**40.آنتي سرم ها**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **اسم آزمایشگاه:** | آزمایشگاه نوبل اصفهان | |
| **اسم سند:** | **دستورالعمل و کنترل کيفي آنتي سرم ها** | |
| **کد سند:** | D-003-0054 | |
| **دسته بندی سند:** | دستورالعمل و کنترل کیفی مواد و تست های تشخیصی | |
| **شماره ویرایش:** | ویرایش 1 | |
| **تاریخ ویرایش:** | 01/02/1403 | |
| **تاریخ بازنگری سند:** | 01/02/1404 | |
| **تهیه کننده:** | **تایید کننده:** | **امضاء :** |
| شرکت دارا ویرا آزما  دکتر داریوش شکری |  |  |

**(1) هدف:**

هدف تشریح روش کنترل کیفی و کار با آنتی سرم ها در آزمایشگاه میکروب شناسی.

**(2) مسئولیت ها:**

انجام روزانه تست های آنتي سرم ها برای باکتری هایی که برای آنها آنتی سرم موجود است و مسئولیت کنترل کیفی بر عهده تمامی پرسنل بخش می باشد.مسئولیت نظارت بر کنترل کیفی و تأیید مستندات آن بر عهده مسئول بخش و واحد کنترل کیفی و تضمین کیفیت می باشد.

**(3) تعاریف و اصطلاحات:**

**آنتی سرم** یکی از مواد پرکاربرد در صنعت آزمایشگاهی است که در بخش میکروب شناسی برای غربال گری کلنی باکتریایی و در نتیجه تشخیص عوامل باکتریایی کاربرد دارد. امروزه از آنتی سرم های مختلف در آزمایشگاه‎های ویروس شناسی و میکروبی جهت شناسایی و تشخیص انواع مختلفی از بیماری‏ها استفاده می‌شود.در بخش باکتری شناسی این آزمایش بیشتر برای تعیین سروگروه (Serogrouping) باکتری ها (برای مثال در مورد سالمونلا) و گاهی برای تأیید شناسایی گونه باکتری (مانند شیگلا) کاربرد دارد.

**لیست آنتی سرم ها**

* مجموعه آنتی سرم های شیگلا
* مجموعه آنتی سرم های سالمونلا
* آنتی سرم اشریشیاکلی سویه O157 هموراژیک

شیگلا دارای چهار گونه اصلی است که معمولاْ آنتی سرم های آنها به صورت پلی والان بر اساس این چهار گروه ساخته می شوند: آنتی سرم A برای تشخیص گونه دیسانتری، گروه B‌ برای تشخیص گونه فلکسنری، گروه C‌ برای تشخیص گونه بوئیدی و گروه D برای تشخیص گونه سونئی کاربرد دارد. برای تشخیص سروتیپ های این گروه ها نیاز به آنتی سرم های منووالان می باشد که معمولاً در آزمیشگاههای معمولی موجود نیستند و باید برای آزمایشگاههای رفرانس ارسال شوند.

جنس سالمونلا شامل دو گونه است سالمونلا بونگری (بیش از 20 سروتیپ) و سالمونلا انتریکا (بیش از 2500 سروتیپ) که خود به 6 زیرگروه تقسیم می شود. سروتیپ‌های زیرگونه انتریکا 5/99٪ از سویه‌های جدا شده را تشکیل می‌دهند. در طرح کافمن-وایت، سروتیپ‌ها بر اساس ترکیب آنتی‌ژن‌های سوماتیک (O) و آنتی‌ژن‌های تاژکی (H) سالمونلا طبقه‌بندی می‌شوند. این فرمول آنتی‌ژنی با استفاده از سرم‌های آگلوتینه‌کننده (آنتی‌ژن O و آنتی‌ژن H) تعیین می‌شود.

**(4) شرح دستورالعمل:**

**روش انجام آزمایش:**

1. یک قطره آنتی سرم (حدود 05/0 میلی لیتر) یا μl 10 روی یک طرف لام قرار گرفته بر روی یک صفحه سیاه قرار دهید.می توان از صفحات سیاه رنگ مخصوص واکنش آگلوتیناسیون استفاده نمود.
2. به عنوان کنترل منفی یک قطره سرم فیزیولوژی روی طرف دیگر لام، برای بررسی اتوآگلوتیناسیون یا خشن بودن کلنی ها قرار دهید.
3. ازکلنی های خالص و ۱۸ تا ۲۴ساعته سویه کنترل روی محیط غیرانتخابی مانند بلادآگار یا TSA، سوسپانسیون یکنواخت حدود ۲ تا ۳ مک فارلند در هر قطره تهیه نمایید. با اپلیکاتور چوبی یا لوپ آنرا کامل مخلوط کنید.
4. لام را به مدت 10 ثانیه تا ۱دقیقه (مطابق دستورالعمل سازنده) به عقب و جلو بچرخانید.
5. واکنش آگلوتیناسیون را در زیر نور کافی (چراغ مطالعه) با پس زمینه تیره بررسی نمایید.

