

# خون

فصلنامه علمی پژوهشی  
دوره ۷ شماره ۱ بهار ۸۹ (۵۴-۴۸)

مقاله پژوهشی

## ارزیابی مجدد قدرت آگلوتیناسیون معرفه‌های گروه‌های خونی Anti-A و Anti-B محصول شرکت پالایش و پژوهش خون، نسبت به استانداردهای بین‌المللی WHO

علی طالبیان<sup>۱</sup>، علیرضا شفایی<sup>۲</sup>، مجتبی شرفی<sup>۳</sup>، سعید ریوندی<sup>۴</sup>، لیدا جلیلی<sup>۵</sup>، طیبه فتاحیان<sup>۶</sup>

### چکیده

#### سابقه و هدف

آنچه با دادهای سیستم ABO، به طور مستقیم و بدون هر گونه نیازی به تقویت کننده واکنش، سوسپانسیون گلوبول‌های قرمز در سرم فیزیولوژی را آگلوتینه می‌کنند. در این مطالعه قدرت عیار معرفه‌های گروه‌های خونی Anti-A و Anti-B تولیدی شرکت پالایش و پژوهش خون، نسبت به حداقل قدرت آگلوتیناسیون استانداردهای بین‌المللی WHO به روش هماگلوتیناسیون در لوله آزمایش ارزیابی شد.

#### مواد و روش‌ها

مطالعه انجام شده از نوع تجربی بود. براساس دستورالعمل استانداردهای فوق، رقت‌های مذکور به عنوان رقت‌های مبنا در تیتراسیون نمونه‌های مورد آزمایش در نظر گرفته شدند. از استانداردهای رقیق شده فوق و از معرفه‌های گروه‌های خونی شرکت، رقت‌های سریال تهیه گردید. یک حجم از هر غلظت مبنا و رقت‌های تهیه شده، با یک حجم از سوسپانسیون ۲٪ از سلول‌های A<sub>1</sub>، A<sub>2</sub>، A<sub>2</sub>B و B در لوله‌های آزمایش مخلوط گردید و بعد از انکوباسیون لازم و سانتریفیوژ، عیار آگلوتیناسیون معرفه‌های مختلف مورد آزمایش نسبت به استانداردهای مذکور در لوله آزمایش به روش چشمی سنجیده شد.

#### یافته‌ها

بر اساس نتایج به دست آمده از آزمایش‌های انجام شده، عیار نمونه‌های مربوط به شرکت پالایش و پژوهش خون، درست مطابق با حداقل عیار استاندارد رقیق شده WHO است. بنابراین این محصولات از کیفیت قابل قبول و از واکنش‌های مطلوبی برخوردار می‌باشند.

#### نتیجه گیری

کیفیت معرفه‌های گروه‌های خونی، یک عامل مهم در تضمین سلامتی انتقال خون می‌باشد. آزمایش آگلوتیناسیون روش قابل اطمینانی برای تعیین کیفیت این معرفه‌ها نیست، ولی با به کارگیری استانداردهای بین‌المللی، مشکل فوق تا حد زیادی مرتفع می‌شود.

**کلمات کلیدی:** معرفه‌ها، آگلوتیناسیون، استاندارد

تاریخ دریافت: ۱۴۰۷/۰۲/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۷/۱۰/۱۴

۱- مؤلف مسؤول: متخصص آسیب‌شناسی - شرکت پالایش و پژوهش خون - صندوق پستی: ۳۶۹-۱۴۶۶۵

