

# 几种水产动物血涂片的制作及形态比较观察

www.docin.com





## 四、实验步骤

- 1.血涂片的制作
- 2.染色
- 3.观察

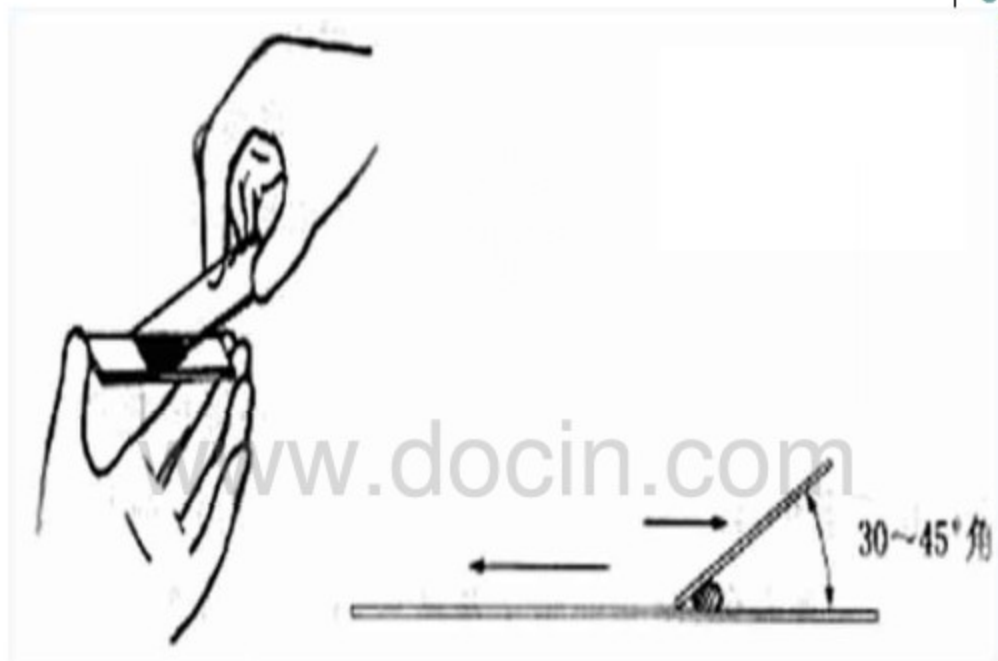
www.docin.com



## 血涂片制作方法

- 取血液标本一滴置载玻片的一端，以边缘平滑的推片一端，从血滴前沿方向接触血液，使血液沿推片散开，推片与载玻片保持 **30~45 度** 夹角，平稳地向前推动，血液即在载玻片上形成薄层血膜

www.docin.com





- 涂片的厚薄与血滴大小、推片与载玻片之间的角度、推片时的速度及血细胞比容有关。血滴大、角度大、速度快则血膜越厚；反之则血膜越薄。
- 一张良好的血涂片，要求厚薄适宜，头体尾明显，细胞分布均匀，血膜边缘整齐并留有的空隙。



## 血涂片的染色

血涂片染色包括两个过程：**固定和染色**。固定是将细胞蛋白质和多糖等成分迅速交联凝固，以保持细胞原有形态结构不发生变化。

常用的染色方法有瑞士染色法 (Wright)、姬姆萨染色法(Giemsa)等。

www.docin.com



## 瑞氏染液

0.1g瑞氏染料粉剂放入洁净干燥的研钵中，滴加60ml甲醇至全溶，密封于棕色小口瓶内，放置半个月-1个月。

www.docin.com





## 步骤

- 血涂片经甲醇固定2min
- 滴加工作液染色15-30min，室温。
- 蒸馏水漂洗
- 缓冲液分色，至血膜显示淡红色。
- 标本干燥后，封片活不封片
- 观察





