

参加全国鸡新城疫抗体水平测定竞赛的体会

王丽娟 卜春华

辽宁职业学院, 辽宁铁岭 112099

摘要 自 2011 年开始, 在江苏举办了 3 年全国鸡新城疫抗体水平测定竞赛项目, 辽宁职业学院共参加 2 年该比赛项目, 取得了优异的成绩。笔者作为该项目的指导教师, 现将参赛的具体体会总结如下, 供参赛选手参考与借鉴。

关键词 鸡新城疫; 抗体水平; 测定; 竞赛

1 赛前熟悉考场, 做好准备工作

赛前一定认真熟悉考场, 对自己比赛所处的环境条件, 如承办院校所提供比赛的器材、放置位置、甚至厕所的方位等, 都要心中有数, 把一个陌生的新环境定位在自己过去熟悉的训练环境里, 让自己心情轻松地去迎接比赛。技能操作考试的时间比较长, 体能消耗相当大, 考前应休息好, 保证考试时精力旺盛、体力充沛。这样才能保证选手在比赛中按时完成考试项目, 正常发挥水平, 取得好的成绩。

2 检查考场器材, 制定操作方案

进入考场后, 首先应对仪器、材料进行检查, 若有问题应及时与监考老师反映。然后根据现场提供的试验材料, 确定操作方案。

3 选择试验器材, 摆放整齐合理

比赛开始, 两个人应分工协作、密切配合, 熟练迅速、有条不紊地将选择的器材和物品在操作台上摆放整齐。摆放的原则是横竖成排, 方便操作, 先用放在前排, 后用放在后排, 低的在前排, 高的在后排, 污染区与清洁区分开, 摆放过程中一定注意无菌操作。注意各个材料之间留有距离, 方便取送。

4 仪器使用规范, 正确熟练

4.1 托盘天平的使用

天平使用前, 先检查游码是否移在标尺左端的零刻度处, 然后把小烧杯置于托盘中心位置, 才开始调节平衡螺母, 使天平平衡。若将左右平衡螺母移至尽头, 天平仍不能平衡, 应查找原因, 绝不能用移动游码来达到平衡。天平使用完毕, 将两托盘放在一边支架上, 放上保护胶垫, 不得让其自由摆动, 使其处于休止状态。

4.2 微量移液器的使用

首先检查移液器量程范围, 确认所要求的移液量在量程范围内。转动移液器顶部的操作按钮至所选定移液量, 保证移液量调整到位, 绝对不能超出移液器标定的容量范围, 旋动调节键时, 一定逐档加或减, 动作要轻、慢, 不能出太大声音。在装配吸头时, 要将移液器垂直插入吸头, 左右稍微转动上紧即可, 切勿用移液器上下反复撞击吸头来上紧。吸液时应垂直握住移液器, 先预润湿吸头, 并排空然后进行正式移液; 用大拇指将按钮压至第一停点位置, 并将吸头嘴垂直浸入液面下 3 mm 左右深度并慢慢松开按钮, 待管嘴吸入溶液后, 把管嘴撤出液面并斜贴在试剂瓶壁上淌走多余的液体。放液时将移液器倾斜一定角度, 轻轻压下操作按钮至第一

停点位置,打出大部分液体,稍微停顿 1 s,待剩余液体聚集后,继续将操作按钮向下压至第二停点,将剩余的液体全部排出。松开按钮使之返回按钮的起点位置。弃去管嘴,将移液器调至最大量程后放回移液器支架。

4.3 普通离心机的使用

接通电源,先检查离心机内有无异物、运转是否正常等。先将盛有血液和水的两个离心管及套管置于天平上配平后,再对称放入离心机中,注意离心管中的液体不要装得太满。离心机运转时,必须有 1 名选手看管,若出现杂音或离心机震动等异常,要立即停止使用,进行检查。使用完毕,各项数据归零,及时拔下电源插头,整理好电线。