۲- دکترای علوم آزمایشگاهی - شرکت پالایش و پژوهش خون

۳- کارشناس ارشد میکروب شناسی پزشکی - شرکت پالایش و پژوهش خون

۴- کارشناس میکروب شناسی - شرکت پالایش و پژوهش خون

۵- کارشناس علوم آزمایشگاهی - شرکت پالایش و پژوهش خون

## مقدمه

مطابق نظریه لنداشتاینر، به طور طبیعی تمامی افراد علیه آنتیژن‌هایی از سیستم ABO که خود فاقد آنها می‌باشد، دارای آنتی‌بادی هستند. از آن جایی که آنتی‌بادی‌های ABO در افراد سالم وجود دارند، قانون لنداشتاینر به عنوان یک قاعده اساسی در انتخاب فرآورده‌های خونی (به هنگام تزریق) در نظر گرفته می‌شود. آنتی‌بادی‌های ABO به طور طبیعی در افرادی که هیچ‌گونه سابقه دریافت خون نداشته‌اند نیز حضور دارند.

در حال حاضر فرض بر این است که در طبیعت، ساختارهایی مشابه با آنتیژن‌های A و B در باکتری‌ها، گیاهان و گردش گل‌ها وجود دارد که به دنبال تماس نوزاد با این آنتیژن‌های محیطی، به تدریج افراد طی فرآیندی به صورت ایمونولوژیک به آن‌ها پاسخ داده، آنتی‌بادی‌های ABO قابل تشخیص در پلاسمما و سرم آن‌ها تولید می‌شوند. عیار آنتی‌بادی، عبارت است از حداقل میزانی از یک آنتی‌بادی که می‌تواند رقیق شود و توانایی آگلوتیناسیون با آنتیژن را از دست ندهد.

آنتی A در افراد گروه B، آنتی B در افراد گروه A و آنتی A و B در افراد گروه O تولید می‌شود و عمدها شامل آنتی‌بادی‌هایی از کلاس IgM و به میزان بسیار کمی IgG می‌باشند. در عوض آنتی‌بادی‌های موجود در سرم افراد گروه خونی O (آنتی A، B)، به طور عمده از کلاس IgG هستند.

آنتی‌بادی‌های سیستم ABO به طور مستقیم و بدون هر گونه نیازی به تقویت‌کننده واکنش، سوسپانسیون گلبول‌های قرمز در سرم فیزیولوژی را آگلوتینه می‌کنند. واکنش مطلوب این آنتی‌بادی‌ها با سانتریفوژکردن در دور بالا و در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) رخ می‌دهد و نیازی به انکوباسیون ۳۷ درجه سانتی‌گراد نداشته و بی‌درنگ پس از مرحله سانتریفوژ، قابل مشاهده می‌باشد (۱).

مطالعه حاضر به منظور ارزیابی مجدد معرفه‌ای Anti-A و Anti-B تولیدی شرکت پالایش و پژوهش خون (نمونه‌های آرشیو) با معرفه‌های مشابه شرکت‌های بیوتست و لورن (به عنوان شاهد کترولی تجاری)، نسبت به

استانداردهای WHO انجام شده است (۲).

## مواد و روش‌ها

مطالعه انجام شده از نوع تجربی بود. استانداردهای مورد استفاده در این تحقیق، استانداردهای WHO بود که آن توسط آزمایشگاه مرجع گروه خونی بین‌المللی IgM بریستول انگلستان از مایع رویی کشت حاوی منوکلونال موشی و آن در بیوساینس انگلستان از مایع رویی کشت حاوی IgM منوکلونال موشی در داخل آمپول‌های شیشه‌ای به مقدار ۱ میلی‌لیتر در هر آمپول و به صورت لیوفیلیزه تهیه شده و به نام استانداردهای WHO به شماره‌های ۰۳/۱۸۸ NIBSC و ۰۳/۱۶۴ NIBSC ارایه گردیده است.