## 结果

红细胞被染成橘红色，白细胞核紫色，嗜酸性颗粒鲜红色，嗜碱性颗粒蓝紫色，中性颗粒紫或紫红色，淋巴及单核细胞胞浆蓝灰色。

www.docin.com



- 压片法
- 分别取鲫鱼和美国牛蛙的肝脏、肾脏、脾脏组织，然后压片在载玻片上，晾干，然后染色。

www.docin.com



## 染色注意事项

1. 载玻片必须非常洁净，中性，无油脂。不清洁或非中性的载玻片会造成细胞特别是红细胞形态发生改变，导致假性的异常形态红细胞出现。非中性的载玻片还会影响染色环境的pH值，带油脂的载玻片会使细胞分布不均匀。

www.docin.com



## 一、实验目的

了解血涂片的制作方法，  
同时认识鲫鱼和美国牛蛙的血细胞。

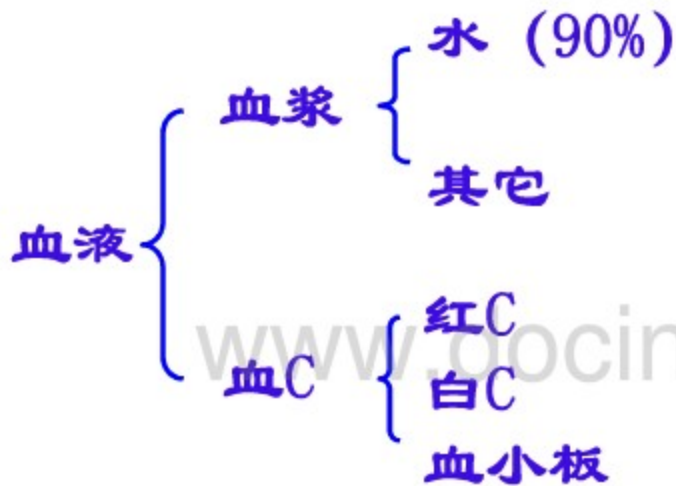
[www.docin.com](http://www.docin.com)



- **2.染色过深、过浅的处理。**染色过深、过浅与血涂片中细胞数量、血膜厚度、染色时间、染液浓度、**pH**值密切相关。对于重要的标本可采用先试染的方法，根据试染效果调节第二次染色方式。纠正染色过深可缩短染色时间或稀释染液。纠正染色过浅可延长染色时间。如果标本片有限出现了染色过深、过浅的情况，可用如下办法挽救：染色过深可加少量缓冲液覆盖血膜部分褪色，在显微镜下观察褪色情况及时终止。染色过浅可重加染色液和缓冲液复染，也要在显微镜下观察及时终止。



