

2023 年度湖南省“楚怡杯”职业院校技能竞赛 赛项规程

一、赛项名称

1. 赛项名称：鸡新城疫抗体水平测定
2. 赛项组别：高职高专组
3. 赛项归属：农林牧渔专业大类

二、竞赛内容

1. 竞赛任务

包括试验器材准备（占总成绩的6%）、1%鸡红细胞悬液制备（占总成绩的12%）、血凝试验（占总成绩的18%）、4单位抗原标定与配制（占总成绩的20%）、血凝抑制试验（占总成绩的18%）、抗体滴度报告（占总成绩的24%），结果分析（占总成绩的2%）共7个竞赛任务。

2. 竞赛要求

依据《新城疫诊断技术》（GB/T16550-2020），选手运用微量法对鸡新城疫抗体水平进行实操测定。

三、竞赛方式

2人团体赛。

四、竞赛时量

230分钟

五、名次确定办法

按竞赛总分由高到低排序确定名次，不设并列名次。总分相同时，以完成时间较短者名次列前。竞赛总分和完成时间均相同时，以主要技术分高者列前，主要技术分参见评分细则（见表2）。

六、评分标准与评分细则

1. 评分标准

本赛项满分100分，分为7大项，根据评分标准（见表1）采用分项计分法。

表1 评分标准

大项	评分内容	分值(分)	占比
1	试验器材准备	6	6.0%
2	1%鸡红细胞悬液制备	12	12.0%
3	血凝试验	18	18.0%
4	4单位抗原标定与配制	20	20.0%
5	血凝抑制试验	18	18.0%
6	抗体滴度报告	24	24.0%
7	结果分析	2	2.0%
总计		100	100.0%

2. 评分细则

表2 评分细则

序号	考核内容	考核要点	分值	评分标准
一	试验器材准备 (6分)	仪器与材料准备	2	仪器正确准备, 1分; 材料准备到位, 1分。 参考评分要点: 未检查清点仪器材料, 仪器使用不正确, 材料准备不到位, 口罩、灭菌橡胶外科手套穿戴不规范, 酌情扣分。
		物品标识	2	标识合理, 1分; 标识清晰, 1分。 参考评分要点: 使用的烧杯、离心管(包括管盖)和血凝反应板均要标记; 标识遗漏或标识不清, 酌情扣分, 不标识不得分。
		桌面整洁度	2	摆放合理, 2分。 参考评分要点: 试验器材无序摆放, 不得分。
二	1%鸡红细胞悬液的制备 (12分)	采血方法和采血量	5	抗凝剂适量, 1分; 采血方法规范、熟练, 2分; 采血量控制在2~4mL之间, 2分。 参考评分要点: 鸡正确保定; 血液与抗凝剂比例4:1; 采血时, 鸡放置于鸡笼上保定; 采血部位宜首选翅静脉; 采血部位合理消毒; 采血时一针见血; 采血量控制在2~4mL之间 用干棉球按压止血; 采血后采血局部未见明显血肿; 采血未成功的, 该项不得分。 *以上细节未规范操作, 酌情扣分, 累加扣完5分为止。
		离心机使用	2	离心机使用规范, 2分。 参考评分要点: 离心前配平, 对称放入离心机中; 规范使用天平, 应“左物右码”; *以上细节未规范操作, 酌情扣分, 累加扣完2分为止。

序号	考核内容	考核要点	分值	评分标准
		红细胞悬液配制方法	5	稀释液倍数正确，1分； 离心机转数、离心时间正确，2分； 红细胞洗涤次数适宜，1分； 压积红细胞吸取正确，1分。 参考评分要点： 红细胞洗涤时，用3~4倍体积的灭菌生理盐水进行稀释，稀释后离心管中液体体积最大不可超过12mL； 红细胞洗涤时灭菌生理盐水与红细胞充分混匀； 离心参数设定：2000 r/min，5~10 min/次； 红细胞洗涤时吸除血浆和白细胞等杂质； 红细胞洗涤应3~4次； 最后配制1%红细胞悬液为10~20 mL； *以上细节未规范操作，酌情扣分，累加扣完5分为止。
三	血凝试验 (18分)	器材使用	4	微量移液器使用规范，2分； 吸头更换操作符合规范，2分。 参考评分要点： 更换吸头时操作规范，不可用力撞击吸头盒； 微量移液器量程设置准确； 微量移液器吸取和排出液体操作规范，移液器垂直加样为规范，倾斜角度不要过大； 微量移液器用完后应置于移液器架，不得随意放于桌面； * 以上细节未规范操作，酌情扣分，累加扣完4分为止。
		操作程序	4	吸取试剂更换吸头，1分； 加样顺序正确，1分； 倍比稀释操作规范，1分； 振荡及感作时间得当，1分。 参考评分要点： 稀释液加样完成后，在吸取待检样品前需更换吸头； 倍比稀释时不产生气泡； 倍比稀释时混匀充分，移液正确； 1%红细胞悬液加之前应充分混匀； 边滴加边震荡混匀，由病毒低浓度往高浓度的方向加样； 加样时，吸头与液面、孔壁不接触； 试剂不滴加到孔外； 可以使用振荡器，以液体不振出为准； 固、液废弃物分开放置。 *以上细节未规范操作，酌情扣分，累加扣完4分为止。
		结果判定准确	10 (主要技术分)	能依据生理盐水对照孔的RBC呈明显纽扣状沉到孔底时判定结果，4分； 对照孔结果正确时，能确定完全凝集的新城疫标准抗原最高稀释倍数为病毒的血凝价，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。 参考评分要点： 判定血凝价时机不正确扣4分； 结果判定不正确扣4分； 对照孔凝集扣4分； HA重复3排，少做1排扣1分； 未作记录扣2分； 读数时，结果有跳孔现象的，每跳1孔扣2分。 *以上细节累计扣完10分为止。
四	4HAU 抗原的标定与配制 (20分)	器材选择	2	器材选择合理，1分； 使用规范、熟练，1分。 参考评分要点： 加吸头时操作规范，不可用力撞击吸头盒； 选择合适量程微量移液器移取样品； 微量移液器吸取和排出液体操作规范；

