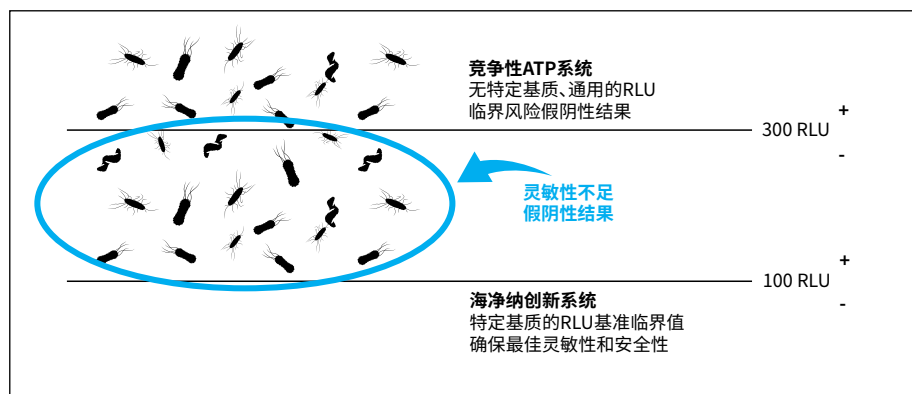
**代表性生物和样品基质(部分清单)。**

<b>RapiScreen 低接种物测试</b>	<b>金黄色葡萄球菌(14 个细胞接种物)</b> <ul style="list-style-type: none"><li>· 全脂牛奶阳性 RLU 结果: 25,643</li><li>· 加糖的奶油阳性 RLU 结果: 46,739</li><li>· 乳制品雾状奶盖阳性 RLU 结果: 5,442</li><li>· 巧克力布丁阳性 RLU 结果: 20,299</li></ul>
	<b>蜡状芽孢杆菌(9 个细胞接种物)</b> <ul style="list-style-type: none"><li>· 米浆阳性 RLU 结果: 54,638</li><li>· 加糖的杏仁奶阳性 RLU 结果: 188,902</li><li>· 加糖的腰果奶阳性 RLU 结果: 125,100</li><li>· 不加糖的椰奶阳性 RLU 结果: 149,688</li></ul>
	<b>枯草芽孢杆菌(7 个细胞接种物)</b> <ul style="list-style-type: none"><li>· 半脱脂牛奶阳性 RLU 结果: 10,804</li><li>· 巧克力牛奶阳性 RLU 结果: 38,817</li><li>· 加糖的香草味的豆奶阳性 RLU 结果: 83,966</li><li>· 蛋奶沙司阳性 RLU 结果: 392,624</li></ul>
	<b>生孢梭菌(1 个细胞接种物)</b> <ul style="list-style-type: none"><li>· 豆奶饮品阳性 RLU 结果: 79,838</li><li>· 南瓜香料拿铁阳性 RLU 结果: 2,660</li><li>· 香草味机能性饮料阳性 RLU 结果: 1,635</li><li>· 巧克力味机能性饮料阳性 RLU 结果: 30,056</li></ul>

### 2. 特定综合基质的分析准确度

在各种基质中,经过超高温瞬时灭菌(UHT)以及延长货架期的杀菌(ESL)产品的组成、特性以及处理过程(pH 值、脂肪和蛋白质含量、粘度、热处理等)差异很大。在确定 ATP 阳性临界阈值时,如果没有专门将这些独有特性考虑在内的话,这些独有特性可能会干扰分析。使用相对任意的、非特定基质的临界阈值(例如,标准阳性阈值: 300 RLU)的 ATP 检测存在着较高的出现假阴性结果的风险以及与产品召回相关的经济和声誉受损的可能性。

**图3. 任意临界阈值导致低分析灵敏度以及假阴性报告。**



为了最大限度地提高 RapiScreen ATP 的灵敏度, 海净纳不断在全面基准研究方面进行投资, 从而确保根据其适当的 ATP 测定阈值来对每种基质对应的产品类别进行分析。

**表2. 海净纳 RapiScreen 特定基质的基准 ATP 阈值。(代表性的部分阈值清单)**

制成品 (无菌样品)	特定基质背景, 相对光单位 ATX 后的游离 ATP 消耗 (ATP 消耗前)	特定基质 ATP 临界值, 相对光单位 阳性阈值 (3倍 ATP 消耗背景)
半脱脂牛奶	9 (81)	27
全脂牛奶	5 (19)	15
巧克力牛奶	6 (7)	18
加糖奶油	4 (20)	12
香草味的软质冰激凌基料	48 (1,024)	144
雾状乳制品奶盖	6 (457)	18
不加糖的豆奶	5 (1,978)	15
加糖的豆奶	6 (7)	18
加糖的香草味的豆奶	4 (2,824)	12
米浆	2 (2)	6
不加糖的杏仁奶	4 (146)	12
加糖的杏仁奶	14 (145)	43
不加糖的椰奶	5 (4)	15
加糖的椰奶	5 (163)	14
不加糖的燕麦奶	7 (130)	22
加糖的燕麦奶	4 (210)	12
不加糖的香草味的燕麦奶	4 (10)	12
加糖的腰果牛奶	10 (4,192)	29
奶茶	6 (11,879)	18
苹果汁	17 (44,398)	51
橙汁	39 (708,183)	117