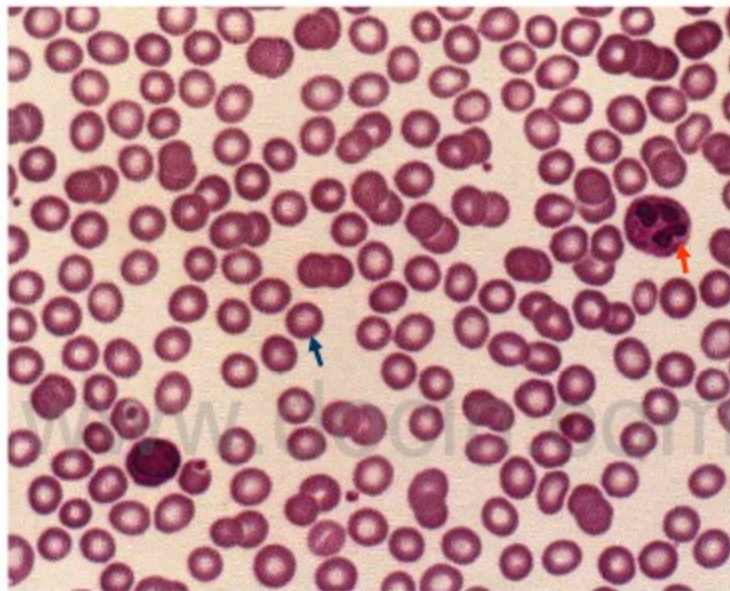
# 血液的组成



www.docin.com

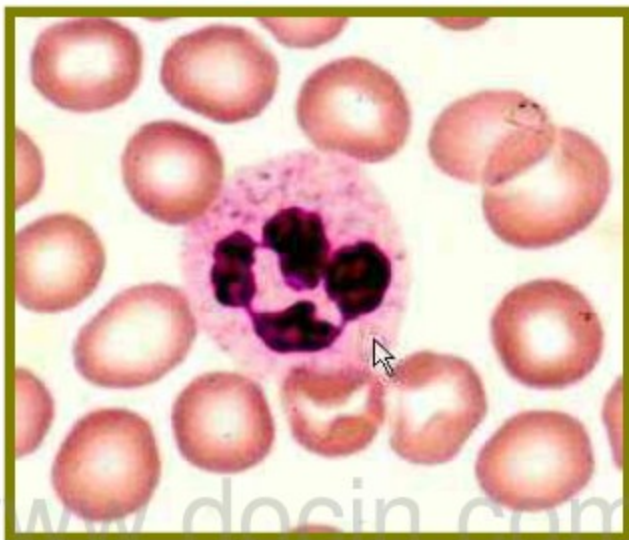


## 圆形细胞



人血涂片 (Giemsa染色)

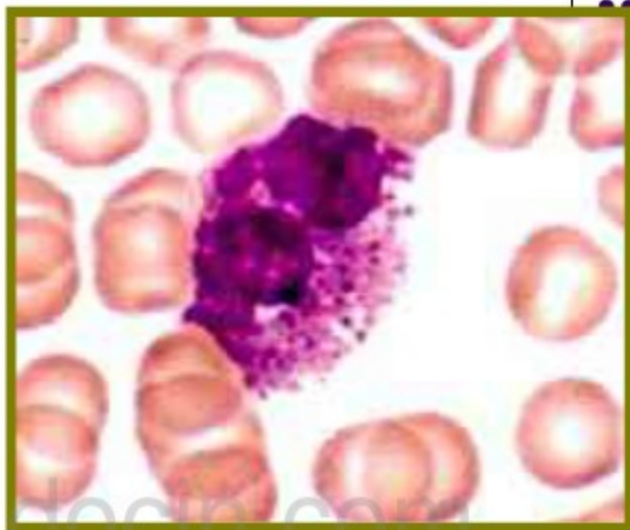
(红色箭头示白细胞，蓝色箭头示红细胞)



中性粒C

Neutrophilic granulocyte





嗜酸性粒C (LM)

