



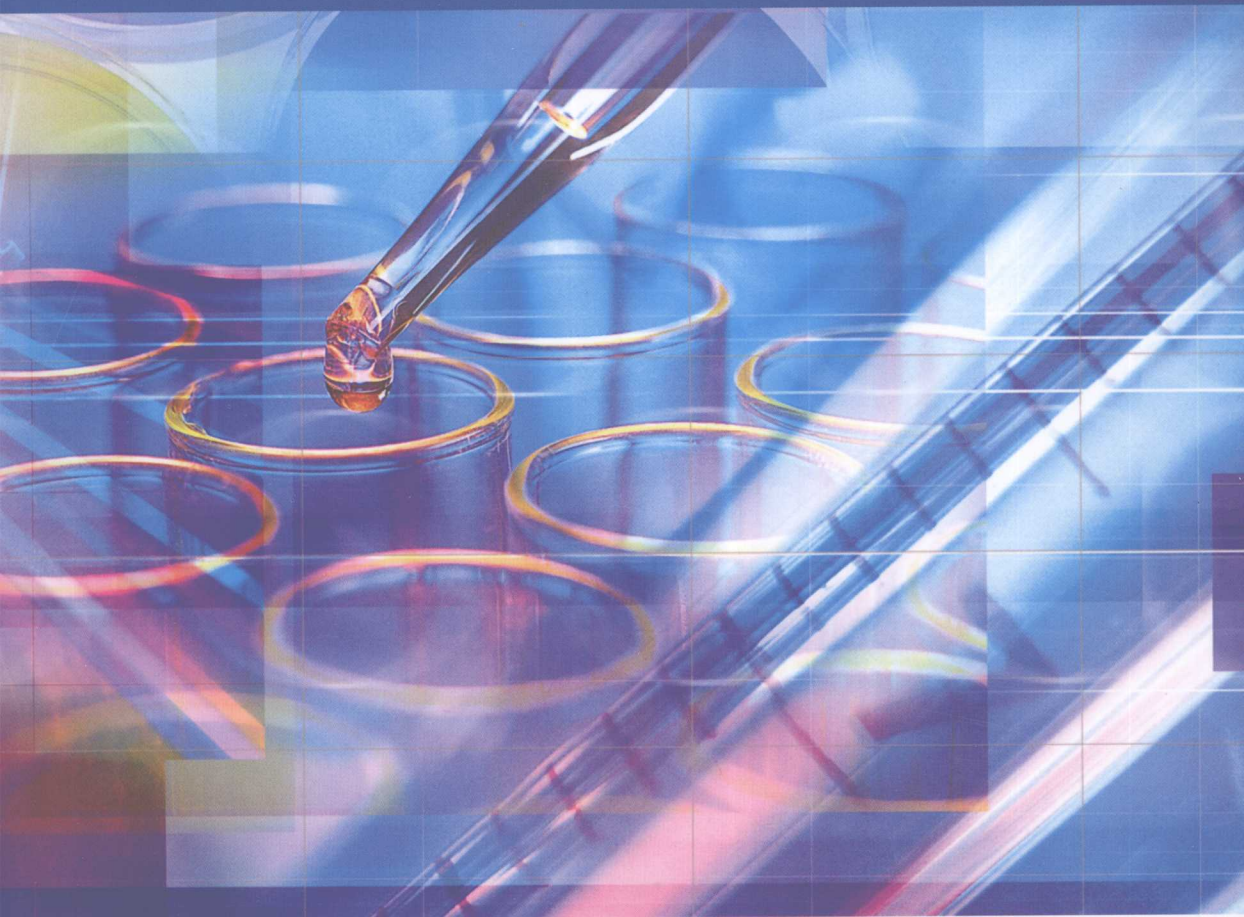
GAODENG ZHIYE JIAOYU JIAOCAI

• 高等职业教育教材 •

生物检测技术

S H E N G W U J I A N C E J I S H U

李自刚 王慧杰 主编



中国轻工业出版社

高等职业教育教材

生物检测技术

李自刚 王慧杰 主 编
李 明 陶海静 王永芬 副主编

 中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

生物检测技术/李自刚, 王慧杰主编. —北京: 中国轻工业出版社, 2007. 8

高等职业教育教材

ISBN 978-7-5019-6043-9

I. 生… II. ①李…②王… III. 生物监测-高等学校: 技术学校-教材 IV. X835

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 099097 号

责任编辑: 白 洁

策划编辑: 白 洁

责任终审: 滕炎福

封面设计: 刘 鹏

版式设计: 马金路

责任校对: 吴大鹏

责任监印: 胡 兵 张 可

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街 6 号, 邮编: 100740)

