



多年积累的经验 and 解决问题的诀窍

鼠疫实验室 技术手册



夏连续 海 荣 ◉ 主编

鼠疫菌的检测

- 鼠疫菌的初步鉴定
- 鼠疫菌的深入鉴定
- 为鼠疫菌建立详尽的遗传档案
- 本手册有详细的操作规程，根据手册你就能够完成整个实验并获得预期的结果

北京出版集团公司
北京出版社

多年积累的经验 and 解决问题的诀窍



鼠疫实验室 技术手册

夏连续 海 荣 ◉ 主编



北京出版集团公司
北京出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

鼠疫实验室技术手册 / 夏连续, 海荣主编. — 北京:
北京出版社, 2013. 6

ISBN 978 - 7 - 200 - 09789 - 4

I. ①鼠… II. ①夏… ②海… III. ①鼠疫—实验室
—技术手册 IV. ①R516. 8 - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 089843 号

鼠疫实验室技术手册

SHUYI SHIYANSHI JISHU SHOUCHE

夏连续 海荣 主编

*

北京出版集团公司 出版
北京出版社

(北京北三环中路 6 号)

邮政编码: 100120

网 址: www.bph.com.cn

环球印刷(北京)有限公司

新华书店经销

环球印刷(北京)有限公司

*

889 毫米 × 1194 毫米 32 开本 9.25 印张 189 千字

2013 年 6 月第 1 版 2013 年 6 月第 1 次印刷

ISBN 978 - 7 - 200 - 09789 - 4

定价: 28.00 元

质量监督电话: 010 - 58572393

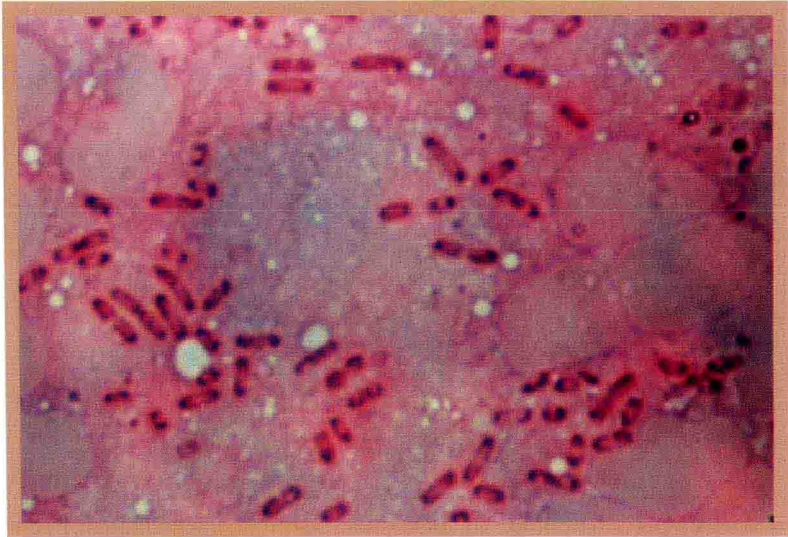


图1-1 鼠疫菌革兰氏染色涂片

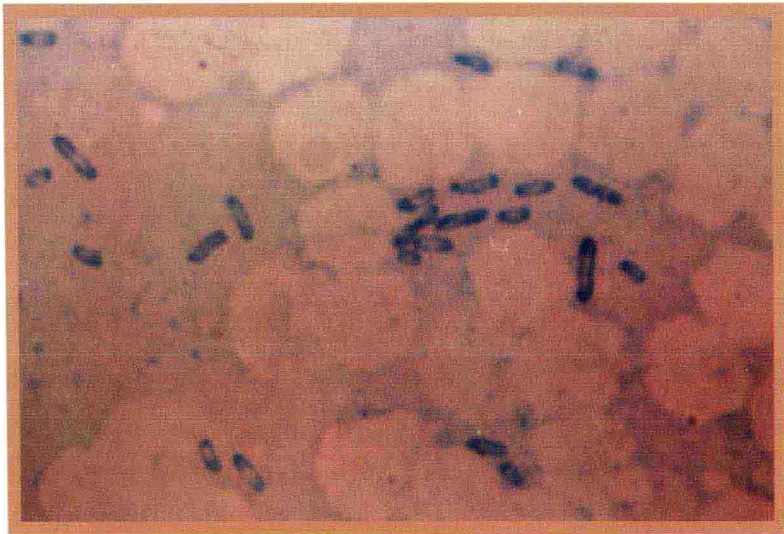


图1-2 鼠疫菌美兰染色涂片

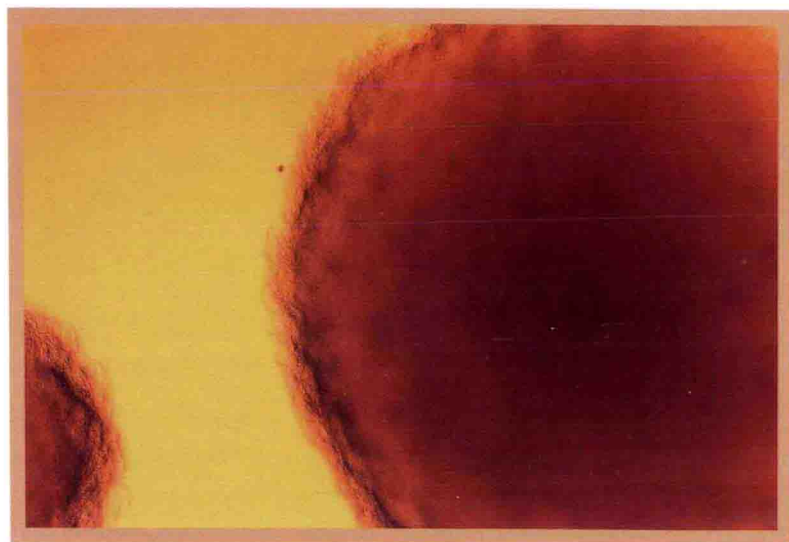


图1-3 鼠疫菌单个菌落照片粗糙颗粒，边缘不整齐（显微镜40X）

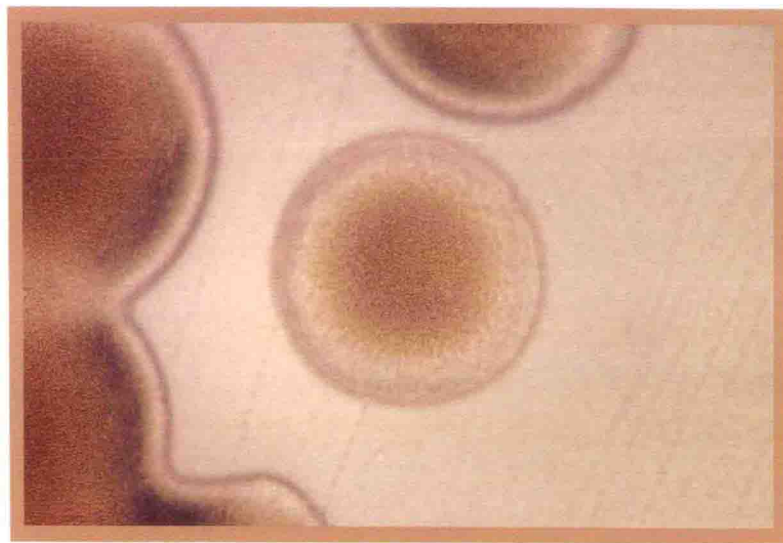


图1-4 鼠疫菌菌落边缘薄而透明的花边状（显微镜40X）



图1-5 鼠疫噬菌体裂解实验斑



图1-6 噬菌斑内有时可见菌落残骸

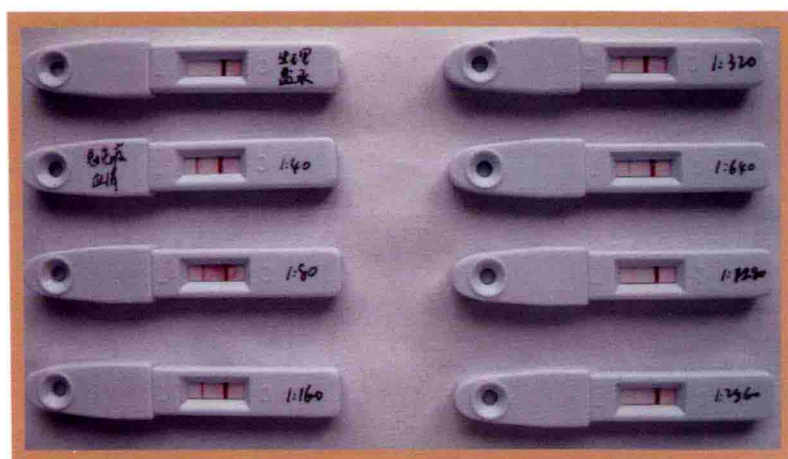


图3-1 鼠疫F1抗体胶体金检测



