

不同稀释液对血涂片制作的探讨

冯露露¹ 杨熙蕾¹ 李恺烨¹ 韦家屹¹ 吴岩²

(1.海南医科大学第一临床医学院 海南海口 570100;

2.海南医科大学基础医学与生命科学学院形态学实验室 571199)

【摘要】血细胞的形态学镜检是医学学习过程中重要且实践过程较为困难的部分,其中血涂片的制作对实验结果产生主要影响。为增加血涂片制作成功率,使血涂片在镜下易于观察,该文探讨了不同稀释液对血涂片制作的影响。通过对比各稀释液中血细胞的形态、数量、颜色,找出最适宜的稀释方法,以提升该实验的教学效果。

【关键词】血细胞形态学;血涂片;稀释液;实验教学

Discussion of blood smear preparation with different dilutions

Feng Lulu¹ Yang Xilei¹ Li Kaiye¹ Wei Jiayi¹ Wu Yan²

(1. The First Clinical Medical College of Hainan Medical University, Haikou, Hainan 570100;

2. Morphology Laboratory, School of Basic Medicine and Life Sciences, Hainan Medical University 571199)

[Abstract] Morphological microscopy of blood cells is an important and difficult part of the medical learning process. The production of blood smears had a major impact on the experimental results. In order to increase the success rate of blood smear preparation and make it easy to observe under the microscope, the effects of different diluents on blood smear preparation were discussed in this paper. By comparing the morphology, quantity and color of blood cells in each diluent, the most suitable dilution method was found to improve the teaching effect of the experiment.

[Key words] Blood Cell Morphology, Blood Smear, Diluent, Experimental Teaching

血细胞形态学是血液学的常规检查项目之一,主要通过观察血涂片中外周血细胞的大小、形态、结构,对疾病的诊断提供线索,是血液病诊断的重要依据^[1]。血涂片是血细胞观察的基础,血涂片制作不良如血膜过厚细胞重叠、血膜过薄使白细胞多聚集在边缘均能增加细胞鉴别的难度,甚至得出错误结论。因此,制作结构清晰、层次分明、易于观察的血涂片至关重要^[2],血涂片的制作和观察也成为医学专业实践教学的重要内容,是医学生必须掌握的技能^[3]。正常操作下的血涂片血膜呈粉红色,镜下红细胞呈粉红色,白细胞细胞核呈紫红色,染色质结构清楚^[4]。但在教学过程中发现学生由于经验不足难以制作出易于观察的血涂片,不仅影响学生的学习热情,也不利于后续血细胞形态结构的观察^[5]。因此,为了降低血涂片的制作难度,本文通过用不同稀释液处理血液样本,探究何种稀释液可使细胞分散易推开、细胞形态结构清晰,便于观察。

1 结果

1.1 NaCl 稀释 10 倍组

第0天的血涂片低倍镜观察显示,红细胞数量众多且分布广泛,红细胞呈现典型的双凹圆盘形态,中央区域较薄

而外周较厚,染色后呈淡红色,有零星锯齿形皱缩红细胞。白细胞数量较少随机散布于红细胞间,圆形,染色较深呈深紫色。其中中性粒细胞的胞核分叶呈深紫色,胞质呈淡粉色。嗜酸性粒细胞的胞质中充满大量橘红色嗜酸性颗粒。嗜碱性粒细胞的胞质中含有大量深紫色嗜碱性颗粒。淋巴细胞体积较小,核大且染色深,呈深紫色,如图1-1。

第2天血涂片观察显示,正常双凹圆盘状红细胞数量有所减少,且视野中开始出现周边呈锯齿形排列、外端较尖的皱缩红细胞,以及零星的红细胞溶解碎片,红细胞颜色未发生明显改变。白细胞形态未见显著变化,如图1-2。

第4天血涂片观察显示,正常红细胞数量进一步减少,皱缩红细胞数量增加,部分红细胞呈现球形,并伴有聚集溶解现象,红细胞颜色加深,偏橙红色。白细胞数量未明显下降但开始出现细胞边界不清、细胞膜消失或形状不规则、细胞体积增大、细胞颗粒在稀释液中扩散的现象,颜色无变化,如图1-3。

第6天血涂片观察显示,正常红细胞数量显著减少,视野中大部分红细胞呈现皱缩状态,颜色进一步加深为浅紫色。白细胞数量减少,细胞形状不规则,中性粒细胞分叶不清,颜色无变化,如图1-4。

