



دستورالعمل (Instruction)

کد سند : INS-BT-2	عنوان دستورالعمل : تعیین گروه خونی به روش لوله ای (Cell type – Back type)		
شماره ویرایش : پنجم	تاریخ بازنگری : آبان ماه 1401	تاریخ ابلاغ : آذر ماه 1401	تاریخ تدوین : 95/8/10

کامهای دقیق انجام عملیات (حالت افعال به کار برده شده امری (دوم شخص جمع) باشد جملات ساده – کوتاه – مختصر) :

هدف: تعیین گروه خونی به روش استاندارد و صحیح

تعیین گروه سلولی (Cell type)

- 1- سه عدد لوله را بصورت A، B، D نشانه گذاری نمایید.
 - 2- در هر لوله یک قطره از آنتی سرمهای مربوطه بریزید.
 - 3- در هر یک از لوله ها یک قطره از سوسپانسیون 5-3٪ گلبول قرمز بیمار اضافه کنید.
(نمونه خون می تواند به صورت لخته و همچنین در ماده ضد انعقاد جمع آوری شده باشد، برای تهیه رقت 5-3٪، نمونه را سه بار با سرم فیزیولوژی شستشو داده و در نهایت مقداری سرم فیزیولوژی اضافه گردد تا گلبول های قرمز به رقت 5-3٪ برسند، برای تایید رقت سوسپانسیون می توان از دستگاه میکروهماتوکریت استفاده کرد.)
 - 4- لوله ها را به آرامی تکان دهید، سپس بمدت 30 ثانیه با دور 900-1000 دور در دقیقه (g1000) سانتریفوژ نمایید. (ترجیحا با استفاده از سروفیوژ)
 - 5- لوله ها را در مقابل نور از نظر آگلوتیناسیون بررسی کنید.
هر گونه آگلوتیناسیون یا همولیز مؤید واکنش مثبت می باشد، در غیر اینصورت واکنش منفی بوده که باید حتما از نظر میکروسکوپی نیز کنترل کنید
- نکته 1: در روش سل تایپ، همیشه ابتدا آنتی سرمها داخل لوله ها ریخته شود و سپس کلیه لوله ها از نظر ریختن آنتی سرمها کنترل گردد.
- نکته 2: روش خواندن آگلوتیناسیون : بعد از بیرون آوردن لوله ها از سروفیوژ، لوله را کج کرده و به آرامی حرکت دهید تا گلبول چسبیده شده به ته لوله جدا شوند و سپس شدت واکنش را قرائت کنید.
- نکته 3: در صورتی که نمونه خون بیمارانی که دارای اتوانتی بادی هستند و یا در خون آن ها پروتئین های غیرنرمال وجود دارد ، استفاده همزمان از کنترل برای شناسایی نتایج مثبت الزامی است بنابراین تعیین Rh نمونه زمانی اعتبار دارد که همراه با لوله حاوی Anti D یک لوله دوم حاوی معرف Rh-control (مانند آلبومین 6٪) آزمایش شده و واکنش منفی مشاهده شود.

تعیین گروه سرمی (Back type)

1. سه عدد لوله را بصورت A، B، O مشخص کنید.
2. یک قطره از سرم یا پلاسمای بیمار را در هر لوله بریزید (لوله ها باید از نظر ریختن سرم کنترل شوند)



