

مقدمه

اولین شرط لازم قبل از عمل انتقال خون، یکسان بودن گروههای خونی ABO و Rh شخص دهنده (Donor) و گیرنده خون (Recipient) می باشد. این شرط لازم است اما شرط کافی نیست. به این منظور می بایست قبل از عمل انتقال خون از شخص دهنده به شخص گیرنده، جهت شناسایی وجود یا عدم وجود آنتی بادیهای خارج از انتظار و با اهمیت از نظر بالینی در سرم شخص گیرنده علیه آنتی ژنهای سطح RBC های شخص دهنده، آزمایش کراس میچ یا سازگاری انتقال خون را انجام داد. آزمایش کراس میچ، به دو صورت اصلی (Major) و فرعی (Minor) انجام می شود. در آزمایش کراس میچ ماژور، RBC های شخص دهنده را در مقابل سرم شخص گیرنده قرار می دهند، ولی در آزمایش کراس میچ مینور عکس این عمل را انجام می دهند، یعنی سرم شخص دهنده را با RBC های گیرنده خون روبرو می کنند.

کراس میچ ماژور: سرم گیرنده خون + گلبولهای قرمزدهنده خون

کراس میچ مینور: سرم دهنده خون + گلبولهای قرمزگیرنده خون

آزمایش کراس میچ مینور را در موارد انتقال خون کامل انجام می دهند ولی از آنجا که در بیشتر موارد، هنگام انتقال خون، فقط گلبولهای قرمز منتقل می شود، نیازی به انجام آزمایش کراس میچ مینور نیست و تنها، آزمایش کراس میچ ماژور را انجام می دهند.

برای انجام آزمایش کراس میچ ماژور، احتیاج به سرم شخص گیرنده و سوسپانسیون ۳ تا ۵ درصد از گلبولهای قرمز شخص دهنده می باشد. به این منظور، می بایست ابتدا از شخص گیرنده، مقدار ۲ تا ۳ سی سی خون، در یک لوله آزمایش که فاقد ماده ضد انعقاد می باشد تهیه نموده، و پس از ایجاد لخته، برای جدا کردن سرم، لوله آزمایش را در دور ۳۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ کرد. برای تهیه سوسپانسیون ۳ تا ۵ درصد نیز، مطابق آنچه که در مبحث تعیین گروه خونی ABO گفته شده است، عمل می کنیم.

آزمایش کراس میچ ماژور در سه فاز، انجام می گیرد، مشاهده آگلوتیناسیون و یا همولیز در هر کدام از مراحل زیر، نشان دهنده ناسازگاری بوده (Incompatible) و عمل انتقال خون نمی بایست از شخص دهنده به گیرنده صورت گیرد. در صورت عدم مشاهده آگلوتیناسیون و یا همولیز در هر سه مرحله، انتقال خون سازگار بوده (Compatible) و می توان از بی خطر بودن (safe) انتقال خون مطمئن بود.

۱) فاز سرم فیزیولوژی (سرما)

دو قطره از سرم شخص گیرنده را با یک قطره سوسپانسیون ۵٪ از گلبولهای قرمز شخص دهنده، در یک لوله تمیز ریخته و مخلوط می کنیم. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق (RT) می گذاریم (انکوباسیون در دمای اتاق است) بعد به مدت ۳۰ ثانیه در دور ۳۰۰۰ سانتریفوژ می کنیم. سپس لوله را از نظر آگلوتیناسیون و یا همولیز، بررسی می کنیم. اگر آگلوتیناسیون و یا همولیز، مشاهده شد، بدان معناست که یکسری آنتی بادیها، در سرم شخص گیرنده وجود دارند که می توانند یکسری آنتی ژنها را بر سطح گلبولهای قرمز دهنده خون، شناسایی نمایند و در نتیجه انتقال خون ناسازگار است. مشاهده آگلوتیناسیون و یا همولیز در این فاز، مطرح کننده حضور آنتی بادیهای از کلاس IgM (آنتی بادیهای سرد: Cold Ab) در سرم شخص گیرنده، احتمالاً علیه آنتی ژنهایی از گروههای خونی ABO، Lewis، M، N و P، بر سطح گلبولهای قرمز شخص دهنده می باشد. اگر آگلوتیناسیون و یا همولیز مشاهده نشد، می بایست فاز بعدی آزمایش را انجام دهیم.