Eosinophilic granulocyte



**嗜碱性粒CLM**  
**Basophilic granulocyte**



www.docin.com

**淋巴C (LM)**  
**Lymphocyte**



www.docin.com

**单核C Monocyte**



**血小板**  
**Blood platelet**



## 结果

- 红细胞橘红色，白细胞核紫色，嗜酸性粒细胞鲜红色，嗜碱性粒细胞蓝紫色，中性颗粒紫或紫红色，淋巴细胞及单核细胞细胞质蓝灰色，血小板紫色。

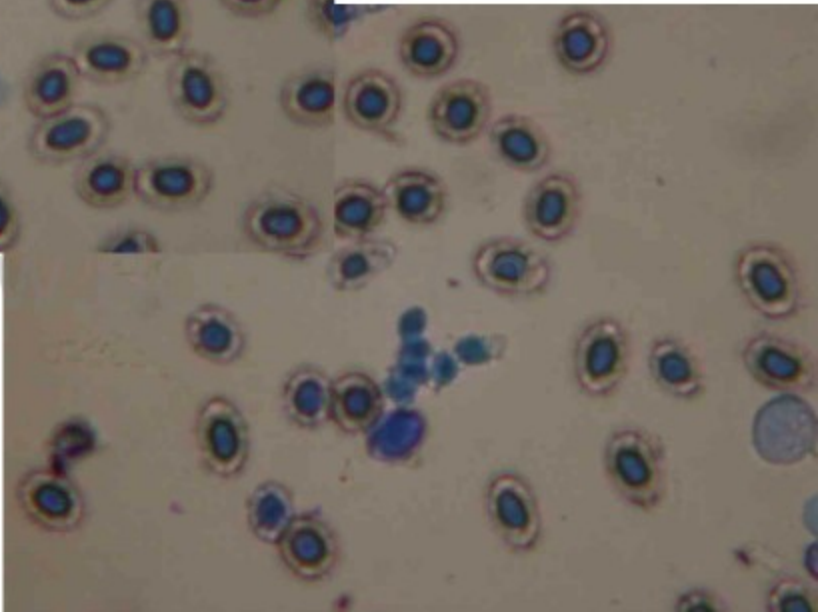
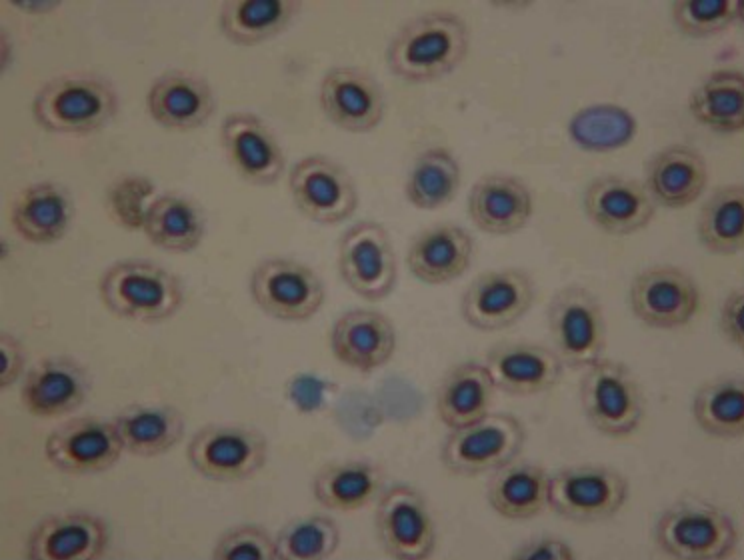
www.docin.com



## 二、实验内容

鲫鱼和美国牛蛙血涂片的制作

www.docin.com



www

蛙血液涂片





# 细胞形态和显微测量

## 实验内容

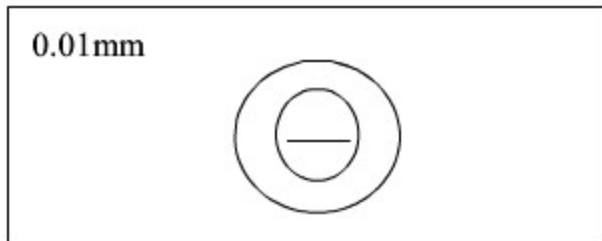
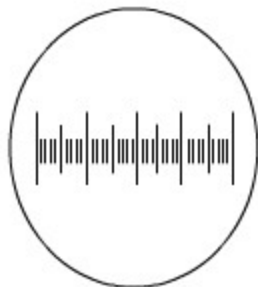
### 细胞的显微测量



细胞的显微测量需要以**目镜测微尺**来进行，但其分度值随着放大倍数的变化而变化，长度也不一样，因此需要事先进行标定。而**镜台测微尺**的长度是已知的，目镜测微尺的标定是通过镜台测微尺来进行的。

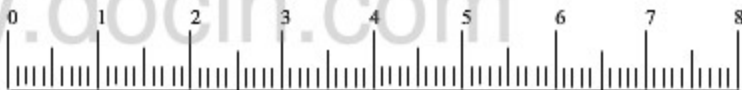


# 目镜测微尺与镜台测微尺



目镜测微尺

(长度随放大倍数发生改变)



镜台测微尺

(每一大刻度值为0.1mm，小刻度值为0.01mm)



