



درس هماتولوژی

مدرس:

نگین شکرگذار

کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون

۱۳۹۸-۹۹



آزمایشات قبل از تزریق خون

بررسی ها و آزمایشات قبل از تزریق خون

- I. بررسی دقیق هویت بیمار، انتخاب نمونه بیمار و ثبت نتایج
 - ✓ یکی از مهمترین دلایل خطا در مراحل انتقال خون که ممکن است منجر به تزریق اشتباه خون و یا فرآورده های خونی گردد خطا در تشخیص هویت بیمار و جابجا کردن نمونه های بیماران میباشد
 - ✓ نمونه خونی که از بیمار گرفته میشود نباید بیش از ۳ روز قبل گرفته شده باشد. نمونه ترجیحی یک خون در ضدانعقاد EDTA برای بررسی سیستم ABO و Rh بیمار و یک نمونه سرم بیمار برای انجام آزمایش کراس مچ است
 - ✓ نمونه خون بعد از انجام آزمایشات سازگاری باید حداقل به مدت ۷ روز برای بررسی های بعدی در صورت لزوم در یخچال نگهداری شود
- II. تعیین دقیق گروه بندی سیستم ABO و Rh بیمار و انتخاب خون سازگار با بیمار
- III. بررسی آنتی بادی های ناسازگار احتمالی
- IV. تست سازگاری (کراس مچ)

کراس مچ Cross-match

- این آزمون مهمترین مرحله در بررسی سازگاری قبل از تزریق خون است. هر فرآورده خونی که دارای بیش از ۰.۵٪ گلبول قرمز باشد نیاز به کراس مچ دارد. به همین دلیل کراس مچ عمدتاً محدود به تزریق گلبول های قرمز و فرآورده های آن است
- در کراس مچ از سرم بیمار به عنوان منبع آنتی بادی های احتمالی علیه آنتی ژن های سطح گلبول های قرمز دهنده استفاده میشود. به همین دلیل در کراس مچ، سرم بیمار در سه فاز مختلف با گلبول های قرمز دهنده مجاور میشود:
 ۱. در فاز دمای اتاق: برای بررسی ناسازگاری سیستم ABO و آنتی بادی های سرد
 ۲. در فاز ۳۷ درجه سانتیگراد همراه با مواد تقویت کننده مانند آلبومین: برای بررسی آنتی بادی های گرم
 ۳. در فاز آنتی هیومن گلوبولین (فاز کومبز): برای بررسی اتصال احتمالی گلبول های قرمز با آنتی بادی ها و یا اجزاء کمپلمان

مراحل انجام کراس مچ

- (1) از گلبول های قرمز دهنده سوسپانسیون ۵ - ۲ درصد بعد از سه بار شست و شوی خون تهیه شود
- (2) دو قطره سرم بیمار و یک قطره سوسپانسیون گلبول قرمز دهنده در یک لوله مخلوط شده و بعد از ۵ دقیقه در دمای اتاق سانترفیوژ شده (۳۰ ثانیه در دور ۳۰۰۰) و نتیجه از نظر آگلوتیناسیون بررسی میشود. وجود آگلوتیناسیون در این مرحله به معنی عدم سازگاری واحد خون انتخاب شده است و دیگر نیازی به ادامه مراحل نیست
 - در این مرحله واکنش آنتی بادی های سرد و عمدتاً ناسازگاری ABO بین دهنده و گیرنده مشخص میشود. آنتی بادی های ایمیون مثل سیستم Rh در کراس مچ قابل شناسایی نمی باشد مگر اینکه بیمار Rh منفی قبلاً با نمونه Rh مثبت برخورد داشته باشد
- (3) در صورت عدم آگلوتیناسیون در مرحله اول به لوله یک قطره آلبومین و یا محلول های با قدرت یونی کم (مثل محلول Liss) اضافه کرده و لوله به مدت ۱۵ تا ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه نگهداری میشود. سپس لوله دوباره سانترفیوژ شده و نمونه از نظر آگلوتیناسیون بررسی میشود. در صورت مشاهده آگلوتیناسیون نمونه خون ناسازگار بوده و نیازی به ادامه مراحل نیست
 - در این مرحله وجود آنتی بادی های گرم علیه آنتی ژن های سطح گلبول های قرمز دهنده در سرم گیرنده مانند آنتی بادی های سیستم کل، کید و دافی بررسی میشود
 - ترکیباتی مانند آلبومین و محلول Liss (Low Ionic Strong Solution) با ایجاد تغییر در ساختار محیط واکنش (مثل کاهش پتانسیل زتا سطح گلبول های قرمز) باعث نزدیک تر شدن آنتی ژن و آنتی بادی در محیط شده و احتمال ایجاد واکنش را زیاد میکنند