印 刷: 北京宝莲鸿图科技有限公司

经 销: 各地新华书店

版 次: 2007 年 8 月第 1 版第 1 次印刷

开 本: 720 × 1000 1/16 印张: 15.75

字 数: 280 千字

书 号: ISBN 978-7-5019-6043-9/Q · 046 定价: 24.00 元

读者服务部邮购热线电话: 010-65241695 85111729 传真: 85111730

发行电话: 010-85119845 65128898 传真: 85113293

网 址: <http://www.chlip.com.cn>

Email: club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请直接与我社读者服务部联系调换

70275J4X101ZBW

前 言

早在 1995 年,我们就萌发了开展《生物检测技术》的编写和教学工作的念头。

此后,郑州牧业工程高等专科学校生物工程系的部分年轻教师在校、系领导的关心与支持下开发了学校自用教材——《生物检测技术》一书。在当时可借鉴资料少、可学习的同行经验缺的情况下,生物工程系教师克服种种困难,十几年如一日地将本课程的教学工作坚持了下来,并取得了一些成绩,而这些成绩也得到了教材使用者的肯定。

当前,生物检测技术的方法和理论,经过多年的实践,逐步发展成熟。目前生物检测技术的一些方法已经被正式运用到了不同的生物学检测领域,如药品微生物学限度检查法、无菌检查法以及一些灭菌的方法已成为各药品检验所、药品生产企业和医院制剂室药品质量监测的常规内容,这些方法的应用对药品安全使用起到了非常有效的保证作用。近几年来,生物制剂发展迅速,其质量标准的研制和检验方法的确定离不开生物检测技术。随着医药工业的发展,当前药品生产企业正在逐步实施 GMP 认证,而生物检测技术也是其基本内容之一。

最近几年大部分高等院校相继都开设了生命科学、生物技术、生物工程等与生物类相关的专业。随着生物技术的发展以及生物产品应用得越来越广泛,生物安全性检测将是我们不得不面临的问题。因此编写一本适合我国高等院校,特别是高职高专院校生物类专业教学实际需要的生物检测技术教材,以及生物领域相关科研工作者需要的生物检测技术参考书是一项迫切的任务。

为此,郑州牧业工程高等专科学校生物工程系的部分年轻教师在一些有经验的老专家、老教授的支持下,通过查阅国内外的一些相关文献编写了这本适合当前高等院校,特别是适合于高职高专院校生物类相关专业教学实际应用的教材——《生物检测技术》。可以说,在一定程度上本书也是我系部分教师多年教学经验的结晶,希望本书的出版能够给大家在生物检测技术领域的教学、学习与工作带来一些方便。

由于本书涉及的内容广泛、知识点新,虽经编者努力,但因时间仓促,水平有限,错漏之处在所难免,希望同仁批评指正。

本书得到郑州牧业工程高等专科学校领导、有关职能处室的大力支持,同时也得到了郑州牧业工程高等专科学校生物工程系领导的关心与资助,在此谨致诚挚的谢意。

编 者

目 录

第一章 常用生物检测试剂及器皿	1
第一节 常用器皿及其清洁方法	1
一、常用器皿	1
二、常用器皿的清洗和消毒方法	5
第二节 试剂的质量标准与溶液的浓度	9
一、试剂的质量标准	9
二、溶液浓度的表示方法	9
第三节 常用缓冲液与贮液的配制	10
一、配制缓冲液与贮液的注意事项	10
二、常用缓冲液与贮液的配制	10
第四节 常用抗生素	16
第五节 葡萄球菌 A 蛋白 (SPA) 的制备	17
一、SPA 的基本特性	17
二、SPA 菌株的培养	18
三、SPA 的提取、纯化与鉴定	18
四、SPA 在动物疫病检测中的应用	20
第二章 病原学检测技术	23
第一节 病原学检测技术的应用与发展	23
第二节 病原微生物检测的特点和影响因素	23
一、病原微生物检测对象的特点	23
二、病原微生物检测的特点	24
三、病原微生物检测的影响因素	25
第三节 病原微生物检测实验室设施与设备要求	25
一、微生物学检测实验室设施要求	26
二、病原微生物检测实验室设备要求	30
第四节 病原体分离培养与接种技术	38
一、消毒与灭菌技术	38
二、培养基的制备技术	41
三、病原微生物培养与接种技术	49
第五节 检测标本制作技术	57
一、标本的采集	58