图3-2 鼠疫F1抗原胶体金检测

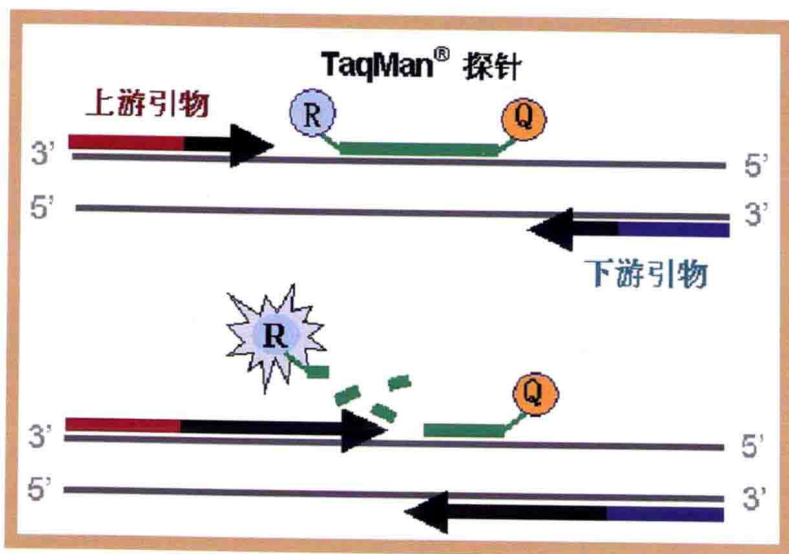


图4-2 TaqMan工作示意图，R代表荧光基团，Q代表淬灭基团

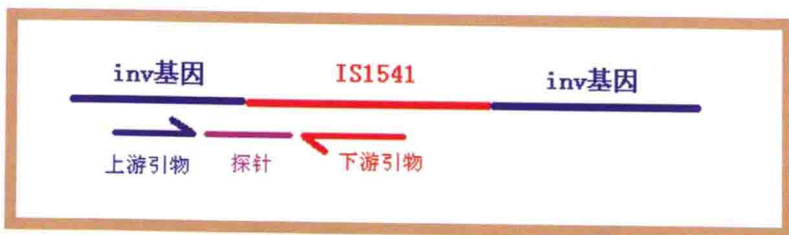


图4-3 *inv*基因引物探针设计示意图

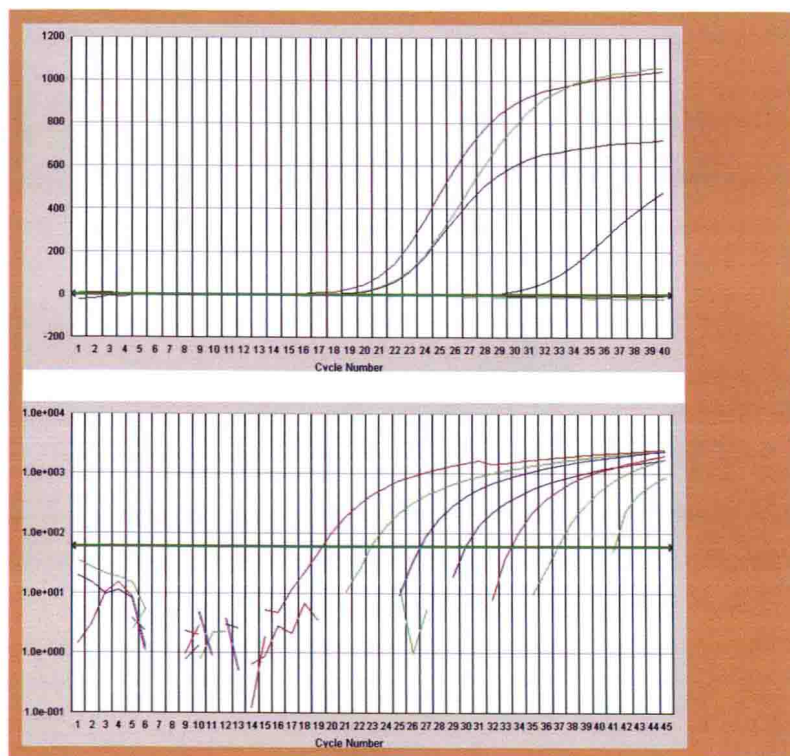


图4-4 pla基因的扩增曲线图

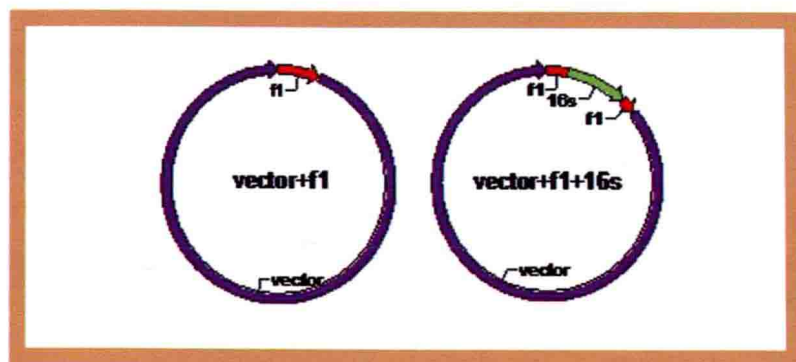


图4-5 内部对照构建示意图

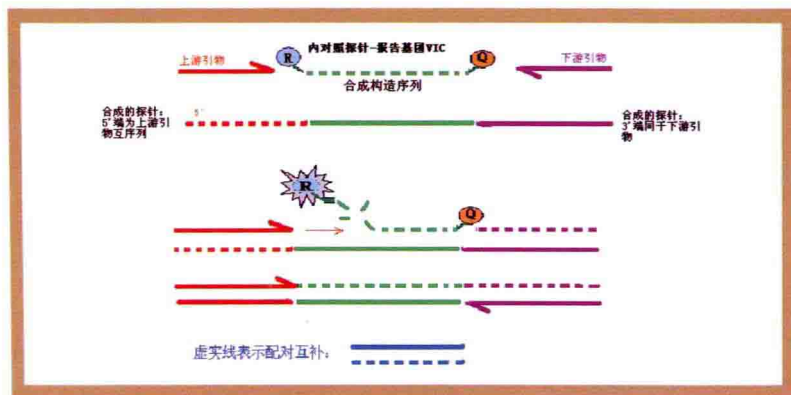


图4-7 内标探针的制备及工作原理

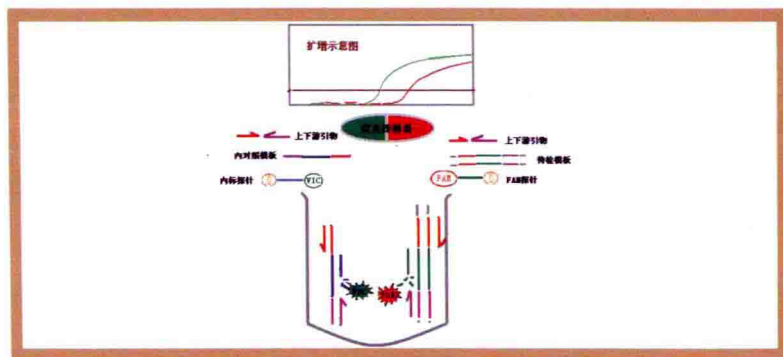


图4-8 内标探针的制备及工作原理

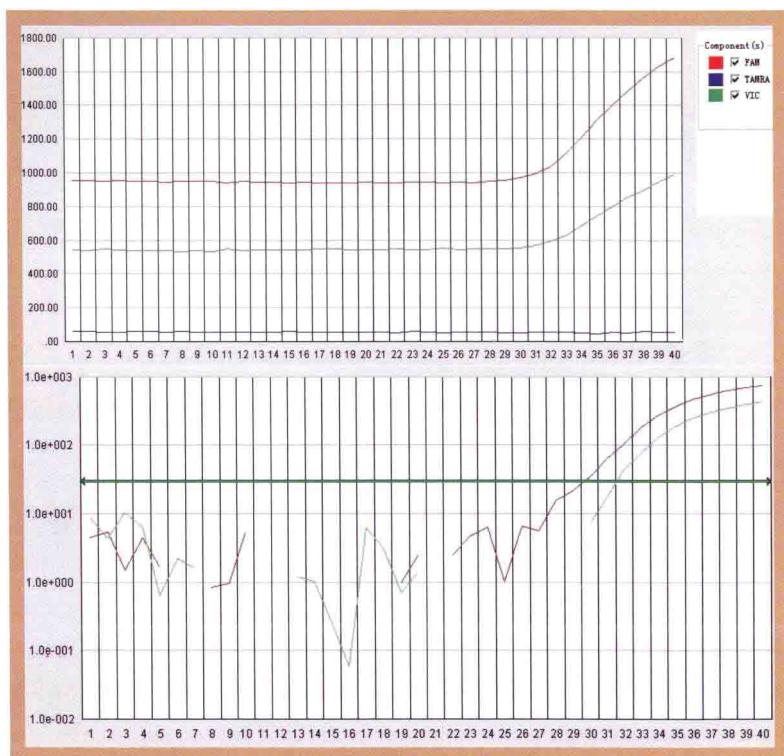


图4-9 带内对照的荧光PCR反应的荧光分解以扩增

注：上图荧光分解：从上至下为FAM, VIC, 淬灭基团。下图为plA基因在实验样品—FAM标记 (10^8 / μ l) 及内对照—VIC标记 (10^4 / μ l) 的联合扩增结果。

编写人员名单

