

评分细则

2018年山东省“技能兴鲁”职业技能大赛—畜牧兽医行业第二届兽医化验员职业技能竞赛分为理论知识考试和现场技能操作考核两部分，总分为300分，其中，理论知识考试100分，现场技能考核200分，分为高致病性禽流感血凝、血凝抑制试验和猪口蹄疫病毒VP1结构蛋白抗体酶联免疫吸附试验等2项，每项100分。选手成绩按照总分高低进行排序。总分相同者，现场技能考核分高者排序靠前；总分相同且现场技能考核与理论知识考试分相同者，现场技能考核总用时少者排序靠前。

一、理论知识考试（100分）

采用闭卷方式，考题由兽医系统实验室考核理论考试题库生成，时间为90分钟，满分100分。

二、现场操作考核方案（200分）

（一）高致病性禽流感血凝、血凝抑制试验（100分）

1. 具体步骤及其分值

本项目按《高致病性禽流感诊断技术》（GB/T18936-2003）标准，大赛总时间为180分钟。具体步骤及其分值如下：

（1）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。

（2）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。

（3）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、高致病性禽流感标准抗原，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。

(4) 配制四单位病毒（占总成绩的 10%）

按照操作规程，根据血凝试验结果配制四单位病毒。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。

(5) 血凝抑制试验（占总成绩的 20%）

按照操作规程，对 10 份被检血清进行血凝抑制试验操作，并设高致病性禽流感标准阳性血清对照、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。

(6) 结果报告（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。

2. 评分标准

具体评分标准见表 1。

表 1 高致病性禽流感血凝、血凝抑制试验技能竞赛评分标准

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	2	仪器正确使用，1 分
		材料准备		材料准备到位，1 分
		物品标识	4	标识合理，2 分 标示清晰，2 分
	桌面整洁度		2	器材摆放合理有序，桌面整洁 2 分
2	配制 1% 鸡红细胞悬液	采血方法 采血量	6	抗凝剂适量，2 分 采血规范、熟练（口罩、手套），2 分

动物检疫检验技术专业教学资源库

序号	考核内容	考核要点	分值	评分标准
	(18分)			采血量适量, 2分
		离心机使用	4	离心管选择正确, 2分 离心机使用规范, 2分
		红细胞悬液配制方法	8	稀释液倍数正确, 2分 离心机转数、离心时间正确, 2分 洗涤次数适宜, 2分 压积红细胞吸取正确, 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 吸头更换操作符合规范, 2分
		操作程序	6	及时换吸头, 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, 2分
		结果判定	10	按标准规定时间且对照孔的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, 能确定完全凝集的高致病性禽流感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
4	配制四单位病毒抗原 (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

动物检疫检验技术专业教学资源库

序号	考核内容	考核要点	分值	评分标准
				稀释液体积加入得当、操作规范，2分
		配制量	2	配制量适宜，2分
5	血凝抑制 试验 (20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
		操作程序	6	96孔V型微量反应板各孔的稀释剂加入正确，1分 被检血清、高致病性禽流感标准阴性血清对照、标准阳性血清对照加入正确，2分 感作时间得当，2分 吸头更换正确，1分
		结果判定	10	按标准规定时间且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 阴性对照孔血清的HI滴度不大于 $2\log_2$ ，阳性对照孔血清误差不超过1个滴度，3分
6	结果 报告 (24分)	结果报告	2	结果报告方式正确2分
		结果误差	20	每个样本2分，共10个样本，结果误差 ± 1 ，得2分；结果误差超过 ± 1 ，0分。
		场地整洁度	2	场地整洁，2分 根据具体情况确定得分

动物检疫检验技术专业教学资源库

序号	考核内容	考核要点	分值	评分标准
总分			100	

3. 本赛项所用的仪器、设备与材料由组委会准备，见表 2。

表 2 高致病性禽流感血凝、血凝抑制试验技能大赛用仪器、设备与材料

序号	器材或设备名称	数量	规格	备注
1	微型振荡器 (MH-2)	1 台		每 2 人
2	普通离心机 (TDZ4A)	1 台	4000r/min	每人
3	普通托盘天平	1 台	500g	
4	搪瓷托盘	1 个		
5	板式微量移液器架	1 个		
6	DRAGON 微量移液器	1 支	0.005~0.05 mL	
7	DRAGON 微量移液器	1 支	0.1~1 mL	
8	Thermo 微量移液器	1 支	2~10 mL	
9	微量移液器吸头	96 个	0.005~0.05 mL	
		96 个	0.1~1 mL	
		10 个	2~10 mL	
10	微量移液器吸头盒	2 个	0.005~0.05 mL	
		1 个	0.1~1 mL	
11	96 孔 V 型血凝反应板	5 块		
12	烧杯	5 个	50 mL	

动物检疫检验技术专业教学资源库

		2 个	500 mL
13	禽用采血器	2 支	5 mL
		2 支	10mL
14	具盖塑料离心管	6 支	10 mL
15	试管架	1 只	
16	细记号笔	1 支	
17	pH7.2 0.01M PBS	250 mL	
18	阿氏液	10mL	
19	高致病性禽流感标准抗原	1 瓶	
20	被检血清样本	10 份	
21	高致病性禽流感标准阳性血清	1 瓶	
22	高致病性禽流感标准阴性血清	1 瓶	
23	酒精棉球	若干	75%
24	干棉球	若干	
25	标签纸	若干	
26	实验报告单	1 张	
27	非免疫公鸡	3 只	
28	隔离衣	1 件	
29	一次性医用帽子	2 只	
30	医用防护口罩	2 只	