二、标本固定	58
三、标本染色	60
四、标本脱水	60
五、标本透明	60
六、标本封固	61
第六节 显微镜检测技术	61
一、显微镜	61
二、常用检测方法	62
第七节 病原体染色技术	63
一、革兰染色法	63
二、萼-纳抗酸染色法	64
三、结核杆菌金胺“O”染色法	65
四、布鲁菌柯兹罗夫斯基染色法	65
五、墨汁染色法	65
六、Fontana 镀银染色法	66
七、乳酸酚棉蓝染色法	66
八、墨汁硫堇染色法	66
九、姬氏染色法	67
十、瑞氏染色法	67
十一、瑞氏与姬氏复合染色	67
十二、碘液染色法	68
十三、金胺-酚染色法	68
十四、卡红染色法	68
十五、苏木素染色法	69
十六、伊红染色法	71
十七、特殊结构的染色方法	71
第八节 不染色标本检查	73
第九节 细菌 L 型检查	73
第十节 常见致病性细菌的培养和鉴定	75
一、球菌	75
二、肠道细菌	77
三、弧菌属、弯曲菌属和螺杆菌属	81
四、非发酵菌和其它革兰阴性杆菌	83
五、需氧革兰阳性杆菌	84
六、分枝杆菌属	86
七、厌氧菌	89

八、螺旋体	91
九、支原体、衣原体和立克次体	92
第十一节 常见致病性真菌的培养和鉴定	93
一、真菌学检验基本技术	93
二、常见浅部真菌培养和鉴定	96
三、常见深部真菌培养和鉴定	98
第三章 免疫学检测技术	100
第一节 检测抗原制备技术	100
第二节 检测抗体制备技术	102
一、多克隆抗体制备技术	102
二、单克隆抗体制备技术	104
第三节 免疫凝集试验	110
一、直接凝集试验	110
二、间接凝集试验	112
第四节 免疫电泳技术	115
一、对流免疫电泳	115
二、火箭免疫电泳	116
三、免疫固定电泳	117
四、交叉免疫电泳	118
第五节 免疫微粒技术	119
一、胶乳凝集试验	119
二、胶乳免疫测定法	119
三、免疫磁性微粒分离与纯化技术	120
第六节 免疫荧光技术	120
第七节 放射免疫技术	124
第八节 免疫酶技术	126
一、酶标抗体制备技术	127
二、酶联免疫吸附试验	131
三、斑点酶联免疫吸附试验	133
四、斑点酶免疫渗滤试验	134
五、酶联免疫印迹技术	135
第九节 生物素-亲和素标记技术	140
一、生物素标记技术	140
二、亲和素标记技术	143
第十节 免疫金技术	145
一、胶体金制备技术	145

二、胶体金标记技术	148
三、斑点免疫金银染色	149
四、斑点免疫渗滤测定法	150
第十一节 免疫层析测定技术	151
第四章 生物化学试验技术	153
第一节 碳水化合物的代谢试验	153
一、糖（醇、苷）类发酵试验	153
二、葡萄糖代谢类型鉴别试验	154
三、甲基红（MR）试验	154
四、 β -半乳糖苷酶试验（ONPG 试验）	155
五、V. P. 试验	155
六、胆汁七叶苷水解试验	155
七、淀粉水解试验	156
八、甘油复红试验	156
九、葡萄糖酸氧化试验	156
第二节 氨基酸和蛋白质的代谢试验	157
一、硫化氢试验	157
二、明胶液化试验	157
三、吲哚试验（靛基质试验）	157
四、苯丙氨酸脱氨酶试验	158
五、氨基酸脱羧酶试验	158
六、精氨酸双水解酶试验	158
七、尿素酶试验	158
八、霍乱红试验	159
第三节 碳源和氮源利用试验	159
一、枸橼酸盐利用试验	159
二、丙二酸盐利用试验	159
三、醋酸钠利用试验	160
四、马尿酸钠水解试验	160
五、乙酰胺利用试验	160
第四节 酶类试验	160
一、氧化酶试验	160
二、触酶试验	161
三、凝固酶试验	161
四、DNA 酶试验	162
五、胆汁溶菌试验	162

