شمارش پلاکت

پلاکت ها دیسک هایی با قطر میکرون و حجم آنها 5-7 fI در خون EDTA می باشند.
عملکرد پلاکت ها؛ هموستاز، نگهداری مقاومت عروق و انعقاد خون است.

رفرانس تعداد پلاکت ۱۵۰,۰۰۰ تا ۴۰۰,۰۰۰/µl=۱۵۰-۴۰۰×10^9/L

در نمونهٔ گرفته شده بر رویEDTA ، حجم پلاکت پس از یک ساعت زیاد شده، سپس یک تا سه ساعت ثابت مانده و بعداً با افزایش زمان، زیاد می‌شود.علت افزایش حجم پلاکت در سیترات و EDTA تغییر از فرم دیسکوئید به اسفریکال است.

رفرانس MPV (mean platelet volume) = ۶/۵-۱۲fl

شمارش پلاکت و تعیین MPV باید حداکثر یک تا سه ساعت پس از نمونه‌گیری انجام شود. ضد انعقاد انتخابی جهت شمارش پلاکت EDTA می‌باشد EDTA .به عنوان مادهٔ ضد انعقاد عمل کرده و مانع تشکیل کلامپ پلاکتی شده و شمارش پلاکت دقیق تر است. یک رابطهٔ غیرخطی معکوس بین MPV و شمارش پلاکت در افراد نرمال وجود دارد. یعنی هرچه شمارش پلاکت کمتر می‌شود MPV بالاتر است و بالعکس.
مقدار رفرانس MPV با شمارش پلاکت رابطه دارد. شمارش پلاکت ها مشکل است چون از نظر اندازه کوچک بوده و با)Debrisآشغال) اشتباه می‌شوند.
پلاکت ها تمایل به چسبیدن به شیشه، اجسام خارجی (Forcign body)و به همدیگر دارند. تنها راه شناسایی کاهش قابل توجه شمارش پلاکت ها با بررسی لام خون محیطی ممکن است. شمارش پلاکت ها از نمونهٔ خون مویرگی دقت و صحت کافی نداشته و کلامپ پلاکتی تشکیل می‌شود، طبق توصیهٔ ICSH شمارش پلاکت باید از نمونهٔ روی EDTA انجام شود. درنمونهٔ خون مویرگی پلاکت‌ها به حاشیهٔ عروق آسیب دیده چسبیده و شمارش پلاکت کاهش می یابد. در صورت کشیدن لام از خون بدون مادهٔ ضد انعقاد، اسمیر باید بسرعت کشیده شود و گرنه کلامپ پلاکتی تشکیل می شود. طبق توصیهٔ ICSH متد انتخابی برای شمارش دستی پلاکت، استفاده از میکروسکپ فاز کنتراست می باشد.

برای شمارش بیش از 20 نمونهٔ پلاکت در روز استفاده از دستگاههای اتوماتیک توصیه می‌شود. اساس شمارش پلاکت در دستگاه های اتوماتیک عبارتست:

1- Voltage pulse :مثل کولترS Pluse

2 -Electro –optical :مثل دستگاه تکنیکونH1

نمونه گیری پلاکت

خون روی EDTA در شیشهٔ سیلیکونه یا ظروف پلاستیکی گرفته شود. بعضی لوله های پلاستیکی باعث کاهش شمارش پلاکت می شود (به علت چسبیدن به بعضی ظروف پلاستیکی).

محلول رقیق کنندهٔ پلاکت: 1- اگزالات آمونیم 1٪ 2- پلاکسان

محلول رقیق کنندهٔ Stock باید در یخچال بوده، مقدار لازم برای مصرف هر روز از یخچال خارج شده و قبل از استفاده فیلتر شده و در پایان روز دور ریخته شود.

قبل از شمارش پلاکت، چمبر مخصوص شمارش باید 15 دقیقه زیر پتری دیش با پنبهٔ مربوط بماند.

در موقع شمارش، پلاکت‌ها بصورت کروی یا بیضی شکل و دارای یک یا چند برجستگی می‌باشند.

داخل پلاکت‌ها گرانوله (گرانولومر) و اطراف آنها ارغوانی کمرنگ است که اجازهٔ شناسایی پلاکت‌ها از Debris را می‌دهد، Debrisاغلب بصورت (refractile) درخشان مشاهده می شوند.

باقیماندهٔ (ghost) گلبول های قرمز در زمینه مشاهده می شود.