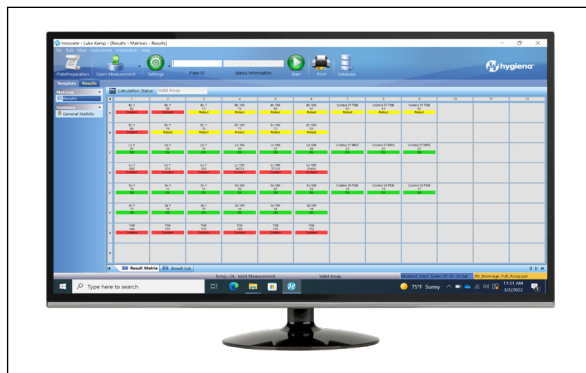
尽管现有的基准阈值数据涵盖了广泛的超高温瞬时灭菌 (UHT) 以及延长货架期的杀菌 (ESL) 产品, 但海净纳可以为独特且具有较高要求的各种产品提供客户验证以及自定义的阈值临界值开发服务。

请在 [hygiene.com](http://hygiene.com) 上了解有关创新系统的更多信息。

### 3. 简化的相对光单位报告

根据培养评估, 相对光单位 (RLU) 与菌落总数 (CFU) 之间可能存在广义相关性; 然而, RLU 值会受到微生物生长速率、质量和体积的影响, 从而使其成为测量总微生物含量的优质指标。<sup>1</sup>

