

عنوان دستورالعمل:

انجام آزمایش های جستجوی آنتی بادی های غیر منتظره، آزمایش آنتی گلوبین مستقیم

کد: WIC 13-02	شماره ویرایش: ۱۱	تاریخ تصویب و ابلاغ: ۱۴۰۵/۲/۲۰
حوزه تولید: آزمایشگاه	تعداد صفحه ها: ۳	تاریخ آخرین ویرایش: ۱۴۰۵/۲/۱۷
هدایت کننده: مسئول فنی آزمایشگاه - مسئول بانک خون		تاریخ بازبینی بعدی: ۱۴۰۶/۲/۲۰

اهداف:

تشخیص آنتی بادی های غیر منتظره در سرم و گلبولهای قرمز حساس شده توسط آنتی بادی یا اجزاء کمپلمان در گردش خون که در موارد زیر قابل انجام میباشد

۱. بیماری که احتیاج به تزریق خون دارد
۲. خانم باردادر
۳. بررسی علت بروز واکنش همولیتیک بدنیاال تزریق خون
۴. بررسی علت همولیز نوزاد و هیپر بلیروبینی
۵. خون اهداء کننده گان

تعریف واژگان و کلمات کلیدی:

۱. Indirect coombs Test: IDC
۲. Direct Coombs Test: DAT

روش انجام کار:

۱. IDC
 - ۱,۱. این آزمایش برای یافتن آنتی بادی های غیر منتظره است. در این روش وجود آنتی بادی هایی در گیرنده که از نظر بالینی دارای اهمیت است مشخص میشود.
 - ۱,۲. برای هر بیمار ۳ لوله آزمایش مناسب برداشته شود و شماره سلول مورد نظر و بیمار روی آن ثبت شود
 - ۱,۳. دو قطره سرم یا پلاسماي بیمار در هر لوله ریخته شود.
 - ۱,۴. یک قطره از معرف سلولی به هر لوله اضافه شود. (سه نوع سلول معرف برای آزمایش آنتی بادی اسکرینینگ وجود دارد و از هر معرف باید یک قطره به هر یک از لوله ها اضافه شود). سلولهای معرف باید حاوی آنتی ژنهای زیر باشند:

$$D, C, E, c, e, N, M, S, s, K, k, \dots$$
 - ۱,۵. پس از مخلوط کردن بلافاصله در دور ۹۰۰-۱۰۰۰ g بمدت ۳۰ ثانیه سانتریفیوژ کرده و از نظر همولیز و هماگلوتیناسیون بررسی می کنیم.
 - ۱,۶. سپس دو قطره محلول Liss بدان اضافه کرده و حدود ده تا پانزده دقیقه در بن ماری ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه می کنیم.

سپس لوله را از بن ماری خارج کرده و سانتریفیوژ می کنیم و از نظر همولیزو هماگلوتیناسیون در مقابل نور و آینه مقعر بررسی می نمائیم.

۱,۷ در صورت منفی بودن تست مجدداً ۳ بار محتویات لوله را با سرم فیزیولوژی شستشو داده و بعد از خالی کردن سوپرناتانت بطور کامل، یک قطره آنتی هیومن گلوبولین به رسوب ته لوله اضافه می کنیم و با دور ۱۰۰۰ g-۹۰۰ بمدت ۳۰ ثانیه سانتریفیوژ می کنیم.

۱,۸ لوله های خارج شده از سروپیوژ را به آرامی تکان داده تا توده گلبولی بصورت سوسپانسیون آزاد شود و از نظر هماگلوتیناسیون در مقابل نور و آینه مقعر بصورت ماکروسکوپی و در صورت مشکوک بودن بصورت میکروسکوپی بررسی می نمائیم

۱,۹ در مواردی که نتیجه منفی است برای تائید آزمایش از گلبول پوشیده شده با IgG (چک سل) استفاده شود. و یک قطره چک سل به لوله منفی اضافه کرده و با دور ۱۰۰۰ g-۹۰۰ بمدت ۳۰ ثانیه سانتریفیوژ می کنیم

۱,۱۰ در روش سرولوژیک با بررسی هماگلوتیناسیون یا همولیز، درجه بندی صورت گرفته نتیجه ثبت و پس از تفسیر گزارش میشود. درجه هماگلوتیناسیون یا شدت همولیز باید بلافاصله بعد از مشاهدات یادداشت شود.

