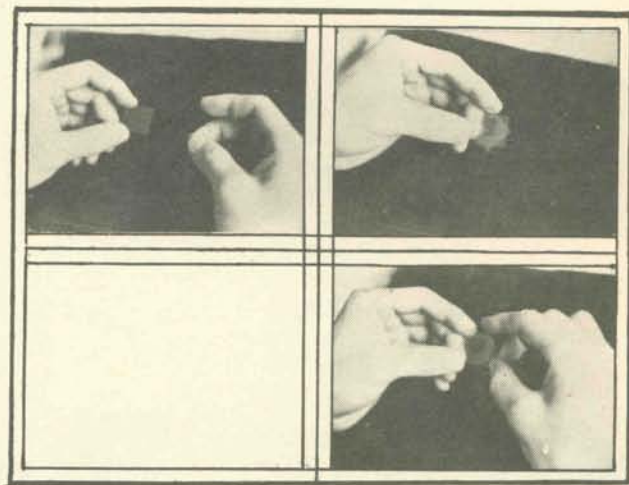


血液抹片 的操作 染色 及 臨床上的用途



陳健民

血液抹片 (blood smear) 適當的操作及鏡下觀察，能較任何其他單一臨床實驗檢查獲得更有價值的診斷資料，它可用為一般治療上的引導，化學療法和放射線療法損害效應 (harmful effects) 上的指標，這些都須依據血片的好壞方有一正確的治療結果，因此血片的操作，染色在目前的臨床診斷上，尤其對於血液專科醫師是非常重要的，然而要把血片作得讓人有所滿意並非一蹴可及，這也是需要經由一般時期的學習，才可達到的理想境界。

至於目前，關於血片的操作，大都歸類為下列二種方法，但在敘述方法前，首先有一重要的工作，即是蓋

玻片 (cover-glass) 與載玻片 (slide) 的清潔，如果忽略了這一項手續，便不容易做出良好的血片，這一個項目也成為我們所列的重要課題之一。通常是將新購的玻片放入清洗液 (cleaning solution) → 水洗 → 浸入九十五%酒精 → 最後步驟是用品質優良的紗布擦拭，讓玻片一塵不染，蓋玻片 (cover-glass) 放入一乾的玻璃皿 (petri dish)，載玻片放入一乾淨的不銹鋼盤子以備後用。

A. 拉片法 (Pull method) :

(a) 蓋玻片

1 準備一張清潔的蓋玻片 (22 × 22 × 0.18mm) 允許微血管或靜脈血 (所有血片所須的血液最好是新鮮抽取出來的，如此血球的型態較不

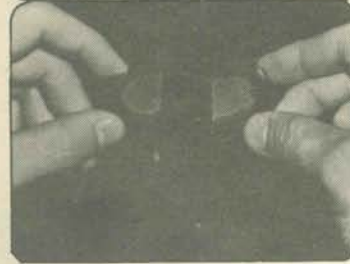
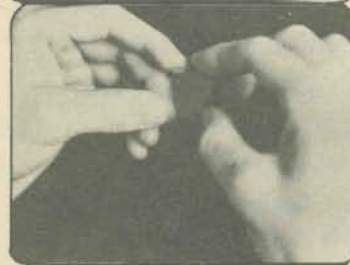
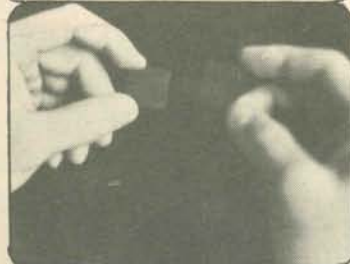
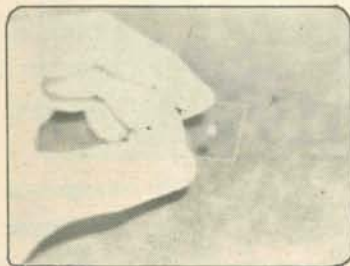
易變形，如用微血管血 capillary blood 時第一滴血必須擦拭掉，同時要避免蓋玻片接觸皮膚) 大約 2 ~ 3 mm 直徑滴放在蓋玻片中央，用左手拇指，食指拿著固定。