# 目镜测微尺的标定





如在低倍镜下重合线之间目镜测微尺的长度为50格

镜台测微尺的长度为68格

则：

$$50:68=1:x$$

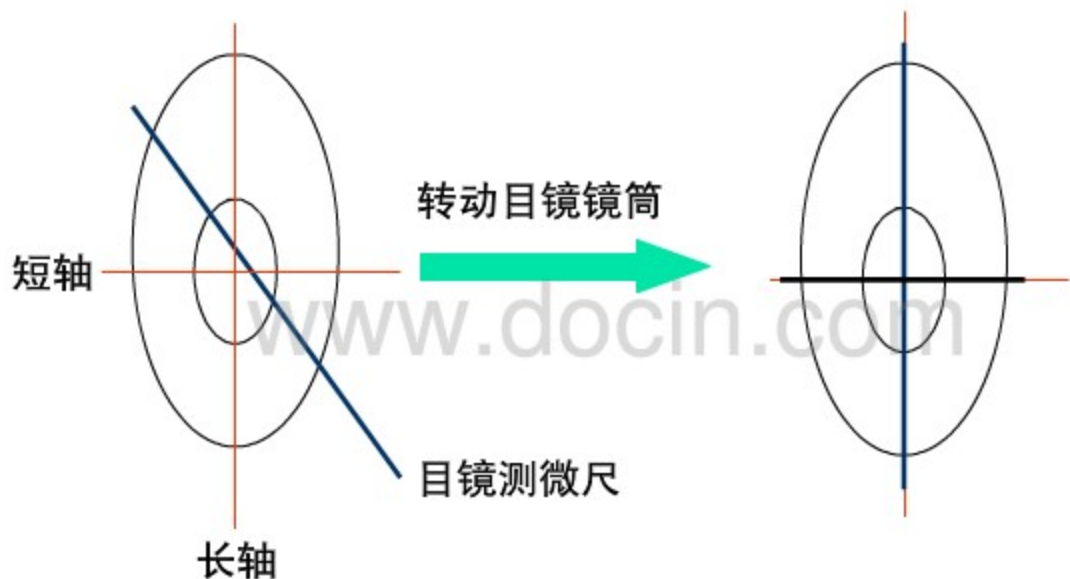
$x=1.36$ 格，即目镜测微尺的1小格相当于镜台测微尺的1.36格，而镜台测微尺每1小格的长度为10 $\mu\text{m}$ ，则目镜测微尺每1小格的长度为13.6 $\mu\text{m}$ 。

