

کاربرد :

معرف ماناليس (محلول LISS) در تسريع واکنش و افزايش حساسيت آزمايش آنتی گلبولين (کومبس) نقش دارد که به منظور تعيين سازگاری خونی و همچنين شناسایی و تعيين هويت آنتی بادی انجام می شود. توجه: این فرآورده فقط برای کاربرد آزمايشگاهی می باشد و باید توسط افراد آموزش دیده استفاده شود.

ترکیب:

معرف ماناليس یک بافرنمکی با قدرت یونی کم و با PH خنثی می باشد.

بایداری:

معرف ماناليس تا زمان تاريخ مصرف بایدار است. همچنين در هنگام استفاده نیز درصورت عدم آلودگی میکروبی تا زمان انقضا بایدار می ماند.

روش نگهداری:

معرف مانا لیس بایستی در دمای 2-8 درجه سانتیگراد نگهداری و از یخ زدن آن جلوگیری شود.

اساس آزمايش:

معرف ماناليس به دليل دارا بودن غلظت یونی پایین ، یک محیط بافری مناسب و با قدرت یونی کم ایجاد می کند که سرعت واکنش آنتی بادی با آنتی ژن های سطح گلبول های قرمزرا افزايش می دهد. **تهیه نمونه:**

هیچگونه شرایط خاصی برای تهیه نمونه خون از افراد لازم نیست و تا حد امکان باید از نمونه خون و یا سرم تازه برای انجام آزمايش استفاده شود. با توجه به نوع ماده ضدانعقادمورد استفاده، مدت زمان نگهداری نمونه به صورت ذیل می باشد:

نوع ضد انعقاد	مدت نگهداری نمونه
هپارین یا EDTA	دو روز
سدیم سیترات یا سدیم اگزالات	14 روز
ACD یا CPC	28 روز

نمونه تا زمان انجام آزمايش بایستی در دمای 2-8 درجه سانتیگراد نگهداری شود. توجه: از نمونه خون یا سرم لیز شده، لیپمیک، ایکتریک و یا میکروبی برای انجام آزمايش خودداری شود.

مواد و وسایل مورد نیاز:

لوله آزمايش، جالوله ای، سمپلرونوک سمپلر، سانتریفیوژ، زمان سنج (تایمر)، اپلیکاتور، انکوباتور 37°C، سرم فیزیولوژی، معرف ماناکلون آنتی هیومن گلبولين، معرف ماناليس، سلول کنترل کومبس، سوسپانسیون سلولی با هويت آنتی ژنی مشخص.

روش انجام آزمايش:

توجه: قبل از شروع آزمايش باید تمام مواد و نمونه ها به دمای اتاق برسد.

الف - آزمايش آنتی گلبولين (کومبس) غیر مستقیم (کراس مچ ماژور):

- در یک لوله آزمايش تمیز حدود نیم میلی لیتر از نمونه خون مورد آزمايش (خون دهنده) ریخته ، دو مرتبه با سرم فیزیولوژی و یکبارنیز با محلول کاراليس شسته شود.
- از گلبول های قرمز یک سوسپانسیون سلولی 3% با محلول ماناليس تهیه شود.
- در یک لوله دو قطره (حدود 100 میکرولیتر) از سرم گیرنده و دو قطره (حدود 100 میکرولیتر) از سوسپانسیون سلولی 3% ریخته و به خوبی مخلوط شود.
- لوله به مدت سی ثانیه با دور 1000 سانتریفیوژ شود.
- توده سلولی ته لوله از نظر همولیز ویا آگلوتیناسیون بررسی شود.
- در صورت عدم همولیز ویا آگلوتیناسیون ، لوله در دمای 37°C و به مدت ده دقیقه انکوبه شود.
- توده سلولی ته لوله از نظر همولیز ویا آگلوتیناسیون بررسی شود.

8. در صورت عدم همولیز ویا آگلوتیناسیون ، توده سلولی ته لوله سه مرتبه با سرم فیزیولوژی شسته و مایع رویی آن کاملاً تخلیه شود.

9. درون لوله دو قطره معرف ماناکلون آنتی هیومن گلبولین ریخته و به خوبی با توده سلولی مخلوط شود.

