

شناسنامه و استاندارد خدمت

ایمونو، استوئیشیمی (شامل ایمونوپراکسیداز بافتی)

هر آنتی بادی

نسخه دوم

بهار ۱۴۰۲

تدوین و تنظیم اولیه:

دکتر سید محمد توانگر دبیر بورد رشته تخصصی آسیب شناسی
دکتر محمدرضا امینی فرد، ریاست محترم انجمن علمی آسیب شناسی ایران
دکتر محمدعلی برومند، عضو محترم هیات علمی دانشگاه علوم پزشکی تهران
دکتر مهران قهرمانی، دبیر محترم انجمن علمی آسیب شناسی ایران
دکتر حامد صادقیان، متخصص آسیب شناسی
دکتر فرید کرمی، نایب رئیس محترم انجمن علمی آسیب شناسی ایران
دکتر مهدی کریمی شهری، عضو محترم هیات علمی دانشگاه علوم پزشکی گناباد
دکتر مهدی منتظر، عضو محترم هیات علمی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
دکتر اسماعیل سمیع زاده عضو محترم هیات مدیره انجمن علمی آسیب شناسی ایران

با همکاری:

آزمایشگاه مرجع سلامت وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی

مشاور:

دکتر ساناز بخشنده رییس گروه تدوین استاندارد و راهنمای بالینی معاونت درمان

تحت نظارت فنی:

گروه تدوین استاندارد و راهنماهای سلامت

دفتر ارزیابی فن آوری، تدوین استاندارد و تعرفه سلامت

الف) عنوان دقیق خدمت مورد بررسی (فارسی و لاتین) به همراه کد ملی:

ایمونوهیستوشیمی (شامل ایمونوپراکسیداز بافتی) ۶ هر آنتی بادی

Immunohistochemistry (including tissue immunoperoxidase), any antibody

کد ملی: ۸۰۷۱۳۵

ب) تعریف و تشریح خدمت مورد بررسی :

تعریف: شناسایی آنتی ژن های پروتئینی بافتی با استفاده از آنتی بادی اختصاصی ضد آن

شرح روش: از این روش جهت شناسایی پروتئینهای خاص با هدف تشخیص، طبقه بندی، تعیین پیش آگهی، پیش بینی پاسخ به درمان خاص و نیز شناسایی بیومارکرهای مولکولی استفاده می شود. به این منظور پس از تهیه برشهای بافتی یا گستره های سیتولوژی بر روی لام های شارژی و انجام پروسه آماده سازی لام و رتریوال پروتئین ها، محلول حاوی آنتی بادی اولیه (اختصاصی علیه پروتئین مد نظر) در سطح لام انکوبه می شود. پس از مراحل شستشو، انکوباسیون با آنتی بادی ثانویه (آنتی بادی ضد آنتی بادی اولیه و متصل به آنزیم رنگزا) انجام میشود و سپس سوبسترای آنزیم که دارای محصول رنگی است افزوده می گردد و در ادامه مراحل رنگ آمیزی زمینه انجام میشود.

ج) اقدامات یا پروسیجرهای ضروری:

• ارزیابی قبل از انجام پروسیجر

بررسی بافت و برشهای بافتی آن یا لام سیتولوژی توسط پاتولوژیست جهت بررسی کیفیت نمونه و تعیین بهترین ناحیه برای انجام رنگ آمیزی IHC، انتخاب شاهد مناسب و اصلاحات مورد نیاز در روش کار و توصیه تغییر مارکر یا افزودن مارکر جدید مختص هر نمونه

• ارزیابی حین انجام پروسیجر

مراحل رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی به شرح ذیل می باشد:

۱- برش بلوک بافت و انتقال برش بر روی اسلاید شارژی، انکوباسیون در ۷۵ درجه برای ۱۰ دقیقه و سپس در ۳۷ درجه برای یک شب

۲- دپارافینه کردن (انکوباسیون ۷۰ درجه سانتیگراد ۱۵-۱۰ دقیقه، سپس انتقال به ظرف گزیلول بر روی شیکر (در دو مرحله) جمعا به مدت ۲۰ تا ۳۰ دقیقه)

۳- هیدراته کردن (الکل مطلق دو دقیقه، الکل ۹۶ درصد، دو تا ۳ دقیقه، الکل ۷۰ درصد، دو تا ۳ دقیقه، سپس شستشو در بافر) (تمامی شستشوها روی شیکر انجام شوند)

۴- اضافه کردن آنتی ژن رتریوال (Antigen retrieval) (در ظرف مقاوم به حرارت و محتوی محلول آنتی ژن رتریوال، در بن ماری یا ماکروویو)