بخش کنترل کیفی شرکت پالایش و پژوهش خون نیز در راستای همسان‌سازی آزمایش‌های خود با استانداردهای بین‌المللی و در جهت اطمینان از صحت آزمایش‌ها و کیفیت آنتی‌سرم‌های گروه‌بندی خون تولیدی شرکت، نسبت به تهیه استانداردهای فوق اقدام نمود. بعد از وصول استانداردهای مذکور، بر اساس دستورالعمل‌های موجود آن‌ها، مواد داخل آمپول‌ها در آب مقطر به حالت محلول در آمد و سپس با استفاده از سرم فیزیولوژی حاوی ۲ گرم سرم آلبومین گاوی در ۱۰۰ میلی‌لیتر، استاندارد A (NIBSC ۰۳/۱۸۸) به نسبت ۱ به ۸، یعنی ۱ حجم از استاندارد حل شده به اضافه ۷ حجم سرم فیزیولوژی حاوی ۲٪ آلبومین گاوی و استاندارد B به نسبت ۱ به ۴ یعنی ۱ حجم از استاندارد B با ۳ حجم سرم فیزیولوژی حاوی ۲٪ سرم آلبومین گاوی رقیق شده، به عنوان غلاظت مبنا مورد استفاده قرار گرفت. سپس با استفاده از سرم فیزیولوژی حاوی ۰.۲٪ آلبومین گاوی، دو سری رقت از استاندارد A (شروع رقت، با غلاظت ۱ در ۸) برای هر سوسپانسیون سلولی و دو سری رقت از هر معرف گروه خونی Anti-A مورد آزمایش برای هر سوسپانسیون سلولی تهیه شد. بعد به غلاظت شروع و به هر رقت تهیه شده در لوله‌های آزمایش، به اندازه هم حجم خود از سوسپانسیون سلولی A<sub>1</sub>، A<sub>2</sub> و A<sub>2</sub>B تهیه شده در سرم فیزیولوژی اضافه و در دمای اتاق (۲۵-۲۵ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۵ دقیقه قرار داده شد.

آزمایش برای تمام نمونه‌ها، در تهیه رقت‌های سریال معرفه‌های بیوست و لورن، به جای استفاده از سرم فیزیولوژی حاوی آلبومین گاوی٪۲، سرم فیزیولوژی بدون آلبومین گاوی به کار برده شد.

#### یافته‌ها

قدرت آگلوتیناسیون معرفه‌های خونی تولیدی شرکت پالایش و پژوهش خون با نمونه‌هایی از محصولات شرکت‌های بیوست و لورن و استانداردهای WHO مورد مقایسه قرار گرفتند(جدوال ۱ و ۲). در جدول ۱ که مربوط به معرف Anti-A می‌باشد، نتایج حاصله از تیتراسیون استاندارد رقیق شده WHO و معرفه‌های شرکت‌های خارجی و معرف شرکت پالایش و پژوهش خون مشابه بوده و آخرين لوله دارای آگلوتیناسیون قابل رویت، لوله شماره ۱۱ بود.

در جدول ۲ نتایج به دست آمده از مقایسه قدرت آگلوتیناسیون معرفه‌های Anti-B تولیدی شرکت پالایش و پژوهش خون، استاندارد WHO و محصولات شرکت بیوست و لورن درج شده است. در این جدول نتایج حاصل از تیتراسیون معرفه‌های فوق و استاندارد WHO مشابه بوده و آخرين لوله دارای آگلوتیناسیون قابل رویت لوله شماره ۱۰ بود.

بنابراین با توجه به نتایج جداول ۱ و ۲، قدرت آگلوتیناسیون معرفه‌های شرکت پالایش و پژوهش خون از کیفیت مطلوب و قابل قبولی برخوردار می‌باشند. میزان آگلوتیناسیون موجود در هر لوله، +۱ تا +۴ درجه‌بندی شد(جدول ۳).

#### بحث

هدف از انجام آزمایش‌های سرولوژی، ایجاد واکنش اختصاصی بین آنتی‌زن و آنتی‌بادی در محیط آزمایشگاه می‌باشد. در این آزمایش‌ها، آنتی‌بادی‌ها و آنتی‌زن‌های گلbulول‌های قرمز به هم متصل می‌شوند و واکنشی به نام آگلوتیناسیون را طی دو مرحله به وجود می‌آورند؛ مرحله اول، حساس شدن سلول‌ها هنگام اتصال آنتی‌بادی به آن‌ها و مرحله دوم ایجاد پل بین آنتی‌زن و آنتی‌بادی و در نهایت مشاهده واکنش آگلوتیناسیون می‌باشد.