主 编 夏连续 海 荣

中国疾病预防控制中心传染病预防控制所
传染病预防控制国家重点实验室

参编人员（按姓氏笔画排序）

王 鹏 云南省地方病防治所
申小娜 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所
朱晓宇 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所
李 伟 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所
张志凯 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所
赵 飞 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所
胡 源 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所
俞东征 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所
夏连续 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所
徐冬蕾 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所
海 荣 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所
崔玉军 中国人民解放军军事医学科学院微生物流
行病学研究所
梁 莹 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所
魏建春 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所

前 言

鼠疫是一种高度危险的传染病，认识鼠疫，是控制这种高度危险传染病的第一步。正由于这种疾病高度危险的性质，认识鼠疫的大部分工作需要特定的环境条件下进行，这就是鼠疫实验室。鼠疫实验室是预防和控制鼠疫的必要设施，不是可有可无，或者可以取代的条件，更不是增加鼠疫危险性的因素。没有鼠疫实验室，鼠疫的预防和控制将寸步难行。

鼠疫又是一种自然疫源性疾病，对鼠疫的认识涉及多个学科、多个领域。因此，鼠疫的预防和控制需要多种类型的实验室。习惯上，鼠疫实验室通常指鼠疫细菌实验室。除此之外，许多与鼠疫有关的生物学工作，如物种鉴定等；或者动物中鼠疫疾病过程的实验工作，如鼠疫的传播实验，都需要在实验室中进行。这些实验室有专门的名称，专门的工作内容，当然就会有专门的著