10. لوله به مدت یک دقیقه با دور 1000 سانتریفوژ شود.

11. توده سلولی ته لوله را به آرامی تکان داده و نتیجه آگلوتیناسیون بررسی شود.

تفسیر نتایج:

عدم آگلوتیناسیون و یا همولیز نشانگر سازگاری بین دهنده و گیرنده خون است ، در حالی که بروز همولیز یا ایجاد آگلوتیناسیون در هر مرحله از آزمایش دال بر ناسازگاری بین دهنده و گیرنده خون می باشد.

ب. شناسایی و تعیین هویت آنتی بادی :

1. ابتدا یک نمونه گلبول قرمز با هویت آنتی ژنی مشخص انتخاب ، و دو مرتبه با سرم فیزیولوژی و یکبار نیز با محلول مانالیس شسته شود.

2. از گلبول های قرمز یک سوسپانسیون سلولی 3% با محلول کارالیس تهیه شود.

3. در یک لوله دو قطره (حدود 100 میکرولیتر) از سرم مورد آزمایش و دو قطره (حدود 100 میکرولیتر) از سوسپانسیون سلولی 3% ریخته و به خوبی مخلوط شود.

4. لوله به مدت سی ثانیه با دور 1000 سانتریفوژ شود.

5. توده سلولی ته لوله از نظر همولیز و یا آگلوتیناسیون بررسی شود

6. در صورت عدم همولیز و یا آگلوتیناسیون ، لوله در دمای 37^{oC} و به مدت ده دقیقه انکوبه شود.

7. توده سلولی ته لوله از نظر همولیز و یا آگلوتیناسیون بررسی شود.

8. در صورت عدم همولیز و یا آگلوتیناسیون ، توده سلولی ته لوله سه مرتبه با سرم فیزیولوژی شسته و مایع رویی آن کاملاً تخلیه شود.

9. درون لوله دو قطره معرف ماناکلون آنتی هیومن گلبولین ریخته و به خوبی با توده سلولی مخلوط شود.

10. لوله به مدت یک دقیقه با دور 1000 سانتریفوژ شود.

11. توده سلولی ته لوله را به آرامی تکان داده و نتیجه آگلوتیناسیون بررسی شود .

تفسیر نتایج :

ایجاد آگلوتیناسیون یا همولیز نشانگر وجود آنتی بادی های ضد آنتی ژن های سطح گلبول های قرمز در نمونه سرم مورد آزمایش می باشد .

نکات مهم

1. دور کم یا زیاد سانتریفوژ میتواند منجر به بروز خطا در نتایج آزمایش شود. توصیه می شود که هر آزمایشگاهی زمان و دور مناسب برای سانتریفوژ را به طور دقیق تعیین نماید.

2. اگر در آزمایش آنتی گلبولین (کومبس) غیر مستقیم از پلاسما استفاده شود، به دلیل نبود کلسیم ممکن است آنتی بادی های وابسته به کمپلمان مشخص نشوند.

3. توصیه می شود بعد از افزودن آنتی هیومن گلبولین و عدم مشاهده آگلوتیناسیون، یک قطره سلول کنترلی کومبس به لوله اضافه شود. در صورت آگلوتینه نشدن این سلول ها آزمایش باید دوباره تکرار شود.

4. توصیه می شود در آزمایش آنتی گلبولین (کومبس) غیر مستقیم ، برای هر فرد گیرنده یک لوله به عنوان اتوکنترل منظور شود (در این لوله از سرم و گلبول های قرمز خود فرد استفاده می شود).

موارد احتیاط

1. معرف مانالیس حاوی 0.1% سدیم آزاید می باشد و بایستی از تماس آن با پوست و مخاط پرهیز شود، در صورت آلودگی با مقادیر زیاد آب شسته شود.

2. کدر شدن معرف مانالیس ممکن است در اثر آلودگی میکروبی باشد. در هر صورت از مصرف آن خودداری شود.

منابع

1. Blood Transfusion in Clinical Medicine, PL Mollison, CP Engelfriet, Marcela Contreras, 9th Ed., Blackwell Science Publications.

2. AABB Technical Manual, 13th Ed., 1999.