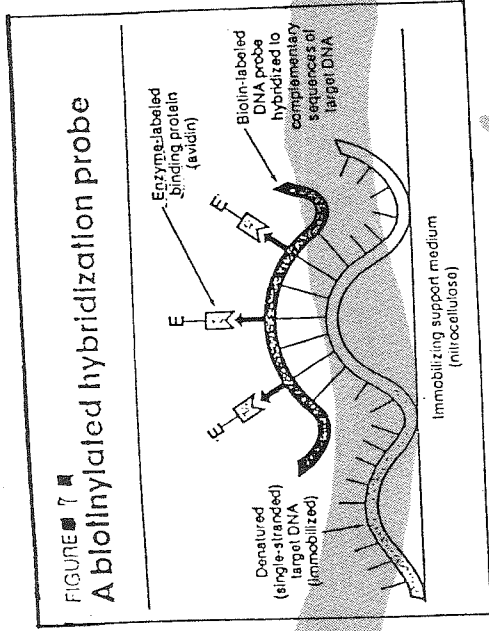


【圖七】



八、DNA probe 的優缺點

【Advantage】

- (一) eg. 流行性感官變異很大，Ag/Ab 方法則不能使用，但 DNA hybridization probe 却永遠有效。
- (二) rapid & Sensitivity
- (三) 目前已使用的範圍：

1. Hepatic B virus 2. CMV 3. herpes 4. E - B virus 5. HTLV- III 6. human papilloma virus 7. T.B. 8. chlamydia 9. other pathogen eg. chlamydia Ab 大家都有，測 titer 沒有意義，但測 DNA 則有重大意義，T.B 要 6 星期，太慢了，用 D.N.A.。

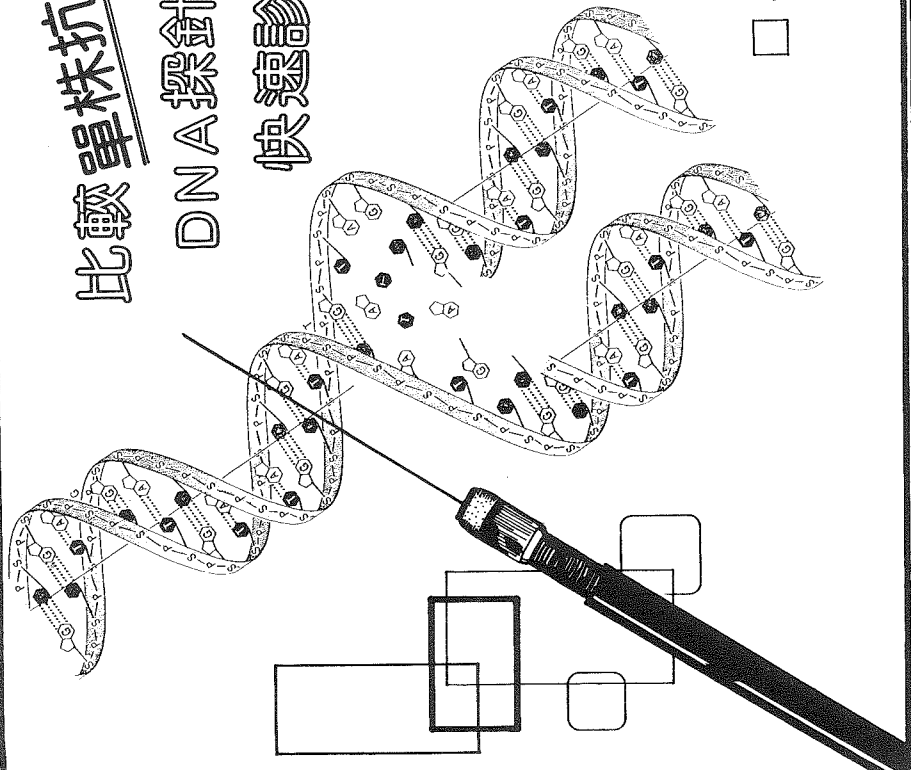
【Disadvantage】

- (一) P<sup>32</sup> labeled 放射性很快消失，且 iso-tope 很多人不願去做。
- (二) DNA 不能診斷 pass infection 只能用在 present infection
- (三) sensitivity error ↓