六、硝酸盐还原试验	163
七、卵磷脂酶试验	163
八、磷酸酶试验	164
九、脂酶试验	164
十、CAMP 试验	164
十一、石蕊牛乳试验	165
第五节 抑菌试验	165
一、Optochin 敏感试验	165
二、杆菌肽敏感试验	165
三、新生霉素敏感试验	166
四、O/129 试验	166
五、氰化钾试验	166
第六节 其它试验	166
一、克氏双糖铁或三糖铁琼脂培养基试验	166
二、氢氧化钾拉丝试验	167
第五章 分子生物学检测技术	168
第一节 聚合酶链反应 (PCR) 技术	168
一、PCR 技术概述	168
二、PCR 反应模板的制备	176
三、常规 PCR 技术	178
四、套式 PCR 技术	181
五、实时定量 PCR (Real time PCR) 技术	182
六、免疫 PCR 技术	186
七、聚合酶链反应 - 单链构象多态性分析	190
八、其它扩增技术	193
第二节 核酸分子杂交技术	195
一、核酸分子杂交技术概述	195
二、探针的种类及其选择	197
三、核酸探针标记	198
四、探针与靶核酸的杂交	200
五、Southern 杂交	201
六、Northern 印迹杂交	207
七、斑点及狭缝印迹杂交	211
八、核酸原位杂交	213
九、核酸液相杂交技术	218
十、杂交反应的条件及参数的优化	220

十一、核酸探针杂交新技术	221
十二、病原体的基因诊断（核酸探针杂交技术）	223
第三节 生物芯片检测技术	226
一、分类	227
二、制备	228
三、分子杂交	229
四、杂交图谱的检测和分析	229
五、检测设备	229
六、生物芯片的应用	230
第四节 细菌质粒指纹图谱分析	233
参考文献	238

第一章 常用生物检测试剂及器皿

第一节 常用器皿及其清洁方法

一、常用器皿

生物检测实验室的常用器皿很多，仅就常用的介绍如下。

1. 试管

试管是一种实验室常用的玻璃器皿，它是用中性硬质玻璃制成的如同手指形状的管子，顶端开口，通常是光滑的，底部呈 U 形。试管的长度从几厘米到 20cm 不等，直径在几毫米到数厘米之间。试管被设计为能通过控制火焰对样品进行简易加热的产品，所以通常由膨胀率大的玻璃制成，如硼硅酸玻璃。当微量化学或生物样品需要操作或贮藏时，试管通常比烧杯更好用。在生物和化学实验中，试管的使用是非常普遍的，因此试管与烧瓶和烧杯一起，成为了科学实验的同义词，成为了科学进步的标志。

生物检测实验室所用的试管的管壁应较厚。为便于加塞并防止异物落入，以直口式试管为佳（即不卷口的）。常用的试管规格有：15mm × 150mm，用来装 5 ~ 10mL 肉汤培养基或琼脂斜面用；10mm × 100mm，常用来装含糖培养基及其它生化培养基等；10mm × 75mm，常用于血清学试验，如凝集试验或凝集抑制试验等。

2. 烧杯

烧杯是一种常见的实验室玻璃器皿，通常由玻璃、塑料或者耐热玻璃制成。烧杯呈圆柱形，顶部的一侧开有一个槽口，便于倾倒液体。烧杯通常用作反应物量较多时的反应容器。此外也用来配制溶液，如在生物检测实验室常用来配制液体培养基、加速物质溶解、促进溶剂蒸发等。

有些烧杯外壁还标有刻度，可以粗略地估计烧杯中液体的体积。烧杯一般都可以加热，在加热时应该均匀加热，不要烧干。烧杯经常用来配制溶液和作为较大的试剂的反应容器。在操作时，经常会用玻璃棒或者磁力搅拌器来进行搅拌。

为了在使用时便于添加一定量的液体，在一些烧杯外壁上印有白色的容积标线，这种烧杯叫印标烧杯，有的叫它刻度烧杯。其分度并不十分精确，允许误差一般在 ±5%，所以在分度表上印有“APPROX”字样，它表示“近似容积”，因此，不能作量器使用。烧杯的种类和规格较多，烧杯的规格以容积大小区分，常用为 50、100、250、500mL 等多种。

