

细胞污染及预防

李雨婷^{1,2*}, 吕美红^{1,3*}, 王冬梅⁴, 木本荣^{1,3#}

¹成都中医药大学医学技术学院, 四川 成都

²成都中医药大学药学院, 四川 成都

³川渝共建感染性疾病中西医结合诊治重庆市重点实验室, 四川 成都

⁴成都中医药大学基础医学院, 四川 成都

收稿日期: 2023年1月20日; 录用日期: 2023年3月10日; 发布日期: 2023年3月20日

摘要

细胞的质量决定实验的进程与结果, 细胞污染不仅仅是造成实验室的损失, 更严重的后果是导致数据的错误、实验的失败。因此, 我们不仅要知道细胞培养过程中常见的细胞污染类型, 更要熟悉它们的特征及鉴定方法。同时, 了解细胞污染的来源后才能更精准地进行细胞污染的预防。当稀少且价值高的细胞受到污染时还要掌握其清除方法。但被污染过的细胞本身还是会或多或少的受到影响, 防患于未然, 正确操作, 定期检查清理消毒培养设施及严格执行无菌操作规范才是关键。

关键词

细胞污染, 预防, 清除

Cell Contamination and Prevention

Yuting Li^{1,2*}, Meihong Lv^{1,3*}, Dongmei Wang⁴, Benrong Mu^{1,3#}

¹College of Medical Technology, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu Sichuan

²College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu Sichuan

³Chongqing Key Laboratory of Sichuan-Chongqing Co-Construction for Diagnosis and Treatment of Infectious Diseases Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Chengdu Sichuan

⁴College of Basic Medical Sciences, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu Sichuan

Received: Jan. 20th, 2023; accepted: Mar. 10th, 2023; published: Mar. 20th, 2023

Abstract

The quality of the cell determines the process and results of the experiment. Cell pollution not on-

*共同第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 李雨婷, 吕美红, 王冬梅, 木本荣. 细胞污染及预防[J]. 微生物前沿, 2023, 12(1): 26-32.

DOI: 10.12677/amb.2023.121004

ly causes the loss of the laboratory, but also leads to the error of the data and the failure of the experiment. Therefore, we should not only know the common types of cell contamination in cell culture, but also be familiar with their characteristics and identification methods. At the same time, the prevention of cell pollution can be more accurate only after understanding the source of cell pollution. When rare and valuable cells become contaminated, it is important to know how to remove them. But the contaminated cells themselves will be more or less affected. We should take preventive measures, and correct operation, regular inspection of cleaning and disinfection culture facilities and strict implementation of aseptic operation specifications are the key.

Keywords

Cell Pollution, Prevention, Clear

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 介绍

细胞污染是指在细胞的培养过程中混入了造成细胞不纯的异物和对细胞生存有害的成分，是细胞培养时最容易且最常出现的问题，被称为细胞培养的第一大害。细胞污染其实是可防可控的，认识细胞污染的类型及来源，建立和完善细胞培养规范的操作方法及相关制度规章有助于我们培养高质量的细胞并成功进行实验工作及科学研究。因此，细胞培养人员要了解细胞培养过程中可能潜在的污染源及掌握对应的控制措施。本综述的主题是细胞培养过程中最常见且最有害的细胞污染问题，我们首先对不同类型的细胞污染特征及鉴定方法分别进行了梳理。其次我们总结了细胞污染的来源及对应的预防措施。最后，我们对细胞培养时其他微生物的污染及细胞污染的清除方法进行了讨论。希望本文能为实验室进行细胞培养的操作人员提供一些帮助，从容应对细胞污染。

2. 细胞污染的特征及鉴定

2.1. 常见微生物污染

2.1.1. 细菌污染

细菌生长迅速，短时间内可抑制细胞生长甚至杀死细胞，常见有大肠杆菌、葡萄球菌、假单胞菌、绿脓杆菌等[1]。当细胞产生细菌污染时，细胞发生病理改变，在镜下可以观察到胞浆内出现大量颗粒，细胞也会变圆脱落，且可能由于 pH 的改变，培养液会呈现不同的颜色。当细菌污染较轻时镜下可见小的菌体在细胞间运动，严重时培养基上清液浑浊肉眼可见[2]。

