**2017年全国职业院校技能大赛**

**鸡新城疫抗体水平测定项目公开赛题**

**一、竞赛内容**

本项目为鸡新城疫抗体水平测定（微量法），测定方法按《新城疫抗体诊断技术》（GB/T16550-2008）标准，竞赛总时间为180分钟。具体步骤及其分值如下：

（一）试验器材准备（占总成绩的8%）

按照操作规程进行器材准备，要求器材摆放有序，物品标识合理，桌面整洁等。

（二） 配制1%鸡红细胞悬液（占总成绩的18%）

按照操作规程进行采血、离心、洗涤、配制1%鸡红细胞悬液，要求采血规范、熟练、采血量适量、离心机使用规范、洗涤次数及洗涤时间适宜等。

（三）血凝试验（占总成绩的20%）

按照操作规程，用微量移液器在96孔V型血凝反应板滴加稀释液、新城疫标准抗原，充分混匀，倍比稀释后，添加1%鸡红细胞悬液，充分振荡混匀，正确判定抗原的血凝效价。要求微量移液器使用规范、倍比稀释操作规范、结果正确等。

（四） 配制四单位病毒（占总成绩的10%）

根据血凝试验结果，按照操作规程配制四单位病毒。要求稀释倍数计算正确，稀释液体积加入得当、四单位病毒配制量适宜等。

（五）血凝抑制试验（占总成绩的20%）

按照操作规程，对20个被检血清进行血凝抑制试验操作，并设新城疫标准阳性血清对照、阴性血清对照；正确读取抗体滴度结果，完成报告。要求移液器使用规范、反应板各孔的稀释正确、感作时间得当、结果判断正确等。

（六）抗体滴度报告（占总成绩的24%）

按照操作规程，正确读取抗体滴度结果，完成报告。要求抗体滴度报告方式正确、场地整洁、结果误差小等。

**二、评分标准**

项目技能竞赛评分标准见表1。

**表1 项目技能竞赛评分标准**

| **序号** | **考核内容** | **考核要点** | **分值** | **评分标准** |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 试验器材准备  （8分） | 仪器使用与  材料准备 | 2 | 仪器正确使用，1分；  材料准备到位，1分。 |
| 物品标识 | 4 | 不标示不得分；  标识合理，2分；  标示清晰，2分。  注：缺一个器皿未标注，扣0.5分，扣完2分为止。 |
| 实桌面整洁度 | 2 | 摆放合理,2分；  酌情扣分。 |
| 2 | 配制1%鸡红细胞悬液（18分） | 采血方法  采血量 | 6 | 抗凝剂适量，2分；  采血方法规范、熟练， 2分；  采血量控制在2-4mL之间（每超1mL，扣1分）2分。  注：鸡未保定好，扣1分；采血前未消毒扣1分；血液与抗凝剂比为4:1，差异较小扣1分，差异较大扣2分；采血未一针见血，每多加一针扣0.5分；未用干棉球按压止血，扣1分；采血未成功的，扣6分等。以上细节累加，6分扣完为止。 |
| 离心机使用 | 4 | 离心机使用规范，4分。  注：未做好平衡扣2分，平衡时未加套管等，各扣1分，累积扣完4分为止。 |
| 红细胞悬液配制方法 | 8 | 稀释液倍数正确（离心时原抗凝血的3-4倍稀释，稀释后每管最多不可超过12mL），2分；  离心机转速、离心时间正确(2000 r/m，5-10 min)，2分；  洗涤次数适宜，2分；  压积红细胞吸取正确，2分。  注：最后配置1%红细胞为10-20 mL，每超过10 mL扣1分，最多扣2分。 |
| 3 | 血凝试验  （20分） | 器材使用 | 4 | 微量移液器使用规范，2分；  枪头更换操作符合规范，2分。  注：加枪头时操作规范，不可用力撞击枪盒，移液枪垂直加样为规范，倾斜角度不要过大，否则酌情扣分。 |
| 操作程序 | 6 | 及时换枪头，2分；  加样顺序正确，1分；  倍比稀释操作规范，1分；  震荡及感作时间得当（可以使用振荡器，以液体不震出孔外为准），2分。 |
| 结果判定准确 | 10 | 生理盐水对照孔的RBC呈明显钮扣状沉到孔底时判定结果，4分；  对照孔结果正确，能确定完全凝集的新城疫标准抗原最高稀释倍数，4分；  能把完全凝集的病毒的最高稀释倍数作为1个血凝单位，2分。  注：读数时，有跳孔现象的，每跳1孔扣2分。 |
| 4 | 配制四  单位  病毒  （10分） | 器材选择 | 4 | 器材选择合理，2分；  使用规范、熟练，2分。 |
| 配制方法 | 4 | 稀释倍数计算正确，2分；  稀释液加入得当、操作规范，2分。 |
| 配制量适宜 | 2 | 配制量适宜，2分；  注：配置量10-20 mL为适量，每超过10 mL扣1分，最多扣2分。 |
| 5 | 血凝抑制试验  （20分） | 器材使用 | 4 | 器材使用规范、熟练，4分；  酌情扣分。 |
| 操作程序 | 6 | 96孔V型微量反应板各孔加入的稀释剂正确，1分；  被检血清、新城疫标准阴性血清对照、标准阳性血清对照加入正确（参照国标，每缺一个对照扣1分），2分；  感作时间适宜（以国标为准，时间不正确扣2分），2分；  枪头更换正确，1分。 |
| 结果判定准确 | 10 | 能在生理盐水对照孔红细胞呈明显钮扣状沉淀到孔底时判定结果，2分；  在对照孔结果正确情况下，能从背侧观察RBC有无呈泪珠样流淌，2分；  能把完全不凝集（RBC完全流下）作为被检血清的最高稀释倍数，3分；  阴性血清与标准对照的HI滴度不大于2log2，阳性血清与标准抗原对照的HI滴度与已知滴度相差1个稀释度范围内，3分。 |
| 6 | 抗体滴度报告  （24分） | 抗体滴度报告 | 2 | 抗体滴度报告方式正确，2分；  注：若超过10孔，应写成≥10log2。 |
| 结果误差 | 20 | 每个样本1分，共20个样本，结果误差±1，得1分；误差超过±1，0分。 |
| 场地整洁度 | 2 | 场地整洁，2分  注：若移液枪未调到最大量程，其他仪器和器皿未复位；注射器未放入废物缸等，每错1项扣1分，扣完为止。 |
| 总分 | | | 100 |  |