在NaCl稀释10倍组的血涂片实验中,红细胞数量

在第0、2、4天变化较平缓,第6天数量显著减少,随时间变化逐渐从双凹圆盘状变为球形或皱缩呈棘形,颜色不断加深。白细胞变化缓慢,第4天出现形态变化,随后数量减少。

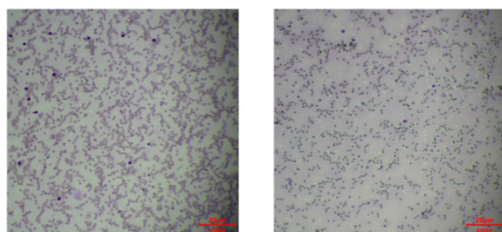


图1-1

图1-2

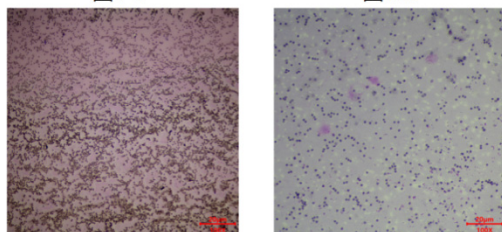


图1-3

图1-4

1.2 PBS 稀释 10 倍组

第0天的血涂片低倍镜下观察显示,红细胞数量多而分布均匀广泛,呈双凹圆盘状,中央薄外周厚,淡红色。白细胞数量较少,零星分布于红细胞中,圆形,染色深紫,其中中性粒细胞胞体较大胞核呈深紫色,胞质呈淡粉色。嗜酸性粒细胞胞质中充满许多粗大的橘红色嗜酸性颗粒。嗜碱性粒细胞呈圆形,胞质中含大量深紫色嗜碱性颗粒。淋巴细胞形态较小,核较大呈深紫色。血小板呈淡紫色,散在分布,如图2-1。

第2天血涂片观察显示,红细胞与白细胞未出现明显数量、形态、颜色变化,如图2-2。

第4天血涂片观察显示,正常红细胞数量缩减约一半,皱缩红细胞大量出现,颜色加深为浅紫色,白细胞未出现明显改变,如图2-3。

第6天血涂片观察显示,正常红细胞数量已大大减少,视野中几乎为衰老的皱缩红细胞,颜色加深为浅蓝色,红细胞分布明显稀疏,视野中红细胞几乎单个存在,鲜少聚集成团,正常白细胞的数量减少,部分白细胞边缘模糊不清,颜色未发生明显改变,如图2-4。

在PBS稀释10倍组的血涂片实验中,红细胞随时间变化逐渐从双凹圆盘状变为球形或皱缩呈棘形,在第4天显著皱缩变形衰老,白细胞变化缓慢,在第6天细胞整体结构模糊,边缘不清晰。

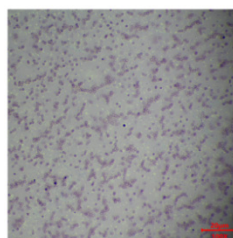


图2-1

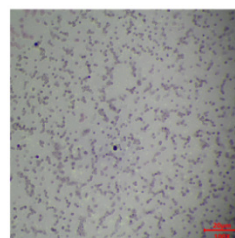


图2-2

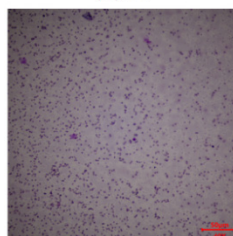


图2-3

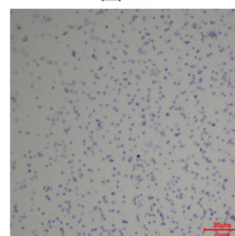


图2-4

1.3 全血组

第0天制成血涂片低倍镜下观察,红细胞呈现典型的圆形或椭圆形形态,大小均匀,分布密集且数量较多,染色后呈浅红色;白细胞形态呈圆形,体积略大于红细胞,数量相对较少,分散分布于红细胞之间,染色后呈深紫色,如图3-1。

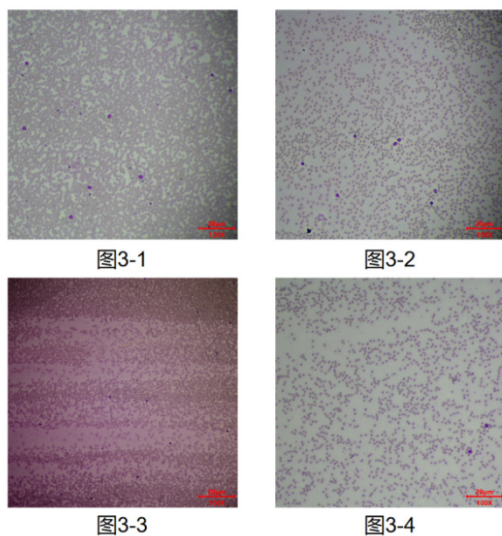
第2天血涂片观察显示,红细胞的形态与第0天相比,保持了相似的圆形或椭圆形,数量略有减少,但依然呈现出密集的分佈状态,颜色为浅红色,没有出现显著的变化。白细胞的形态同样与0天时相似,主要呈现为圆形。大部分白细胞的结构清晰可见,分散在红细胞之间。它们的颜色为深紫色,没有明显的改变,如图3-2。