序号	考核内容	考核要点	分值	评分标准
				*以上细节未规范操作，酌情扣分，累加扣完 2 分为止。
		4HAU 抗原 预配制	4	稀释倍数计算正确，2 分； 稀释液加入得当、操作规范，1 分； 配制量适宜，1 分。 参考评分要点： 计算错误扣 2 分； 微量移液器选择适宜，设置准确， 未规范操作酌情扣分； 配制量适中，过多或过少酌情扣分。
		4 HAU 抗原 的标定与调整	14 (主要 技术 分)	器材选择合理，使用规范，1 分； 系列稀释正确，符合国标要求，3 分； 微量移液器使用规范，吸头更换操作规范，1 分； 加样顺序及加样量正确，2 分； 振荡及感作时间得当，1 分； 能依据生理盐水对照孔的 RBC 呈明显纽扣状沉到孔底时判定结果，1 分； 对照孔结果正确时，能正确读出 4 个 HAU 抗原标定的结果，2 分； 能根据标定结果将抗原稀释度做适当调整，使工作液确为 4 个 HAU，3 分。 参考评分要点： 器材选择不合理，使用不规范，扣 1 分； 稀释方法不正确，稀释度不正确，量不适宜，扣 3 分； 微量移液器使用不规范，吸头更换操作不规范，扣 1 分； 加样顺序及加样量不正确，扣 2 分； 振荡及感作时间不得当，扣 1 分； 判定时机不正确，扣 1 分； 对照孔凝集，扣 1 分； 结果判定不正确，扣 2 分； 不会根据标定结果将抗原稀释度做适当调整或调整计算出现错误，扣 2 分。 *以上细节累加扣完 14 分为止。
五	血凝抑制试验 (18 分)	器材使用	2	器材使用规范、熟练，2 分。 参考评分要点： 加吸头时操作规范，不可用力撞击吸头盒； 微量移液器量程设置准确； 微量移液器吸取和排出液体操作规范，移液器垂直加样为规范， 倾斜角度不要过大； *以上细节未规范操作，酌情扣分，累加扣完 2 分为止。
		操作程序	6	加样顺序正确，2 分； 倍比稀释操作规范，2 分； 感作时间得当，1 分； 吸头更换正确，1 分。 参考评分要点： 参照国标，对照设立完整，每缺一个对照扣 1 分； 稀释液加样完成后，在吸取待检样品前需更换吸头； 倍比稀释时不产生气泡； 加样时，吸头与液面不接触； 试剂不滴加到孔外； 加 1%红细胞时边滴加边振荡混匀，加样顺序正确； 感作时间正确； 固、液废弃物分开放置。 *以上细节未规范操作，酌情扣分，累加扣完 6 分为止。
		结果判定	10	能在对照孔红细胞呈明显纽扣状沉淀到孔底时判定结果，2 分；

