

ПРОТОКОЛ № 3

РЕАКЦИЯ АГЛУТИНАЦИЯ ТИП ВИДАЛ

1. Приложение на реакцията: *Използва се за установяване на неизвестни аглутинини в серума от болен с помощта на познати аглутиногени.*

Използват се два варианта на реакцията: обикновен Видал и аналитичен /разгънат/ Видал.

● *Обикновения Видал* се използва за доказване на антитела срещу едно заболяване, напр. при диагноза на листериоза. При нея към разрежданията на серума на болния 1:50, 1:100, 1:200, 1:400 се накапват листерийни антигени. След инкубиране в термостат се отчита титъра на реакцията /това е най-голямото разреждане на серума, при което настъпва аглутинация/.

● *Аналитичан Видал* се използва предимно при диагностика на тифо-паратифните заболявания. Причиняват се от бактерии, принадлежащи към групата на салмонелите. Нарича се аналитичен /разгънат/ Видал, защото в реакцията участват всички антигени на салмонелите – O, H и Vi – антигени.

В зависимост от O- антигена, салмонелите се делят на групи от A до Z. Диференцирането на отделните видове в групата се извършва въз основа на H- антигените. При аналитичен Видал се работи със следните антигени:

- за паратиф А – /O_{1,2} и H-a – антигени/
- за паратиф В – /O_{4,5} и H-b – антигени/
- за паратиф С – /O_{6,7,8} и H-c – антигени/
- за коремен тиф – /O_{9,4,6} и H-d и Vi – антигени/
- за салмонели от група E – /O_{3,10,15} – антигени/

2. Техника на реакцията:

Изследва се серум от болен, взет не по рано от 10 дни след началото на инфекцията. Една проба не е достатъчна, най-малко се изследват две проби в интервал от една седмица.

а/Правим разреждане на серума на болен 1:50 /14,7ml физ. р-р + 0,3ml от изследвания серум = общо 15ml/.

б/Зареждаме голям статив с 50 епруветки, по 10 на ред./фиг.1/

в/От разреждения серум на болния поставяме по 1ml в I-ред на O-антигените и остават 10ml от разреждане 1:50. Прибавяме 10ml физ. р-р и получаваме разреждане 1:100 = общо 20ml.

г/От тях накапваме по 1ml във II-ред на O-антигените и I-ред на H-антигените. Остават 10ml от разреждане 1:100. Прибавяме 10ml физ. р-р = 1:200 = общо 20ml.

д/От него поставяме по 1ml в III-ред на О-антигените и II-ред на Н-антигените. Към остатъка 10ml /1:200/ прибавяме 10ml физ. р-р и получаваме разреждане 1:400 = общо 20ml.

е/От него накапваме по 1ml в IV-ред на О-антигените и в III-ред на Н-антигените. Към остатъка от разреждане 1:400 прибавяме 10ml физ. р-р и получаваме разреждане 1:800. От него накапваме в IV-ред на Н-антигените.

ж/На всички епруветки от V-ред накапваме по 1ml физ. р-р. Този V-ред ни служи за *контрола на антигените*.

Дотук сме накапали само разредените антитела от серума на болния. За да протече имунна реакция трябва да добавим съответните антигени.

з/Добавяме във всички епруветки в дълбочина, от обозначените тест-антигени, включително и в контролата, по 2 капки /количеството на антигените във всички епруветки трябва да е еднакво/.

и/Поставяме в термостат 2h на 37°C и 18h на стайна температура.

к/Отчитаме резултата на аглутиноскоп.

Търсим наличие на аглутинация /за О-антигените тя е дребнозърнеста, а за Н-антигените е едропарцалеста/.

л/Резултатите отчитаме за всеки антиген срещу съответната контрола.

м/Резултат: Аналитичният Видал е положителен при титър $\geq 1:100$ за О-антигените и $\geq 1:200$ за Н- и Vi-антигените.

ВАЖНО: При реакция Видал е необходимо да се изследват две серумни проби. Първата проба трябва да се вземе в началото на заболяването, а втората след около 2 седмици – време, необходимо за образуването на антитела. При остро инфекциозно заболяване се наблюдава нарастване на титъра на антителата над диагностичните стойности във втората проба. Ако титърът е нисък и се запазва на същото ниво в двете проби, се счита че е налице прекарано в миналото заболяване (*анамнестична реакция*) или извършена имунизация (*постимунизационна реакция*).

3.Разновидности на реакция Видал:

а/Реакция на Райт за диагностика на бруцелоза. Аглутинините в серум на болен се доказват със специфичен диагностикум, съдържащ убити бруцели.

б/Реакция на Вайл-Феликс за диагностика на петнист тиф. Аглутинините в серум на болен се доказват с неспецифичен диагностикум, съдържащ убити клетки на *Proteus OX₁₉*. Тази реакция се основава на наличието на общи О-антигени при *Proteus OX₁₉* и причинителя на петнистия тиф *Rickettsia prowazekii*. Понастоящем се прилага специфичен

аглутинационен тест с рикетсийни антигени, получени при култивиране на рикетсиите в жълтъчен мехур на кокоши ембриони.