此类污染在细胞培养中出现较多，并且难以检测，在研究中常采用聚合酶链反应(PCR)技术进行培养细胞中细菌污染的检测，但其技术要求高且成本也较高，培养物 DNA 的提取也有较大困难[3]。而采用煮沸法对细菌基因组 DNA 进行粗提取是一种成本低、效率高且对操作人员无特殊要求的方法，使用 PCR 扩增法对培养物进行检测能在早期对被细菌污染的细胞培养液进行鉴别，灵敏度较高[4]。总之，细胞培养中细菌污染未及时准确检测出来会对后续实验结果造成较大干扰，因此此类微生物的检测对实验室细胞培养具有重要价值[1]。

2.1.2. 真菌污染

真菌是一种真核细胞型微生物，许多真菌种类的休眠孢子能在极端恶劣和不良环境中存活，尤其在

梅雨季节容易生存下来。其种类繁多,较为常见的真菌污染包括白色念珠菌、酵母菌、霉菌等[5]。细胞受到真菌污染后,培养液一般不浑浊,肉眼可见漂浮着的白色或浅黄色小点,倒置显微镜下可见链状排列的菌株或是丝状、管状菌丝纵横交错排列。其中念珠菌则呈卵圆形分散于细胞周边和细胞之间[6]。酵母菌为直径 2~3 mm 的圆形乳白色菌落,表面湿润、粘稠且隆起[7]。霉菌是最常见的真菌污染,包括毛霉菌、根霉菌等,霉菌污染易于发现[8]。发生霉菌污染时,培养液是清亮的,低倍镜下可见乳白色团状漂浮物,培养液无变化;高倍镜下可观察到明显菌丝,细胞仍可生长,但速度变慢,若不及时处理则活力变差,最后营养耗尽及毒性作用而脱落死亡[9] [10]。霉菌污染会给操作环境带来严重危害,这是由于霉菌孢子对环境耐受力强,难以清除[11]。细胞培养时真菌的污染会影响实验结果的有效性,且真菌可以通过孢子随空气流动传播而难以根除。

2.1.3. 支原体污染

支原体是一种能独立生活的微生物,大小介于病毒和细菌之间,最小直径为 0.2 μm [6]。一般过滤除菌无法去除,光镜下难以看清其形态结构。支原体污染在细胞培养过程中发生率极高且对细胞的功能和代谢影响极大,但早期不易被发现。检测支原体污染情况可采用直接培养法(肉汤培养和琼脂培养)、DNA 荧光染色法、探针杂交法或 PCR 法[12]。通常需要两种方法联合使用并进行多次检测。在进行哺乳动物的细胞培养时,傅里叶变换红外(FTIR)显微光谱在补充检测支原体污染方面具有很大的潜力[13]。最近,一种新的内部控制的基于 Taqman 的实时 PCR 分析方法使用大量的引物和多种探针的混合物用于检测支原体污染,不需要 DNA 提取,显示出高特异性、灵敏性和准确性[14]。受支原体污染的培养液一般不发生浑浊,细胞内的 DNA、RNA 及蛋白表达发生改变,支原体污染的细胞是可以去除支原体的,但不一定成功且耗时耗力,彻底清除非常困难,因此往往进行重新培养。

2.2. 化学污染

细胞培养环境中的大多化学物质都能引起细胞污染,通常是一些对细胞有毒性或能对细胞产生刺激的化学物质。细胞培养中化学污染物主要有革兰氏阴性细菌内毒素、重金属、自由基和残留洗涤液,它们通常来自于细胞培养试剂、玻璃器皿和消耗品的不当处理等[15]。细胞培养时的培养液、附加产物以及必需养分如氨基酸的浓度需要正确配置,控制在合理的范围内,否则会对细胞产生毒性[16]。因此,细胞培养使用的器材应都是高纯度的,而随着放置时间的延长,即使是超纯水的纯净度都无法达到要求,或需根据性质通过过滤或高温灭菌的方式去除杂质,故我们尽可能现配现用。配置液体和清洗容器时也必须使用不含杂质的超纯水[17]。

2.3. 物理污染

物理性的污染会通过影响细胞培养体系中的生化成分进而影响细胞的代谢,但却常常被忽视。往往是由培养环境中的物理因素,如振动、辐射、温度、放射线等引起的。当细胞或培养液暴露于辐射、过冷或过热的温度、放射线,会导致细胞生长抑制甚至细胞死亡等现象的发生。为避免这些情况的发生,应注意培养箱宜放在恒温环境中,同时对培养液和试剂进行避光处理[17]。

