

肥达氏反应教学实验新方法

陈桂凤¹ 张文平² 胡雅琼¹ 谢瑞莲¹ 马廉兰^{2*}

(赣南医学院显微实验室 赣州 341000)¹

(赣南医学院医学微生物学教研室 赣州 341000)²

摘要: 采用 20 孔 U 型孔血凝反应板微量法代替传统的肥达氏反应实验方法, 结果可见凝集现象清晰, 易于判断, 解决了试管法易摇动而影响结果观察、需大量试剂和试管等不足。20 孔血凝板微量反应法可作为肥达氏反应教学实验的一种新方法。

关键词: 肥达氏反应, 教学实验, 微量法

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2005) 02-0138-03

On a New Method of Widal's Test in the Teaching Experiment

CHENG Gui-Feng¹ ZHANG Wen-Ping² HU Ya-Qiong¹ XIE Rui-Lian¹ MA Lian-Lan^{2*}

(Laboratory for Microbiology of Gannan Medical College, Ganzhou 341000)¹

(Department of Microbiology of Gannan Medical College, Ganzhou 341000)²

Abstract: We use micromethod with 20 pores of u size hemagglutinal plates to replace traditional Widal's test. The results show that agglutination is very clear to see and is easy to judge, but the traditional tube test has some shortcomings such as it is too steady to watch enough the experimental results and needs a lot of reagent and tubes. we think the new method find a new way out of these difficulties. 20 pores of u size hemagglutinal micromethod is a new method of Widal's test in teaching experiment.

Key words: Widal's test, Teaching experiment, Micromethod

传统的“肥达氏反应”实验方法是用试管操作, 教学试验需用大量的试管, 操作繁琐, 且结果不易观察。本文采用 20 孔 U 型孔血凝反应板微量反应法代替传统的试管法, 取得了满意的效果, 适应于教学。现报告如下。

1 材料与方法

1.1 免疫血清的制备及配制

按文献 [1] 方法制备“O”、“H”、“PA”、“PB”家兔免疫血清, 取效价 1:640 以上的上述免疫血清按 1:1:1:1 混合后作 1:20 稀释备用。(混合血清可根据教学需要进行设计组合, 如“O”+“H”; “O”+“PA”; “O”+“H”+“PA”+“PB”等。)

1.2 诊断菌液的配制

“O”型、“H”型伤寒杆菌标准诊断菌液, “H”型甲型副伤寒杆菌 (PA) 和乙型副伤寒杆菌 (PB) 标准诊断菌液, 均购于上海生物制品研究所。上述标准菌液分别用 0.85% 生理盐水 (NS) 按 1:7 配制实验菌液备用。

* 通讯作者 Tel: 0797-8269764, E-mail: malianlan@163.com

收稿日期: 2004-06-17, 修回日期: 2004-07-16

1.3 其它器材

0.85%生理盐水 (NS), 15 mm×100 mm 小试管, 1 mL 刻度吸管, 20 孔 U 型血凝反应板。

1.4 操作步骤

(1) 用 2 块 20 孔 U 型孔血凝反应板, 每排第一孔分别标上 “O”、“H”、“PA”、“PB” 符号。(2) 第 1 排第 2 孔至第 6 孔各加 0.4 mL 生理盐水。每排第 7 孔为对照孔, 各加生理盐水 0.1 mL。(3) 每排第 1 孔各加 1:20 的血清 0.1 mL。(4) 第 1 排的第 2 孔加 1:20 的血清 0.4 mL。(5) 从第 2 孔开始按倍比稀释法稀释血清, 即第 2 孔吹吸混匀后取 0.4 mL 至第 3 孔, 再从第 2 孔依次取 0.1 mL 至各排的第 2 孔, 第 3 孔混匀后取 0.4 mL 至第 4 孔, 以此类推直至第 6 孔, 从第 6 孔弃去 0.4 mL。这样各排第 1 孔至第 6 孔的血清稀释度为 1:20、1:40、1:80、1:160、1:320、1:640。(6) 然后按 H、O、PA、PB 标记符号, 第 1 排 1-6 孔加入 “O” 型伤寒杆菌实验菌液, 第 2 排各孔加入 “H” 型伤寒杆菌实验菌液, 第 3 排加入甲型副伤寒杆菌实验菌液, 第 4 排加入乙型副伤寒杆菌实验菌液, 每孔均加入实验菌液 0.1 mL。这样, 各排从第 1 孔至第 6 孔血清稀释度为 1:40、1:80、1:160、1:320、1:640、1:1280。(7) 轻轻振摇反应板, 使其混匀, 置湿盒, 37℃ 过夜, 第 2 d 观察结果。

2 结果

各孔凝集程度的判断以肉眼可见: 孔内上清液完全清亮, 细菌全部形成凝块记为 “+ + + +”; 孔内上清液的透明度达 75%, 大部分细菌形成明显可见的凝集块为

表 1 肥达氏反应新方法结果

菌液	孔号						
	1	2	3	4	5	6	7
O	++++	++++	+++	+++	+++	++	-
H	++++	++++	++++	+++	+++	++	-
PA	++++	+++	+++	+++	++	++	-
PB	-	-	-	-	-	-	-
血清最后稀释度	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	对照

注: 表中实验血清为 “O” + “H” + “PA” 的混合血清

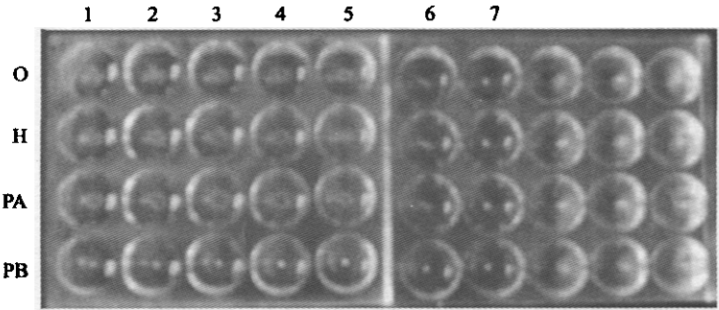


图 1 肥达氏反应结果

“+ + +”；孔内上清液透明度达 50%，约 50% 细菌形成明显可见的凝集块为“+”；孔内上清液透明度只达 25%，仅有小部分细菌形成小凝块为“+”；孔内液体均为混浊，无凝集块，细菌沉于孔底呈白色圆点状，边缘清晰为“-”。凝集效价的判断：与相应菌液发生“+ +”凝集反应的血清最高稀释度为该被检血清的凝集效价（滴度）。本实验结果见表 1、图 1。

3 讨论

本实验方法的操作步骤与传统的试管法基本一致，但结果清晰更容易观察，可同时观察到各排各孔的凝集现象，便于前后孔比较，易于判断效价，避免了传统的试管法易摇动而影响结果观察的不足。另外，节省了大量试管和试剂。本方法与 96 孔“U”型板微量法^[2]比较，因血凝板的孔底比“U”型孔较宽而平，凝集程度更易判断，便于学生掌握，更适合于教学实验。

致谢 本文图片由赣南医学院病理学教研室主任杨庆春副教授摄制，特致感谢。

参考文献

- [1] 朱立平、陈学清主编. 免疫学常用实验方法. 北京: 人民军医出版社, 2000. 18 ~ 22.
- [2] 刘风云、常世勤. 快速微量法测定肥达氏反应. 洛阳医专学报, 2001, 19 (4): 333.