4. Самостоятелна работа:

На базата на наученото до тук, решете следният казус!

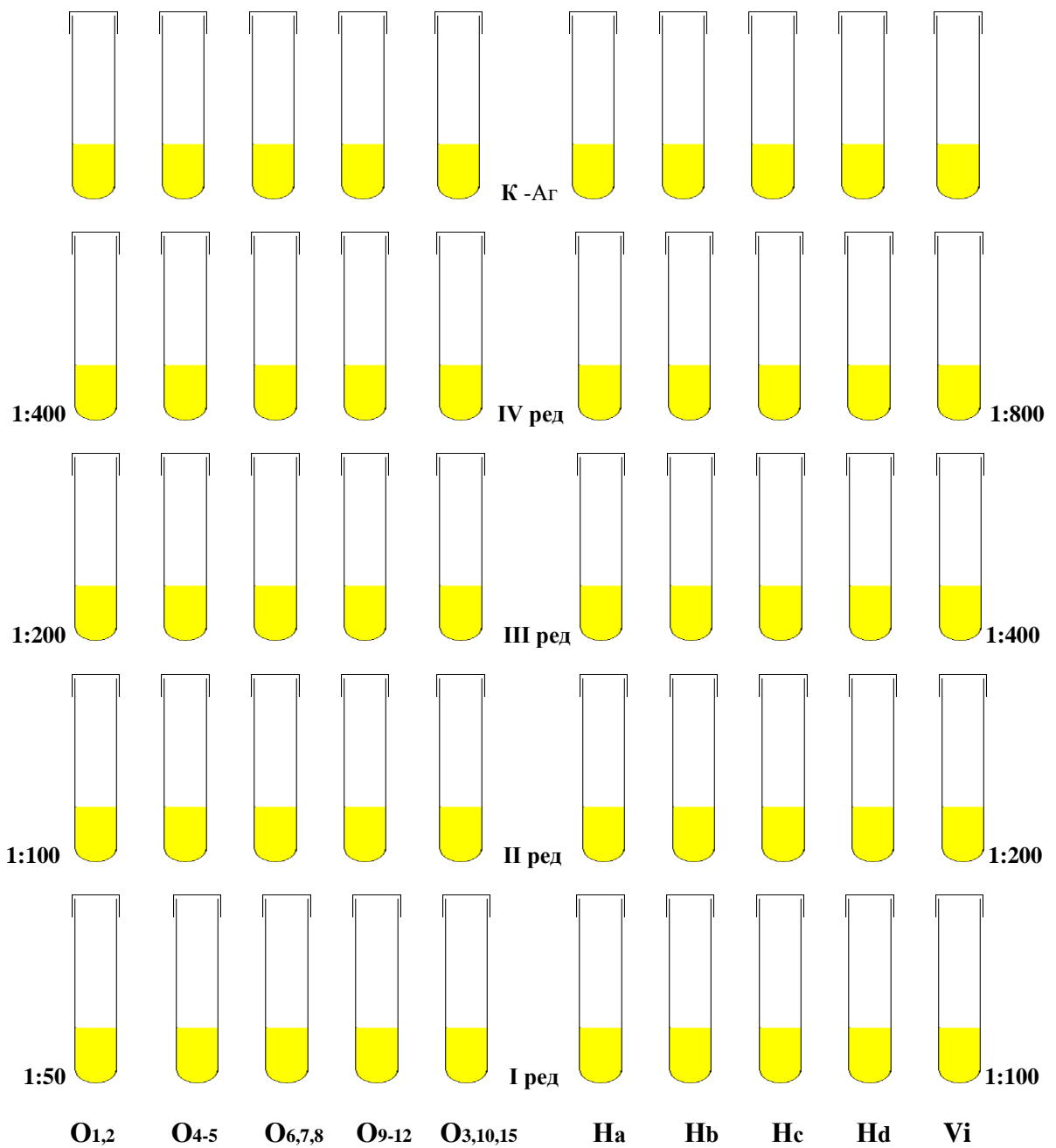
КАЗУС: В микробиологичната лаборатория е пристигнал материал от Детско отделение на УМБАЛ „Г.Странски“-Плевен. Материала е фецес, пацента е малко дете на 1г., със стомашно-чревна симптоматика.

Отговорете на следните въпроси:

1. През какви етапи /стъпка по-стъпка/ ще премине микробиологичното изследване на получения материал.
2. Ако се изолира типичен патогенен бактерия, с каква имунологична реакция ще продължим за да приключим с идентификацията му.

ЛИТЕРАТУРА:

1. “Ръководство за практически упражнения по микробиология“ - част I - Обща микробиология, Хиткова Хр., П.Лачовска, М.Моллова, Кр.Лисаева, Плевен, 2018.
2. „Микробиология“, учебник за студенти по медицина, стоматология и фармация, Митов Г., Ю. Дочева, София: ПИ АРСО, 2000.
3. Видеоматериали
<https://www.youtube.com/watch?v=dfIQ8hXUbA>
<https://www.youtube.com/watch?v=ziTt9jXhk2U>



Фиг. 1 Реакция аглутинация тип Видал