图4. 示例: 创新系统检测结果报告

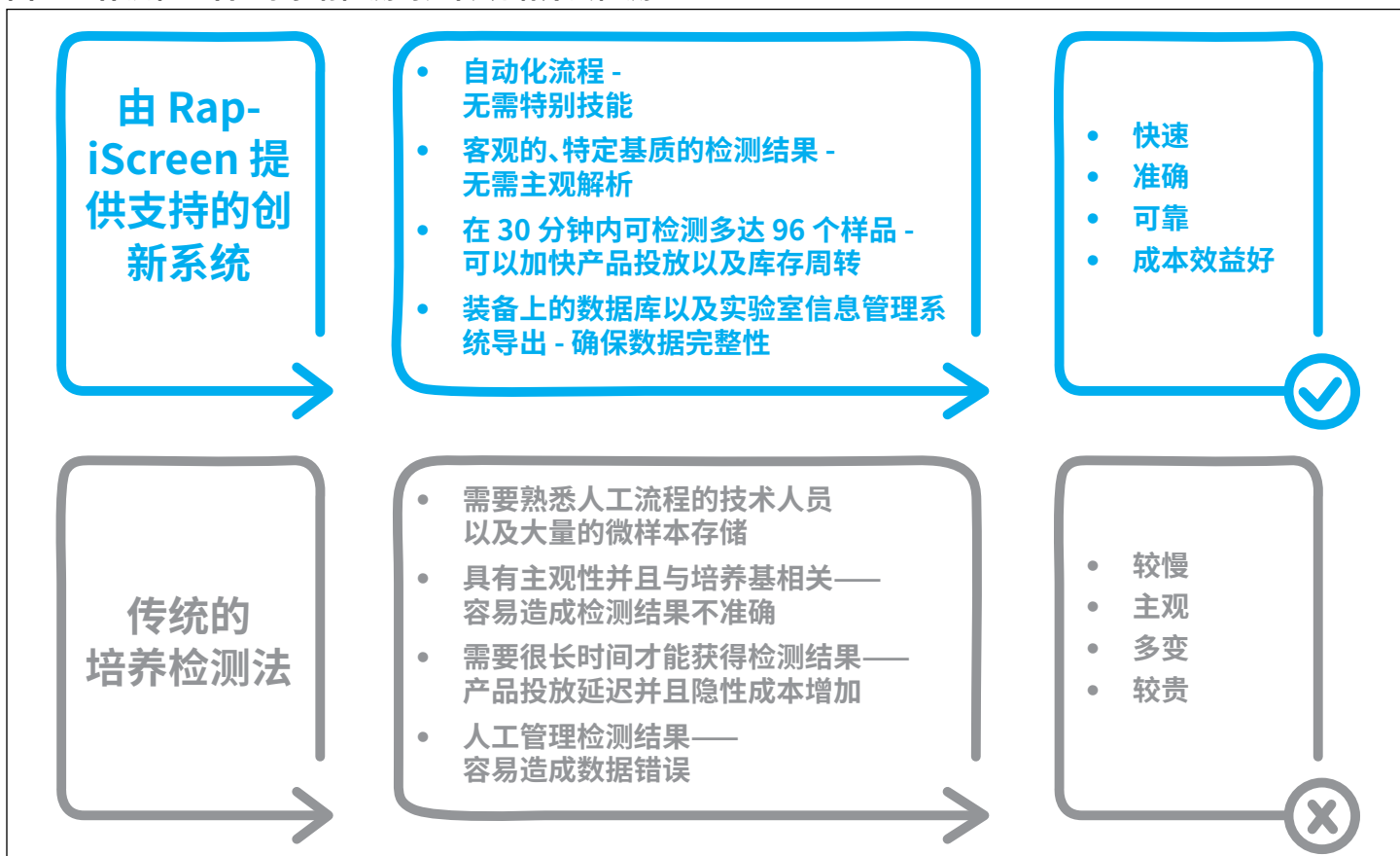


创新系统采用清晰的颜色编码形式来报告 RLU 检测结果, 以便于快捷地区分阳性样本与阴性样本。检测结果保存在装备上的创新系统数据库中, 其导出文件能够与大多数实验室信息管理系统 (LIMS) 兼容。

### 4. 简化工作流程整合

无论检测通量需求如何, 海净纳 RapiScreen ATP 检测与创新系统的自动化和可选式 Autosampler III 一起可以简化超高温瞬时灭菌和延长货架期的杀菌检测, 从而实现始终可靠的微生物筛选以及快速的产品投放。

图5. 工作流程整合: 海净纳检测对比传统培养法检测



## 5. 创新试剂盒的比较与选择

根据被测基质的 pH 值, 有两种海净纳 RapiScreen ATP 检测试剂盒可供选择。

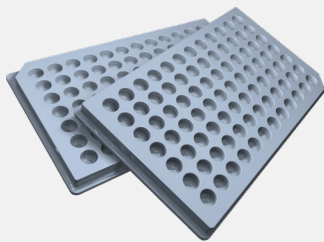
其中一种试剂盒用于较低的 pH 值 (高酸), 而另一种则用于更为中性的 pH 值 (>5)。

创新试剂盒	pH 范围	要检验的基质 (示例) <sup>1</sup>
乳制品	>5	<ul style="list-style-type: none"><li>· 超高温瞬时灭菌/延长货架期的杀菌牛奶及产品</li><li>· 奶精</li><li>· 芝士酱</li><li>· 布丁</li><li>· 蛋白奶昔</li><li>· 椰子汁</li><li>· 婴幼儿配方奶粉</li></ul>
饮料	<5	<ul style="list-style-type: none"><li>· 高酸果汁和浓缩液</li><li>· 茶</li><li>· 能量饮料</li><li>· 奶昔混合物</li><li>· 调味品</li><li>· 高含量植物提取物产品</li></ul>

<sup>1</sup> 检验的基质的部分列表。请访问 [hygiene.com](https://www.hygiene.com) 上的“创新系统”页面, 以了解有关其他特定基质检验或是自定义基质检验要求的信息。

海净纳可以支持从检验到安装的任何规模的实验室的 ATP 检测集成, 它可以提供现场操作培训、售后支持以及自定义基准研究。

### 由 RapiScreen 提供支持的创新系统



RapiScreen 微量滴定板



(可选) Autosampler III



创新系统

通过海净纳的创新系统, RapiScreen ATP 检测可以完全自动化。可选的创新系统 Autosampler III 是针对高通量以及无菌生产的理想补充工具。

## 关于海净纳 针对食品安全和保护的一种健康方法

作为环境监测领域公认的全球领导者, 海净纳可以提供范围广泛的高质量、易于使用的检测解决方案。从快速微生物检测和鉴定到清洁度和过敏原监测工具, 海净纳可以提供由世界一流科学家以及应用程序开发人员提供支持的全面的食品安全技术、知识渊博的本地化 24/7 全天候支持、积极创新以及广泛的监管专业知识, 从而为维持设施合规性提供帮助。

如要了解更多信息, 请访问 [hygiene.com](https://www.hygiene.com)

<sup>1</sup> 三磷酸腺苷 (ATP) 测量技术。 [https://www.iwapublishing.com/sites/default/files/08\\_Skovhus\\_Ch08\\_R3.pdf](https://www.iwapublishing.com/sites/default/files/08_Skovhus_Ch08_R3.pdf). 访问于 2022 年 2 月 7 日。