۲) فاز آلبومین و گرما

در این فاز، دو قطره از سرم شخص گیرنده را با یک قطره سوسپانسیون ۵٪ از گلبولهای قرمز شخص دهنده و دو قطره آلبومین ۳۰٪ گاوی (BSA: bovine serum albumin) در یک لوله آزمایش تمیز مخلوط کرده و در بن ماری، در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه، انکوبه می نماییم. پس از اتمام زمان انکوباسیون، لوله را به مدت ۳۰ ثانیه در دور ۳۰۰۰ سانتریفوژ می کنیم. مشاهده آگلوتیناسیون و یا همولیز در این فاز، مطرح کننده حضور آنتی بادیهای از کلاس IgG (آنتی بادیهای گرم: Worm Ab) در سرم شخص گیرنده، احتمالا علیه آنتی ژنهایی از گروه خونی Rh بر سطح گلبولهای قرمز شخص دهنده و ناسازگاری خون، می باشد. اگر آگلوتیناسیون و یا همولیز مشاهده نشد، می بایست فاز بعدی آزمایش را انجام دهیم.

۳) فاز کومبس (Coombs) یا آنتی هیومن

در واقع فاز کومبس یا آنتی هیومن، بر روی دو لوله دو مرحله قبل، که آگلوتیناسیون و همولیز در آنها منفی شده است، انجام می گیرد. به این ترتیب که به این دو لوله، سرم فیزیولوژی تمیز اضافه کرده و به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰ سانتریفوژ می کنیم. سپس لوله ها را به آرامی از سانتریفوژ بیرون آورده و با وارونه کردن لوله ها، مایع رویی را بیرون می ریزیم و در همین حالت با استفاده از دستمال کاغذی، قطره هایی را که در دیواره لوله چسبیده اند، حذف می کنیم. مجدداً به دو لوله، سرم فیزیولوژی تمیز اضافه کرده و عمل سانتریفوژ و آبگیری را تکرار می نماییم. عمل شستشو و آبگیری، می بایست، سه مرتبه تکرار شده و با دقت کامل انجام شود (نکته: هدف از شستشوها مکرر در این مرحله، حذف آنتی بادیهای آزاد موجود در لوله های آزمایش می باشد، زیرا در صورت حذف نشدن، این آنتی بادیها می توانند با خنثی کردن معرف کومبس یا آنتی هیومن، که در مرحله بعدی انجام آزمایش اضافه می شود، باعث ایجاد آگلوتیناسیون منفی کاذب شوند).

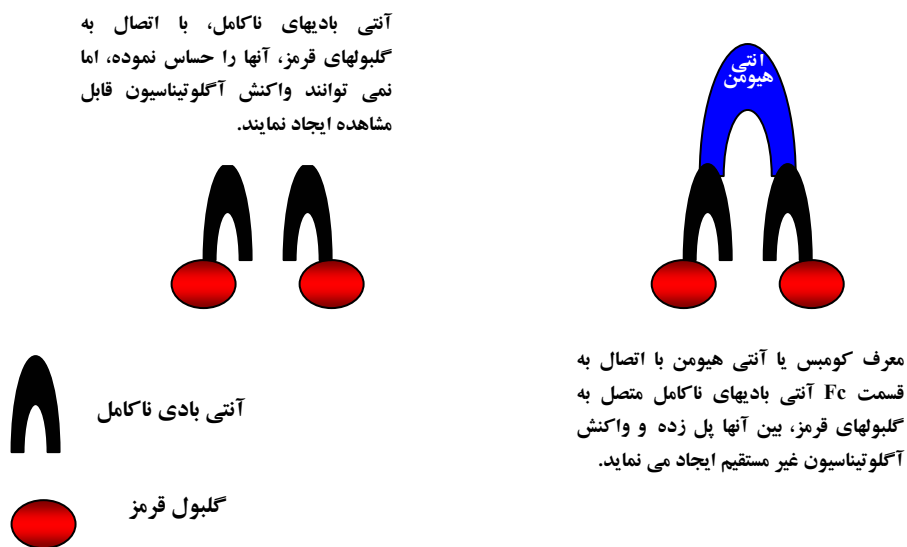
پس از اتمام عمل شستشو، به هر کدام از دو لوله، دو قطره معرف کومبس یا آنتی هیومن، اضافه می کنیم. با تکان دادن لوله ها، قطره های داخل لوله ها را مخلوط نموده و سپس لوله ها را به مدت ۳۰ ثانیه در دور ۳۰۰۰ سانتریفوژ می کنیم. و در نهایت لوله ها را از نظر آگلوتیناسیون و یا همولیز، بررسی می نماییم. مشاهده آگلوتیناسیون و یا همولیز در این فاز، مطرح کننده حضور آنتی بادیهای ناکامل (Incomplete)، بیشتر از کلاس IgG و یا IgA، در سرم شخص گیرنده خون، علیه یکسری آنتی ژنها، بر سطح گلبولهای قرمز شخص دهنده و ناسازگاری خون، می باشد. اگر آگلوتیناسیون و یا همولیز مشاهده نشد، خون سازگار بوده و می توان از بی خطر (Safe) بودن انتقال خون مطمئن بود.

