

مانا آلبومین

REF: 10230010

کاربرد:

معرف مانا آلبومین برای تسریع واکنش های تعیین گروه خون و شناسایی آنتی بادی ها در آزمایشات آگلوتیناسیون به کار می رود. همچنین سرعت واکنش و حساسیت آزمایش آنتی گلبولین (کومبس) را افزایش می دهد که به منظور تعیین سازگاری خونی و همچنین شناسایی تیتراسیون آنتی بادی انجام می شود. توجه: این فرآورده فقط برای کاربرد آزمایشگاهی می باشد و باید توسط افراد آموزش دیده استفاده شود.

ترکیب:

معرف مانا آلبومین یک محلول آماده مصرف با غلظت 22% از آلبومین سرم گاو و با PH خنثی (7/2) می باشد.

پایداری:

معرف مانا آلبومین تا زمان تاریخ مصرف پایدار است. همچنین در هنگام استفاده نیز در صورت عدم آلودگی میکروبی تا زمان انقضا پایدار می ماند.

روش نگهداری:

معرف مانا آلبومین بایستی در دمای 2-8 درجه سانتیگراد نگهداری و از یخ زدن آن جلوگیری شود. اساس آزمایش:

بار منفی سطح گلبول های قرمز (پتانسیل زتا) با ایجاد دافعه بین آنها ، مانع از آگلوتیناسیون این سلول ها توسط آنتی بادی های IgG می شود. در این شرایط معرف مانا آلبومین با ایجاد یک محیط واکنشی مناسب ، سبب کاهش پتانسیل زتا و نزدیکی گلبول های قرمز به همدیگر می شود. این مکانیسم مولکول های IgG را قادر می سازد تا گلبول های مجاور رابه هم متصل نموده و آگلوتیناسیون صورت گیرد.

تهیه نمونه:

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

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

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

مواد و وسایل مورد نیاز:

لوله آزمایش ، جالوله ای ، سمپلرونوک سمپلر، سانتریفیوژ، زمان سنج (تایمر) ، اپلیکاتور، انکوباتور 37°C ، سرم فیزیولوژی، معرف ماناکلون آنتی هیومن گلبولین ، معرف مانا آلبومین ، سلول کنترل کومبس ، سوسپانسیون سلولی با هویت آنتی ژنی مشخص.

روش انجام آزمایش:

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

الف - آزمایش آنتی گلبولین (کومبس) غیر مستقیم (کراس مچ ماژور):

- از نمونه خون دهنده یک سوسپانسیون گلبولی 5% با سرم فیزیولوژی تهیه شود.
- دریک لوله آزمایش تمیز دو قطره (حدود 100 میکرولیتر) از سرم گیرنده و یک قطره (حدود 50 میکرولیتر) از سوسپانسیون گلبولی 5% ریخته و به خوبی مخلوط شود.
- به لوله دو قطره معرف مانا آلبومین افزوده و به خوبی مخلوط شود.
- لوله به مدت یک دقیقه با دور 1000 سانتریفیوژ شود.
- توده سلولی ته لوله از نظر همولیز ویا آگلوتیناسیون بررسی شود.
- در صورت عدم همولیز ویا آگلوتیناسیون ، لوله به مدت پانزده دقیقه در دمای 37°C 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 کاراکلون 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 یا همولیز نشانگر سازگاری بین دهنده و گیرنده خون است، در حالی که بروز همولیز یا ایجاد آگلوتیناسیون در هر مرحله آزمایش دال بر ناسازگاری بین دهنده و گیرنده خون می باشد.

ب. آزمایش تیتراسیون آنتی بادی:

1. ابتدا یک نمونه گلبول قرمز، که با سرم مورد نظر واکنش اختصاصی دارد، انتخاب نموده و از آن یک سوسپانسیون 5% با معرف مانا آلبومین تهیه شود. (سوسپانسیون شماره یک)
2. یک سوسپانسیون 5% از گلبول های قرمز فرد بیمار با معرف مانا آلبومین تهیه شود. (سوسپانسیون شماره دو)
3. در یک لوله آزمایش تمیز (و به ازای هر نمونه مورد آزمایش) مقدار یک میلی لیتر از معرف مانا آلبومین با یک میلی لیتر سرم فیزیولوژی رقیق شود.
4. ده لوله آزمایش تمیز از یک تا ده شماره گذاری شود. سپس:
 - (i) به غیر از لوله شماره یک، در سایر لوله ها مقدار 100 میکرولیتر از مانا آلبومین رقیق شده ریخته شود.
 - (ii) در هر کدام از لوله های شماره یک و دو مقدار 100 میکرولیتر از سرم بیمار ریخته شود.
 - (iii) از لوله شماره دو مقدار 100 میکرولیتر از سرم رقیق شده به لوله شماره سه منتقل و به طور متوالی این کار تا لوله شماره ده انجام شود (رقت سریال دوگانه). سرانجام مقدار 100 میکرولیتر سرم اضافی از لوله ده دور ریخته شود.
5. به هر یک از لوله های شماره یک تا نه، یک قطره (50 میکرولیتر) از سوسپانسیون شماره یک اضافه و به خوبی مخلوط شود.
6. به لوله شماره ده، یک قطره (50 میکرولیتر) از سوسپانسیون شماره دو اضافه و به خوبی مخلوط شود.
6. تمام لوله ها به مدت پانزده دقیقه در دمای 37°C انکوبه شوند.
7. لوله ها به مدت یک دقیقه با دور 1000 سانتریفوژ شوند.
8. توده سلولی ته لوله ها را به آرامی تکان داده و نتیجه آگلوتیناسیون بررسی شود.
9. در مورد تمام لوله هایی که آگلوتینه وجود ندارد، بایستی آزمایش آنتی گلبولین (کومبس) انجام شود.
10. توده سلولی ته لوله ها را به آرامی تکان داده و نتیجه آگلوتیناسیون بررسی شود.

تفسیر نتایج:

تیتر آنتی بادی برابر عکس رقت آخرین لوله ای است که آگلوتینه داده است.

ج- شناسایی و تعیین هویت آنتی بادی :

1. ابتدا یک سوسپانسیون 5% از گلبول های قرمز با هویت آنتی ژنی مشخص، با سرم فیزیولوژی تهیه شود.
2. در یک لوله آزمایش تمیز یک قطره از سرم (یا پلاسما) مورد آزمایش، یک قطره از سوسپانسیون گلبولی و دو قطره از معرف مانا آلبومین ریخته شود.
3. لوله به مدت پانزده دقیقه در دمای 37°C انکوبه شود.
4. لوله به مدت یک دقیقه با دور 1000 سانتریفوژ شود.
5. توده سلولی ته لوله را به آرامی تکان داده و نتیجه آگلوتیناسیون بررسی شود.
6. در صورت عدم آگلوتیناسیون، توده سلولی ته لوله سه مرتبه با سرم فیزیولوژی شسته و مایع رویی آن کاملاً تخلیه شود.
7. درون لوله دو قطره معرف مانا کلون آنتی هیومن گلبولین ریخته و به خوبی با توده سلولی مخلوط شود.
8. لوله به مدت یک دقیقه با دور 1000 سانتریفوژ شود.
9. توده سلولی ته لوله را به آرامی تکان داده و نتیجه آگلوتیناسیون بررسی شود.

تفسیر نتایج :

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

نکات مهم

1. دور کم یا زیاد سانتریفیوژ میتواند منجر به بروز خطا در نتایج آزمایش شود. توصیه می شود که هر آزمایشگاهی زمان و دور مناسب برای سانتریفیوژ 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 کنترل کومبس به لوله اضافه شود. در صورت آگلوتینه نشدن این سلول ها آزمایش سازگاری باید دوباره تکرار شود.
4. توصیه می شود در آزمایش آنتی گلبولین (کومبس) غیر مستقیم ، برای فرد گیرنده یک لوله به عنوان اتوکنترل منظور شود (در این لوله از سرم و گلبول های قرمز خود فرد استفاده می شود).
5. از گلبول های قرمزی که در آزمایش آنتی گلبولین مستقیم واکنش مثبت نشان می دهند، نباید برای آزمایش آنتی گلبولین غیر مستقیم استفاده شود.

موارد احتیاط:

1. معرف مانا آلبومین 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. معرف مانا آلبومین از منابع سرمی فاقد جنون گاوی (BSE-free) تهیه می شود. و رعایت موارد ایمنی در هنگام کار با آن توصیه می شود.
3. کدر شدن معرف مانا آلبومین ممکن است در اثر آلودگی میکروبی و یا واسرشتگی (دنا توره شدن) در اثر گرما باشد. در هر صورت از مصرف آن خودداری شود.

منابع:

1. Human Blood Groups, by Geoff Daniels, 1st Ed., Blackwell Science, Oxford 1995.
 2. HMSO, Guidelines for the Blood Transfusion Services, 2nd Ed., 1994.
-
-