3. 烧瓶

烧瓶通常具有圆肚细颈的外观，与烧杯明显不同。它的窄口是用来防止溶液溅出或是减少溶液的蒸发，并可配合橡皮塞的使用，来连接其它的玻璃器材。当溶液需要长时间的反应或是加热回流时，一般都会选择使用烧瓶作为容器。烧瓶的开口没有像烧杯般的突出槽口，倾倒溶液时更易沿外壁流下，所以通常都会用玻璃棒轻触瓶口以防止溶液沿外壁流下。烧瓶因瓶口很窄，不适用玻璃棒搅拌，若需要搅拌时，可以手握瓶口轻微转动手腕即可顺利搅拌混匀。若加热回流时，则可于瓶内放入磁性搅拌子，以加热搅拌器加以搅拌。烧瓶随着其外观的不同可分平底烧瓶和圆底烧瓶两种。通常平底烧瓶用在室温下的反应，而圆底烧瓶则用在较高温的反应。这是因为圆底烧瓶的玻璃厚薄较均匀，可承受较大的温度变化。

4. 容量瓶

容量瓶主要用于准确地配制一定浓度的溶液。它是一种细长颈、梨形的平底玻璃瓶，配有磨口塞。瓶颈上刻有标线，当瓶内液体在所指定温度下达到标线处时，其体积即为瓶上所注明的容积数。一种规格的容量瓶只能量取一个量。常用的容量瓶有 100、250、500mL 等多种规格。

(1) 使用容量瓶配制溶液的方法

① 使用前检查瓶塞处是否漏水。具体操作方法是：在容量瓶内装入半瓶水，塞紧瓶塞，用右手食指顶住瓶塞，另一只手五指托住容量瓶底，将其倒立（瓶口朝下），观察容量瓶是否漏水。若不漏水，将瓶正立且将瓶塞旋转 180°后，再次倒立，检查是否漏水，若两次操作，容量瓶瓶塞周围皆无水漏出，即表明容量瓶不漏水。经检查不漏水的容量瓶才能使用。

② 把准确称量好的固体溶质放在烧杯中，用少量溶剂溶解。然后把溶液转移到容量瓶里。为保证溶质能全部转移到容量瓶中，要用溶剂多次洗涤烧杯，并把洗涤溶液全部转移到容量瓶里。转移时要用玻璃棒引流。方法是将玻璃棒一端靠在容量瓶颈内壁上，注意不要让玻璃棒其它部位触及容量瓶口，防止液体流到容量瓶外壁上。

③ 向容量瓶内加入的液体液面离标线 1cm 左右时，应改用滴管小心滴加，最后使液体的弯月面与标线正好相切。若加水超过刻度线，则需重新配制。

④ 盖紧瓶塞，用倒转和摇动的方法使瓶内的液体混合均匀。静置后如果发现液面低于刻度线，这是因为容量瓶内极少量溶液在瓶颈处润湿所损耗，所以并不影响所配制溶液的浓度，故不要在瓶内添水，否则，会使所配制的溶液浓度降低。

(2) 使用容量瓶时应注意的事项

① 容量瓶的容积是特定的，刻度不连续，所以一种型号的容量瓶只能配制

同一体积的溶液。在配制溶液前，先要弄清楚需要配制的溶液的体积，然后再选用相同规格的容量瓶。

② 不能在容量瓶里进行溶质的溶解，应将溶质在烧杯中溶解后转移到容量瓶里。

③ 用于洗涤烧杯的溶剂总量不能超过容量瓶的标线。

④ 容量瓶不能进行加热。如果溶质在溶解过程中放热，要待溶液冷却后再进行转移，因为一般的容量瓶是在 20℃ 的温度下标定的，若将温度较高或较低的溶液注入容量瓶，容量瓶则会热胀冷缩，所量体积就会不准确，导致所配制的溶液浓度不准确。