در مورد معرفه‌های گروه خونی B مورد آزمایش نیز مثل گروه خونی A عمل گردید، با این تفاوت که در این مورد از استاندارد ۰۳/۱۶۴ NBISC با غلظت شروع ۱در ۴ (حجم استاندارد به اضافه ۳ حجم سرم فیزیولوژی حاوی٪۲ آلبومین گاوی) استفاده شد و مطابق روش بالا از استاندارد و معرفه‌های گروههای خونی مورد آزمایش، از هر کدام دو سری رقت سریال تهیه گردید.

سپس به هر کدام از لوله‌ها معادل حجم محتويات داخل آن، سوسپانسیون ٪۲ (حجم در حجم) گلbulول‌های قرمز گروه B اضافه شد و بعد از به هم زدن محتويات لوله‌ها، به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق ۱۹-۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند، بعد از ۵ دقیقه لوله‌ها به مدت ۱ دقیقه در دور سانتریفوژ، سلول‌های ته نشین شده، با چند تکان آرام از ته لوله‌ها کنده شده و به روش چشمی مورد مطالعه قرار گرفتند و در پایان میزان آگلوتیناسیون موجود در هر لوله، از +۱ تا +۴ درجه‌بندی شد. سری‌هایی از تولیدات این شرکت برای مطالعه انتخاب شد که در برخی از آزمایشگاه‌ها نتایج تیتراسیونی متفاوت را نشان داده بودند. نمونه‌های Anti-A به شماره ۱۱.mAbA12 ۸۷ .mAbA13 ۸۷ .mAbA14 ۸۷ .mAbA11 ۸۷ از محصولات شرکت پالایش و پژوهش خون و نمونه‌ای از محصولات کمپانی بیوست آلمان به شماره سری ساخت OAM ۰۷۱ و نمونه‌ای از کمپانی لورن انگلستان به شماره سری ساخت D ۶۰۰۷۴، به همراه استاندارد(NIBCS) شماره سری ساخت ۰۳/۱۸۸ و نیز ۸۷ mAbB09 معرفه‌های Anti B شماره ۱۱.mAbB10 ۸۷ mAbB11 ۸۷ mAbB12 ، ۸۷ mAbB13 ، ۸۷ mAbB12 و ۸۷ mAbB10 از محصولات شرکت پالایش و پژوهش خون، با نمونه‌ای از بیوست به شماره سری ساخت ۰۷۷ OBM و نمونه‌ای از کمپانی لورن به شماره سری ساخت J ۶۱۰۱۰۳ به همراه استاندارد B (NIBSC) به شماره سری ساخت ۰۳/۱۶۴ آزمایش شدند.

لازم به ذکر است که به دلیل وجود آلبومین گاوی در محصولات شرکت‌های بیوست و لورن (بر اساس بروشورهای معرفه‌ها) و به جهت همسان‌سازی شرایط

جدول ۱: مقایسه حداقل قدرت آگلوتیناسیون معرفه‌های مختلف Anti-A با استاندارد بین‌المللی (WHO (NIBSC)