2 第二張清潔的蓋玻片覆蓋在第一張上，使形成像一星狀，若血滴不太大，蓋玻片很清潔時，會自動擴展開來，形成二個薄面，儘量不要壓擠玻片，在未擴展完全時，用右手的拇指與食指從第二張蓋玻片的一角將此玻片迅速且動作均勻平行的拉開，技術熟練的話，就有二張均勻的蓋玻抹片 (even cover-glass smear)，血片的長度約為玻片%的含量且成半橢圓形狀，然後置於空氣中晾乾 (dry in air)。

如果沒有水平的拉開玻片或沒有讓二張玻片有適當的擴展，或因動作太慢以至於讓血液凝固……等等因素，其結果都是品質不良的抹片 (poor coverglass smear)

圖二、

- ①滴一滴鮮血於玻片上
(one drop blood on slide)。
- ②準備另一張玻片
(prepare another slide)。
- ③蓋上第一張玻片
(touch each other)。



圖一、①滴一滴血液在蓋玻片上
(one drop blood on coverglass)。
②準備好另一張蓋玻片
(prepare another coverglass)。
③將此蓋玻片蓋上第一張
(touch each other like a star)。
④迅速均勻且平行拉開(pull out)。

(b)載玻片

此法與 coverglass 近乎相似，只不過是用較大的玻片，相對的血量也就須增加些，但比例不大，約 3~4 mm 直徑。

1 置放血液於一乾淨的載玻片上 (75 × 25mm) 約在此載玻片左端的前 1/4 處 (習慣於此端)，用左手拿著固定。

2 另一張清潔的載玻片覆蓋在此血滴上，使其自然擴散後均勻的由右手平行向右拉開而只得一張橢圓狀的血片，其長度約在玻片前後 1/4 間。

(B)攤開法 (Spread method) :

這種方法首先我們必須準備攤開器 (spreader) 的用具，至於這種攤開器的準備很簡單，只要把完整、且新的玻片任何一端除去一角約 2mm 寬即可，但不可過大，否則會無形中縮短血片的寬度，然後把攤開器邊緣磨光滑以力推展血片，當然我們也可將玻片兩端皆去角以便利用，除了用玻片攤開器外，另有一法是將血球計算盤 (counting chamber) 上的蓋玻片製成與載玻片同樣般的攤開器，一樣有異曲同工之處。

1 一滴適量的血液置放在清潔的載玻片一端前約 10mm 處 (習慣於右方)。

2 然後將此含血液的玻片用左手握著尾端邊緣處，固定在一平面上，

右手拿著認可的攤開器與血液而接觸會自然擴散成一條直線，攤開器正好在血液前，通常血片的厚薄關鍵在此血液量的調整，均勻的血片其成直線，血液量約為 1 mm 寬。

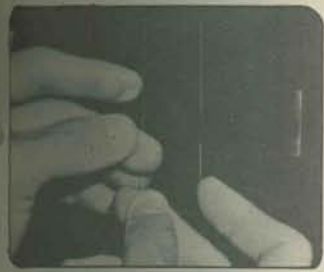
3 使攤開器成大約 30°，緊接著以等量平穩的速度向左推動後，血片就形成在這載玻片上，而迅速的在空氣中晾乾 (dry in air)，血片的長度約為玻片的 1/3，亦即位於玻片前後約 15mm 間。

在正常狀況下的病人，我們可用約 30° 操作，但如有貧血病人時，則必須將攤開器角度提高，速度加快，以獲得較厚的血片，但若多血病人時，(polycythemia) 則恰相反，攤開器的角度壓低，速度減慢，以得較薄的血片。