3. 细胞污染的来源

细胞污染的类型是多种多样的,其来源也是多方面的。细胞培养过程中细胞污染主要来源于实验室的环境与空气、不洁的动物组织标本、实验人员的清洗消毒操作、细胞培养操作以及血清等。

空气中漂浮着各种细菌、真菌、病毒以及支原体等,这些微生物无处不在,而环境条件控制不好,如操作室与外界隔离不严或消毒不充分则很容易造成污染。且在一些多雨及空气湿度大的地区,含菌量

多,更易造成污染。操作不当也会引起细胞的污染,在进行取材时操作不当可能会使原本无菌的动物组织受到污染,如取材时不使用浓的抗生素洗液进行细胞组织的洗涤浸泡,或二氧化碳培养箱在培养细胞取出和放入的过程中未经过消毒酒精擦拭。细胞培养人员未对培养用品、器具等进行清洁或清洁灭菌不彻底,存在死角,环境监测缺失以及设备出现问题或异常环境参数未能及时发现也会引起污染。另外,操作者未佩戴口罩、帽子,以及在操作时来回走动、大声说话而造成灰尘扬起。购买的血清本身灭菌不彻底,则会有潜在污染。

4. 细胞污染的预防

预防是防止细胞培养过程中发生污染的最好办法,一旦细胞受到污染,挽救是非常困难的,且对细胞也会有一定的影响。在细胞培养过程中,细胞污染的预防要从多方面进行,其关键在于严格的无菌操作[18]。贺莉芳等人对家蝇细胞进行培养时发现直接选取家蝇初孵的幼虫进行组织培养始终都不能成功,原因是培养 24 h 后都出现了霉菌的污染,而选取无菌家蝇初孵的幼虫则没有受到霉菌污染[19],由此可见细胞培养时无菌的重要性。当然,不仅仅是培养的材料需要无菌,更要确保操作环境以及实验人员自身的无菌。

首先工作环境要清洁卫生,细胞培养对于实验室的环境要求更为严格。超净工作台是细胞培养过程中普遍使用的无菌操作工作装置,需要放置合理且经常性地对其进行维护,通常放置在清洁无尘的房间,使用 75%的酒精擦拭超净工作台及培养箱进行消毒,并且需经常检查超净工作台的滤器是否瘀滞[20]。以巴氏消毒液进行地面和操作台面的消毒,使用紫外线照射过夜。

此外,我们还可以对特定类型的细胞污染进行预防,如预防细菌污染一般使用双抗生素。对真菌污染进行预防,可采用大扶康与头孢他啶和硫酸阿米卡星配伍的方法,其对真菌的污染具有一定的预防作用[21]。

除了外部环境因素,我们还需从实验人员及自身操作来预防细胞的污染。进行细胞培养的人员在进入实验室前都需进行无菌操作的培训,掌握一定的基本理论与实验技能。实验过程中建立和严格执行标准无菌操作流程,有良好的个人卫生习惯,避免人体携带的细菌污染细胞。实验过程中操作人员不能频繁进出实验室,需有专用实验服,对细胞进行定期监测,包括培养液、细胞生长状态、细胞形态等。

5. 讨论

5.1. 其他微生物污染

细胞培养时常见的微生物污染除了细菌、真菌和支原体污染外,还有黑胶虫、原虫等,虽然不如前面提到的几种类型常见,但我们也需引起重视。

5.1.1. 黑胶虫污染

目前,关于黑胶虫的描述并不完整,其成分也不明确。对于黑胶虫是一种生物还是非生物存在着争议,因此还值得学者们继续去研究。越来越多的研究却显示,黑胶虫的形态是各种各样的,像支原体又或像真菌。不可否认的是很多研究人员发现,大部分人所说的黑胶虫其实是不常见的真菌、细菌等微生物污染,并不是真正的我们未知的黑胶虫。

黑胶虫污染在细胞培养中常见,又称“纳米细菌”污染,与细胞呈现此消彼长的现象,即刚开始对细胞无明显影响,随着数量的增多可影响细胞甚至使细胞死亡。黑胶虫可穿透滤膜并可通过空气传播。低倍镜下呈黑色点状或片状,高倍镜下可观察到黑色小虫游来游去[22]。受黑胶虫污染的细胞培养液不浑浊,颜色、透明度无明显变化,细胞增殖旺盛后会自然消失,更换血清外无需特殊处理可以增加细胞的