4.4 微量振荡器的使用

先检查振幅调节旋钮是否调至最低,再接通电源,打开电源开关,顺时针方向缓慢旋转振幅调节旋钮检查其工作状况。工作正常后逆时针方向将振幅调至最低,关闭电源开关。振荡时,先将微量反应板置于振荡器中央,按上述方法旋转振幅调节旋钮至适宜的振幅,振荡所需时间后,将振幅调节旋钮调至最低,取下振荡物,关闭电源开关。不用时及时拔下电源插头,电线整理好,整齐放在机器后面。

5 采血方法规范、熟练,采血量适宜

采血者一定做到一针见血而不淤血,采血过程中两位参赛者的默契配合很重要。助手将鸡侧卧保定,并便于采血者操作;采血者展开采血侧翅膀,一只手固定采血部位,另一只手拿酒精棉球消毒采血部位后,用已吸入 3.8% 的枸橼酸钠的注射器向翅静脉丛刺入(此处比较容易采血成功且不容易淤血),吸取血液(血:抗凝剂=4:1)。采血完毕后,采血者一只手用干酒精棉球按压采血部位止血,另一只手立即将抗凝剂和血液轻轻上下颠倒摇匀,防止血液凝固。采血的量要根据检疫血清的数量而定。过多不宜洗涤,过少配制红细胞的量不够,影响试验顺利进行。采血完毕,注意手的消毒和场地整洁。

6 1%红细胞悬液的配制

采血完毕,混匀后的血液需要取下针头(禽用采血器则需要把前端旋下),再把抗凝血沿着倾斜的离心管管壁缓慢注入到事先已放好生理盐水的离心管中,以防红细胞溶血。然后扭紧瓶盖,轻晃离

心管,使血液与生理盐水充分混匀,配平后离心。离心完毕,用移液器以画圈的方式吸取白细胞和血小板层,再吸取剩余的液体。以此方式洗涤,一般 3 次即可洗净。最后一次离心完毕,按照检测所需 1% 红细胞悬液的量,用移液器垂直从离心管的底部吸取压积红细胞放入到事先已加好生理盐水的 50 mL 烧杯中,再反复吸取生理盐水将吸嘴里的红细胞冲洗下来,保证配制红细胞浓度的准确性。

7 4 IU 病毒的配制

4 IU 病毒的配制应根据所检测血清的份数计算出生理盐水和抗原的用量,先用 2~10 mL 移液器吸取生理盐水放入 50 mL 小烧杯里,然后用 5~50 μ L 移液器吸取充分混匀的抗原。注意要反复用生理盐水将移液器吸嘴里的抗原洗下来,才能保证配制浓度的准确性。

8 血凝试验与血凝抑制试验

加样时,应该将所加液体在 V 型板的底部,避免加到孔壁的上部,切勿溅出。倍比稀释抗原或血清时,应使用第一档混匀,全部排空后再重新吸取液体放到下一孔。注意每孔混匀的次数要一致,避免产生气泡而影响结果的准确性。补加生理盐水或加 4 IU 病毒液和红细胞悬液时,应由后往前悬滴加入,避免移液器吸头与孔内的液体接触,造成各孔间液体相互污染,导致试验结果出现误差。每滴加一种材料要及时更换吸头。注意抗原悬液、血清一定要充分混匀后加样,4 IU 病毒和红细胞悬液要边摇匀边加入,这样才能保证每孔所加的样品量和浓度一致。振荡时,振幅不能过大,时间不能过长,以免把红细胞膜振破,造成溶血。感作时间和结果判定要严格按照国标规定的要求,在生理盐水对照孔红细胞呈明显纽扣状沉淀到孔底时判定结果,并且阳性对照和阴性对照成立。判定过早,血凝价容易判高,血凝抑制价容易判低;判定过晚,红细胞会从病毒表面脱落而造成错判。

9 填写检测结果报告,整理实验台

填写检测报告,要求选手及时记录试验结果,书写规范,字体美观。结束时整理实验台,物品摆放整齐有序,把要清洗消毒的物品放到指定位置,脱下工作服叠好,洗手消毒后方可离开。