مراحل انجام کراس مچ

4) در صورت عدم ناسازگاری در مرحله دوم، لوله سه بار با سرم فیزیولوژی شسته شده و در مرحله آخر با وارونه کردن لوله روی یک گاز لوله کاملا خشک میشود. سپس یک یا دو قطره AHG به لوله اضافه شده و لوله دوباره سانترفیوژ میشود. در صورت عدم مشاهده آگلوتیناسیون چشمی و زیر میکروسکوپ نمونه خون اهدایی سازگار بوده و قابل تزریق است

- در مرحله AHG کت شدن آنتی بادی در سطح گلبول های قرمز و یا کت شدن اجزاء کمپلمان در سطح آنها مشخص میشود. کت شدن آنتی بادی و یا اجزاء کمپلمان بر سطح گلبول های قرمز میتواند باعث همولیز شدن گلبول های قرمز تزریقی در سیستم رتیکلواندوتلیال طحال گردد

- در مواقع اورژانس که زمان برای انجام همه مراحل کراس مچ نیست با درخواست پزشک میتوان تنها مرحله اول کراس مچ را انجام داد و در صورت عدم ناسازگاری خون را تزریق کرد. این نوع کراس مچ را اصطلاحاً Immediate-spin میگویند که بعضا کراس مچ صحرائی هم گفته میشود

آنتی هیومن گلوبولین (AHG)

- AHG آنتی بادی علیه قسمت FC آنتی بادی هاست که با به هم چسباندن گلبول های قرمزی که آنتی بادی در سطح آنها کت شده ولی باعث آگلوتیناسیون آنها نشده است در شناسایی آنها کمک کننده است

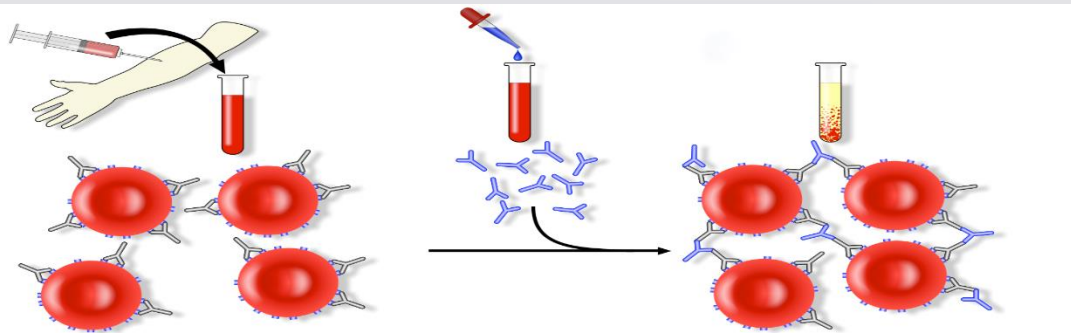
- AHG به دو صورت وجود دارد:

I. Poly specific یا چند اختصاصی: دارای خاصیت ضد FC آنتی بادیها و همچنین ضد اجزاء کمپلمان

II. Mono specific یا تک اختصاصی: دارای خاصیت ضد FC آنتی بادی و یا ضد اجزاء کمپلمان به صورت تکی

است

- AHG بسیار حساس بوده و در صورت نگهداری ناصحیح و یا آلوده شدن با سرم سریع کارایی خود را از دست میدهد



تست کومبز Coombs test

- آزمون کومبز یا تست آنتی هیومن گلوبولین (AHG) به دو صورت کومبز مستقیم (Direct Coombs) و کومبز غیرمستقیم (Indirect Coombs) انجام میگیرد
- کومبز مستقیم به منظور بررسی کت شدن آنتی بادی بر سطح گلبول های قرمز و کومبز غیر مستقیم به منظور بررسی وجود آنتی بادی در سرم بیمار صورت میگیرد
- نمونه مورد نیاز برای تست کومبز مستقیم گلبول های قرمز بیمار در ضد انعقاد EDTA است
- در کومبز مستقیم از نمونه خون بیمار سوسپانسیون ۵ - ۲ درصد تهیه شده و بعد از سه بار شست و شو با سرم فیزیولوژی در مرحله آخر با وارونه کردن لوله روی یک گاز خشک شده و یک تا دو قطره AHG اضافه میشود. سپس لوله با دور ۳۰۰۰ به مدت ۳۰ ثانیه سانترفیوژ شده و لوله از نظر آگلوتیناسیون چشمی و میکروسکوپی بررسی میشود. مشاهده آگلوتیناسیون به معنی کومبز مستقیم مثبت است