結論：綜觀上述欲獲一張良好的血片，必須具備有下列數點：

1 空白的邊緣 (Margin free) : 即血片口下，左右必須留有間隙以利寫姓名、日期及攜帶方便。

蓋玻片抹片 (coverglass smear) 則不可寫標示 (label)，必須封埋在載玻片上而後做標示 (label)。



④平行、均勻拉開 (pull out)。

圖三、

- ①在載玻片上滴一滴鮮血 (one blood on slide)。
- ②準備好攤開器 (prepare spreader)。
- ③攤開器接觸血滴 (spreader touch on blood)。
- ④攤開 (spread out)

2 均勻 (Homogeneous) :血片的形成必須看起來很平滑, 均勻而沒有間斷及厚薄不均, 經染色及低倍 (100x) 鏡下觀察, 至少須有八個區域 (8 area) 的紅血球相互間沒有聚集在一起而是個個單獨分開方可算是均勻 (homogeneous)。

3 清楚分明的頭、體、尾部 (Distinct of head, body & tail) :此規則是針對著攤開法的抹片 (spread smear) 而言, 主要是讓人感覺上增添一份美感, 頭尾分明, 易於區別, 藉以促進觀察血片的情趣。

普通一張血片必須再經過染色後才允許做鏡下觀察, 且血片須保持在新鮮狀況下染色, 因放置太久的血片經由空氣中的水份侵蝕後, 其鏡下觀察的效果則略為遜色, 有關的染色, 目前我們實驗室常用的方法有劉氏, Wright氏等染色法。

I、劉氏染色法 (Liu's stain)

這種染色法是由我國血液學專家劉禎輝教授所研習出來的主要益處是染色時間不長, 很適合用於一般實驗室及急檢室, 它可分為:

Liu's A和Liu's B二種染色液。

- (a)準備一張厚薄均勻的血片
- (b)用Liu's A 蓋滿整張抹片 (smear) 約三十秒。
- (c)不要沖洗直接再加上Liu's B, 所須量為Liu's A的二倍, 約1分30秒~2分 其間, 含有一層綠色金屬光澤出現。
- (d)以水直接從血片上端沖洗, 讓其不留任何殘渣。
- (e)在空氣中晾乾 (dry in air), 可直接鏡下觀察。

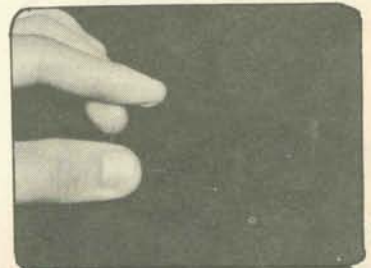
Liu's A & Liu's B 染色時間的長短可由每次所泡的染色液決定。

當如果認為染色不滿意時可以再染色, 若欲保留血片數年時, 必須用permount自行的將染色後的血片封固 (mounting)。

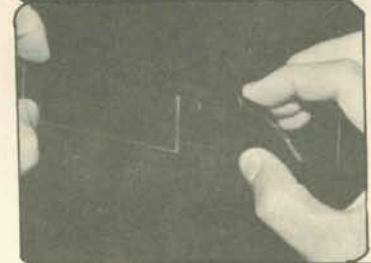
II、Wright 氏染色法

這種染色法是從外國所引進的, 因它較早於劉氏染色法因此為一般醫院所採用。

- (a)準備一張厚薄均勻的血片。
- (b)以Wright 氏溶液蓋滿整張血片, 約2~3分鐘。
- (c)不要沖洗, 直接加入等量的Wright 氏緩衝液, 混合約3分鐘其間含有一層綠色金屬光澤出現 (通常緩衝液 (buffer) 我們都以蒸餾水來代替)。
- (d)以水直接沖洗, 然後在空氣中



①



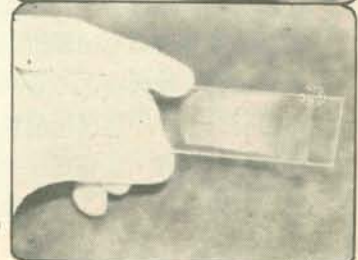
②



③



④



⑤

晾乾 (dry in air) 直接鏡下觀看 Wright 氏染色血片如同劉氏法一樣，若欲保存必須用 Permount 加以封固 (mounting) 另有一法即用 1:50 或 1:100 的 Giemsa 氏溶液覆蓋在已染好的 Wright 氏血片上數分鐘，如此可使血球的色彩更鮮艷，可保存更久。

