

Standard Operation Procedures (SOP)

گروه خونی

تعیین گروه خون (DU, Rh, O, B, A (Blood Grouping)

نام آنالیت: آنتی ژن های ABO (ABO Antigens)

ساختمان و متابولیسم: آنتی ژن های ABO در غشاء گلبولهای قرمز عمدتاً به صورت گلیکولیپید و به ندرت به صورت گلیکوپروتئین می باشند. این آنتی ژنها علاوه بر حضور در غشاء، ممکن است در ترشحات نیز بصورت گلیکوپروتئین وجود داشته باشند. سیستم Rh بعد از گروه خونی ABO، مهمترین گروه خونی می باشد. آنتی ژن های سیستم Rh بر خلاف ABO منحصرأ روی گلبولهای قرمز وجود دارند. آنتی ژن های این سیستم روی لیپوپروتئینهایی قرار گرفته اند که وجود آنها برای حفظ و پایداری غشاء اریتروسیت ضروری است. عدم حضور این آنتی ژنها (سیستم Rh) باعث همولیز و ایجاد اشکال اسفروسیت و استوماتوسیت در گلبولهای قرمز می شود. مهمترین آنتی ژن سیستم Rh، آنتی ژن D می باشد که حضور ضعیف آن روی گلبولهای قرمز ایجاد فنوتیپ D_u می کند.

معرفی آزمایش، کاربرد بالینی: بررسی سیستم ABO در پیوند کلیه و مغز استخوان بسیار حائز اهمیت است. سازگاری و تطابق گروه خونی ABO پایه بیشتر آزمایشات قبل از انتقال خون است. در مواردی مثل تومورهای بدخیم، آنمی ها، جراحی قلب، بیماریهای استخوان و مفصل، بیماری ریوی و کبدی و... که نیاز به انتقال خون دارند باید تطابق ABO انجام شود. در سیستم Rh بررسی وجود آنتی بادی ضد آنتی ژن D که به طور طبیعی وجود ندارد و به صورت ایمنون بوجود می آید در کم خونی همولیتیک نوزادان (HDN)، کم خونیهای اتوایمنون، کم خونیهای همولیتیک ناشی از مصرف داروهایی مثل متیل دوبا، تراتوماي تخمدان،... دارای اهمیت می باشد. تعیین دقیق سیستم Rh به دلیل وجود D_u از نظر انتقال خون بسیار مهم است.

اساس روش متداول: آگلوتیناسیون مستقیم گلبول های قرمز با آنتی سرم اختصاصی (cell type) در هر يك از آنتی ژن های فوق (کیفی) در مواردی که احتیاج به تیترآژ آنتی بادی باشد می توان معرف را در رقت های مورد نظر تهیه و سپس آزمایش را تکرار نمود (کمی)

روش مرجع: روش ارجح: -

روش های دیگر: الایزا، آزمایشات غیرمستقیم (جستجوی آنتی بادی ضد آنتی ژن)، در سرم که از گلبولهای قرمز با آنتی ژن معلوم همراه با سرم نامعلوم استفاده می شود (Back type)

نوع نمونه قابل اندازه گیری: خون تام همراه EDTA

واکنش تداخلی: وجود پروتئینهای غیرطبیعی در سرم، آنتی بادهای پوشاننده سلول، ژل وارئون، فیبرینوژن، اتوانتی بادهای، آنتی بادهای غیرمنتظره، سولفات پروتامین،

عفونت ناشی از باکتریهای گرم منفی که شبیه B فعالیت می کنند ایجاد تداخل در انجام روشهای تعیین گروه خون تداخل ایجاد می کند.

Standard Operation Procedures (SOP)

محدوده طبیعی:

نتایج مثبت یا منفی آگلوتیناسیون بعنوان حضور یا عدم حضور آنتی ژن تلقی می‌شود.

معایب و فواید روش حاضر: در نوزادان تا قبل از ۶ ماهگی و در افراد بالای ۶۵ سال تایپ قابل اعتماد است. وجود پدیده رولو (روی هم قرار گرفتن گلبولهای قرمز) و حضور آنتی بادیهای سرد در گروه بندی ایجاد اختلال می‌کند. زیرگروههای ضعیف ممکن است باعث ایجاد اشتباه در گروه بندی شوند.

تعیین ژنوتیپ (C, c, E, e, Rh)

Genotypes of the red cells to use as controls for Rh grouping sera

Antiserum	Negative control	Positive control	Absorption control
Anti-D	Cde/cde	CDe/cde	A ₁ B cde/cde
Anti-C	cDE/cDE	CDe/cDE	A ₁ B cde/cde
Anti-E	cDe/cDe	CDe/cDE	A ₁ B cde/cde
Anti-c	CDe/CDe	CDe/cDE	A ₁ B CDe/CDe or A ₁ + B, both CDe/CDe
Anti-e	cDE/cDE	cDE/cde	A ₁ B cDE/cDE or A ₁ + B, both cDE/cDE

علاوه بر آنتی ژن D، آنتی ژنهای C، c، E، e و چهار آنتی ژن معمول دیگر سیستم Rh هستند که جزء شایعترین فنوتیپهای Rh محسوب می‌شوند و در انتقال خون دارای اهمیت می‌باشند.

در سیستم Rh بر روی هر هاپلوتیپ کروموزوم شماره ۱، ۳ کمپلکس ژنی نزدیک بهم (نظریه فیشرواریس) می‌باشد ولی تعیین اینکه کدام کروموزوم حاوی کدام ژن است مشکل است، به همین دلیل بعد از آزمایش صرفاً بر مبنای احتمالات تعیین ژنوتیپ می‌شود. در ابتدا برای تعیین ژنوتیپ، آنتی ژن D را مورد بررسی قرار می‌دهند. اگر این آنتی ژن وجود نداشت. گلبول را با آنتی CDE مجاور می‌کنند اگر باز هم منفی بود ژنوتیپ فرد را به طور احتمالی cde/cde مشخص می‌کنند اما در صورتیکه آنتی ژن D وجود داشته باشد و با واکنش با آنتی CDE مثبت شود طبق جدول زیر عمل می‌کنند.

آنتی	e آنتی	c آنتی	E آنتی	C آنتی	CDE آنتی	D لوله‌ها
-	-	-	-	-	یک قطره	آنتی D
-	-	-	-	یک قطره	-	آنتی CDE
-	-	یک قطره	-	-	-	آنتی C
-	یک قطره	-	-	-	-	آنتی E
-	یک قطره	-	-	-	-	آنتی c
-	-	-	-	-	-	آنتی e
یک قطره	یک قطره	یک قطره	یک قطره	یک قطره	یک قطره	سوسپانسیون ۳-۵ درصد

گلبول قرمز

لوله‌ها را به مدت ۱ ساعت در حرارت ۳۷ درجه قرار می‌دهند. پس از اتمام زمان انکوباسیون لوله‌ها را سانتریفوژ کرده و از نظر آگلوتیناسیون بررسی می‌کنند و آزمایش آنتی گلوبولین را در لوله‌هایی که منفی هستند انجام می‌دهند. برای تشخیص فنوتیپ و ژنوتیپ احتمالی فرد، درصد وفور ژنوتیپ‌ها و درصد خطا در انتخاب ژنوتیپ احتمالی به جداولی که کتابهای رفرانس موجود است مراجعه می‌شود.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.daneprairie.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.