九、Reference

- (一) C.M. Steel : DNA in Medicine ; The Lanet 1984, volume 1 p 908 ~ 911, p 966 ~ 968
- (二) A.J. Beary . RhD, and James B , petor. MD PhD: DNA probe for infection disease, Diagnostic Medicin.
- (三) Patricia M. Mickelsen, PhD :Molecular Biolog-y Technique in the clinical Microbiology. Laboratory J of M.T 1985 2 : 3 p 161 ~ 165

比較單株抗體  
DNA探針  
以及  
快速診斷疱疹病毒



前言：DNA 探針及單株抗體同為目前偵測病原體的最佳利器，本文將討論以此二種方法與傳統培養方法做一比較。

取 167 個檢體直接以免疫螢光法 ( immunofluorescence assay IFA ) 及 DNA 探針 ( probe ) 測疱疹病毒 ( herpes simplex virus HSV )，且以病毒培養做為 control 我們得到以下結果。

methodh	sensitivity	specificity	predictive positive	value negative
IFA	77.1	100	100	94
DNA probe	71.4	90.6	67.6	92

Table 2

本文，生殖形疱疹 ( HSV ) 感染在 20 年來有升高的趨勢，而嬰兒在生產時的感染率為 5 ~ 50 %，就檢驗方法而言；傳統的病毒培養需 2 天而 Pap smear 其 Sensitivity 為 26 ~ 75 %，快速準確的偵測方法於婦女生產時對 HSV 感染的篩檢是必須的，此外快速診斷能立即對於擴散性 HSV 感染及 HSV 腦炎，採取抗病毒治療。