۱۵	۱۴	۱۳	۱۲	۱۱	۱۰	۹	۸	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱	
-	-	-	-	۱ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۳ <sup>+W</sup>	۳ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۸۷.mAbA11	A <sub>1</sub>
-	-	-	-	۱ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۳ <sup>+W</sup>	۳ <sup>+W</sup>	۳ <sup>+</sup>	۳ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۸۷.mAbA11	A <sub>2</sub>
-	-	-	-	۱ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۳ <sup>+W</sup>	۳ <sup>+</sup>	۳ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۸۷.mAbA11	A <sub>2B</sub>
-	-	-	-	۱ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۳ <sup>+W</sup>	۳ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۸۷.mAbA12	A <sub>1</sub>
-	-	-	-	۱ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۳ <sup>+W</sup>	۳ <sup>+</sup>	۳ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۸۷.mAbA12	A <sub>2</sub>
-	-	-	-	۱ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۳ <sup>+W</sup>	۳ <sup>+</sup>	۳ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۸۷.mAbA12	A <sub>2B</sub>
-	-	-	-	۱ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۳ <sup>+W</sup>	۳ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۸۷.mAbA13	A <sub>1</sub>
-	-	-	-	۱ <sup>+W</sup>	۲ <sup>+W</sup>	۲ <sup>+</sup>	۳ <sup>+W</sup>	۳ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۸۷.mAbA13	A <sub>2</sub>
-	-	-	-	۱ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۳ <sup>+W</sup>	۳ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۸۷.mAbA13	A <sub>2B</sub>
-	-	-	-	۱ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۳ <sup>+W</sup>	۳ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۸۷.mAbA14	A <sub>1</sub>
-	-	-	-	۱ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۳ <sup>+W</sup>	۳ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۸۷.mAbA14	A <sub>2</sub>
-	-	-	-	۱ <sup>+W</sup>	۲ <sup>+W</sup>	۲ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۳ <sup>+W</sup>	۳ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۸۷.mAbA14	A <sub>2B</sub>
-	-	-	-	۱ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۳ <sup>+W</sup>	۳ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	I.DIAGNOSTIK A	A <sub>1</sub>
-	-	-	-	۱ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۳ <sup>+W</sup>	۳ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	I.DIAGNOSTIK A	A <sub>2</sub>
-	-	-	-	۱ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۳ <sup>+W</sup>	۳ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	I.DIAGNOSTIK A	A <sub>2B</sub>
-	-	-	-	۱ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۳ <sup>+W</sup>	۳ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	Lorne	A <sub>1</sub>
-	-	-	-	۱ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۳ <sup>+W</sup>	۳ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	Lorne	A <sub>2</sub>
-	-	-	-	۱ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۳ <sup>+W</sup>	۳ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	Lorne	A <sub>2B</sub>
-	-	-	-	۱ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۳ <sup>+W</sup>	۳ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	NIBSC	A <sub>1</sub>
-	-	-	-	۱ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۳ <sup>+W</sup>	۳ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	NIBSC	A <sub>2</sub>
-	-	-	-	۱ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۳ <sup>+W</sup>	۳ <sup>+</sup>	۳ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	NIBSC	A <sub>2B</sub>

جدول ۲: مقایسه حداقل قدرت آگلوتیناسیون معرفه‌های مختلف Anti-B با استاندارد بین‌المللی (WHO (NIBSC)

۱۳	۱۲	۱۱	۱۰	۹	۸	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱		
-	-	-	۱ <sup>+</sup>	۱ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۳ <sup>+</sup>	۳ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۸۷.mAbB09	B				
-	-	-	۱ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۳ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۸۷.mAbB10	B
-	-	-	۱ <sup>+</sup>	۲ <sup>+W</sup>	۲ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۳ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۸۷.mAbB11	B				
-	-	-	۱ <sup>+</sup>	۱ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۳ <sup>+W</sup>	۳ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۸۷.mAbB12	B				
-	-	-	۱ <sup>+</sup>	۱ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۳ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۸۷.mAbB13	B
-	-	-	۱ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۳ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	I.DIAGNOSTIKA	B
-	-	-	۱ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۳ <sup>+W</sup>	۳ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	Lorne	B				
-	-	-	۱ <sup>+</sup>	۱ <sup>+</sup>	۲ <sup>+</sup>	۳ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	۴ <sup>+</sup>	NIBSC	B