برای شمارش پلاکت توصیه می‌شود هر دو طرف چمبر برای یک نمونه شمرده شود.

پلاکت ها در ده مربع کوچک مرکزی (پنج مربع در هر طرف لام) شمرده می شود.

اگر تعداد پلاکت شمرده شده کمتر از 100 عدد باشد مربع‌های بیشتری شمرده می شود تا حداقل صد سلول شمرده شود.

$$\text{تعداد پلاکت در } \mu l = \frac{\text{سلول شمرده شده}}{\text{مربع شمرده شده}} \times \text{رقت} \times ۲۵۰$$

حجم هر مربع کوچک میکرولیتر است. به علت خطای آماری حاصل از شمارش تعداد کم پلاکت باید دقت شود که اگر تعداد پلاکت شمرده شده در کل مربع ها کمتر از 50 می اشد، شمارش پلاکت با رقت یا در ملانژور

مخصوص گلبول سفید تکرار شود.
اگر شمارش پلاکت در پنج مربع بیش از 400 باشد، شمارش با رقت بیشتر تکرار شود.
با تنظیم تعداد مربع شمرده شده برای شمارش حداقل 100 پلاکت، خطای آماری ناشی از شمارش تعداد محدودی سلول (Field error) کاهش می یابد.
عدم دقت (C.V) برای شمارش پلاکت برای یک چمبر، یک ملانژور، و یک بار شمارش 11٪ می‌باشد، این حالت در صورتی است که حداقل 100 سلول شمرده شود.
اگر موارد فوق با شمارش 40 سلول انجام شود (CV) به ٪15 می رسد.
شمارش تعداد کم یا تعداد بسیار زیاد سلول باعی افزایش عدم دقت (CV) می‌شود.

منابع خطا

1- اکثر موارد مشابه گلبول های سفید و قرمز است.
2- نمونهٔ خون در EDTA به مدت 5 ساعت در حرارت اطاق و 24 ساعت در یخچال 4 °c قابل شمارش است.
3- نمونه گیری تمیز، سریع، بدون تروما و اشکال باشد.
4- وجود کلامپ پلاکت در موقع شمارش باعث توزیع غلط سلول ها و اشکال در شمارش می شود. در این موارد بایستی نمونهٔ جدیدی از بیمار گرفته شده و مراحل تکرار شود.

علت ایجاد کلامپ پلاکتی

1-خون گیری نامناسب
2-شروع تجمع پلاکت ها (aggregation) و انعقاد قبل از مخلوط کردن خون و ضد انعقاد.
3-تأخیر در مخلوط کردن خون و مادهٔ ضد انعقاد یا نسبت نامناسب آنها.
4-خونگیری مویرگی(skin puncture)
تأخیر در موقع نمونه گیری (خون برای شمارش پلاکت و تست‌های انعقادی باید ظرف 30 ثانیه گرفته شود).
خون مویرگی در صورتی که جریان آزاد داشته باشد نتایج مشابهی با خون وریدی دارد. (شمارش پلاکت.)
مقدار خطا در نمونهٔ خون مویرگی دو برابر خون وریدی است (به علت تغییر در تعداد پلاکت ها در قطرات پیاپی خون)

شمارش پلاکت از روی لام

شمارش پلاکت بایستی همواره با ملانژور و چمبر مخصوص انجام گیرد و تخمین تعداد پلاکت از روی لام برای مقایسه با شمارش یا موارد اورژانسی یا تحقیقات عملکرد پلاکت ها بکار می رود.

به ازاء هر ده تا سی گلبول قرمز، وجود یک پلاکت نشانهٔ نرمال بودن شمارش پلاکت است.

با عدسی 100 در محلی از لام که گلبولهای قرمز شکل مطلوب (ptimal) داشته باشند، وجود 5 تا 20 پلاکت نشان دهنده تعداد طبیعی پلاکت است.)

مرفولوژی پلاکت

در یک فرد نرمال ممکن است پلاکت‌های فعال شده (گرانولومر وهیالو) به علت انقباض میکروتوبولهای پلاکتی مشاهده شوند. وجود یک یا چند پلاکت که دارای گرانول های کمتری باشند (Hypogranular platelets) طبیعی است.

در شخص نرمال تا یکسان پس از نمونه گیری وجود تا 5٪ پلاکت هیپوگرانولار طبیعی است.