۵- خنک کردن و شستشو در بافر

۶- مرحله Blocking: انتقال ۱۰۰ لاندما محلول مخصوص به سطح لام و انکوبه در دمای اتاق و محیط تاریک به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه و سپس شستشو در بافر

۷- علامتگذاری ناحیه مشخص شده توسط پاتولوژیست در سطح لام با مازیک مخصوص برای رنگ آمیزی

۸- اضافه کردن آنتی بادی اولیه (Primary Antibody (PA): ۱۰۰ لاندما، ۳۰ دقیقه در دمای اتاق یا انکوباتور ۳۷ درجه و سپس شستشو

۹- اضافه کردن آنتی بادی ثانویه: ۱۰۰ لاندما، ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و سپس شستشو در بافر

۱۰- افزودن ماده رنگزا (کروموژن) DAB: ۵ دقیقه در دمای اتاق و محیط تاریک در زیر هود.

۱۱- شستشو با آب مقطر در دو ظرف ۵ دقیقه

۱۲- اضافه کردن هماتوکسیلین تازه ۳ ثانیه و سپس شستشو در آب

۱۳- دهیدراته کردن: در الکل های ۷۰، ۹۶ و مطلق هر کدام ۲ دقیقه

۱۴- گزیلول و سپس لامل گذاری و چسباندن با چسب مخصوص

• ارزیابی بعد از انجام پروسیجر

- ارزیابی کیفیت رنگ آمیزی با بررسی لام شاهد برای هر انتی بادی (کنترل مثبت) و در هر نوبت کاری
- بررسی حضور یا عدم حضور و درصد حضور پروتئین مورد ارزیابی در بافت مورد بررسی بواسطه ایجاد رنگ و در بعضی موارد تعیین درصد سلولهای که رنگ پذیری نشان میدهند.
- بررسی شدت بیان پروتئین مورد ارزیابی در بافت مورد بررسی بواسطه شدت رنگ ایجاد شده

- تفسیر یافته های مارکرهای ارزیابی شده در کنار سایر داده های بالینی و پاراکلینیک برای تعیین تشخیص، طبقه بندی، تعیین پیش آگهی، پیش بینی پاسخ به درمان خاص و نیز شناسایی بیومارکرهای مولکولی

• کنترل عوارض جانبی انجام پروسیجر

برخی مواد مصرفی در حین پروسیجر توکسیک هستند لذا باید کارکنان از لوازم حفاظت فردی مناسب استفاده کرده و مطابق با استانداردها در مواردی که نیاز است از هود استفاده گردد. در ضمن دفع ایمن پسماندها مطابق با استاندارد SDS(MSDS) صورت گیرد.

د) تواتر ارائه خدمت (تعداد دفعات مورد نیاز / فواصل انجام)

بر اساس محل آناتومیک، تشخیص های افتراقی و درمانهای موجود، انواع آنتی بادی ها پیشنهاد و انتخاب می شود. این خدمت یکبار ارائه می گردد.

-تشخیص تومورهای اولیه در هر ارگان تعداد ۱۲ عدد

-تومورهای غیر اولیه، متاستاتیک و با منشا ناشناخته تعداد ۱۵ عدد مارکر

ه) افراد صاحب صلاحیت جهت تجویز (Order) / خدمت مربوطه و استاندارد تجویز:

- متخصصین پاتولوژی: بدلیل نیاز به رنگ آمیزی های اختصاصی از جمله ایمونوهیستوشیمی، جهت تشخیص قطعی برخی موارد تومورال، پاتولوژیست بر اساس یافته های بافت شناسی در لام هایی با رنگ آمیزی های معمول و با توجه به نوع تومور و تشخیص های افتراقی مدنظر، نیازمند درخواست این نوع رنگ آمیزی برای برخی مارکرهاست.
- کلیه رشته های تخصصی بالینی بر اساس کوریکولوم آموزشی مربوطه

و) افراد صاحب صلاحیت جهت ارائه خدمت مربوطه:

- متخصصین پاتولوژی (تشریحی و یا تشریحی-بالینی)
- رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی، در دسته رنگ آمیزی اختصاصی نمونه های هیستوپاتولوژی و سیتوپاتولوژی و در زیرمجموعه خدمات پاتولوژی تشریحی (Surgical Pathology) است. کلیه خدمات پاتولوژی تشریحی منحصرأ توسط متخصصین پاتولوژی تشریحی یا تشریحی-بالینی انجام می شود.

