

روش عملکردی استاندارد آزمایش سازگاری (کراس مچ) کامل
S.O.P for Complete Compatibility Testing

هدف / اصول :

آزمایش کراس مچ کامل با مجاورت سرم / پلاسما‌ی بیمار و گلبول قرمز اهداکننده خون به منظور تأیید سازگاری ABO کیسه خون با گروه ABO بیمار و تشخیص وجود هرگونه آلوآنتی بادی غیرمنتظره مهم از نظر بالینی انجام می‌گردد.

نمونه :

۱. از نمونه پلاسما‌ی (EDTA) بیمار استفاده شود.
 ۲. الزامی است ثبت نام و نام خانوادگی بیمار و شماره منحصر به فرد شناسایی‌کننده بر روی لوله حاوی خون بیمار ثبت شود.
 ۳. الزامی است نام خونگیر و تاریخ خونگیری بر روی لوله حاوی خون بیمار ثبت شود.
 ۴. در صورتی که فرد تزریق خون یا سابقه بارداری در سه ماهه گذشته دارد ، نمونه تهیه شده فقط تا ۷۲ ساعت پس از انجام آخرین آزمایش غربالگری خون معتبر می‌باشد.
 ۵. از نمونه‌هایی که ظاهر همولیز یا لیپیمی (hemolyzed –lipemic) دارند، استفاده نکنید. نمونه‌گیری مجدد انجام شود.
 ۶. شرایط نگهداری نمونه:
- نمونه‌های خون به مدت حداقل ۷ روز پس از هر کراس مچ جهت هرگونه آزمایش‌های بعدی ذخیره شود.
 - نمونه‌های خون در دمای یخچال ۸-۲ درجه سانتیگراد ذخیره شود.
 - جهت پیشگیری از وقوع هرگونه خطای انسانی ، جداسازی سرم یا پلاسما از گلبول قرمز خون نمونه بیمار و ذخیره سازی در لوله های تفکیک شده توصیه نمی‌شود.

تجهیزات ، مواد و معرف ها :

- ۱- سالین نرمال ۰/۹ درصد
- ۲- سوسپانسیون (۵-۲ درصد) گلبول قرمز خون اهداکننده
- ۳- لوله های آزمایش ۱۲×۷۵ میلی متر
- ۴- بیپت یکبار مصرف یا بیپت ۵۰ و ۱۰۰
- ۵- سانتریفوژ سرولوژیک کالیبره شده (کالیبراسیون توسط بخش پشتیبان تعیین شده و مستند گردد).
- ۶- گلبول قرمز خون حساس شده IgG Control Cells
- ۷- انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد

روش کار:

- ۱- لوله‌هایی را که با نمونه خون هر یک از اهداکنندگان و سرم بیمار آزمایش می‌شوند، نشانه‌گذاری کنید.
- ۲- به هر یک از لوله‌ها ۲ قطره سرم یا پلاسما بیمار اضافه نمایید.
- ۳- به هر یک از لوله‌های مربوطه ۱ قطره سوسپانسیون گلبول قرمز خون (۵-۲ درصد) اهداکننده اضافه کنید.
- ۴- محتوای لوله‌ها را مخلوط نمایید. سپس در سانتی‌فیوژ سرولوژیک کالیبره شده مطابق زمان مشخص، سانتی‌فیوژ نمایید.
- ۵- توده گلبولی لوله‌ها را جهت مشاهده همولیز و درجه بندی آگلوتیناسیون با استفاده از آینه مقعر مشاهده و ارزیابی نمایید.
- ۶- نتایج آزمایش را خوانده، تفسیر و بلافاصله ثبت نمایید.
- ۷- دو قطره آلبومین ۲۲ درصد یا محلول LISS به لوله فوق اضافه نمایید.
- ۸- لوله حاوی آلبومین ۲۲ درصد را به مدت ۳۰-۱۵ دقیقه و لوله حاوی LISS را به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه نمایید. مطابق دستورالعمل سازنده عمل نمایید.
- ۹- لوله را پس از مدت معین سانتی‌فیوژ کنید. (معمولاً زمان ۳۰-۱۵ ثانیه با دور $1000 \times g$ - ۹۰۰ می باشد).
- ۱۰- لوله‌ها را به آرامی تکان دهید تا توده گلبولی به صورت سوسپانسیون آزاد شود. وجود هرگونه آگلوتیناسیون را بررسی و مشاهده نمایید.
- ۱۱- نتایج واکنش را بررسی و درجه بندی کنید.
- ۱۲- نتایج واکنش را بلافاصله در دفتر آزمایشگاه ثبت کنید.
- ۱۳- سپس لوله را سه تا چهار بار با سالیین ۰/۹ درصد شستشو دهید و در مرحله آخر کاملاً سالیین را تخلیه نمایید.
- ۱۴- به این لوله دو قطره AHG یا مطابق دستورالعمل سازنده اضافه کنید.
- ۱۵- محتوای لوله را مخلوط کرده و سانتی‌فیوژ نمایید.
- ۱۶- لوله را به آرامی تکان دهید تا توده گلبولی به صورت سوسپانسیون آزاد شود. وجود هرگونه آگلوتیناسیون را بررسی و مشاهده کنید. ابتدا ماکروسکوپی بررسی کرده، در موارد مشکوک میکروسکوپی توصیه می‌گردد.
- ۱۷- نتایج واکنش را بررسی و درجه بندی کنید.
- ۱۸- نتایج واکنش را بلافاصله در دفتر آزمایشگاه ثبت کنید.

۱۹- در صورت عدم وجود هرگونه واکنش ، کراس مچ منفی و نمونه خون اهداکننده با خون بیمار سازگار (Compatible) گزارش می‌شود.

۲۰- در صورت مشاهده هرگونه آگلوتیناسیون ،نمونه با خون بیمار سازگار نبوده (Incompatible) گزارش می‌شود .

۲۱- به لوله منفی یک قطره گلبول قرمز خون حساس شده IgG Control Cells اضافه کنید. پس از سانتریفوژ کردن ، مشاهده آگلوتیناسیون، آزمایش را تأیید می‌کند در صورت عدم مشاهده واکنش ، باید آزمایش مجدداً تکرار شود.

تفسیر:

۱- وجود آگلوتیناسیون یا همولیز نشان دهنده نتیجه آزمایش مثبت یا عدم سازگاری (Incompatible) می باشد .

۲- وجود سوسپانسیون گلبولی یکنواخت با گلبول های قرمز خون آزاد پس از سانتریفوژ و سوسپانسیون مجدد توده گلبولی نشان دهنده آزمایش منفی یا کراس مچ کامل سازگار (Compatible) می‌باشد.

نکات مهم :

۱. در صورت انجام آزمایش غربالگری آلو آنتی‌بادی غیر منتظره با استفاده از کیت antibody screen cells استاندارد و مشاهده نتیجه منفی فقط آزمایش کراس مچ مختصر Immediate spin cross match یعنی مراحل ۶-۱ کافی می‌باشد و ادامه آزمایش لازم نیست.

۲. در صورت وجود آلوآنتی بادی در سرم بیمار ، کراس مچ کامل انجام شود.

۳. در صورت عدم وجود نمونه خون کامل EDTA استفاده از خون لخته بلا مانع است. به دستور العمل تولید کننده معرف‌ها رجوع شود.

۴. زمانی که سابقه انجام آزمایش ABO&Rh بیمار در بانک خون موجود نیست انجام یکی از بندهای ذیل با رعایت الویت الزامی است.

- از بیمار نمونه‌گیری مجدد شده و به بانک خون جهت تکرار و تأیید نتیجه آزمایش ABO&Rh اولیه ارسال شود.