序号	考核内容	考核要点	分值	评分标准
		准确	(主要技术分)	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; 能以完全抑制 4HAU 抗原的最高血清稀释倍数作为该血清的 HI 抗体效价, 3 分; 阴性血清与标准抗原对照的 HI 滴度不大于 $2\log_2$, 阳性血清与标准抗原对照的 HI 滴度与已知滴度相差在 1 个稀释度范围内, 3 分。 参考评分要点: 阴性血清与标准抗原对照的 HI 滴度大于 $2\log_2$ 或/和阳性血清与标准抗原对照的 HI 滴度与已知滴度大于 ± 1 扣 3 分; 结果有跳孔现象的, 每跳 1 孔扣 2 分。 判断血清 HI 滴度, 做好记录; 判读不准扣 1 分, 未作记录扣 2 分; *以上细节累计扣完 10 分为止。
六	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, 1 分; 试验记录清晰, 1 分。 参考评分要点: 抗体滴度用 \log_2 表示; 试验记录和报告书写整洁, 不乱涂改。 * 以上细节未规范书写, 酌情扣分, 累加扣完 2 分为止。
		结果误差	20 (主要技术分)	每个样本 1 分, 共 20 个样本。 参考评分要点: 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。 参考评分要点: 移液枪未调到最大量程; 其他仪器和器皿未复位; 采血器、残留红细胞泥离心管等未放入固废缸等。 * 以上细节未规范操作, 每错 1 项扣 1 分, 累加扣完 2 分为止。
七	结果分析 (2 分)		2	结果分析正确合理, 2 分。
总分			100	

七、赛点提供的设施设备仪器清单

仪器设备按《新城疫诊断技术》(GB/T16550-2020)标准要求配制, 且均为常用仪器、设备与材料。本赛项所用的仪器、设备与材料见表 3。

表 3 竞赛用仪器、设备与材料

序号	器材或设备名称	数量	规格
1	托盘天平	1 台	500g
2	离心机	1 台	最高转速: 4000rpm 容量: 12×15mL
3	微型振荡器	1 台	
4	微量移液器	1 支	0.005~0.05 mL
5	微量移液器	1 支	0.1~1 mL
6	微量移液器	1 支	2~10 mL
7	微量移液器吸头	192 个	0.005~0.05 mL
		20 个	0.1~1 mL
		10 个	2~10 mL

序号	器材或设备名称	数量	规格
8	微量移液器吸头盒	2 个	0.005~0.05 mL
		1 个	0.1~1 mL
		1 个	2~10mL
9	板式微量移液器架	1 个	
10	96 孔 V 型血凝反应板	6 块	
11	烧杯	5 个	50 mL
		2 个	500 mL
12	禽用采血器	2 支	5 mL
		2 支	10mL
13	具盖塑料离心管	6 支	15 mL
14	指型离心管	6 支	1.5 mL
15	试管架	1 个	
16	指型离心管架	1 个	
17	细记号笔	1 支	
18	医用白大褂	2 件	
19	0.9%生理盐水(或 0.9%氯化钠注射液)	500 mL	
20	3.8%枸橼酸钠溶液	20mL	
21	鸡新城疫标准抗原	1 份	
22	被检血清样本	20 个	
23	鸡新城疫标准阳性血清	1 份	
24	鸡新城疫标准阴性血清	1 份	
25	75%酒精棉球	若干	
26	干棉球	若干	
27	非免疫公鸡	1 只	
28	无菌医用手套	4 副	
29	医用防护口罩	2 只	
30	实验报告单	1 张	
31	标签纸	若干	
33	A4 纸	2 张	
34	签字笔	2 支	
35	金属镊子(大)	1 把	
36	置物车	1 辆	
37	垃圾桶	1 个	
38	鸡笼	1 个	

备注：具体设备由赛点提供。

八、选手须知

1. 选手自带工（量）具及材料清单

选手无需自带工具。

2. 主要技术规范及要求

鸡新城疫抗体水平测定（微量法）按《新城疫诊断技术》（GB/T16550-2020）

标准进行,具体步骤及其分值如下:

(1) 试验器材准备 (占总成绩的6%)

规范进行器材准备,要求器材选择正确,摆放有序,物品标识合理,桌面整洁等。

(2) 1%鸡红细胞悬液制备 (占总成绩的12%)

按照国标要求进行采血、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、制备过程规范、配制的 1%鸡红细胞量适宜等。

(3) 血凝试验 (占总成绩的18%)

按照国标要求,用微量移液器在96孔V型血凝反应板1~12孔加入稀释液,在第1孔加入新城疫标准抗原、充分混匀、倍比稀释到第11孔,1~12孔再次加入稀释液,然后加入1%鸡红细胞悬液,充分振荡混匀或轻扣混匀,静置感作适当时间后,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、结果判定正确等。

(4) 4单位抗原标定与配制 (占总成绩的20%)

根据血凝试验结果,按照国标要求配制4单位抗原。要求稀释倍数计算正确,稀释液体积加入得当、4单位抗原配制量适宜等。

按照国标要求进行4单位抗原的标定。将配制的4单位抗原进行系列稀释,使最终稀释度分别为1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7,然后进行血凝试验,并根据标定结果将抗原稀释度作适当调整。

(5) 血凝抑制试验 (占总成绩的18%)