31	医用乳胶手套	2 副		
----	--------	-----	--	--

(二)猪口蹄疫病毒 VP1 结构蛋白抗体酶联免疫吸附试验(100 分)

本项目按中牧实业股份有限公司猪口蹄疫病毒 0 型 VP1 合成肽 ELISA 抗体检测试剂盒说明书进行, 大赛总时间为 180 分钟。

1. 具体步骤及其分值如下:

(1) 试验器材准备 (占总成绩的 12%)

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。

(2) 工作液配制 (占总成绩的 12%)

按照操作规程配制, 要求各种工作液配制适量、配制时机得当, 操作规范、熟练等。

(3) 样品准备 (占总成绩的 12%)

按照操作规程, 用微量移液器在 96 孔培养板滴加样品稀释液、待检样品或对照血清, 充分混匀, 备用。要求微量移液器使用规范, 具备生物安全意识, 取不同样品更换吸头, 准确记录每个样品在板上的位置, 被检血清稀释倍数正确、加样顺序正确, 操作规范等。

(4) 酶联免疫吸附试验 (占总成绩的 32%)

按操作规程, 对 12 个被检血清进行酶联免疫吸附试验操作, 并设阳性血清对照、阴性血清对照。要求移液器、酶标仪使用规范、熟练, 具备生物安全意识, 取不同样品、不同试剂更换吸头, 准确记录每个样品在板上的位置, 感作时间、温度得当, 正确读取抗体结果, 场地整洁等。

(5) 抗体结果报告 (占总成绩的 32%)

按照操作规程, 正确计算、记录抗体结果, 完成报告。要求抗体结果报告方式正确、结果准确、场地整洁等。

2. 评分标准

具体评分标准见表 3。

表 3 猪口蹄疫病毒 VP1 结构蛋白抗体酶联免疫吸附试验

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 (12分)	仪器使用	4	仪器正确使用, 2分
		材料准备		材料准备到位, 2分
		物品标识	4	标识合理, 2分 标示清晰, 2分
		桌面整洁度	4	器材摆放合理有序, 2分 桌面整洁, 2分
2	工作液配 制(12分)	器材使用	4	量筒使用规范, 2分 移液器使用规范, 2分
		操作程序	8	洗涤工作液、底物工作液配制适量, 3分 配制时机得当, 3分 配制规范、熟练(口罩、手套), 2分
3	样品准备 (12分)	器材使用	4	微量移液器使用规范, 2分 吸头及时更换、操作规范, 2分
		操作程序	8	加样顺序正确, 2分 稀释操作规范, 2分 被检血清稀释倍数正确, 2分 设置正确的阴性对照、阳性对照, 2分
4	酶联免疫 吸附试验	器材使用	4	移液器使用规范, 2分 吸头及时更换、操作规范, 2分

序号	考核内容	考核要点	分值	评分标准
	(32分)	操作程序	22	酶标反应板各孔的工作液加入正确, 4分 洗板次数准确, 2分 洗涤液用量适宜, 2分 感作时间得当, 6分 感作温度得当, 6分 吸头及时更换、操作规范, 2分
		结果读取	6	酶标仪波长选择正确, 2分 阴性对照孔 OD ₄₅₀ 均应 ≤ 0.15; 阳性对照孔 OD ₄₅₀ 均应介于 0.9~1.9 之间, 且阳性对照孔差 ≤ 0.3, 4分
5	抗体结果报告 (32分)	结果判定	4	临界值的计算熟练准确, 2分 样品结果判定准确, 2分
		抗体结果报告	2	抗体结果报告方式正确, 2分
		结果准确性	24	每个样本 2分, 共 12 个样本, 结果正确, 得 2分; 结果错误, 0分。
		场地整洁度	2	场地整洁, 2分 根据具体情况确定得分
总分			100	

3. 本赛项所用的仪器、设备与材料由组委会准备, 见表 4。

表 4 猪口蹄疫病毒 VP1 结构蛋白抗体酶联免疫吸附试验技能大赛用
仪器、设备与材料

序号	器材或设备名称	数量	规格	备注

动物检疫检验技术专业教学资源库

1	MK3 酶标仪	2 台	配有 450nm 滤光片	每个考场
2	恒温培养箱	1 台	37℃±2	
3	猪口蹄疫病毒 O 型合成肽 ELISA 抗体检测试剂盒	1 盒		每人
4	被检血清样本	12 份		
5	DRAGON 微量移液器	1 支	0.005~0.05 mL	
6	DRAGON 微量移液器	1 支	0.1~1 mL	
7	Thermo 微量移液器	1 支	2~10 mL	
8	微量移液器吸头	96 个	0.005~0.05 mL	
		96 个	0.1~1 mL	
		2 个	2~10 mL	
9	微量移液器吸头盒	2 个	0.005~0.05 mL	
		1 个	0.1~1 mL	
10	板式微量移液器架	1 个		
11	量筒	1 个	100 mL	
12	烧杯	1 个	50 mL	
		1 个	500 mL	
		1 个	100 mL	

动物检疫检验技术专业教学资源库

13	棕色离心管	2 个	5 mL		
14	白色离心管	1 个	5 mL		
15	试管架	1 只			
16	细记号笔	1 支			
17	签字笔	1 只			
18	去离子水	500 mL			
19	锡箔纸	1 张			
20	标签纸	若干			
21	吸水纸	若干			
22	实验报告单	1 张			
23	隔离衣	1 件			
24	一次性医用帽子	2 只			
25	医用防护口罩	2 只			
26	医用乳胶手套	2 副			
27	一次性鞋套	2 副			
28	垃圾桶	1 个			两人