3. یک قطره از سوسپانسیون 3 تا 5 درصد گلبول قرمز A Cell و B Cell و O Cell را جداگانه در لوله های مربوطه اضافه نمایند.
- سوسپانسیون A Cell: مخلوطی از گلبول های قرمز حداقل 2 فرد با گروه خون A می باشد.
 - سوسپانسیون B Cell: مخلوطی از گلبول های قرمز حداقل 2 فرد با گروه خون B می باشد.
 - سوسپانسیون O Cell: برای تهیه O Cell گلبول قرمز حداقل 1 فرد با گروه خون O استفاده می شود. در تعیین گروه بندی سرمی استفاده از O Cell الزامی نمی باشد ولی آنتی بادی های نامنظم که در دمای اتاق فعال هستند با این روش شناسایی می شوند.
- *سوسپانسیون گلبولهای A، B، O توسط پرسنل بانک خون تهیه می شوند.
4. به آرامی محتویات لوله ها را مخلوط کنید و سپس به مدت 30 ثانیه در دور 900-1000rpm با سووفیوژ سانتریفوژ کنید.
5. لوله ها را در مقابل نور به ملایمت تکان داده و از نظر آگلوتیناسیون و همولیز بررسی نمایند.
6. در صورت هماهنگی و همخوانی بین Cell type و Back type نتیجه گروه خود را گزارش نمایید.
- نکته: نمونه نوزادان کمتر از 4 ماه معمولاً حاوی آنتی A و آنتی B نمی باشد. بنابراین در اینجا فقط Cell type انجام می شود و نیاز به Back type نمی باشد.

تفسیر نتایج:

Cell type		Back type		نوع گروه خونی
آنتی A	آنتی B	A1Cell	B Cell	
عدم آگلوتیناسیون	عدم آگلوتیناسیون	آگلوتیناسیون برابر یا بالاتر از 3+	آگلوتیناسیون برابر یا بالاتر از 3+	O
آگلوتیناسیون برابر یا بالاتر از 3+	عدم آگلوتیناسیون	عدم آگلوتیناسیون	آگلوتیناسیون برابر یا بالاتر از 3+	A
عدم آگلوتیناسیون	آگلوتیناسیون برابر یا بالاتر از 3+	آگلوتیناسیون برابر یا بالاتر از 3+	عدم آگلوتیناسیون	B
آگلوتیناسیون برابر یا بالاتر از 3+	آگلوتیناسیون برابر یا بالاتر از 3+	عدم آگلوتیناسیون	عدم آگلوتیناسیون	AB



آزمایش (Weak D)DU

در مواردیکه نتایج حاصل از آزمایش Rh منفی است و نیز در واکنشهای ضعیف میکروسکوپی آزمایش DU انجام دهید.
روش آزمایش:

- 1- یک قطره از آنتی سرم D و یک قطره از سوسپانسیون 3-5 درصد از گلبولهای قرمز بیمار را در یک لوله آزمایش ریخته و مخلوط نمائید.
- 2- لوله را به مدت 45-60 دقیقه در بن ماری 37 درجه سانتی گراد قرار دهید.
- 3- پس از خاتمه زمان مذکور، لوله را سه مرتبه با سرم فیزیولوژی شستشو داده و بار آخر محلول رویی را خالی کرده و یک قطره آنتی هیومن به آن اضافه کنید و 30 ثانیه در دور 900-1000rpm سانتریفوژ کنید.
- 4- لوله را در مقابل نور به ملایمت تکان داده و از نظر آگلوتیناسیون بررسی کنید، موارد منفی را با میکروسکوپ کنترل نمائید، نتایج منفی را با استفاده از گلبول های قرمز حساس شده تأیید نمایید.

منابع: کتاب هماتولوژی و بانک خون دکتر محمد رخشان - دستورالعمل سازمان انتقال خون

امکانات مرتبط: سرم فیزیولوژی- کیت گروه خون- محلول آنتی هیومن- محلول آلبومین- سانتریفیوژ- سمپلر- بن ماری- پکسل

کارکنان مرتبط: مسئول بانک خون- مسئولین شیفت های عصر و شب

نام و نام خانوادگی و سمت تهیه کننده/تهیه کنندگان :				
نام و نام خانوادگی و سمت تصویب کننده :		نام و نام خانوادگی و سمت تأیید کننده :		
دکتر امیر احمد عرب زاده رئیس مرکز آموزشی و درمانی امام خمینی (ره) اردبیل	دکتر بهزاد جعفرزاده مسئول فنی آزمایشگاه	یعقوب ابراهیم خلیلی کارشناس آزمایشگاه	مهسا اقدمی کارشناس آزمایشگاه	محمد حسین آقاجانی مسئول آزمایشگاه
				دکتر بهزاد جعفرزاده مسئول فنی آزمایشگاه