**(5) نتایج مورد انتظار:**

الف) قطره سرم فیزیولوژی باید فاقد آگلوتیناسیون باشد، تا نتیجه قطره آنتی سرم قابل اطمینان محسوب شود.

ب) اگر در قطره سرم فیزیولوژی ذرات لخته ایجاد شود، واکنش آگلوتیناسیون خودبه خودی است که به علت کلنی خشن (Rough) ایجاد می شود. در این صورت تشکیل ذرات آگلوتیناسیون در قطره آنتی سرم فاقد ارزش است.

ج) اگر قطره سوسپانسیون سرم فیزیولوژی یکنواخت بوده و فاقد ذرات اتوآگلوتیناسیون باشد و در قطره آنتی سرم ذرات 6آگلوتیناسیون تشکیل شود، واکنش مثبت می باشد.

**(6) گزارش نتایج:**

شدت آگلوتیناسیون قرائت و می توان آن را مطابق جدول زیر ثبت نمود.

|  |  |
| --- | --- |
| درصد آگلوتیناسیون (٪) | گزارش |
| 100 | +4 |
| 75 | +3 |
| 50 | +2 |
| 25 | +1 |
| 0 | 0 |

**(7) کنترل کيفي**:

* **زمان انجام:** هر سری ساخت و خرید، و سپس هر شش ماه یک بار به انجام می رسد. اگر از کیفیت آنتی سرم مطمئن نیستید ممکن است هر سه ماه یک بار کنترل کیفی به انجام برسد.
* با بررسی چشمی یک قطره ازآنتی سرم روی لام،آنتی سرم باید شفاف بوده و فاقد هرگونه ذره باشد.
* آزمایش کنترل کيفي به روش آگلوتیناسیون بر روی لام یا صفحات مخصوص آگلوتیناسیون به انجام می رسد.
* آزمایش حداقل یک سویه کنترل مثبت و یک سویه کنترل منفی باید برای بررسی خصوصیت و شدت آگلوتیناسیون آنتی سرم انجام شود.
* آزمون کنترل کیفیت آنتی سرم با سویه های کنترل باید مطابق روش انجام آزمایش و کاملاً منطبق با دستورالعمل شرکت سازنده باشد.
* نتایج همه واکنش ها ثبت می گردد.

**روش انجام کنترل کیفی:** عیناً مشابه روش گفته شده در روش انجام آزمایش به انجام می رسد فقط به جای سویه مورد آزمایش از یک سویه کنترل مثبت و یک سویه کنترل منفی استفاده می شود.

برای مثال کنترل کیفی آنتی سرم های شیگلا در جدول زیر آمده است:

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **ارگانیسم کنترل (ATCC)** | **نتیجه مورد انتظار (معیار پذیرش)** | | | |
| آنتی سرم شیگلا پلی گروه A (دیسانتری) | آنتی سرم شیگلا پلی گروه B (فلکسنری) | آنتی سرم شیگلا پلی گروه C (بوئیدی) | آنتی سرم شیگلا پلی گروه D (سونئی) |
| شیگلا دیسانتری (ATCC 13313) | **مثبت** | منفی | منفی | منفی |
| شیگلا فلکسنری ATCC12022 | منفی | **مثبت** | منفی | منفی |
| شیگلا بوئیدی (ATCC 8700/ 9905) | منفی | منفی | **مثبت** | منفی |
| شیگلا سونئی (ATCC 9290/ 25931) | منفی | منفی | منفی | **مثبت** |

**(8) ملاحظات ایمنی:**

چون آزمایش آنتی سرم معمولاً برای باکتری های پرخطر استفاده می شود، باید در زیر هود بیولوژیک به انجام برسد.

**(9) محدوديت ها و تداخلات:**

انجام آزمایش آنتی سرم به تنهایی برای شناسایی باکتری ها کاربرد ندارد و بایستی قبل از انجام آن از تست های روتین بیوشیمیایی استفاده شده باشد.

**(10) مستندات و سوابق :**

فرم سوابق یاLog book کنترل کیفی آنتی سرم ها، عدم انطباق ها و اقدامات اصلاحی.

**(11) منابع**:

1. کتاب آزمایشگاه باکتری شناسی پزشکی. جلد اول: تشخیص. دکتر داریوش شکری و همکاران. انتشارات تیمورزاده نوین و کیا. 1402.
2. Isenberg D. Henry: *Clinical Microbiology Procedures Handbook*، American Society for Microbiology. 2007.
3. Mahon CR, Lehman DC. Textbook of Diagnostic Microbiology-E-Book: Textbook of Diagnostic Microbiology. Elsevier Health Sciences; 2022 Nov 2.
4. Tille, Patricia. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology-e-book*. Elsevier Health Sciences, fifteenth edition. 2021.