تبصره: در خصوص مارکرهای درمان و تعیین پیش آگهی در هر رشته، پزشک متخصص مربوطه در آن زمینه نیز صاحب صلاحیت می باشد.

ز) عنوان و سطح تخصصی های مورد نیاز (استاندارد) برای سایر اعضای تیم ارائه کننده خدمت:

| ردیف | عنوان تخصص | تعداد موردنیاز به طور استاندارد به ازای ارائه هر خدمت | میزان تحصیلات مورد نیاز | سابقه کار و یا دوره آموزشی مصوب در صورت لزوم | نقش در فرایند ارائه خدمت |
|------|-------------------------|---|-------------------------|--|--------------------------|
| ۱ | تکنیسین علوم آزمایشگاهی | ۱ | کاردان یا بالاتر | ۶ ماه | انجام تکنیک |
| ۲ | پذیرش و جوابدهی | ۱ | دیپلم یا بالاتر | ۱ ماه | پذیرش نمونه و ثبت گزارش |

ح) استانداردهای فضای فیزیکی و مکان ارائه خدمت:

این آزمایش قسمتی از کار پاتولوژی عمومی می باشد که اگر به صورت تک تخصصی (بخش پاتولوژی عمومی) باشد فضای مورد نیاز، حداقل ۶۰ متر مربع می باشد و در صورتیکه قسمتی از آزمایشگاه جنرال است مطابق با آئین نامه تاسیس و مدیریت آزمایشگاههای پزشکی باشد.

ط) تجهیزات پزشکی سرمایه ای به ازای هر خدمت:

| ردیف | اقلام سرمایه ای مورد نیاز | میزان مصرف (تعداد یا نسبت) |
|------|---------------------------|----------------------------|
| ۱ | میکروتوم | ۱ |
| ۲ | میکروسکوپ | ۱ |

| | | |
|----|---|-----------------------|
| ۳ | هود بیولوژیک کلاس ۱ | ۱ |
| ۴ | بن ماری پاتولوژی | ۱ |
| ۵ | بن ماری سرولوژی یا ماکروبیو | ۱ |
| ۶ | اتوکلاو | ۱ |
| ۷ | انکوباتور ۷۰ درجه | ۱ |
| ۸ | انکوباتور ۳۷ درجه | ۱ |
| ۹ | روتاتور | ۱ |
| ۱۰ | ترازو دیجیتال | ۱ |
| ۱۱ | شیکر | ۱ |
| ۱۲ | یخچال آزمایشگاهی و فریزر | ۱ |
| ۱۳ | اتاق مرطوب (Wet Chamber) | ۱ |
| ۱۴ | PH متر | ۱ |
| ۱۵ | سبد حمل لام | ۱ |
| ۱۶ | سمپلر، پیپت شیشه ای، لوازم شیشه ای محلول سازی | متناسب با تعداد نمونه |
| ۱۷ | جار رنگ آمیزی | ۱۲ |
| ۱۸ | جار مقاوم به حرارت | ۱ |
| ۱۹ | رایانه، پرینتر و تجهیزات اداری پذیرش | متناسب با تعداد نمونه |
| ۲۰ | فایل بایگانی لام و بلوکهای پارافینی | متناسب با تعداد نمونه |

• استهلاک و تعمیر و سرویس دوره ای تجهیزات:

به طور کلی عمر مفید تجهیزات سرمایه ای به طور متوسط ۸ سال و هزینه سرویس و نگهداری تجهیزات سرمایه ای، سالیانه باید محاسبه گردد.

ی) داروها، مواد و لوازم مصرفی پزشکی جهت ارائه هر خدمت:

| ردیف | اقلام مصرفی مورد نیاز | میزان مصرف (تعداد یا نسبت) |
|------|-------------------------|--|
| ۱ | کیت شناسایی (Detection) | تعداد تست قابل انجام توسط هر کیت، ۷۰٪ ظرفیت پیشنهاد شده توسط کیت خواهد بود |
| ۲ | تیغ میکروتوم | یک تیغ به ازای برش هر ۵ لام |
| ۳ | آنتی بادی اولیه | هر نمونه ۲۰۰ میکرولیتر (شاهد و نمونه) |
| ۴ | لام شارژی | ۲ عدد (شاهد و نمونه) |

