**四川省职业院校检验检疫技术技能竞赛**

**临床基本检验-白细胞计数和分类试卷（高职组）**

**一、竞赛说明：**

1.主要考核医学检验技术专业、卫生检验与检疫技术专业学生规范操作血细胞观察等专业能力。

2.项目满分100分，完成时30分钟；

3.独立完成，不得相互询问或讨论。

4.考核成绩为操作过程评分、操作结果和考核时间评分、职业素养之和。

5．全部操作过程时间和操作后处理时间计入时间限额，超过规定时间将终止操作。

**二、实验原理**

1.血细胞分析仪工作原理：吸入一定体积的抗凝全血，血标本在稀释液和溶血剂的作用下制成一定浓度的白细胞悬液，根据流体力学鞘流技术原理，当细胞通过仪器检测器受到固定波长的激光照射，根据光的折射、反射、前向角等信号识别和计数细胞。分别在仪器内WBC计数区和RBC/PLT计数区及Hb测定区检测分析，得出每升血液中WBC、RBC、PLT和Hb结果，并通过内置软件运算处理，计算出血细胞相关参数。

2.手工白细胞计数原理：用白细胞稀释液将抗凝全血稀释一定的倍数，同时破坏溶解红细胞。将稀释的血液注入血细胞计数板，在显微镜下计数.一定体积的白细胞数，经换算求出1L血液中的白细胞总数。

3.血涂片制备原理：将一小滴血液均匀涂在玻片上，呈单层分布，制成薄血片。用瑞氏染液进行染色。细胞中的碱性物质如RBC中的[血红蛋白](https://baike.baidu.com/item/%E8%A1%80%E7%BA%A2%E8%9B%8B%E7%99%BD/94131?fromModule=lemma_inlink" \t "_blank)及[嗜酸性粒细胞](https://baike.baidu.com/item/%E5%97%9C%E9%85%B8%E6%80%A7%E7%B2%92%E7%BB%86%E8%83%9E/10106702?fromModule=lemma_inlink" \t "_blank)嗜酸性颗粒等与[酸性染料](https://baike.baidu.com/item/%E9%85%B8%E6%80%A7%E6%9F%93%E6%96%99/4489621?fromModule=lemma_inlink" \t "_blank)伊红结合染成红色；细胞中的酸性物质如淋巴细胞胞质及[嗜碱性粒细胞](https://baike.baidu.com/item/%E5%97%9C%E7%A2%B1%E6%80%A7%E7%B2%92%E7%BB%86%E8%83%9E/10319866?fromModule=lemma_inlink" \t "_blank)质中的嗜碱性颗粒等与[碱性染料](https://baike.baidu.com/item/%E7%A2%B1%E6%80%A7%E6%9F%93%E6%96%99/8490980?fromModule=lemma_inlink" \t "_blank)亚甲蓝结合染成蓝色；[中性粒细胞](https://baike.baidu.com/item/%E4%B8%AD%E6%80%A7%E7%B2%92%E7%BB%86%E8%83%9E/720555?fromModule=lemma_inlink" \t "_blank)的中性颗粒呈等电状态与伊红和亚甲蓝均可结合，染成淡紫红色。

**三、实验器材和试剂**

1.血细胞分析仪：五分类全自动血细胞分析仪，已大保养、已校准，可打印出三种血细胞直方图。

2.数码摄像显微镜、计算器等。

3.耗材：一次性小试管、试管架、改良血细胞计数板、计数板专用血盖片、1.00ml刻度吸管、洗耳球、20μl微量吸管、乳胶头（有孔和无孔可自选）、干棉球、擦镜纸、纱布等，签字笔、记号笔、吸水纸、草稿纸、免洗消毒洗手液、面盆、抹布、废液缸、锐器盒和医用污物缸。