原理：見 Fig 1

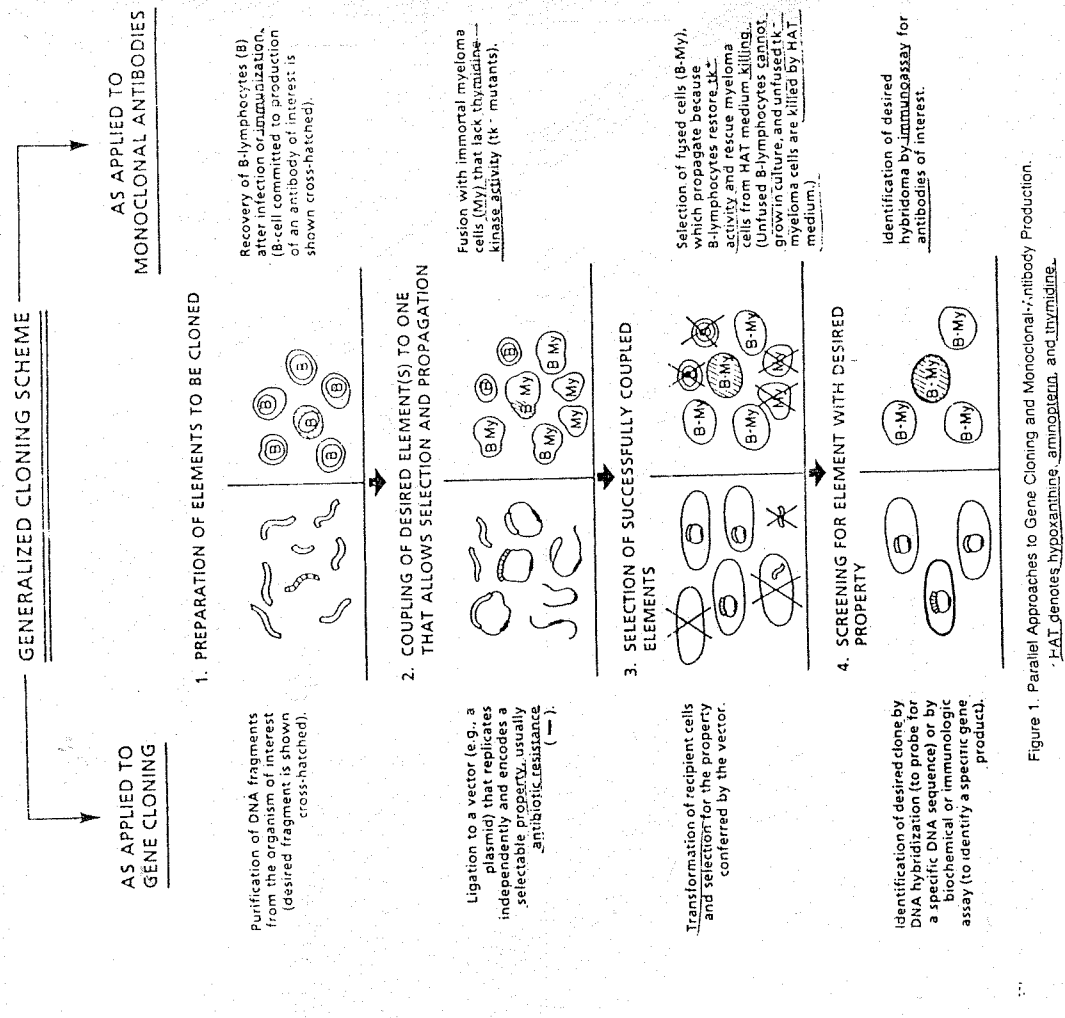


Figure 1. Parallel Approaches to Gene Cloning and Monoclonal Antibody Production.  
 \*HAT denotes hypoxanthine, aminopterin, and thymidine.

方法：(1) HSV 抗原偵測：  
 我們使用一組 2 種，老鼠的單株體，一為 HSV type-common 另一組為 HSV-2 specific，2 種皆為 IgM，以 fluorescein-labeled goat anti-mouse immunoglobulin 來作 IFA 染色，若 2 種 Ab 皆為“-”則無 HSV 感染，若 HSV-type common “+” HSV-2 specific “-”則為 HSV-1 感染；若 2 種 Ab 皆為“+”則為 HSV-2 感染。

(2) HSV DNA 偵測：  
 我們使用的 probe 含三種 sequence = (2 種由 HSV-1 而來，1 種出自 HSV-2)，接種於 PBR322 且以 biotin 標示。  
 我們將檢體固定於 slide 上加上 probe 使產生 DNA hybridation 加上 stneptavidin-horseradish peroxidase 使形成 biotin-avidin complex 最後加上 diaminobenzidine tetrahydrochloride, hydrogen peroxide 為 substrate，呈色反應。

討論：檢體的取得依病灶的 stage 而異

stage	methode	cell mo	Ag titer
vesicular lesion = 取 vesicular fluid		few	high
ulcerative lesion = swab the base of lesion		afew	low
			isolation rate 90 %
			IFA(+) 71 %
			isolation rate 72 %
			IFA(+) 38 %

若 IFA 以 polyclonal Ab 來測則其 sensitivity 為 62 ~ 86 %，然而單株體的 最大優點是：known sensitivity and specificity。我們發現 HSV-2 specific monoclonal Ab 其 intensity 較 HSV type common monoclonal Ab 差。

一般而言於醫師的要求下才做 HSV typing 而因為 HSV-1 及 HSV-2 對於抗病毒藥劑的感染性有很大的差異，且 HSV-2 的再感染率 (Recurrence infection rate) 為 88 %，HSV-1 為 55 % 在目前 biotinylated 或 P<sup>32</sup>-labeled DNA 探針能測出 1pg 的純 DNA，2 ~ 8 個感染細胞或 10<sup>4</sup> ~ PFU 的 HSV-1，biotin 系統最大的優點為非放射性，藉 biotin 與 streptavidin 間的高親和力來測，由於方法的改進如以 extraction 代替 in situ 的方法其 sensitivity 仍會提高 IFA 及 DNA 探針可測出 70 ~ 80 % HSV 培養陽性的檢體，但仍有 33.3 % 無法測出，固其含有的細胞數太少了 (≥ 2 intact cell per HPF)。

2 種方法的專一性都很高時間花費約 2 ~ 3 hr 而病毒培養的 CPE 測定需 212 天。由 IFA 及 DNA 探針方法所得的快速結果可適當！立即對 HSV 腦炎擴散性 HSV 感染施以治療，對於孕婦，快速準確的診斷有助於生產方式的選擇。然而必須了解的是：這些快速的診斷方法只是傳統培養法的助手罷了。

### 感謝

## 博士書局

### 的贊助