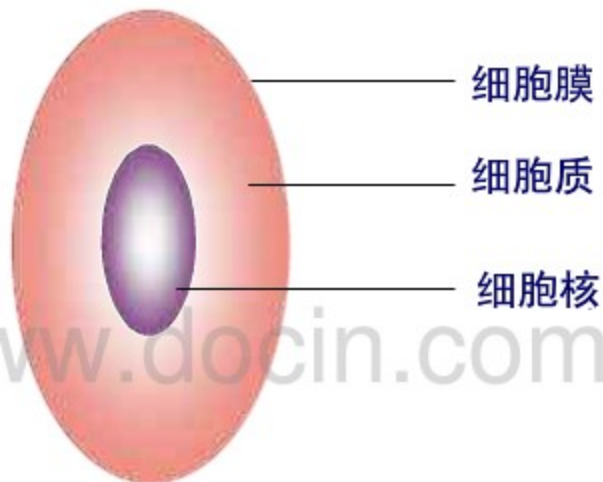
## 标定时 应注意 的问题

- 标定时必须严格按照操作规程，以免损坏测微尺；
- 重合线的判断应在二者刻度线完全重合；
- 比例式的计算；
- 标定值只能在同一放大倍数下进行测量。



# 如何进行蛙细胞的显微测量？

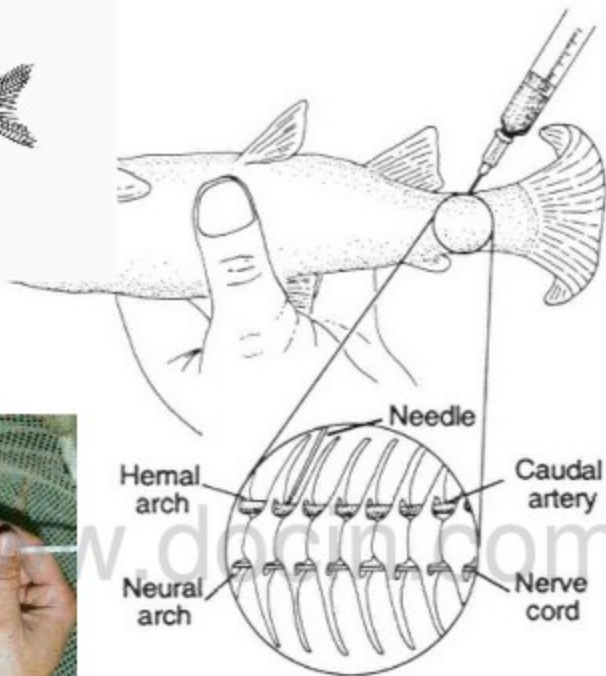




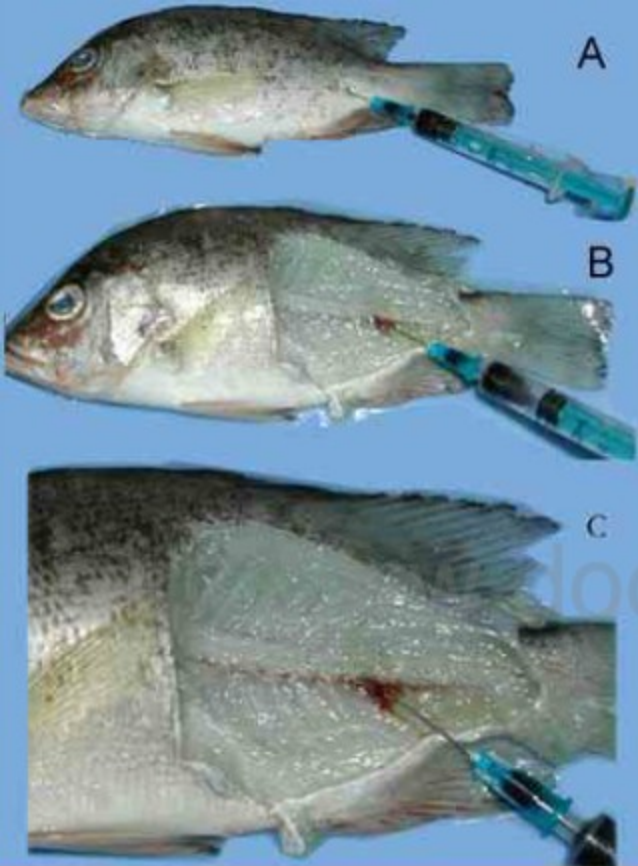
蛙红细胞示意图



图 38 鱼的骨骼



**Figure 14.4** Technique for obtaining a blood sample from a large fish without killing the fish.







### 三、实验材料

1. 鲫鱼，美国牛蛙
2. Giemsa染料粉剂、瑞氏染料粉剂、甘油、甲醇
3. 磷酸二氢钾（无水）、磷酸氢二钠（无水）
4. 载玻片、盖玻片、注射器、玻璃棒、pH试纸、烧杯、容量瓶

# Giemsa氏染料原液配制



Giemsa染料粉剂	0.75g
甘油	50ml
甲醇	50ml

将粉剂放于甘油内搅匀，放入60度温箱24h，经常摇匀。取出待冷再加甲醇混匀，配成原液，密封棕色瓶保存。使用时，以原液5ml加M/15磷酸盐缓冲液（pH6.4-6.8）50ml稀释成工作液。



## 磷酸缓冲液的配置

分别称取磷酸二氢钾（无水）6.64g，磷酸氢二钠（无水）2.56g，加少量水溶解，加水至1000ml。用精密pH试纸确定其pH。

[www.docin.com](http://www.docin.com)



## 载玻片的准备

新载玻片常带有游离碱质，须用浓度为  $1\text{mol/L}$  的  $\text{HCl}$  浸泡  $24\text{h}$ ，再用清水彻底冲洗，干燥后备用。旧载玻片要用含洗涤剂的水中煮沸  $20\text{min}$ ，洗掉血膜，再用清水反复冲洗，最后用  $0.95\text{mol/L}$  乙醇浸泡  $1\text{h}$ ，干燥备用。使用载玻片时，不要用手触及玻片表面，保持玻片清洁、干燥、中性、无油腻。