## جدول ۳. درجه‌بندی قدرت آگلوتیناسیون در لوله‌های آزمایش

درجه آگلوتیناسیون	شكل ظاهری توده‌های آگلوتینه در داخل لوله آزمایش
-	مخلوط کاملاً هموژن بوده و در آن کلیه سلول‌ها در محلول رویی به صورت آزاد و شناور هستند.
۱+	وجود توده‌های بسیار ریز که با چشم غیر مسلح به سختی دیده می‌شوند و زمینه قرمز دارند.
۲+	وجود توده‌های کوچک که به راحتی با چشم غیر مسلح دیده می‌شوند و زمینه قرمز دارند.
۳+	وجود چندین توده نسبتاً بزرگ با زمینه شفاف
۴+	وجود یک یا دو توده بزرگ با زمینه شفاف

مورد آزمایش، در نظر گرفته می‌شود(۴). در شرکت پالایش و پژوهش خون به همراه استانداردهای WHO، چند نمونه از تولیدات خود شرکت و معرفه‌هایی از کمپانی بیوتست آلمان و لورن انگلیس به صورت موازی، با تهیه رقت‌های سریال و به روش هماگلوتیناسیون جهت ارزیابی حداقل عیار معرفه‌های تولیدی شرکت، نسبت به استانداردهای مذکور مورد آزمایش قرار گرفت. بنا به دستورالعمل استانداردهای فوق، غلظت شروع تیتراسیون برای استاندارد A، ۱ به ۸ و برای استاندارد B غلظت ۱ به ۴، منظور گردید. این رقت‌ها با سرم فیزیولوژی حاوی سرم آلبومین گاوی ٪/۲ (وزن در حجم) برای معرفه‌های استاندارد و معرفه‌های شرکت پالایش و پژوهش خون و با سرم فیزیولوژی بدون آلبومین گاوی برای معرفه‌های شرکت‌های بیوتست و لورن(به دلیل وجود آلبومین افزوده شده در معرفه‌های مذکور) تهیه شد، سپس از نمونه‌های مورد آزمایش و استانداردها، با استفاده از سرم فیزیولوژی حاوی ٪/۲ سرم آلبومین گاوی، رقت‌های سریال تهیه گردیده، به داخل هر لوله آزمایش، به اندازه محتویات هم حجمش از سوسپانسیون ٪/۲ گلbulهای قرمز اضافه کرده و بعد از به هم زدن محتویات لوله‌ها، به مدت ۵ دقیقه در هوای اتاق قرار داده شد.

سپس به مدت ۱ دقیقه در دور ۱۰۰۰ (۱۰۰ - ۱۲۵ g) سانتریفیوژ شد و ایجاد آگلوتیناسیون به روش چشمی بررسی گردید. بر اساس جدول ۳، میزان آگلوتیناسیون ایجاد شده درجه‌بندی شد و آخرین رقتی که در آن به طریق چشمی به میزان(+) آگلوتیناسیون مشاهده می‌شد، به عنوان تیتر نهایی محصول در نظر گرفته شد(۵).

بر اساس نتایج به دست آمده از آزمایش‌های انجام شده

عوامل مختلفی باعث افزایش و یا کاهش میزان و شدت آگلوتیناسیون می‌گردند(۳).

باندهای مختلف هیدروژنی، باندهای آب گریز، باندهای الکترواستاتیک و باندهای واندروالسی در ایجاد شبکه بین آنتی‌ژن و آنتی‌بادی دخیل‌اند و ضریب ثابت میل ترکیبی (Affinity constant) که آن را با  $K_o$  نشان می‌دهند، قدرت و سرعت این اتصال را تعیین می‌کند، به طوری که هر چه  $K_o$  بیشتر باشد، قدرت و سرعت اتصال بین آنتی‌ژن و آنتی‌بادی افزون‌تر می‌گردد. عوامل متعددی از جمله دما، pH، قدرت یونی محیط آزمایش، زمان انکوباسیون و میزان غلظت‌های آنتی‌ژن و آنتی‌بادی بر  $K_o$  تاثیرگذار هستند(۳).