第4天血涂片观察显示,红细胞的形态仍以圆形或椭圆形为主,但已开始出现轻微的变形现象。其数量较之前进一步减少,分布也变得更加稀疏。此时红细胞仍呈现浅红色,但与第0天和第2天的血涂片相比,颜色明显更浅。与此同时,白细胞的形态仍保持圆形,但部分细胞也出现了轻微的变形。白细胞的颜色为深紫色,与之前相比未观察到明显的变化,如图3-3。

第6天血涂片观察显示,红细胞的形态表现出较为显著的改变,其边缘逐渐变得模糊,出现了多种异常形态,包括盔形、球形、椭圆形、泪滴样以及口形等。同时,红细胞的数目显著减少,分布极为稀疏,颜色呈现浅红色,随着时间的推移,颜色进一步变浅。与此同时,白细胞的形态也发生了更为明显的变形,细胞边缘呈现出规则状态,变形细胞的数量有所增加。然而,白细胞的颜色仍保持为深紫色,未见明显变化,如图3-4。

在全血组的血涂片实验中红细胞随时间变化数量逐渐减少,形态逐渐出现异常,表现为盔形、球形、椭圆形、泪

滴样、口形等多种异常形态的增加,这可能反映了红细胞的变形性和脆性增强。同时红细胞的颜色随着时间的延长逐渐变浅,这可能是由于血红蛋白含量降低或溶血现象导致的。白细胞的变化特点则相对较为温和。随着时间推移,正常白细胞数量有所减少,但减少程度不如红细胞明显。同时部分白细胞出现了不同程度的形态变化,形态变化远不如红细胞显著。但白细胞的颜色随时间变化不明显,整体保持相对稳定的状态。



2 讨论

制作血涂片是临床医学教学中的重要实践环节,学生能通过血涂片直接观察红细胞、白细胞和血小板等各种血液细胞的

正常形态。因此,制作清晰,易于观察的血涂片尤为重要。

本研究使用 NaCl 溶液 10 倍稀释液、PBS 缓冲液 10 倍稀释液来稀释血液,以及使用全血来制备三组血涂片。观察对比三个实验组血涂片中红细胞和白细胞的形态、数量、颜色随时间的变化情况,NaCl 稀释 10 倍组红细胞的数量和形态在第 2 天发生变化,在第 4 天白细胞形态变化。PBS 稀释 10 倍组红细胞在第 4 天发生数量形态上的变化,第 6 天白细胞数量形态变化。全血组红细胞在 4 天出现数量形态上变化,但相较于 PBS 组变化较为轻微,第 6 天白细胞形态发生变化。

同时,在镜下观察血涂片样本时发现,NaCl 稀释 10 倍组的血涂片频繁出现结晶,结晶大多为立方体和分形结构且越靠近玻片中心区域。原因可能为操作环境温度较高或样本混合不均。在血涂片干燥过程中,低湿度和高温均会导致溶剂蒸发过快,容易在载玻片上残留结晶。此外,涂片时未充分混匀稀释液与血液样本可能导致液面局部盐分浓度不均匀,进而更易析出晶体。

为避免出现使用 NaCl 制作血涂片时产生结晶,应当优化操作条件,在适宜的环境下制备血涂片,在血涂片的制备前充分混匀样本。

3 结论

使用全血制作血涂片时,红细胞和白细胞的数量和形态随时间变化较为稳定,使用 NaCl 十倍稀释制作血涂片,红细胞和白细胞的数量和形态随时间变化最不稳定。

参考文献:

- [1]崔玉荣.血涂片细胞形态学检查与全自动血细胞分析仪联合应用在血常规检验中的价值[J].实用检验医师杂志,2023,15(1):45-48.
- [2]李琛,李璐.抗凝剂和缓冲液对血涂片染色的影响[J].实用检验医师杂志,2018,10(02):74-76.
- [3]赵娜,韦莹慧,黄燕,等.血涂片制备在医学生实验教学中的应用与体会[J].教育教学论坛,2018,(27):273-275.
- [4]丁静,黄世霜,胡延生.骨髓涂片、印片与切片检查在基层医院诊断血液疾病中的应用[J].福建医药杂志,2020,42(3):172-174.
- [5]祁根兄,纪丽丽,张慧.血液涂片制作教学改进的探讨[J].中国动物保健,2022,24(06):123-124.

作者简介:

1 冯露露,2003 年出生,女,本科在读,海南医科大学第一临床医学院 2022 级临床医学专业学生,

2*通讯作者简介:吴岩,女,1990.06.10 硕士,实验师,主要从事实验教学和管理。海南省海口市学院路 3 号海南医科大学基础医学与生命科学学院形态学实验室。

校级大学生创新创业课题(X202411810132)