

روش عملکردی استاندارد تهیه سوسپانسیون ۳ درصد گلبول قرمز خون

S.O.P for Preparation of a 3% Red Cell Suspension

هدف / اصول :

نسبت سرم به گلبول قرمز خون می‌تواند به شدت روی حساسیت آزمایش و قدرت آگلوتیناسیون اثر بگذارد. سوسپانسیون ۳ درصد معرفی است که در روش‌های سرولوژیک بکار برده می‌شود. تهیه سوسپانسیون نهایی ۳ درصد به صورت دقیق الزامی نیست، بلکه سوسپانسیون نزدیک به ۳ درصد (۵-۲ درصد) می‌تواند نسبت لازم سرم به گلبول را در بیشتر روش‌ها فراهم آورده و تعداد کافی و مناسب از گلبول قرمز خون را برای خواندن و درجه بندی واکنش در دسترس قرار دهد.

تجهیزات، مواد و معرف‌ها :

- ۱- نمونه خون کامل حاوی EDTA (به نکات مهم رجوع شود)
- ۲- لوله آزمایش ۱۰×۷۵ یا ۱۲×۷۵ میلی متر
- ۳- پیپت یکبار مصرف ۱-۱۰ میلی لیتر
- ۴- پیپت متغیر ۱۰۰۰-۵۰
- ۵- سالین ۰/۹ درصد
- ۶- سانتریفوژ سرولوژیک $1000 \times g$
- ۷- جالوله‌ای
- ۸- آینه مقعر
- ۹- منبع روشنایی (چراغ مطالعه)
- ۱۰- نمونه سوسپانسیون خون ۳ درصد (شناخته شده)

روش کار :

جهت تهیه ۱۰ میلی لیتر از سوسپانسیون ۳ درصد گلبول قرمز خون مراحل ذیل را انجام دهید:

- ۱- حداقل ۱ میلی لیتر از خون کامل را به یک لوله ۱۰ میلی لیتری انتقال دهید.
- ۲- به گلبول‌های قرمز خون سالین اضافه نموده و به مدت ۱ الی ۳ دقیقه سانتریفوژ نمایید. این مرحله را ۲ تا ۳ بار تکرار نمایید. محلول نهایی باید کاملاً شفاف و گلبول قرمز در انتهای لوله جمع شده باشند. محلول سالین فوقانی supernatant را کاملاً بدور بریزید.
- ۳- مقدار ۰/۳ میلی لیتر از گلبول‌های قرمز متراکم شسته شده را به لوله‌ای حاوی ۹/۷ میلی لیتر سالین ۰/۹ درصد انتقال دهید.
- ۴- با استفاده از پارافیلیم لوله را پوشش دهید. چند بار با سروته کردن لوله، گلبول‌های قرمز خون را با سالین ۰/۹ درصد کاملاً مخلوط نمایید.

روش عملکردی استاندارد تهیه سوسپانسیون ۳ درصد گلبول قرمز خون

S.O.P for Preparation of a 3% Red Cell Suspension

کنترل کیفی :

• جهت کنترل چشمی رنگ و تراکم سوسپانسیون مقداری از سوسپانسیون تهیه شده را به لوله ۱۲×۷۵ میلی متر انتقال دهید. سپس حجم مشابهی از سوسپانسیون ۳ درصد شناخته شده را به لوله ۱۲×۷۵ میلی متر دیگری انتقال دهید. جهت مقایسه لوله‌ها را مقابل منبع نور قرار دهید.

یا

• به منظور مقایسه مقدار تجمع گلبول قرمز سوسپانسیون ۳ درصد تهیه شده، یک قطره از این سوسپانسیون را به لوله ۱۲×۷۵ میلی متر انتقال دهید. به صورت مشابه یک قطره از سوسپانسیون ۳ درصد شناخته شده را به لوله ۱۲×۷۵ میلی متر دیگری انتقال دهید. با توجه به زمان تعیین شده (۳۰-۱۵ ثانیه)، لوله‌ها را سانتریفوژ نمایید. اندازه دو رسوب گلبول قرمز خون با مشاهده در آینه مقعر باید مشابه باشد.

نکات مهم:

۱. در صورت عدم وجود نمونه خون کامل EDTA استفاده از خون لخته بلا مانع است. به دستور العمل تولید کننده معرف‌ها رجوع شود.
۲. سوسپانسیون تهیه شده را فقط در روز آماده سازی استفاده نمایید و در یخچال آزمایشگاه در دمای ۲-۸ درجه سانتیگراد نگهداری شود.
۳. جهت تهیه حجم کمتر، مقدار سالین ۰/۹ درصد و گلبول قرمز خون را به تناسب انتخاب نمایید.
۴. تهیه سوسپانسیون گلبولی غلیظ یا رقیق می‌تواند منجر به پاسخ مثبت یا منفی کاذب در آزمایش گردد.

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