



بسمه تعالی

دانشکده علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی نیشابور

بیمارستان حکیم

دفتر بهبود کیفیت و اعتبار بخشی

عنوان دستورالعمل: تهیه سوسپانسیون ۳ درصد گلبول قرمز، خواندن و درجه بندی شدت آگلوتیناسیون، تهیه گلبول های قرمز حساس شده

شناسه دستورالعمل: H-I-TM-1773

صفحه: 1 از 3

آخرین ابلاغ: 99/9/21

ویرایش: اول

آخرین بازنگری: 99/9/15

بازنگری بعدی: اذر 1400

کارکنان مرتبط: مسئول بانک خون در شیفت صبح و مسئول بانک خون مشخص شده در شیفت عصر و شب و ایام تعطیل

شرح اقدامات:

منظور از گلبول قرمز حساس شده یعنی آغشته شدن گلبول های قرمز توسط آنتی بادی بدون اینکه سبب آگلوتیناسیون گلبول های قرمز گردد. برخی از آنتی بادی ها تا کامل هستند و قدرت آگلوتیناسیون ندارند که این نوع آنتی بادی ها میتوانند موجب حساس شدن گلبول قرمز شوند. در تمام مواردی که از آنتی هیومن گلوبولین AHG استفاده می شود از گلبول قرمز حساس شده بعنوان کنترل استفاده می گردد که پس از مخلوط شدن آنتی هیومن گلوبولین و گلبول قرمز حساس شده حتما باید آگلوتیناسیون دیده شود.

روش انجام آزمایش

1- 8 لوله انتخاب کرده و به همه لوله ها بجز لوله اول 2 قطره سرم فیزیولوژی اضافه کنید

2- به لوله اول 4 قطره آنتی اضافه کنید

3- از لوله اول 2 قطره برداشته به لوله دوم اضافه نمایید و به همین ترتیب از لوله دوم به لوله سوم و ... و در نهایت 2 قطره آخر را بیرون بریزید.

4- به هر یک از لوله ها 4 قطره سوسپانسیون ارهاس مثبت 2 تا 5٪ اضافه کنید.

5- لوله ها را به مدت 20 دقیقه در بنماری 37 درجه سانتیگراد قرار دهید و سپس به مدت 15 ثانیه با دور 3000 سانتریفیوژ نمایید.

6- پس از سانتریفیوژ لوله ها را از نظر آگلوتیناسیون بررسی کنید، لوله های اول دارای آگلوتینه هستند و لوله های آخر فاقد آگلوتینه می باشند که لوله های فاقد آگلوتینه جهت ادامه آزمایش مطلوب می باشند و حامل گلبول قرمز حساس شده هستند.

7- لوله های فاقد آگلوتیناسیون را 3 بار شستشو دهید

بیمارستان حکیم



دانشکده علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی نیشابور

بیمارستان حکیم

دفتر بهبود کیفیت و اعتبار بخشی

عنوان دستورالعمل: تهیه سوسپانسیون ۳ درصد گلبول قرمز، خواندن و درجه بندی شدت آگلوتیناسیون، تهیه گلبول های قرمز حساس شده	
شناسه دستورالعمل: H-I-TM-1773	آخرین ابلاغ: 99/9/21
صفحه: 2 از 3	آخرین بازنگری: 99/9/15
	بازنگری بعدی: اذر 1400
	ویرایش: اول

8- به همه لوله های فاقد آگلوتیناسیون که 3 بار شستشو شده اند یا 2 قطره آنتی هیومن گلوبولین بیفزایید (نتیجه باید بصورت آگلوتیناسیون مشاهده شود)

9- لوله ای که دارای آگلوتینه است دارای گلبول قرمز حساس شده است که میتوان رقت آن لوله را یادداشت نمود و برای دفعات بعد مستقیماً همان رقت را تهیه کنید و دیگر نیازی نیست سایر رقت ها را تهیه نمایید

(نشت سرم به گلبول قرمز خون میتواند به شدت روی حساسیت آزمایش و قدرت آگلوتیناسیون اثر بگذارد.)

(سوسپانسیون ۳ درصد معرفی است که در روش های سرولوژیک بکار برده می شود. تهیه سوسپانسیون نهایی ۳ درصد بصورت دقیق الزامی نیست، بلکه سوسپانسیون نزدیک به ۳ درصد (۵-۲ درصد) می تواند نسبت لازم سرم به گلبول را در بیشتر روش ها فراهم آورده و تعداد کافی و مناسب از گلبول قرمز خون را برای خواندن و درجه بندی واکنش در دسترس قرار دهد)

جهت تهیه ۰۱ میلی لیتر از سوسپانسیون ۳ درصد گلبول قرمز خون مراحل ذیل را انجام دهید:

۱- حداقل ۱ میلی لیتر از خون کامل را به یک لوله میلی لیتری انتقال دهید

2- به گلبول های قرمز خون سالین اضافه نموده و به مدت ۱۱ الی ۳ دقیقه سانتریفوژ نمایید. این مرحله را ۲ تا ۳ بار تکرار نمایید. محلول نهائی باید کاملاً شفاف و گلبول قرمز در انتهای لوله جمع شده باشند. محلول سالین فوقانی supernatant را کاملاً بدور بریزید

3- مقدار ۰/۳ میلی لیتر از گلبولهای قرمز متراکم شسته شده را به لوله ای حاوی ۹/۷ میلی لیتر سالین ۰/۹ درصد انتقال دهید

4- با استفاده از پارافیلیم لوله را پوشش دهید. چند بار با سروته کردن لوله، گلبولهای قرمز خون را با سالین ۰/۹ درصد کاملاً مخلوط نمایید

نکته: در صورت عدم وجود نمونه خون لخته، استفاده از خون کامل EDTA بلا مانع است. به دستورالعمل تولید کننده معرف ها رجوع شود

5- سوسپانسیون تهیه شده را فقط در روز آماده سازی استفاده نمایید و در یخچال آزمایشگاه در دمای ۸- تا ۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری شود

6- جهت تهیه حجم کمتر، مقدار سالین ۰/۹ درصد و گلبول قرمز خون را به تناسب انتخاب نمایید

(تهیه سوسپانسیون گلبولی غلیظ یا رقیق میتواند منجر به پاسخ مثبت یا منفی کاذب در آزمایش گردد)

7- همولیز و آگلوتیناسیون هر دو نشاندهنده پایان واکنش آنتی ژن و آنتی بادی می باشد. درجه بندی واکنش هادر آزمایش های سرولوژی گروه خون به منظور مقایسه توان واکنش ها انجام می پذیرد. این مقایسه می تواند در مواردی که هم زمان، چند آنتی بادی در سرم فرد واکنش نشان می دهند

مانند antibody specificities و یا وقوع antibody dosage مفید واقع شود. به منظور یکنواخت سازی و تکرار پذیری نتایج آزمایش

ها، باید بین تمام کسانی که در آزمایشگاه، آزمایش انجام می دهند خواندن و درجه بندی واکنش های آگلوتیناسیون استاندارد سازی شود



دانشکده علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی نیشابور

بیمارستان حکیم

دفتر بهبود کیفیت و اعتبار بخشی

عنوان دستورالعمل: تهیه سوسپانسیون ۳ درصد گلبول قرمز، خواندن و درجه بندی شدت آگلوتیناسیون، تهیه گلبول های قرمز حساس شده

شناسه دستورالعمل: H-I-TM-1773

آخرین ابلاغ: 99/9/21

صفحه: 3 از 3

ویرایش: اول

آخرین بازنگری: 99/9/15

بازنگری بعدی: اذر 1400

8- درجه بندی و ثبت واکنش استاندارد کردن نحوه قرائت، آگلوتیناسیون در هماهنگی و تکرار پذیری نتایج آزمایشها از اهمیت بالایی برخوردار است

9- استفاده از میکروسکوپ بصورت روتین لازم نیست ..

10- از میکروسکوپ برای تائید واکنش هایی که دارای زمینه مخلوطی از گلبول های آگلوتینه شده و آزاد (mf) می باشند، استفاده می گردد

روش کار:

1- با دقت و آرام لوله حاوی توده گلبولی (cell botton) را تکان داده و هر بار کج نمایید. این تکان دادن باید به دقت و آرامی چند بار تکرار شود به طوری که توده گلبولی از انتها و جدا لوله، جدا شود.

2- چگونگی جدا شدن گلبول ها را از لوله و انتشار آنها را از توده گلبولی مشاهده نمایید.

3- واکنش ها را درجه بندی و ثبت نمایید. واکنش ها باید زمانی که گلبولهای قرمز کاملاً از توده گلبولی و انتهای لوله آزمایش جدا شدند ارزیابی و ثبت گردند

منابع/مراجع: سایت آزمایشگاه رفرانس ایمونوهماتولوژی سازمان انتقال خون ایران

امکانات و تسهیلات: 1- لوله آزمایش 2- سانتریفوژ سرولوژیک کالیبره شده 4- معرف AHG 5- سالین 0/9 درصد 7- لام و لامل 8- جا لوله ای

9- میکروسکوپ

نام و نام خانوادگی تهیه کنندگان: لیلا سوقندی (مسئول آزمایشگاه) - ابوالفضل ملک پوریان (مسئول دفتر بهبود کیفیت) - سید محسن قاضی (مسئول بخش بانک خون) - رهبانه میرحسینی (پرسنل آزمایشگاه)

نام و نام خانوادگی تصویب و ابلاغ کننده:

دکتر محمدرضا مراد قلی (ریاست بیمارستان)

امضاء

نام و نام خانوادگی تایید کننده:

دکتر منا آریامنش (مسئول فنی بیمارستان)

امضاء