اهمیت تشخیصی کومبز مستقیم

- تشخیص کم خونی های همولیتیک اتوایمیون (AIHA)
- بررسی کم خونی های همولیتیک ناشی از دارو
- تشخیص کم خونی همولیتیک بین مادر و نوزاد
- بررسی واکنش های همولیتیک ناشی از تزریق خون ناسازگار

کومبز غیر مستقیم

- به منظور بررسی وجود آنتی بادی علیه آنتی ژن های سطح گلبول های قرمز در سرم بیمار صورت میگیرد
- نمونه مورد نیاز برای آزمون کومبز غیر مستقیم سرم بیمار است
- برای انجام تست گلبول های قرمز با گروه خونی O مثبت را بعد از شست و شو و تهیه سوسپانسیون به نسبت دو قطره سرم بیمار و یک قطره سوسپانسیون خون O مثبت در یک لوله مخلوط کرده و سپس یک قطره آلبومین و یا محلول لیس اضافه کرده و به مدت ۱۵ تا ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه نگهداری میشود. سپس لوله ها سانترفیوژ شده و از نظر آگلوتیناسیون بررسی میشود. اگر در این مرحله منفی بود در مرحله بعد لوله ۳ بار با سرم فیزیولوژی شسته شده و بعد از خشک کردن دو قطره AHG اضافه شده و مجددا سانترفیوژ میشود. سپس لوله ها به صورت چشمی و میکروسکوپی بررسی میشود. مشاهده آگلوتیناسیون در این مرحله به عنوان کومبز غیر مستقیم مثبت گزارش میشود
- کاربردهای آزمون کومبز غیر مستقیم :
 ۱. شناسایی آنتی بادی ناخواسته در سرم بیمار
 ۲. بررسی کم خونی همولیتیک مادر و نوزاد
 ۳. مرحله آخر کراس مچ

عوامل موثر در واکنش آنتی ژن-آنتی بادی در کومبز غیر مستقیم

- زمان انکوباسیون
 - زمان کوتاه در انکوباسیون میتواند باعث عدم اتصال کامل آنتی بادی گردد
- PH محیط
 - PH مناسب برای واکنش حدود ۷ است. PH های بالا یا پایین باعث واکنش ضعیف میشود
- دمای محیط
 - دمای مناسب برای آنتی بادی های گرم ۳۷ درجه است. دمای پایین یا بالا باعث واکنش ضعیف میشود
- قدرت یونی محیط
 - کم کردن قدرت یونی محیط مثلا با محلول لیس و یا آلبومین باعث تسریع در واکنش میشود
- نسبت آنتی ژن به آنتی بادی
 - برای انجام آزمون کومبز غیر مستقیم و کراس مچ بهتر است برای تسریع در واکنش از نسبت دو به یک آنتی بادی به آنتی ژن (دو قطره سرم و یک قطره خون) استفاده شود

Ab detection

- تجسس آنتی بادی برای تشخیص آنتی بادی غیر منتظره
- آنتی بادی غیر منتظره ناشی از تزریق خون قبلی، حاملگی یا دلایل نامعلوم
- Ab detection توسط دو تا سه گلبول قرمز O صورت میگیرد که حاوی Ag های مهم کلینیکی باشند
- سرم بیمار را با گلبول های قرمز O رو به رو میکنیم و مراحل کار مانند کراس مچ است
- اگر سرم بیمار حاوی آنتی بادی باشد، با این آنتی ژن ها واکنش می دهد و Ab detection مثبت است و باید نوع آنتی بادی مشخص شود

Ab identification

- شناسایی نوع آنتی بادی توسط پنل سلولی
- پنل سلولی شامل ۸ تا ۱۲ گلبول قرمز O می باشد و حاوی تمام آنتی ژن های مهم هستند اما به گونه ای طراحی شده اند که بتوانند شناسایی آنتی بادی را انجام دهند
- در این پنل سلولی، برخی گلبول های قرمز دارای بعضی آنتی ژن ها و فاقد آنتی ژن های دیگر هستند و برخی دیگر برعکس هستند



شهر موفقیت

shahre_movafaghiat

shahre-movafaghiat.ir

وقتی که واقعا برات اهمیتی نداشته باشه
که دیگران در موردت چی فکر میکنند.

جملات انگیزشی بیشتر در پیج : @SHAHRE_MOVAFAGHIAT

به یک درجه فوق العاده از آزادی میرسی
که بعدش میتونی به هر موفقیتی دست پیدا کنی.