

**بسمه تعالی**

هدف: تهیه سوسپانسیون گلبول سرخ حساس شده با IgG (IgG sensitized check Cell) برای کنترل AHG

ابزار مورد نیاز:

- آنتی بادی ضد آنتی ژن Rh (Anti D)
- خون کامل با گروه خون O+ (Rh-Positive): ترجیحاً نمونه تهیه شده در ویال حاوی EDTA (استفاده از خون لخته هم با رعایت دستورالعمل بلامانع است)
- لوله همولیز تمیز، سرم فیزیولوژی، سمپلر، نوک سمپلر، آنتی هیومن گلوبولین، انکوباتور یا بن ماری ۳۷ درجه، سانتریفیوژ کالیبره، آلبومین ۶ درصد (۳ حجم از آلبومین تجاری ۲۲ درصد را با ۸ حجم نرمال سالین مخلوط کنید).

روش کار:

- ۱- ۸ لوله انتخاب کرده و به همه لوله ها بجز لوله اول، ۱۰۰ ل ۱۰۰ نرمال سالین اضافه کنید.
- ۲- به لوله اول، ۲۰۰ ل آنتی D اضافه نمایید.
- ۳- از لوله اول، ۱۰۰ ل برداشته و به لوله دوم بیافزایید و پس از مخلوط کردن، ۱۰۰ ل از آن برداشته و به لوله سوم اضافه کنید و به همین ترتیب تا لوله هشتم ادامه دهید و ۱۰۰ لاندای آخر را دور بریزید.
- ۴- به تمام لوله ها، ۱۰۰ ل سوسپانسیون گلبول سرخ ۲ تا ۵ درصد اضافه کرده و ۲۰ دقیقه آنها را در انکوباتور یا بن ماری ۳۷ درجه قرار دهید.
- ۵- تمام لوله ها را ۱۵ تا ۳۰ ثانیه در 3000 RPM سانتریفیوژ نمایید.
- ۶- محتویات لوله های فاقد آگلوتیناسیون را سه بار با نرمال سالین شستشو دهید. (با افزودن حدود ۲ تا ۳ میلی لیتر نرمال سالین به هر لوله و دو دقیقه سانتریفیوژ در دور 3000 RPM) و در آخرین بار شستشو، آخرین قطرات سالین لبه ی لوله را با دستمال کاغذی بگیرید.
- ۷- گلبولهای متراکم کف این لوله ها را به آرامی از ته لوله به حالت یکنواخت در آورده و یک قطره AHG به همه لوله ها بیافزایید و به آرامی مخلوط نمایید.
- ۸- لوله ها را به مدت ۱۵ تا ۳۰ ثانیه در 3000 RPM سانتریفیوژ کنید و نتایج را با قرائت چشمی، آگلوتیناسیون را بلافاصله بررسی کنید.
- ۹- رقت لوله ای که آگلوتیناسیون ۲+ (روش خوانش بر اساس مدرک ...) نشان داد را یادداشت نمایید و در دفعات بعدی برای تهیه چک سل با همین Anti D، همین رقت را تهیه کرده و نیازی به تهیه رفتهای دیگر نیست.



- ۱۰- برای ساختن چک سل برای مصرف یک هفته، یک حجم از سوسپانسیون گلبول سرخ ۲ تا ۵ درصد را یک حجم از آنتی D با رقت بدست آمده در آیتم ۹ مخلوط کرده و این مخلوط را ۲۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه انکوبه کنید.
- ۱۱- مخلوط فوق را ۳ بار با نرمال سالین شستشو دهید و قطرات آخر سالین را خارج نمایید.
- ۱۲- از رسوب بدست آمده، سوسپانسیون ۵-۲ درصد تهیه نمایید و بسته به نیاز روزانه، در ویالهای قطره چکانی تقسیم کنید. توصیه می شود این سوسپانسیون را حداکثر یک هفته استفاده نمایید.

کنترل کیفی:

- سوسپانسیون نهایی باید با AHG تأیید شده، واکنش ۲+ به بالا ایجاد کند.
- سوسپانسیون نهایی نباید در مجاورت آلبومین ۶ درصد هیچگونه واکنشی نشان دهد.

ملاحظات ایمنی:

- a) معرفهای آنتی بادی مونوکلونال دارای سدیم آزاید بوده و از برخورد آنها با پوست و مخاطات، جداً خودداری گردد و در صورت برخورد اتفاقی، موضع را با آب فراوان شستشو دهید.
- b) قطره ی آنتی بادی ها را مستقیماً روی قطره ی خون رها نکنید (تا ایجاد آئروسل نشود).
- c) مشاهده ی کدورت در معرفها نشانه ی خرابی آنها بوده و نباید استفاده شوند. در عین حال با توجه به وجود سدیم آزاید (با قابلیت بالقوه انفجار در فاضلاب)، دفع کیت های تاریخ گذشته یا خراب، باید با احتیاطات ایمنی فراوان انجام گیرد و از ریختن آنها بطور مستقیم در فاضلاب و بدون رقیق سازی با آب فراوان، اجتناب گردد.