به منظور بررسی کیفیت معرفه‌های گروههای خونی تولیدی شرکت پالایش و پژوهش خون ایران، آزمایش‌های متعددی صورت می‌گیرد که یکی از آن‌ها بررسی قدرت عیار این معرفه‌ها به روش هماگلوتیناسیون می‌باشد. در آن روش از معرف مورد آزمایش و نمونه کنترل مناسب، رقت‌های سریال(دو ردیف) تهیه و با استفاده از سوسپانسیون سلولی ٪/۲ (حجمی) در سرم فیزیولوژی، از گروه A<sub>1</sub> و A<sub>2</sub> و B برای کنترل معرف Anti-A و سوسپانسیون سلولی ٪/۲ گروه B (حجمی) در سرم فیزیولوژی، به اندازه هم حجم معرف و یا سرم کنترل مصرفی هر لوله، به لوله‌ها سوسپانسیون سلولی اضافه کرده، به مدت یک ساعت در دمای اتاق قرار داده می‌شود. در پایان به روش چشمی، آگلوتیناسیون ایجاد شده بررسی و بر اساس جدول ۱ به لوله‌های دارای آگلوتیناسیون، از ۴+ تا ۱+ نمره داده می‌شود.

از این طریق، عیار آخرین لوله‌ای که دارای آگلوتیناسیون ۱+ می‌باشد، به عنوان قدرت عیار(بالاترین عیار) معرف

### نتیجه‌گیری

همان گونه که قبلًاً اشاره شد، نحوه نمونه‌برداری و تهیه رقت‌های سریال، قدرت بینایی فرد و نحوه درجه‌بندی قدرت آگلوبیناسیون، از یک فرد به فرد دیگر متفاوت می‌باشد. بنابراین، نتایج به دست آمده از آزمایش‌های تیتراسیون یکسان نیست. برای رفع این مشکل و کاهش خطاهای احتمالی در خواندن نتایج تیتراسیون و گزارش‌دهی آن‌ها، پیشنهاد می‌گردد مسؤولین امر با تهیه و توزیع استانداردهای معرفه‌ای گروه‌های خونی معروفی شده از طرف WHO در بین آزمایشگاه‌های مرجع، به همسان‌سازی و شفاف‌تر شدن نتایج آزمایش‌های تیتراسیون در سطح کشور کمک استفاده، کمک نمایند.

### تشکر و قدردانی

به جاست تا بدین‌وسیله از آقایان دکتر ابوفضلی، دکتر مایکل کلافت، دکتر علیرضا آبایی، لطیف حمیدپور زارع، ناصر نصرتی و هم چنین از پرسنل زحمتکش واحد تولید شرکت پالایش و پژوهش خون به لحاظ در اختیار قرار دادن معرفه‌ای گروه‌های خونی مونوکلونال مورد آزمایش، تشکر و قدردانی گردد.

که طی جداول ۱ و ۲ ارایه گردیده‌اند، عیار نمونه‌های مربوط به شرکت پالایش و پژوهش خون، درست مطابق با عیار استاندارد رقیق شده WHO است. بنابراین، این محصولات از کیفیت قابل قبول و از واکنش‌های مطلوبی برخوردار می‌باشند.

با توجه به این که در ساخت محصولات شرکت‌های بیوتست و لورن، آلبومین گاوی به کار رفته است (طبق بروشورهای معرفه‌ها) و معرفه‌های شرکت پالایش و پژوهش خون عاری از آلبومین گاوی می‌باشد، لذا برای همسان‌سازی شرایط آزمایش، در تهیه رقت‌های سریال نمونه‌های شرکت پالایش و پژوهش خون، از سرم فیزیولوژی حاوی ۲٪ آلبومین گاوی استفاده شد، ولی برای تهیه رقت‌های سریال معرفه‌های بیوتست و لورن، سرم فیزیولوژی بدون آلبومین گاوی به کار برده شد. نتایج به دست آمده نشان داد که چنانچه محصولات شرکت‌های بیوتست و لورن نیز عاری از آلبومین گاوی باشند، حداقل قدرت آگلوبیناسیون محصولات شرکت پالایش و پژوهش خون با عیار محصولات شرکت‌های مذکور برابری می‌نماید.