結論：血片染色標準的評判是以外觀顏色 (gross observe) 為主，再配合鏡下觀察，大致如下：

劉氏染色法 (Liu's stain) 為紫色。

若太過綠色，原因為：①血片做得太厚。②染色液濃度過鹹。③或 Liu's A 和 B 的比例不對，如較偏向紅色，則為①染色時間過長②染色液酸度過強③沖洗過度④或可能載玻片清潔不當。

Wright 氏染色法為粉紅色。

若太藍色，是由於①血片太厚。②沖洗不當。③染色時間過長。④染色液、緩衝液 (buffer) 或水鹼性太強。

如血片過於紅色的因素，則為過於偏向酸性的染色液、緩衝液 (buffer) 或水。

最後討論血片對於臨床上的用途。誠如前面所述，是可用於輔助診斷結果，我們可由鏡下觀察紅血球、白血球、血小板等型態，數目多寡而略知一二。在未簡述各種血球變化前，有一點必須聲明的，即是血片鏡下觀察區的選擇，血片操作如以拉片法 (pull method) 時，多以中間由上而下滴香柏油 (cedar oil) 開始觀察；若以攤開法 (spreader method) 時，多以尾部算起 1/3 處，由上而下觀察，因在這些範圍內，血球的分佈較為一致，可避免一些不必

要的誤差。

當我們欲檢查病人是那種類型的貧血病變時，大致上可注意他紅血球的：

1 大小 (Size) :

- (a) 紅血球大小不均 (Anisocytosis)
- (b) 正常紅血球 (Normocytic)
- (c) 巨紅血球 (Macrocytic)
- (d) 小紅血球 (Microcytic)

2 形狀 (Shape) :

- (a) 異形紅血球 (Poikilocytes)
- (b) 球形紅血球 (Spherocytes)
- (c) 靶狀紅血球 (Target cells)
- (d) 卵形紅血球 (Ovalocytes)
- (e) 鐮刀形紅血球 (Sickle cells)

3 顏色 (Color) :

- (a) 正常血色素 (Normochromic)
- (b) 低血色素 (Hypochromic)

4 不正常的形態

- (Abnormal forms)
- (a) 多色性 (Polychromasia)
- (b) 嗜鹼性彩點 (Basophilic stippling)
- (c) Cabot 環 (Cabot ring)
- (d) Howell-Jolly 小體
- (e) 有核紅血球 (Nucleated RBC)
- (f) 寄生性紅血球 (Parasitized RBC)
- (g) 縐錢狀構造 (Rouleaux formation)

若病人有異常的出血現象或身體上有紫斑出現時，可注意他血小板 (Platelet) 的變化。

- 1 數目 (Numbers)
- 定量的變化 (Qualitative

change)

- 2 形態上的不正常 (Morphologic abnormalities)
- 定性的變化 (Qualitative change)

至於白血球 (WBC) 的變化大多數在於有否懷疑細菌性、病毒性、黴菌性，或者是不自主增升性的疾病時，可以稍加留心白血球的鏡下變化。

- 1 數目 (Numbers)
- 2 白血球分類計數 (Differential leukocyte count)
- 3 形態上的不正常 (Morphologic abnormalities)
- (a) 多分葉核嗜中性白血球 (Multi-segmentation of the nucleus of neutrophils)
- (b) 毒性構造 (Toxic forms) 嗜中性白血球毒性小顆粒 (Toxic granulation of neutrophils)
- (c) 細胞核變性 (Nuclear degeneration)
- (d) 淋巴球細胞質的空泡形成及變性 (Vacuolization and degeneration of cytoplasm of lymphocytes)
- (e) 未成熟及不正常細胞的出現 (Appearance of immature cells & abnormal cells)