⑤ 容量瓶只能用于配制溶液，不能储存溶液，因为溶液可能会对瓶体进行腐蚀，从而使容量瓶的精度受到影响。

⑥ 容量瓶用毕应及时洗涤干净，塞上瓶塞，并在塞子与瓶口之间夹一条纸条，防止瓶塞与瓶口粘连。

5. 量筒

量筒是用于量取液体体积的玻璃仪器，外壁上有刻度。常用量筒的规格有 5、10、20、25、50、100 和 200mL 等。使用量筒量取液体时，应把量筒放在水平的桌面上，使眼的视线和液体凹液面的最低点在同一水平面上，读取和凹面相切的刻度即可。不可用手举起量筒看刻度。量取指定体积的液体时，应先倒入接近所需体积的液体，然后改用胶头滴管滴加。使用量筒时应注意：用量筒量取液体体积是一种粗略的计量法，所以在使用中必须选用合适的规格，不要用大量筒计量小体积，也不要用小量筒多次量取大体积的液体，否则都会引起较大的误差。量筒是厚壁容器，绝不能用来加热或量取热的液体，也不能在其中溶解物质，稀释和混合液体，更不能用作反应容器。

使用注意事项：

① 不能用量筒配制溶液或进行化学反应。

② 不能加热，也不能盛装热溶液以免炸裂。

③ 量取液体应在室温下进行。

④ 读数时，视线应与液体凹液面最低点水平相切。

⑤ 量取已知体积的液体，应选择比已知体积稍大的量筒，否则会造成误差过大。如量取 15mL 的液体，应选用容量为 20mL 的量筒，不能选用容量为 50mL 或 100mL 的量筒。

6. 三角烧瓶

供加热、煮沸、贮存、消毒各种液体用。其容量有：100、250、500、1000、2000mL 等各种规格。

7. 离心管

常用的有 10、15、20mL 三种，其上有刻度，专供离心机使用。

8. 玻璃管

管壁厚 1 ~ 1.5mm, 直径 6 ~ 10mm。常作液体、气体导管用, 或拉制毛细吸管。

9. 玻璃吸管

用来吸取和转移液体, 常用的有两种。一种为自己拉制的毛细吸管; 另一种为有刻度的吸管, 常用的有 0.1、0.2、0.5、1.0、5.0、10.0mL 等数种规格。

10. 玻璃棒

玻璃棒直径有 0.5、0.8、1.0mm 三种, 用来搅拌液体, 或作标本支架用。

11. 玻璃珠

用硬质中性玻璃制成, 直径有 3 ~ 4mm 和 5 ~ 6mm 两种规格。用于血液脱纤维蛋白或打碎组织或菌落。

12. 染色缸

有方形和圆形两种。方形的较大, 可容 10 张载片; 圆形的较小, 可容 5 张载片。供血液、细菌涂片及病理切片染色之用。

13. 玻璃缸

玻璃缸内常盛石炭酸或甲醛之类的消毒剂, 以备暂时放置使用过的涂片、吸管、培养基等, 以杀灭病原微生物。

14. 滴瓶

滴瓶容量有 30mL 和 60mL 两种规格, 有无色和棕色两类。供贮存试剂、染色液使用。

15. 玻璃漏斗

玻璃漏斗有短颈和长颈两种。漏斗口直径有 60、100 和 150mm 几种不同规格。供分装液体或垫上滤纸或纱布过滤杂质。

16. 广口瓶

广口瓶供盛装蒸馏水或其它液体用。有 5000、10000、15000、25000mL 几种不同规格。

17. 下口瓶

供盛装蒸馏水或消毒液用。有无龙头和有龙头两种, 容量有 2500、5000mL 两种规格。

18. 酒精灯

供细菌检验时固定涂片、烧灼白金耳等用。常用的酒精灯容量有 150 和 250mL 的两种。

19. 研钵

研钵有瓷质、玻璃质的两种, 其直径有 10、16、24cm 三种不同规格。供研磨块状、粒状固体药物或染料等用, 又可进行组织材料的研磨。

20. 注射器

供鸡胚接种、采血、给动物注射药物用。应备有1、2、5、10、20mL不同规格的一次性或玻璃注射器。

21. 微量滴定板(96孔血清反应板)

