



معاونت درمان

دیپارتمان شورای راهبردی تدوین راهنماهای سلامت

شناسنامه و استاندارد خدمت

ایمونویشی (شامل ایمونوپراکسیداز بافتی) هر آستی بادی

بهار ۱۴۰۰

تدوین و تنظیم: (به ترتیب الفبا)

دکتر محمدرضا امینی فرد، ریاست محترم انجمن علمی آسیب شناسی ایران
دکتر محمدعلی برومند، عضو محترم هیات علمی دانشگاه علوم پزشکی تهران
دکتر فرحناز بیداری، عضو محترم هیات علمی علوم پزشکی شهید پزشکی
دکتر حسین دارآفرین، عضو محترم هیات مدیره انجمن علمی آسیب شناسی ایران
دکتر اسماعیل سمیع زاده عضو محترم هیات مدیره انجمن علمی آسیب شناسی ایران
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 افشین مرادی، عضو محترم هیات علمی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
دکتر مهدی منتظر، عضو محترم هیات علمی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

انجمن ها/سازمان های همکار:

انجمن علمی آسیب شناسی ایران
آزمایشگاه مرجع سلامت وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی

با همکاری:

دکتر مهدی یوسفی
دکتر مریم خیری
دکتر پریا بهاروند
آزاده حقیقی

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) هر آنتی بادی ، Immunohistochemistry

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 سلولهایی 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 آناتومی، تشخیص های افتراقی و درمانهای موجود، انواع آنتی بادی ها پیشنهاد و انتخاب می شود. این فرایند در ارگانهای مختلف اندکی متفاوت بوده و جزییات آن به شرح زیر است :

الف) مراکز دانشگاهی و دولتی که خدمات خود را مطابق تعرفه بخش دولتی ارائه می نمایند: بدون سقف.

ب) بخش خصوصی:

- پستان: تا حداکثر ۶ آنتی بادی.
- سیستم تناسلی ادراری: پروستات: تا حداکثر ۵ آنتی بادی.
- کلیه، برای تعیین ماهیت تومور: تا حداکثر ۱۰ آنتی بادی.
- مثانه: تا حداکثر ۵ آنتی بادی
- بیضه: تا حداکثر ۷ آنتی بادی.
- دستگاه گوارش:
- مری، معده، روده باریک و بزرگ و پانکراس: تا حداکثر ۶ آنتی بادی.
- کبد: تا سقف ۱۰ آنتی بادی.
- ریه و مدیاستن: تا حداکثر ۱۰ آنتی بادی.
- ضایعات غدد لنفاوی با شک به لنفوم: تا حداکثر ۱۲ آنتی بادی.
- تومورهای نسج نرم: تا حداکثر ۱۰ آنتی بادی.
- تومور با منشا نامعلوم در هر ارگان: تا حداکثر ۱۲ آنتی بادی.

- سایر ارگانها: ایمونوهیستوشیمی تشخیصی به منظور افتراق تومورهای خوش خیم از بدخیم و افتراق ضایعات التهابی از تومورال در سایر ارگانها که ذکر نشده اند: تا حداکثر ۱۰ آنتی بادی

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.
- فوق تخصص، فلو شپ و متخصصین رشته های مختلف جراحی (شامل جراحی عمومی و فوق های مرتبط، جراحی چشم، گوش و حلق و بینی، زنان، ...)
- متخصصین پوست
- متخصصین کلیه رشته های داخلی و اطفال
- فلو شپ و فوق تخصص رشته های مختلف داخلی و اطفال
- فوق تخصص هماتولوژی انکولوژی اطفال و بالغین
- متخصصین رادیوتراپی انکولوژی

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.

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	اقدام 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

۱	اتوکلاو	۶
۱	انکوباتور ۷۰ درجه	۷
۱	انکوباتور ۳۷ درجه	۸
۱	روتاتور	۹
۱	ترازو دیجیتالی	۱۰
۱	شیکر	۱۱
۱	یخچال آزمایشگاهی و فریزر	۱۲
۱	اتاق مرطوب (Wet Chamber)	۱۳
۱	PH متر	۱۴
۱	سبد حمل لام	۱۵
متناسب با تعداد نمونه	سمپلر، پیت شیشه ای، لوازم شیشه ای محلول سازی	۱۶
۱۲	جار رنگ آمیزی	۱۷
۱	جار مقاوم به حرارت	۱۸
متناسب با تعداد نمونه	رایانه، پرینتر و تجهیزات اداری پذیرش	۱۹
متناسب با تعداد نمونه	فایل بایگانی لام و بلوکهای پارافینی	۲۰

• **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:

میزان مصرف (تعداد یا نسبت)	اقلام مصرفی مورد نیاز	ردیف
تعداد تست قابل انجام توسط هر کیت، ۷۰٪ ظرفیت پیشنهاد شده توسط کیت خواهد بود	کیت شناسایی (Detection)	۱
یک تیغ به ازای برش هر ۵ لام	تیغ میکروتوم	۲
هر نمونه ۲۰۰ میکرولیتر (شاهد و نمونه)	آنتی بادی اولیه	۳
۲ عدد (شاهد و نمونه)	لام شارژی	۴
۵۰ سی سی	محلول رتریوال پروتئین	۵
۱۵۰ سی سی	بافر شستشو	۶

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

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 مارکرهای 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 کنتراندیکاسیون های دقیق خدمت:

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

(ن) مدت زمان ارائه هر واحد خدمت:

ردیف	عنوان تخصص	میزان تحصیلات	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	تکنیسین	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
۳	پذیرش/جوابدهی	دیپلم	۳۰ دقیقه	<ul style="list-style-type: none"> پذیرش نمونه تایپ گزارش نهایی

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

- تاریخ اعتبار این راهنما از زمان ابلاغ به مدت ۳ سال می باشد و بعد از اتمام مهلت زمانی میبایست ویرایش صورت پذیرد.

بسمه تعالی
فرم تدوین راهنمای تجویز

مدت زمان ارائه	تواتر خدمتی		محل ارائه خدمت	شرط تجویز		ارائه کنندگان اصلی صاحب صلاحیت	افراد صاحب صلاحیت جهت تجویز	کاربرد خدمت		کد RVU	عنوان استاندارد
	فواصل انجام	تعداد دفعات مورد نیاز		کنترل اندیکاسیون	اندیکاسیون			سرپایی	بستری		
۲ روز	۱	بسته به درخواست خدمت	آزمایشگاه پاتولوژی	-عدم وجود بافت کافی -بافت با کیفیت نامناسب	-تشخیص -طبقه بندی -تعیین پیش آگهی -پیش بینی پاسخ به درمان خاص -شناسایی بیومارکرهای مولکولی	متخصصین پاتولوژی	متخصصین پاتولوژی فوق تخصص هماتولوژی انکولوژی اطفال و بالغین متخصصین رادیوتراپی انکولوژی متخصصین پوست فوق تخصص، فلو شپ و متخصصین رشته های مختلف جراحی متخصصین داخلی و اطفال فلو شپ و فوق تخصص رشته های مختلف داخلی و اطفال	*		۸۰۷۱۳۵	رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی

• تاریخ اعتبار این راهنما از زمان ابلاغ به مدت ۳ سال می باشد و بعد از اتمام مهلت زمانی میبایست ویرایش صورت پذیرد.