نکته ها

۱) هدف از اضافه کردن آلبومین در مرحله دوم آزمایش کراس میج: سطح گلبولهای قرمز از اسید سیالیک (Sialic Acid) پوشیده شده است. بار منفی گروه کربوکسیل این اسید، باعث می شود، تا سطح گلبولهای قرمز، بار منفی زیادی پیدا کرده (پتانسیل زتا) و در نتیجه گلبولهای قرمز از یکدیگر فاصله گیرند. مواد آمفوتر مانند آلبومین، با بارهای مثبت خود، بارهای منفی اطراف گلبولهای قرمز را خنثی نموده و در نتیجه فاصله بین گلبولهای قرمز را کاهش می دهند. به این ترتیب آنتی بادیها، می توانند براحتی از طریق دو بازوی Fab خود، به عنوان مثال به دو شاخص آنتی ژنی موجود بر سطح دو گلبول قرمز مجاور، متصل شوند. بعلاوه این که به نظر می رسد، آلبومین سطح معقر گلبولهای قرمز را بصورت مسطح تغییر داده و در نتیجه شاخصهای آنتی ژنی، آسانتر در دسترس آنتی بادیها قرار می گیرند.

۲) **معرف کومبس یا آنتی هیومن:** در واقع یک آنتی بادی ضد آنتی بادهای انسانی می باشد. آنتی هیومن یا معرف کومبس از طریق ناحیه Fab خود به قسمت Fc آنتی بادی انسانی متصل می شود. با تزریق آنتی بادهای انسانی به حیوانات آزمایشگاهی، در بدن حیوان آزمایشگاهی، آنتی بادی بر ضد آنتی بادهای انسانی، یا همان آنتی هیومن ساخته می شود.

۳) **آنتی بادی ناکامل (Incomplete):** آنتی بادهایی هستند بیشتر از کلاسهای IgG (IgG3, IgG4) و IgA، که به علت نقص در ناحیه لولا (Hinge Region) قادر نیستند، پراحتی بازوهای Fab خود را به منظور اتصال به دو شاخص آنتی ژنی موجود بر سطح دو مولکول مجاور هم (بطور مثال دو گلبول قرمز که در فاصله ای معین، در کنار هم قرار گرفته اند) از یکدیگر دور نمایند. اینگونه آنتی بادهای با اتصال به گلبولهای قرمز آنها را حساس می نمایند، اما قادر نیستند واکنش آگلوتیناسیون قابل مشاهده، ایجاد نمایند. برای شناسایی حضور احتمالی این نوع آنتی بادهای در سرم شخص گیرنده، در فاز سوم آزمایش کراس میج، از معرف کومبس (آنتی هیومن) استفاده می شود (شکل زیر).



مطالب این قسمت با همکاری آقای پیمان عکاشه تهیه شده است.