种板密度以提高细胞的生存率。对于黑胶虫的污染目前只能采用高品质的血清进行预防。

5.1.2. 原虫污染

原虫为单细胞真核动物，体积微小，具有独立完成生命活动所需的全部生理功能，无法用肉眼观察，形态大小各异，在世界范围内均有分布，目前已发现的原虫种类超过 65,000 种，包括疟原虫、杜氏利士曼原虫、蓝氏贾第鞭毛虫、溶组织内阿米巴、刚地弓形虫、微小隐孢子虫等。原虫污染时，培养液会有轻微浑浊，细胞生长状态变差，不透亮，繁殖速度明显减慢。在显微镜下可观察到非常多细小的点状物。当原虫达到一定的数量时会与细胞共生争夺营养，从而影响细胞的生长。

5.2. 常见细胞污染的清除

在细胞培养时若产生了污染，通常认为应该舍弃。但不可避免的是有些细胞系是独一无二的，这时我们应尽力对受到污染的细胞进行挽救。接下来我们对细菌、真菌及支原体等污染的清除方法进行了总结。

5.2.1. 细菌污染的清除

如在受到细菌污染时，通过对抗生素除菌、抗生素联合巨噬细胞吞噬除菌以及裸鼠体内接种除菌这几种方法进行比较，发现抗生素的使用只能在短时间内清除细菌，而利用动物如裸鼠进行体内接种的除菌方法效果最好[23]。对受到细菌污染的人包皮成纤维细胞分别采用双抗和美罗培南进行挽救，发现美罗培南组挽救受细菌污染细胞的成功率显著较双抗组高[24]。

5.2.2. 真菌污染的清除

大扶康对真菌污染具有一定控制效果，尤其适合受念珠菌等污染的不能耐受两性霉素 B 毒性作用的细胞，而大扶康的使用浓度在不同的细胞株中均要进行细胞耐受性和毒性试验以确定[16]。为抢救霉菌污染早期的胰腺癌细胞，通常会及时进行换液处理，并加入较正常用量 5 倍的双抗[25]。在培养小鼠胃类器官时可能会发生出芽短梗霉菌污染，有实验结果表明 500 $\mu\text{g/L}$ 的两性霉素 B 可有效控制该类真菌的污染[26]。

5.2.3. 支原体污染的清除

当考虑到污染细胞的价值需要去除支原体时，可采取的措施有使用抗生素、加温处理、使用支原体特异性血清、 ^{60}Co 辐射处理等(见表 1) [27] [28]。且面对支原体污染时，最近有一种新的救治方法被提出，即抗生素联合用药，选取了红霉素、氯霉素、泰乐菌素和环丙沙星这四种针对支原体去除的抗生素药物进行了联合用药。在合适浓度范围内该方案显示出了明显的改善作用，并且对细胞的毒性影响较小[29]。由于同一种抗生素长时间使用或使用次数过多会导致细胞耐药性的产生，故除了联合用药外，不同药物交替使用也是一种效果显著的支原体污染的治疗方法[30]。

Table 1. Comparison of commonly used methods to remove mycoplasma contamination in cell culture

表 1. 细胞培养时去除支原体污染的常用方法比较

| 采取措施 | 优点 | 缺点 |
|---------------------|-------------|------------|
| 抗生素 | 成本低、已操作、可控制 | 细胞耐药性和细胞毒性 |
| 加温处理 | 能较好杀死支原体 | 对细胞有不良影响 |
| 支原体特异性血清 | 较好抑制支原体生长 | 较麻烦 |
| ^{60}Co 辐射 | 不影响细胞培养生长 | 需要专门的设备 |

5.2.4. 其他细胞污染的清除

最近也有证实,不间断地预防性使用抗生素会导致细菌耐药性,同时抗生素的使用会阻碍细胞反应。抗生素只能作为污染清除的手段短期使用,长期使用抗生素需进行无抗生素培养以鉴别隐形感染的对照。因此有研究采用了无抗生素细胞培养模型对原代人角质细胞进行培养,培养过程中受到了扁桃体来源的人腺病毒和芽孢形成的短芽孢杆菌的污染。这证明了虽然无抗生素会增加起始细胞培养设施的污染率,但有针对性的无菌技术或许能消除这种持久性的污染[31]。黑胶虫早期污染可用 0.25%胰蛋白酶消化 3~5 分钟,再用培养基进行冲洗,次日换液[32]。黑胶虫污染的细胞通常不对血清进行灭活处理,这样不仅对细胞的生长没有好处,反而会因为高温影响血清质量,造成细胞生长速率的降低。