۱,۱۱ با استفاده از آئینه مقعر میتوان هماگلوتیناسیون را بهتر مشاهده کرد و با استفاده از میکروسکوپ میتوان رولکس را از هماگلوتیناسیون افتراق داد.

۲. Direct Antiglobulin Test (DAT or direct coombs)

۲,۱ در موارد شک به آنمی های همولایطیک و در پیگیری عوارض بعد از تزریق کاربرد دارد

۲,۲ از نمونه ارسالی سوسپانسیون ۵-۳ در صد گلبول قرمز تهیه میشود .

۲,۳ سه تا چهار مرتبه با سرم فیزیولوژی شسته شده و در مرحله آخر با واژگون کردن لوله آزمایش روی یک پارچه یا گاز استریل تمیز آخرین قطره سرم فیزیولوژی را خارج میکنیم .

۲,۴ دو قطره محلول AHG به یک قطره گلبول قرمز ۵-۳ درصد اضافه نموده و پس از مخلوط کردن، سروپیوژ می کنیم (یک دقیقه در دور ۱۰۰۰ g)

۲,۵ از نظر آگلوتیناسیون بررسی و در صورت منفی بودن با میکروسکوپ مشاهده می کنیم .

۲,۶ در صورت منفی بودن ۵ دقیقه در حرارت اتاق نگهداری و دوباره سانتریفیوژ می کنیم و از نظر هماگلوتیناسیون مجدداً بررسی نموده و با میکروسکوپ کاملاً بررسی می نماییم .

۲,۷ چنانچه در این مرحله نیز هماگلوتیناسیون مشاهده نشد یک قطره گلبول قرمز حساس شده به آن اضافه می کنیم (چک سل)

بعد از سانتریفیوژ وجود هماگلوتیناسیون در این مرحله به مفهوم نتیجه منفی آزمون کومبس مستقیم است اما عدم وجود هماگلوتیناسیون به معنی بی خاصیت بودن آنتی هیومن گلوبولین میباشد و باید تکرار شود.

نام و نام خانوادگی تهیه کنندگان و سمت :

- دکتر کامبیز مظفری:مسئول فنی بانک خون
- هادی خلج:سوپروایزر آزمایشگاه
- فاطمه گابله:مسئول بخش
- زهرا خاکسار: همکار بخش

مستندات مرتبط:

بر چسب یا لیبل روی نمونه ارسالی حاوی مشخصات کامل بیمار و در ج شماره روی تمام لوله ها

(منابع و امکانات لازم):

۱. نمونه خون EDTA
۲. لوله
۳. سروفیوژ
۴. آنتی هیومن گلبولین AHG
۵. سرم فیزیولوژی
۶. سرم بیمار
۷. سروفیوژ
۸. لوله آزمایش
۹. تست پنل های اسکرین آنتی بادی (P1 و P2 و P3)
۱۰. AHG
۱۱. محلول Liss
۱۲. بن ماری ۳۷ درجه سانتی گراد

مراجع:

- کتاب هماتولوژی دیوید سون
- SOP آزمایشگاه رفرانس سازمان انتقال خون
- تجربیات بیمارستانی
- کنترل کیفی در خون شناسی اثر دکتر حبیب اله گل افشان
- اصول و روشهای آزمایشگاهی در بانک خون اثر سالی رادمن
- اطلس جامع انتقال خون

نام و امضاء تایید کننده رئیس بخش آزمایشگاه تشخیص طبی: دکتر سیامک میراب سمیعی	نام و امضاء سرپرست تهیه کنندگان: مسئول فنی بانک خون: دکتر کامبیز مظفری
نام و امضاء تصویب و ابلاغ کننده رئیس انستیتو: دکتر فریدون نوحی	مهر و امضاء دفتر بهبود کیفیت دکتر بهزاد مومنی