| | | |
|----|-----------------------|---|
| ۵ | محلول رتریوال پروتئین | ۵۰ سی سی |
| ۶ | بافر شستشو | ۱۵۰ سی سی |
| ۷ | الکل ۹۶ | ۵۰ سی سی |
| ۸ | الکل ۹۹ | ۱۰ سی سی |
| ۹ | گزیلول | ۲۰ سی سی |
| ۱۰ | رنگ هماتوکسیلین | ۱۰ سی سی |
| ۱۱ | چسب انتلان | ۱۰۰ میکرولیتر |
| ۱۲ | لامل پاتولوژی | ۲ عدد |
| ۱۳ | ماژیک IHC | یک ماژیک برای تهیه ۱۰۰۰ برش |
| ۱۴ | تجهیزات حفاظتی | یک جفت دستکش، یک عدد گان و ماسک به ازای هر دوره کاری متوسط ۲۰ مارکر |
| ۱۵ | تجهیزات مصرفی اداری | فولدر جواب، کاغذ، سربرگ، لوازم مصرفی چاپگر، لوازم التحریر |

ک) استانداردهای ثبت:

- مشخصات بیمار و شماره پرونده
- شرح لام و بلوک های نمونه مورد نظر
- اطلاعات بالینی و پاراکلینیک موجود
- نتایج IHC به تفکیک هر مارکر
- تفسیر نهایی و توصیه های تکمیلی
- ارسال یک نسخه از گزارش برای آزمایشگاه پاتولوژی مبدا

ل) اندیکاسیون های دقیق جهت تجویز خدمت:

اندیکاسیون انجام رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی، توسط پاتولوژیست تعیین می گردد و در گزارش اولیه، رنگ آمیزی برای بررسی مارکرهای مورد نیاز به شرح ذیل توصیه میگردد:

تشخیص: در صورت عدم تشخیص قطعی در گستره های سیتولوژی یا برشهای بافتی معمول که با شناسایی پروتئین های اختصاصی، تشخیص قطعی مسجل می شود.

طبقه بندی: در برخی نئوپلاسم ها، برای طبقه بندی بیماری، بررسی پروتئین های اختصاصی ضروری است.

تعیین پیش آگهی: در برخی نئوپلاسم ها، برای تعیین پیش آگهی بیماری، بررسی پروتئین های اختصاصی ضروری است.

پیش بینی پاسخ به درمان خاص: در برخی نئوپلاسم ها، برای تعیین اثر داروی اختصاصی، بررسی پروتئین های اختصاصی ضروری است.

شناسایی بیومارکرهای مولکولی: در برخی نئوپلاسم ها، ارزیابی پروتئین های اختصاصی جایگزین روشهای مولکولی پیچیده و پرهزینه بوده و در تعیین پروفایل مولکولی تومور، انتخابی است.

• تعداد مارکرهاى مورد نیاز بررسی هر نمونه، به محل آناتومیک بافت، نوع آزار و میزان تمایز بافتی و تشخیص های افتراقی مطرح بستگی دارد.

(م) شواهد علمی در خصوص کنترل اندیکاسیون های دقیق خدمت:

عدم وجود بافت کافی یا بافت با کیفیت نامناسب برای انجام بخشی یا تمام مارکرهاى درخواستی

(ن) مدت زمان ارائه هر واحد خدمت:

| ردیف | عنوان تخصص | میزان تحصيلات | مدت زمان مشارکت در فرایند ارائه خدمت | نوع مشارکت در قبل، حین و بعد از ارائه خدمت |
|------|------------|----------------|--|--|
| ۱ | پاتولوژیست | تخصص | ۳۰ دقیقه | <ul style="list-style-type: none"> ارزیابی درخواست آزمایش و نمونه دریافتی نظارت بر روند انجام پروسجر مشاهده لام های رنگ آمیزی شده، تفسیر و تهیه گزارش نهایی |
| ۲ | تکنسین | کاردان/کارشناس | ۳ ساعت (اگر به طور متوسط روزانه ۲۰ مارکر رنگ آمیزی شود برای هر مارکر حدود ۱۰ دقیقه زمان لازم است) | <ul style="list-style-type: none"> تهیه برشهای بافتی پروسه انجام رنگ آمیزی IHC بایگانی لام |

| | | | | |
|---|----------|-------|-------------------|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • پذیرش نمونه • تایپ گزارش نهایی | ۳۰ دقیقه | دیپلم | پذیرش/جوا بدهی | ۳ |
|---|----------|-------|-------------------|---|

س) مدت اقامت در بخش های مختلف بستری جهت ارائه هر بار خدمت مربوطه:

ندارد

ع) موارد ضروری جهت آموزش به بیمار:

ندارد

منابع:

1. David J Dabbs(editor), Diagnostic Immunohistochemistry, 5th Edition, Elsevier 2019
2. The CAP Cancer Reporting Protocols, www.cap.org/protocols-and-guidelines/cancer-reporting-tools/cancer-protocol-templates

