

食等接觸口鼻分泌物之高危險行為。一般來說需使用預防性藥物者包括：與病患共同生活之家屬、同一托兒所之幼童、密切接觸病患之醫護人員（參與口對口人工呼吸、插管、抽痰等接觸口鼻分泌物之工作），應預防性使用抗生素，現建議使用之藥物為 rifampin，每天2次，連續用2天，每次劑量成人為600 mg，小孩為10mg/kg。

四、已暴露者若有發燒等症狀出現時，應儘快給予適當治療。

五、高危險群（如嬰幼兒）在流行期間，應避免出入擁擠之公共場所。

六、在大流行期間，可考慮使用疫苗。即將前往疫區之旅客，可於7天前至行政院衛生署檢疫總所、台北檢疫分所及高雄第一檢疫分所注射疫苗。

七、對於已接觸者，給予疫苗並無實效。

八、病室內應持續採取呼吸道隔離措施，至化學治療開始以後24小時。

參考文獻

1. Mary PG, Arnold LS: Meningococcal disease. In: Ralph DF, James DC, eds. Pediatric Infectious Disease. 3rd ed. W.B. Saunders Company, Harcourt Brace Jovanovich, Inc. 1992: 1185-97.
2. Patrick SM: Meningococcal meningitis in sub-saharan africa: a model for the epidemic process. Clinical Infectious Diseases 1992; 14: 515-25.
3. 行政院衛生署，傳染病防治工作手冊，民國81年5月。

分子生物學與細菌分型專欄（六）

分子生物學技術（I）

王志堅

三軍總醫院院內感染管制委員會

前言

經由一系列的介紹包括細菌基本結構、遺傳物質及其質體和染色體後，本次專欄介紹一些可以應用到細菌分型的分子生物學技術，對往後以分子生物學實際應用到細菌分型的專欄，將會比較容易了解。

核酸的分離技術

一、質體的分離技術

1. 細菌的培養及質體的增殖（amplification）：

首先將細菌在培養液中培養，並可在培養液中加入抗生素，讓具有抗藥性的質體不會消失，另外在抗生素的作用下，反而會使質體進行增殖，獲得較多的質體。在37°C溫度下，經過18至20小時後，以離心方法收集菌體。

2. 質體的分離：

因為細菌具有很厚的細胞壁，尤其是革蘭氏陽性菌細胞壁更厚，因此必需

先將細胞壁破壞，通常是使用溶菌酵素，如lysozyme可將革蘭氏陰性菌細胞壁破壞，而lysostaphin則可將革蘭氏陽性菌的細胞壁破壞；接下來再使用其他方法將細胞膜破壞使質體由細胞質中釋放出來，對於較小的質體 (<10kb)，可以使用煮沸的水浴或使用鹼性溶液；對於較大的質體 (>10kb) 可以使用10% sodium dodecyl sulphate (SDS) 處理。

3. 質體的沈澱及純化：

使用化學製劑potassium acetate處理，並經冰浴後進行高速離心，將DNA與蛋白質分離，再使用酚及氯仿混合液處理上清液，以獲得較純的質體，最後再以酒精將DNA沈澱，經乾燥後再加入緩衝液保存。

目前已有許多可以簡易快速分離質體的套組上市，可以用來分離質體，不過這些套組通常只能分離較小的質體 (<20kb)，太大的質體則無法分離；另外價格也比較昂貴。

二、染色體的分離技術

染色體的分離與質體的分離原理相似，均先需使用溶菌酵素將細胞壁破壞，然後再使用10%SDS處理，整個處理過程中，不需使用冰浴及potassium acetate，這樣才不會將染色體的DNA變性(denature)。接著再使用酚及氯仿混合液處理，最後以酒精將DNA沈澱，經乾燥加入緩衝液保存。

核酸限制酶 (endonuclease) 切割

將上述準備純化好的質體或染色體與能認識專一核酸序列的特殊核酸限制酶作用，例如EcoRI可以認識「5'.....GAATTC.....3'」的片段，並在此處將雙股的DNA切割而分成二段。一般核酸限制酶可以認識4至8個核酸序列，依需要可以選用不同的核酸限制酶來切割質體或染色體。不同的核酸限制酶作用時需使用特定的溶液及緩衝液，並在特定的溫度下作用，而每一種核酸限制酶的作用時間也不相同。

洋菜膠體電泳法 (agarose gel electrophoresis)

質體、染色體或經核酸限制酶切割後的片段，可使用洋菜膠體做水平電泳分析；依不同情況，一般可以使用0.5%至2%的洋菜經煮溶後，冷至60°C灌模成型，凝固後置入電泳槽內，加緩衝液蓋過膠體0.5公分，將DNA與追蹤染料混合後加到膠體凹槽內，然後以膠體長度每公分5伏特的電壓進行電泳；經一段時間後，將膠體取出置入ethidium bromide溶液 (0.5 µg/mL) 中染色約30分鐘後，再放入清水中去染，最後將膠體置於長波紫外光燈下觀察及照像。

參考文獻

1. Birnboim HC, Doly L: A rapid alkaline extraction procedure for screening recombination plasmid DNA. Nucl. Acids Res. 1979; 7: 1513-23.
2. Kado CI, Liu ST: Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. J Bacteriol 1981; 145: 1365-73.
3. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T: Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Laboratory. 2nd ed. Cold Spring Harbor: New York. 1989.