按照国标要求,对 20 个被检血清进行血凝抑制试验操作,并设新城疫阳性血清对照、阴性血清对照;正确读取阴性血清、阳性血清及被检血清的结果,确定抗体滴度,完成报告。要求微量移液器使用规范、反应板各孔稀释正确、感作时间得当、对照成立、结果判定正确等。

(6) 抗体滴度报告 (占总成绩的24%)

按照国标要求,正确判定抗体滴度,完成报告。要求抗体滴度判读正确、报告

方式正确、结果误差符合要求及场地整洁等。

(7) 结果分析（占总成绩的2%）

对检测结果进行分析。

3. 选手注意事项

(1) 参赛选手必须持本人身份证和参赛证参加比赛。

(2) 参赛选手不得穿带有学校名称或有特殊标记的服装，试卷（或实物标签）上不得有任何暗示选手身份的记号和符号，否则取消成绩。

(3) 参赛选手务必于赛前20 分钟到赛场，迟到15分钟以上按弃权处理，已检录入场的参赛选手未经允许，不得擅自离开。

(4) 不得携带手机等通讯工具，进入比赛现场。

(5) 参赛选手的工位号由抽签决定，不得擅自变更和调整。

(6) 到达比赛结束时间，选手应立即停止操作，提交相关比赛结果单，并完成现场清理等工作。提前结束比赛的选手应举手示意，由裁判员记录完成时间，选手在引导员的引领下到指定地点休息，不得在赛场及其附近逗留或喧哗。

(7) 比赛结束后，选手必须离开赛场，不得滞留，在引导员的引领下到指定地点，领回参赛证。

4. 竞赛直播

(1) 赛点提供全程无盲点录像。

(2) 可在赛点指定区域通过网络监控观摩比赛。

九、样题(竞赛任务书)

本赛项无样题。

2023 年度“楚怡杯”湖南省职业院校技能竞赛
高职高专组农林牧渔类鸡新城疫抗体水平测定赛项

[时量：3 小时 50 分钟，试卷号：]

(样卷)

竞 赛 任 务 书

场次号：_____ 机位号（工位号、顺序号）：_____

2022 年 12 月 日

任务一：试验器材准备（6分）

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。

任务二：配制 1%鸡红细胞悬液（12分）

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。

任务三：血凝试验（18分）

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。

任务四：4 单位抗原标定与配制（20分）

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

任务五：血凝抑制试验（18分）

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。

任务六：抗体滴度报告（24分）

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

任务七：结果分析（2分）

对试验结果进行科学合理的分析

注意事项

一、竞赛任务概述

本赛项为鸡新城疫抗体水平测定（微量法），测定方法按《新城疫诊断技术》（GB/T16550-2020）标准，在 230 分钟内完成试验器材准备、1%鸡红细胞悬液制备、血凝试验、4 单位抗原标定与配制、血凝抑制试验、抗体滴度报告、结果分析。并能达到以下要求：实验器材摆放有序，能合理进行相关标识；熟练掌握鸡的采血方法，要求采血方法规范，采血量适量；掌握离心机的使用方法，要求离心机使用规范，转速适宜；掌握 1%鸡红细胞悬液的配制方法，要求压积红细胞吸取正确、洗涤次数适宜；掌握微量移液器的使用方法，要求微量移液器使用规范，吸头更换操作规范；正确操作血凝试验，会判定血凝试验结果，能把完全凝集的病毒的最高稀释倍数作为 1 个血凝单位；掌握四单位病毒的配制及标定方法，要求稀释液体积加入得当、操作规范，四单位病毒配制量适宜；正确操作血凝抑制试验，准确判定血凝抑制试验结果，要求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，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，阴性血清与标准对照的 HI 滴度不大于 $2\log_2$ ，阳性血清与标准抗原对照的 HI 滴度相差 1 个稀释度范围内；在规定时间内完成样本数量，场地整洁；记录填写规范、完整，抗体滴度报告方式正确。

二、注意事项

1. 参赛选手必须持本人身份证和参赛证参加比赛。
2. 参赛选手不得穿带有学校名称或有特殊标记的服装，试卷（或实物标签）上不得有任何暗示选手身份的记号和符号，否则取消成绩。
3. 参赛选手务必于赛前 20 分钟到赛场，迟到 15 分钟以上按弃权处理，已检录入场的参赛选手未经允许，不得擅自离开。
4. 不得携带手机等通讯工具，进入比赛现场。
5. 参赛选手的工位号由抽签决定，不得擅自变更和调整。
6. 到达比赛结束时间，选手应立即停止操作，提交相关比赛结果单，并完成现场清理等工作。提前结束比赛的选手应举手示意，由裁判员记录完成时间，选手在引导员的引领下到指定地点休息，不得在赛场及其附近逗留或喧哗。
7. 比赛结束后，选手必须离开赛场，不得滞留，在引导员的引领下到指定地点，领回参赛证。