作来描述这些实验工作。

随着科学和技术的发展，细菌实验室也在不断进步。最突出的改变表现在以下方面：

一个世纪之前，细菌实验还是一门艺术。从事细菌的实验工作需要高超的技艺，即使是高度熟练的实验人员，也不能保证一次实验结果与上一次完全一致。仅仅百年时间，细菌实验已经由一种艺术转化为真正的工程。在现代的实验条件下，采用标准化的试剂和装备，使用同一的方法，不但能够保证在一次与另一次实验之间，而且可以在不同的实验室之间都取得可以比较的结果。实验结果可靠性的升高，使疾病控制实践更加倚赖实验的结果。

半个世纪以前，实验室的工作还严格地区分为检验性实验和研究性实验两大类。只有少数性质已经确定的实验操作可以为疾病控制服务，而大多数实验方法，其含义是不清楚的，只能在研究工作中使用。时至今日，这两种类别实验的界限逐渐消失，越来越多的实验成了实验室的常规操作，这些实验的结果，不仅是加深了我们对疾病的认识，同时就决定了一定的疾病控制行动。

20年前，分子生物学还是一些云里雾里、

虚无缥缈的概念；分子生物学实验多是知其然，不知其所以然。分子生物学和常规生物学实验反映的是不同的现象，不能相互印证。但在这短短的20年里，由于序列资料的大量出现，分子生物学实验不但有了明确的意义，而且在许多地方，已经与传统生物学实验会师，从而真正阐释了更深层次的医学与生物学问题。

细菌实验室的这种进步也带动了鼠疫实验室的改变，现今的鼠疫实验室，可以进行门类齐全的各种检测。在这本手册中，将鼠疫实验室的工作内容概括为以下几个大的方面。

首先是发现鼠疫。当前的鼠疫实验室，可以利用细菌分离、特异性核酸片段检测、抗原检测或抗体检测方面的技术，直接从样本中确定鼠疫菌或鼠疫疾病过程的存在。其次是获得鼠疫菌之后，需要对鼠疫菌进行初步鉴定。这些都是久已采用的实验方法，包括生物学特征、毒力特征及抗生素敏感性等几个方面。最后，是对鼠疫菌的深入鉴定，可以采用以核酸电泳、核酸扩增、分子杂交以及蛋白质组分析等方面技术为基础的技术方法，为每一株鼠疫菌都建立起详尽的遗传档案。最后这一部分，已经不再是可有可无的实验方法，鼠疫预防和控制实践要求我们，应当尽可

能地在每一个地方的每一次鼠疫流行过程中，都选取一定数量的代表菌株进行深入的遗传学鉴定。

当然，在鼠疫实验室中，必须掌握细菌学基本技术和安全操作规定进行操作。在本手册对涉及的每一项实验都列出了详细的操作规程。这就可以使从来没有涉及过某一项实验的人员，仅根据本手册就能够一步步地完成整个实验，并获得预期的结果。

然而，本手册所提供的操作程序不能认为是标准操作程序（SOP）。细菌实验室的任务千头万绪，每一项都要求达到不同的目标，只能通过使用最适合的实验技术，同时改变实验的操作规程来实现。因此，手册中提供的操作规程，最多只能认为是参照操作程序（ROP）。本手册中还列出了变法、结果判读和困难情况处理等内容，使有经验的工作人员能够根据实际的任务需要，随时调整实验的方法，并得出合乎要求的结果。

本手册可以作为新进实验室工作人员的必读材料，并当作工作中严格遵循的模板；也可以作为熟练工作人员的备忘录，从中搜寻到老一代鼠疫工作者多年积累的经验 and 解决问题的诀窍。细菌学的工作是相通的，因此，本手册也可以作为

从事其他疾病实验工作人员的参考。希望有更多的人，能够从本手册中获益。

本书的出版，得到了公益性卫生行业科研专项（201202021）的资助，在此表示感谢。