微量滴定板有“V”形和“U”形两种,供HA、HI试验等使用。

22. 酶标软板

酶标软板由聚苯乙烯薄片模压而成,有4×10孔,孔形呈“U”形,供间接凝集试验、ELISA等试验用。

23. 微量移液器

微量移液器供间接凝集试验、HA、HI试验等使用。

24. 培养皿

培养皿常用于细菌培养、药敏试验和采集病理标本,以直径9cm大小的较常用。

25. 载玻片及盖玻片

以薄质、光边、无色的为佳,盖玻片有不同的大小,但其厚度应在0.17mm以下。如经多次洗涤后玻片表面出现划痕,则应弃去。另需数张凹玻片,用于制作悬滴标本。

26. 多功能电炉

多功能电炉温度可调,供加热溶液用。

27. 接种环

接种环又称铂耳或白金耳,为细菌学检验工作中接种、分离细菌或挑取菌落制作涂片所必不可少的工具。白金耳常装于铝质的握柄上,用坏后可随时更换。

28. 层析柱

生产层析柱的厂商很多,其型号也各不相同,仅就上海精科实业有限公司生产的Z型系列层析柱介绍如下:该系列有Z-10、Z-16、Z-26、Z-35、Z-55、Z-70和Z-95型七种。其数字为内径(mm),它们有不同的长度,可根据需要购买,当处理的样品量不大时,可购买内径较细、较短的;反之可购买内径较粗、较长的。

二、常用器皿的清洗和消毒方法

1. 常用器皿的清洗

(1) 常用玻璃器皿的清洗

清洗要领:

① 浸泡:初次使用的玻璃器皿呈碱性,表面常附有灰尘和一些对细胞有毒的物质,如铝和砷等。空气湿度高时,玻璃器皿表面又易长霉。使用前,新器皿浸泡在5%稀盐酸中过夜,以中和玻璃表面的碱性物质并去除霉斑;然后经简单

刷洗，流水冲洗（逐个进行），蒸馏水浸泡，干燥备用。新玻片处理后，短时间不用时，需将它投入 95% 的酒精中保存，以防玻片长霉。培养后的玻璃器皿应立即投入清水中浸泡，器皿中残留的细胞、蛋白质一旦干涸，即固着于玻璃表面，极难脱落。

② 刷洗：用过的玻璃器材经自来水冲洗后，浸入水中煮沸，然后将适量洗涤剂（洗洁精或洗衣粉）投入沸水中继续煮沸 10min，趁热刷洗器皿内外，刷洗后浸入清水中进行冲洗。

③ 酸泡：刷洗好的玻璃器材干燥后置清洁液中浸泡 24h，清洁液的强氧化作用可清除刷洗不掉的极微量杂质。

④ 清洗步骤：玻璃器皿煮沸 10min→刷洗→流水振荡冲洗 15~20 遍→50℃ 烤干→清洁液中浸泡 24h→流水振荡后冲洗 15~20 遍→沥水→蒸馏水浸泡 2 次（每次 24h）→50℃ 烤干，待包装。

⑤ 清洗注意事项和要求：

- a. 使用后的实验器皿应立即投入清水中。
- b. 浸泡、煮沸、酸泡的器皿内要充满液体，不得有气泡。
- c. 刷洗、酸泡后的器材要用流水振荡冲洗，不得残留洗涤剂、清洁液。方法是：每瓶灌 2/3 容积的自来水，振荡后倒掉，重复 15~20 次（尖滴管置量杯中冲洗）。
- d. 煮沸前的水面要高于器皿 5cm，水沸后投入洗涤剂（直径 35cm 的铝锅，用洗衣粉 10g 左右）。若洗涤剂和实验器皿同时从冷水煮至沸腾或使用过量洗涤剂，均易腐蚀玻璃表面，使玻璃碱化，pH 上升。
- e. 软毛刷的刷端已掉毛的应该弃去，否则会损害玻璃。玻璃划痕处易残留洗涤剂，会改变培养液 pH 和毒害细胞。
- f. 清洁物品应及时包装消毒，应注意妥善保存，防止落入灰尘、蟑螂、蚂蚁等引起二次污染。
- g. 使用后的胶塞与玻璃器皿同时煮洗时，胶塞要放在煮锅的底部。
- h. 浸泡器皿的蒸馏水容器要专用，并做好标记，如“蒸馏水 I 盆”、“蒸馏水 II 盆”。
- i. 器皿清洗干燥后，在以后各步操作时，手指不可接触器皿的使用端。清洗者可戴一次性薄膜手套进行操作，省时又保证清洗质量。
- j. 用超声波仪清洗器皿时，清洗要求同上。