6. 结论

学会正确进行细胞培养是试验的基础,能否养好细胞是试验的关键,但细胞培养过程中却会遇到各种各样的问题,最严重的就是细胞污染问题。在进行细胞培养时,为了应对各类细胞污染问题,最先考虑的是做好预防工作,了解各类细胞污染的来源才能防患于未然。若细胞污染未能避免,虽然我们可以对污染的细胞进行挽救,但值得注意的是,要完全去除细胞中的微生物污染是十分困难的。故对于易获得的细胞株,通常还是建议直接处理,否则会导致污染扩散,同时以新批次重新进行实验以减少风险,节约时间。

致 谢

感谢成都中医药大学青年教师教学骨干提升计划、成都中医药大学校级线上线下混合式示范课程《物理学》、成都中医药大学校级课程思政示范课程《物理学》、成都中医药大学核心通识课程《物理学与人类文明》、成都中医药大学辅导员工作室:“导引未来”协同育人工作室等建设项目的支持。

基金项目

中国科学技术协会“风传承行动”2022年度学风涵养工作室——“科学教育树新风”人才摇篮工作室(XFCC2022ZZ002-046);成都中医药大学2021年度校级教学质量工程建设项目(ZLGC202143)。

参考文献

- [1] 万颖杰,张俊磊,安静. 细胞培养中细菌类微生物污染的快速检测[J]. 局解手术学杂志, 2005, 14(2): 88-90. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1672-5042.2005.02.008>
- [2] 姜彬. 细胞培养技术简介及避免污染的策略[J]. 生物学通报, 2008, 43(3): 54-55. <https://doi.org/10.3969/j.issn.0006-3193.2008.03.025>
- [3] 杨丽华. 细胞培养中细菌类微生物污染的快速检测[J]. 医药前沿, 2014(16): 315-315. <https://doi.org/10.3969/j.issn.2095-1752.2014.16.357>
- [4] 谭琳琳,孔军,李大庆. 聚合酶链式反应快速检测在细菌类微生物污染细胞培养液中的应用价值[J]. 大医生, 2020, 5(21): 106-108.
- [5] 杨吉成. 医用细胞工程[M]. 上海: 上海交通大学出版社, 2001.
- [6] 苟东东. 浅谈细胞规模化培养过程中引起污染的类型及防治策略探讨[J]. 科技与创新, 2018(12): 39-41. <https://doi.org/10.15913/j.cnki.kjycx.2018.12.039>
- [7] 王恩军,靳祎,王亮. 氟康唑去除细胞培养中的真菌污染[J]. 河北职工医学院学报, 2007, 24(4): 7-8. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-490X.2007.04.004>
- [8] 周丽薇. 细胞培养技术与防止细胞污染的方法[J]. 医学信息(上旬刊), 2010, 23(11): 4387-4388.
- [9] 田启超,张涛,田丽芳,等. 细胞体外培养过程中霉菌污染的预防[J]. 动物医学进展, 2007, 28(8): 115-116. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1007-5038.2007.08.033>