در اثر ماندن خون، پلاکت‌ها هیپوگرانولار شده، بزرگ شده و فعال می‌شوند. این artifact در مرفولوژی و سایر پلاکت‌ها باعث شده که توصیه شود شمارش پلاکت قبل از یکساعت انجام شود.

در لام گرفته شده از نمونهٔ کاپیلری، پلاکت ها نامنظم با برجستگی و کلامپ مشاهده می شوند. به طور مثال درITP[1] پلاکت‌ها بزرگتر هستند، در بیماری برنارد سولیر پلاکت‌ها بزرگ و در بیماری های اشغال کنندهٔ مغز استخوان (Myeloproliferative disorders) پلاکت ها بزرگ، نامنظم و هیپوگرانولر هستند.

تغییرات فیزیولوژیک

شمارش پلاکت در موقع تولد کمتر از اطفال و بالغین است (/478000 تا 84000)

شمارش پلاکت در نوزادان پس از هفتهٔ اول شبیه بالغین می شود. شمارش پلاکت در دو جنس زن و مرد تفاوتی نداشته ولی در طی عادت ماهیانه شمارش تعداد پلاکت ها کاهش می‌یابد.

روش پیشنهادی جهت تخمین شمارش پلاکت از روی لام

در قسمت انتخاب شده جهت (diff) جایی که گلبول های قرمز شکل (optimal) خود را داشته باشند به شکل زیر عمل می‌کنیم:

R.B.C Count = X × ۲۰۰۰۰

تخمین شمارش گلبول ها ی قرمز:

الف) اگر بین هر دو گلبول قرمز بیش از اندازۀ دو گلبول قرمز فاصله باشد، شمارش گلبول های قرمز بیمار یک و نیم میلیون است.

ب) اگر بین هر دو گلبول قرمز، به اندازۀ یک گلبول قرمز فاصله باشد، شمارش گلبول قرمز بیمار سه میلیون است.

ج) اگر بین هر دو گلبول قرمز، فاصله ای کمتر از اندازۀ یک گلبول قرمز وجود داشته باشد، شمارش گلبول قرمز بیمار چهار میلیون است.

د) اگر گلبول های قرمز با هم مماس باشند، شمارش گلبول قرمز بیمار پنج میلیون است.

هـ) اگر گلبولهای قرمز روی هم افتاده باشند(overlap) ، شمارش گلبول قرمز بیمار شش میلیون است.

پس از تخمین شمارش گلبول قرمز بیمار طبق فرمول زیر عمل می کنیم:

Xعبارتست از تعداد RBC در فیلد مورد نظر برای تخمین پلاکت،

بطور مثال اگر شمارش RBC بیمار چهار میلیون باشد.

$$۴۰۰۰,۰۰۰ = X \times ۲۰۰۰۰$$

$$X = \frac{۴۰۰۰,۰۰۰}{۲۰,۰۰۰} = ۲۰۰$$

یعنی باید تعداد پلاکت را در فیلد محتوی 200 گلبول قرمز شمارش کرد.

مثال: اگر شمارش قرمز بیمار پنج میلیون باشد.

$$۵۰۰۰,۰۰۰ = X \times ۲۰۰۰۰$$

$$X = \frac{۵۰۰۰,۰۰۰}{۲۰,۰۰۰} = ۲۵۰$$

یعنی باید تعداد پلاکت رادر فیلد محتوی 250 گلبول قرمز شمرد.
پس از محاسبهٔ x و پیدا کردن تعداد RBC در فیلد مورد نظر در لام گشته و فیلد مورد نظر را پیدا می‌کنیم.
در ده فیلد محتوی همان تعداد گلبول قرمز موردِ نظر، تعداد پلاکت ها را شمرده و میانگین می گیریم.

$$\text{تعداد پلاکت در } \mu l = \text{پلاکت} \times ۲۰۰۰۰$$

مثال: اگر در ده فیلد مورد نظر صد 100 پلاکت شمرده شده باشد، میانگین برابر است با:

$$\bar{X} = \frac{X}{N} = \frac{۱۰۰}{۱۰} = ۱۰$$

$$\text{تعداد پلاکت در } \mu l = ۱۰ \times ۲۰۰۰۰ = ۲۰۰۰۰۰$$

با تکرار این روش و بدست آوردن تجربهٔ کافی، تخمین تعداد پلاکت با 20٪ خطا ممکن است.

---

[1] Idiopathic Thrombocytopenic Purpura