(2) 橡胶制品的清洗 新购置的橡胶制品（胶塞、胶管、橡皮乳头）的洗涤方法如下：0.5mol/L NaOH 煮沸 15min→流水冲洗→0.5mol/L HCl 煮沸 15min→流水冲洗→自来水煮沸 2 次→蒸馏水煮沸 20min→50℃ 烤干备用。这样处理可完全除净胶塞上的硫磺等有毒物质。用过的胶塞，其清洗方法、要求基本同玻璃器材。因胶塞使用面常沾有洗涤剂，流水冲不净，故胶塞洗刷的重点部位是胶塞

使用面，用刷子逐个刷洗。在使用过程中，胶塞不能与培养液接触，以防未洗净的胶塞污染培养液和细胞。

(3) G6 除菌滤器的清洗 新 G6 除菌滤器置玻璃洗液中浸泡 24h，流水缓慢冲洗，至 pH 为 5.5 左右，然后用 4 倍的蒸馏水缓慢冲洗，再用重蒸馏水缓慢冲洗，烤干，包装消毒备用。用过的 G6 除菌漏斗立即浸泡于水中（注意：滤器千万不能干涸）过夜，流水缓慢冲洗 24h 或更长时间，至滤面基本疏通时，50℃ 烤干，滤器再置清洁液中浸泡 24h，或装满清洁液自然过滤。流水冲洗及其后的处理同新 G6 除菌滤器。

(4) 正压除菌滤器的清洗 新的或使用后的正压滤器经稀洗涤剂刷洗→流水冲洗 15min→沥水→去离子水浸泡 24h→三蒸水浸泡 24h→干燥备用。

(5) 塑料制品的清洗 塑料制品质地软且耐腐蚀能力强，但不耐热，易出现划痕。其清洗程序为：器皿用后立即用流水冲洗→浸于自来水中过夜→用纱布、棉签和 50℃ 稀洗液刷洗→流水冲洗（人工冲洗 15~20 遍）→晾干→浸于清洁液中 15min→流水冲洗→蒸馏水浸泡两次（每次 24h）→晾干备用。

(6) 沾染有病原微生物的玻璃器皿的清洗 沾染有病原微生物的玻璃器皿，应先在瑞达消毒液中浸泡消毒后或经高压灭菌后，才能进行洗涤。灭菌后的玻璃器皿应立即浸入水中或洗衣粉水中进行洗涤；然后，再用温热的清水洗刷两遍，用蒸馏水冲洗，干燥后灭菌备用。

(7) 用过的载片、盖片的清洗 用后可浸泡于 0.1% 新洁尔灭或瑞达消毒液中，经数日后用温热的清水洗涤，再用蒸馏水冲洗，放入 75% 酒精中，然后以丝绸或软棉布擦拭干净备用。

(8) 用过的各种吸管的清洗 用过的各种吸管应随时用清水冲洗。沾有病原体的吸管应在消毒液中反复抽吸数次后，浸泡于消毒液中消毒。取出后以清水冲洗数遍，再以蒸馏水冲洗两次。如吸管内还有污垢未能洗净，可在细铁丝尖端缠少许脱脂棉伸入管内清除之。

(9) 较难洗玻璃器皿的清洗 玻璃器皿上有时会有云翳、污垢，经过洗涤仍然洗不掉，用于精细试验的玻璃器皿可用浸酸（清洁液浸泡）的方法除去。

浸酸是将玻璃器皿浸泡到清洁液（又称酸液）中（表 1-1），通过清洁液的强氧化作用清除器皿表面可能残留的物质。根据含硫酸比例，将清洁液分为常用、强液、次强液和弱液四种。根据需要配制、选用不同的清洁液。清洁液对玻璃无腐蚀作用，去污效果很好，是保证器皿洁净的关键一环。一般来说，新的或用过的玻璃器皿都应浸酸，那些无法用毛刷刷洗的用品（如吸管、滴管等）更要靠浸酸去除污物。浸酸时，器皿应完全被清洁液充满和覆盖。浸酸时间不能少于 6h，一般要过夜或更长时间。将器皿放入清洁液时应小心操作，防止伤及皮肤、眼睛或衣服。从清洁液中取出器皿时，应沥干清洁液，并将浸酸的器皿放入合适容器，如塑料盆中运输。