4.试剂：

（1）血细胞分析仪配套试剂：溶血素、稀释液、清洗液等。

（2）白细胞稀释液：2%冰乙酸溶液中加入10g/L结晶紫（或亚甲蓝）3滴过滤后使用。

**四、实验标本**

血细胞分析仪全血质控物、新鲜EDTA-K2抗凝全血。

**五、操作步骤**

1.血液常规检验（仪器法）

（1）开机前准备：

①检查稀释液、清洗液、溶血素是否充足，有无过期; 试剂管路是否弯折，连接是否可靠。

② 各电源线是否正确连接。

③ 废液桶是否清空。

④ 打印纸安装是否正确，是否足够。（以上内容需逐项口头报告）

（2）开机：按厂家培训进行，仪器初始化过程结束后，系统自动进入“计数”界面。（赛时已开机选手需口头报告是否开机）

（3）稀释液本底检查：赛时已进行本地检测，（选手需口头报告本底是否正常）。

（4）检测模式选择：选全血模式。（选手需口头报告检测模式）

（5）全血质控物检测与审核：质控物放至室温15～30min，平衡至室温，手动混匀质控物。 结果在控时方可检测标本。（赛时质控已做需选手口头报告质控在控情况）

（6）标本检测与结果打印：取出标本观察有无凝集，无凝集时上下颠倒混匀5～8次，上机检测并打印报告，检测后标本放原位。

（7）关机：一般以先清洗后关机为原则。（赛时无需关机但需口头报告清洗操作）

2．白细胞计数（手工法）

（1）准备稀释液 取小试管1支，加入白细胞稀释液0.38ml。

（2）取血 用微量吸管准确吸取EDTA-K2抗凝全血20µl。

（3）稀释 擦去管外余血，将其插入小试管中稀释液底部，轻轻将血放出，并吸取上清液漱洗吸管2～3次，注意不能冲浑稀释液，最后轻摇试管，使之均匀。

（4）充池 检查计数板和血盖片，必要时用擦镜纸擦拭干净，将血盖片盖在计数板上，待红细胞完全破坏，用微量吸管吸取混匀的白细胞悬液，充入计数池中，静置2～3min，待血细胞下沉。

（5）计数 用低倍镜计数四角4个大方格内的白细胞数，对压线的白细胞，按“数上不数下，数左不数右”的原则计数。（此处显微镜已连电脑屏幕，选手需按评委指令把相应的计数区域调到视野中央便于评委核对）

3．血涂片制备及观察

（1）血涂片制备

选择载玻片，正确编号（场号+工位号+标本号），左手拇指、食指和中指持载玻片的两端，右手拇指、食指和中指握住推片的两边，将推片的前端下缘放于血滴的前方，然后从血滴前方向后慢慢移动，接触血滴后左右轻轻摆动，使血液沿推片下缘散开，以30°～45°快速、平稳地将推片向前推进至载玻片的另一端，则血液在载玻片上形成一厚薄适宜，头、体、尾分明，两端和两侧留有空隙的舌型血膜。

（2）瑞氏染色

①加Ⅰ液 制备好的血涂片充分干燥后，用蜡笔在血膜两端画线，以防染色时染液外溢。然后将血涂片平放于染色架上，滴加Ⅰ液3～5滴，以覆盖整个血膜为度，静置0.5～1min。

②加Ⅱ液 滴加约与Ⅰ液等量的Ⅱ液，轻轻摇动血涂片或用吸耳球对准血涂片吹气，使Ⅰ液和Ⅱ液充分混合并完全覆盖血膜，室温下染色5～10min。

③冲洗 平持血涂片，用流水缓缓冲去染液，直至冲洗干净。

④干燥（可用吸水纸）

（3）白细胞分类观察

①用10×物镜观察血涂片全片，观察染色及细胞分布情况。（显微镜连电脑屏幕）

②在体尾交界处、100×物镜下选择血涂片细胞分布均匀、着色良好的区域，按一定的方向顺序找到不少于三种白细胞，如：中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞，请评委复核。

**四川省职业院校检验检疫技术技能竞赛**

**临床基本检验-白细胞计数和分类答题卷（高职组）**

**一、血细胞分析仪检测结果**

1.书写标本编号、粘贴检测结果

检验者签名 （写选手工位号）

报告日期

|  |  |
| --- | --- |
| 得 分 |  |
| 裁判签名 |  |

**二、手工法白细胞计数**

1．数据记录 在下列空格中写上与计数板位置（以免与裁判计数不对应）相应大方格的白细胞数。并计算出白细胞总数。（裁判抽查对角2个大方格WBC数,与选手相应大方格内WBC结果进行比较，根据误差进行扣分）

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1 |  | 2 |
|  |  |  |
| 4 |  | 3 |

2．计算白细胞浓度（写出计算公式及计算过程）（取小数点后2位）

WBC=

|  |  |
| --- | --- |
| 得 分 |  |
| 裁判签名 |  |

**三、血涂片制备及观察**

在体尾交界处，用100×镜下，按一定方向顺序对所见到的每一个完整白细胞进行观察，找到不少于三种白细胞。

|  |  |
| --- | --- |
| 得 分 |  |
| 裁判签名 |  |

**四、结果报告**

1.仪器法白细胞计数：

2.手工法白细胞计数：

3.镜下找到不少于3种白细胞：

|  |  |
| --- | --- |
| 得 分 |  |
| 裁判签名 |  |