- [10] 万珠珠. 如何检测培养细胞霉菌和细菌的污染? [J]. 药店周刊, 2021, 30(17): 14.
- [11] 陈峥, 赖月辉, 陈振荣. 浅谈细胞培养中微生物污染与防控措施[J]. 广东畜牧兽医科技, 2010, 35(4): 49-51. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1005-8567.2010.04.017>
- [12] 武昱孜, 张旭, 华利忠, 等. 支原体对细胞培养污染的研究概况[J]. 动物医学进展, 2013, 34(9): 112-117. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1007-5038.2013.09.027>
- [13] Wehbe, K., Vezzalini, M. and Cinque, G. (2018) Detection of Mycoplasma in Contaminated Mammalian Cell Culture Using Ftir Microspectroscopy. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **410**, 3003-3016. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-0987-9>
- [14] Sung, J. and Hawkins, J.R. (2020) A Highly Sensitive Internally-Controlled Real-Time PCR Assay for Mycoplasma Detection in Cell Cultures. *Biologicals*, **64**, 58-72. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2019.12.007>
- [15] Nims, R.W. and Price, P.J. (2017) Best Practices for Detecting and Mitigating the Risk of Cell Culture Contaminants. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal*, **53**, 872-879. <https://doi.org/10.1007/s11626-017-0203-9>
- [16] 李颖健, 刘志红. 细胞培养污染的途径、危害及预防措施[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 1999, 8(3): 245-249. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1006-298X.1999.03.016>
- [17] 吴志国. 体外细胞培养的污染和控制[J]. 当代畜禽养殖业, 2009(2): 44-45.
- [18] 陈娅, 邱育森, 欧阳学农. DC+CIK 细胞培养中常见污染及预防[J]. 现代检验医学杂志, 2014, 29(2): 151-153. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1671-7414.2014.02.050>
- [19] 贺莉芳, 万启惠, 刘晖, 张曦. 家蝇细胞培养方法的探讨[J]. 医学动物防制, 2008, 24(6): 406-407. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1003-6245.2008.06.003>
- [20] 沈旭. 疟原虫培养技术中预防细菌污染的方法[J]. 哈尔滨医药, 2011, 31(3): 197-197.
- [21] 赵微, 薛建华. 细胞培养过程中白色念珠菌污染的防控[J]. 中国畜牧兽医, 2008, 35(9): 45-47.
- [22] 周怡婷, 高增鸿, 杨嘉文, 等. 细胞培养中“黑胶虫”污染的检测及防治[J]. 生物化学与生物物理进展, 2020, 47(1): 61-68. <https://doi.org/10.16476/j.pibb.2019.0186>
- [23] 王鸿, 张伟, 孟娜. 细胞培养中珍贵贴壁细胞污染挽救方法的评价[J]. 首都医科大学学报, 2011, 32(1): 129-134. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1006-7795.2011.01.026>
- [24] 梁锐, 王志强, 李文亮, 黄鉴, 黄芬, 韦焘. 美罗培南挽救细胞培养中受细菌污染的人包皮成纤维细胞的研究[J]. 昆明医科大学学报, 2013, 34(4): 20-22.
- [25] 吴介恒, 刘梦娜, 黄莎圆子, 等. 细胞培养中霉菌感染应对措施[J]. 吉林医药学院学报, 2011, 32(1): 30-30. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1673-2995.2011.01.013>
- [26] 李菁, 张莹, 佟小涵, 何静, 吕心, 张锐清, 杜运秋, 刘岩红, 李波清. 小鼠胃类器官培养中真菌污染的鉴定与控制[J]. 中国病原生物学杂志, 2022, 17(7): 757-760, 765.
- [27] 罗燕雯, 王玉智. 细胞培养中的支原体污染预防及处理[C]//中国畜牧兽医学会. 中国畜牧兽医学会动物药品学分会 2007 年学术年会论文集: 2007 年卷. 2007: 89-90.
- [28] 姚飞. 常用的细胞培养方法、污染及污染处理[J]. 科技信息, 2009(7): 422, 447. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-9960.2009.07.329>
- [29] 黎少, 梁永康, 冯思桦, 等. 一种新的抗生素联合用药方案清除细胞支原体污染的研究[J]. 现代医院, 2021, 21(2): 301-305. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1671-332X.2021.02.041>
- [30] 易蓉鑫, 杨齐之贤, 梁易晓, 等. HEK-293 细胞培养过程中支原体污染处理初探[J]. 动物医学进展, 2021, 42(9): 53-57. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1007-5038.2021.09.010>
- [31] Niehues, H., Jansen, P.A.M., Rodijk-Olthuis, D., Rikken, G., Smits, J.P.H., Schalkwijk, J., Zeeuwen, P.L.J.M. and van den Bogaard, E.H.J. (2020) Know Your Enemy: Unexpected, Pervasive and Persistent Viral and Bacterial Contamination of Primary Cell Cultures. *Experimental Dermatology*, **29**, 672-676. <https://doi.org/10.1111/exd.14126>
- [32] 李红军. 肿瘤细胞培养中污染的防治[C]//中国解剖学会. 第五届全国解剖学技术学术会议论文集: 2015 年卷. 2015: 46.