### References :

- 1- Pourfatholah AA, Maleki A, Kiani AS. Basic and Applied Concept of Immunohematology. Boshra and IBTO; 2004. p.105-6.
- 2- Holburn AM, Moore BPL, West ASD, Lema RA, Kasili EG, Cazal P, Lothe F, Von Steffens E on behalf of the World Health Organization, League of Red Cross Societies and International Society of Blood Transfusion: The production of ABO and D (Rho) grouping reagents. LAB/81.1. Reagents for the 1990s. Blood Bank Reagents Standards Workshop, Bethesda MD, National Institutes of Health, 1990.
- 3- Roback J, Combs MR, Grossman BJ, Hillyer CD. Technical Manual. 16th ed. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks; 2008. p. 443-4.
- 4- Harmening DM. Modern Blood Banking And Transfusion Practices. 5th ed. Philadelphia: FA. Davis Company; 2008. p. 679.
- 5- Thorpe SJ, Fox B, Heath AB, Scott M, de Haas M, Kochman S, et al. International standards for minimum potency of anti-A and anti-B blood grouping reagents: evaluation of candidate preparations in an international collaborative study. Vox Sang 2006; 91(4): 336-44.

*Original Article*

## Re-evaluation of potency of IBRF-manufactured anti-A and anti-B blood grouping reagents against the new WHO international minimum potency standards

**Talebian A.<sup>1</sup>, Shafei A.R.<sup>1</sup>, Sharafi M.<sup>1</sup>, Rivandi S.<sup>1</sup>, Jalili L.<sup>1</sup>, Fattaheian T.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Iranian Blood Research and Fractionation Holding Company (IBRF), Tehran, Iran

### **Abstract**

#### **Background and Objectives**

ABO blood group system antibodies agglutinate red blood cell suspension in physiologic serum directly without any reaction booster. In the present study the potency of IBRF-manufactured anti-A and anti-B blood grouping reagents by the hemagglutination method in test tube was reassessed against the new WHO international minimum potency standards.

#### **Materials and Methods**

In this experimental study, starting concentrations defined in WHO standards were used in titration. Doubled dilution series of WHO standards (from starting concentrations) and IBRF blood grouping reagents (from neat) were prepared by using buffered saline containing 2% BSA as diluent. One volume of each starting concentration together with one volume of prepared dilutions were mixed with one volume of a 2% suspension of A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>2</sub>B, and B cells in glass test tubes, respectively. After appropriate incubation and centrifugation of the tests according to specified criteria, the reactions were graded macroscopically.

#### **Results**

The results showed that the IBRF anti-A and anti-B blood grouping reagents comply with the minimum WHO standard dilution. Consequently, IBRF anti-A and anti-B blood grouping reagents were shown to be safe for screening and diagnostic purposes.

#### **Conclusions**

The quality of blood grouping reagents is clearly an important factor for safe blood transfusion. Routine titration tests are not reliable methods for evaluation of those reagents. Fortunately, this problem would be solved using the above standards. This recommended method is provided to help assist manufacturers in pursuing new product license applications and making amendments in existing ones.

**Key words:** Reagents, Agglutination, Standards

*Sci J Iran Blood Transfus Org 2010; 7(1): 48-54*

*Received: 2 May 2009*

*Accepted: 4 Jan 2010*

---

*Correspondence:* Talebian A., MD. Pathologist. Iranian Blood Research and Fractionation Holding Company. P.O. Box: 14665-369, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 88613424-25; Fax: (+9821) 88613410  
E-mail: [Talebian@ibto.ir](mailto:Talebian@ibto.ir)