- آزمایش ABO&Rh مجدداً بر روی نمونه توسط کارشناس دیگری تکرار و تأیید گردد.

- کارشناس انجام دهنده آزمایش اولیه ABO&Rh مجدداً آزمایش ABO&Rh را تکرار، تأیید و مستند سازی نماید.

Emergency Blood Order	درخواست خون در شرایط اضطراری
<p>زمانی که پزشک پس از ارزیابی بالینی بیمار (تروما / خونریزی شدید بیمار) درخواست خون کراس مچ نشده می دهد ، باید مراحل ذیل جهت تحویل خون رعایت گردد. تأکید می گردد باید پس از تحویل خون کلیه مراحل آزمایش کراس مچ به طور کامل انجام پذیرد.</p>	
<p>۱. درخواست تحویل خون در شرایط اضطراری (بدون کراس مچ) با امضای پزشک درخواست کننده و توضیح اندیکاسیون شرایط بالینی بیمار دریافت شود.</p>	
<p>۲. باید خون با گروه ABO سازگار توسط کارشناس بانک خون تحویل شود.</p>	
<p><u>توجه: درخواست خون در شرایط اضطراری با امضای پزشک ، ساقط کننده مسئولیت کارشناس بانک خون جهت تحویل خون با گروه ABO سازگار نمی باشد.</u></p>	
<p>۳. خون سازگار کراس مچ نشده با شرایط و الویت بندی زیر تحویل شود :</p>	
<ul style="list-style-type: none"> • خون با گروه (O) و Rh-(Negative) به ویژه به بیمار زن در سن باروری • خون با گروه (O) و Rh-(Positive) 	
<ul style="list-style-type: none"> • در صورت دریافت نمونه و تعیین گروه ABO&Rh بیمار، خون سازگار با گروه بیمار تحویل شود. <u>تأکید می شود از سابقه قبلی گروه ABO&Rh بیمار استفاده نشود.</u> 	
<p>۴. کیسه های ارسالی خون را با علامت کراس مچ انجام نشده مشخص کنید.</p>	
<p>۵. پس از ارسال کیسه های خون ، آزمایش کراس مچ را فوراً شروع کنید و در صورت مشاهده هرگونه آگلوتیناسیون پزشک را مطلع نمایید.</p>	

خطاهای شایع :

گلبول قرمز حساس شده جهت اطمینان از عدم وجود منفی کاذب در مرحله AHG کاربرد دارد. زمانی که واکنش منفی باشد معرف AHG به صورت آزاد درلوله وجود دارد که با گلبول قرمز حساس شده آگلوتیناسیون می دهد. در صورت عدم مشاهده آگلوتیناسیون یکی از موارد زیر اتفاق افتاده است :

- معرف AHG اضافه نشده است.
- معرف AHG اضافه شده ولی با توجه به وجود سالین باقی مانده یا عدم شستشوی مناسب ، با آنتی بادی های آزاد، خنثی شده است.
- معرف AHG ، دارای potency مناسب نیست.

مراجع :

References:

1. AABB Technical Manual 16th ed. Bethesda , MD 2008
2. Issitt PD, Anstee Dj , Applied blood group serology 4th edition , Durham ,NC: Montgomery Scientific Press ,1998
3. Judd WJ, Methods in immunohematology 3rd ed . Durham ,NC : Montgomery Scientific Publication ,2008
4. Denise MH , Modern Blood Banking & Transfusion Practices 5th ed . Philadelphia, PA:F.A.Davis company 2005
5. ARC Immunohematology Methods and procedures 1ST ed. Rockville, MD 1993
6. Guidelines for the Blood Transfusion Services in the UK ,7th ed 2005
7. WHO ; Safe Blood and Blood products; WHO Distance learning material ,WHO PRESS 2004
8. WHO ; The Clinical Use of Blood in Medicine, Obstetrics, Pediatrics ,Surgery& Anesthesia, Traum & Burns ,WHO Press 2002

سازمان انتقال خون ایران