

בדיקת סוג דם ABO ו- Rh בשיטת הצימות במבחנות

תודתנו נתונה למעבדת בנק הדם, הסתדרות מדיצינית הדסה, אשר תרמה את הנוהל שלה כבסיס לעבודת הצוות.
 ולצוות אשר הכין, ערך והביא את הנוהל ולפרסום:
 ולרי מורנוב - ביה"ח אסף הרופא
 ודאד סאדר - ביה"ח הדסה עין כרם, מעבדת בנק הדם
 סיגלית מודחי-אורנשטיין - ביה"ח הדסה עין כרם, מעבדת בנק הדם
 נאוה רוטנבאום - ביה"ח הדסה עין כרם, מעבדת בנק הדם
 מירה נעמד - ביה"ח שערי צדק, מעבדת בנק הדם
 ברל רודנסקי - ביה"ח שערי צדק, מעבדת בנק הדם
 דוד מנשהאוף - ביה"ח בני ציון, מעבדת בנק הדם

מסמך זה הינו דוגמא בלבד, וכל שימוש בו הוא באחריות המשתמש בלבד. המסמך אינו מחייב מעבדות לעבוד על פיו, מעבדה המעוניינת להשתמש בדוגמא מחויבת להתאים את תוכן הנוהל לתהליכים המתקיימים בה.

מאשרים:

שם	תפקיד	חתימה	תאריך

בתוקף מתאריך: _____

בתוקף עד תאריך: _____

I:\2_maabadot\16_MedLab\כתובת נהלים מעבדות רפואיות\נהלים לפרסום באתר\בדיקת סוג דם-דוגמא ABO ו-Rh.doc

בנק הדם ה.מ. הדסה	SOP / נוהל עבודה	בדיקת סוג דם ABO ו-Rh	
עמוד 1 מתוך 14	13.10.03	גרסה מס' 2	230-21001

תוכן עניינים

עמוד	נושא	מס' סעיף
3	שם הבדיקה	1.0
3	אזהרה	2.0
3	אחריות	3.0
3	הגדרות	4.0
3	מטרת הבדיקה	5.0
4	מבוא	6.0
4	עקרון השיטה	7.0
4	אפיון השיטה	8.0
5	מסמכי יחוס	9.0
5	חומרים ומגיבים	10.0
6	מכשור וציוד	11.0
6	כיול	12.0
7	קריטריונים לקבלת דגימה	13.0
7	בקרת איכות	14.0
7	שלבי הבדיקה	15.0
7	המעמד והדגימה	15.1-15.4
8	רישום הדגימה במחשב	15.5
8	רישום דגימות בהמתנה	15.6
9	החלפת סטטוס הדגימה	15.7
9	זיהוי דגימה מתורם	15.8
10	ביצוע בדיקת סוג	15.9
10	פרוש תוצאות	16.0
11	הפרעות אפשריות בהתייחסות	17.0
11	שימוש בדגימות ישנות	17.1
11	הפרעות בקביעת סוג	17.2
12	סתירה בסוג	17.3
12	הפרעה כתוצאה מקבלת מנות ומשדה מעורב	17.4
13	הפרעה כתוצאה מקביעת סוג לילודים	17.5
13	קביעת סוג דם A2	17.6

בנק הדם ה.מ. הדסה	SOP / נוהל עבודה	בדיקת סוג דם ABO ו-Rh	
עמוד 2 מתוך 14	13.10.03	גרסה מס' 2	230-21001

	שם הבדיקה	1.0
1.1	בדיקת סוג דם ABO Rh.	
1.2	קוד בית החולים : 230.041 (סוג דם ABO ו- Rh).	
	אזהרה	2.0
2.1	החומר הנבדק הינו דם של חולים או תורמי דם, וכן ריאגנטים מסחריים של כדוריות אדומות. קיימת סכנה של זיהום במחוללי מחלות. יש להקפיד לעבוד בכפפות ובחלוק, בהתאם לנהלי הבטיחות של בנק הדם – ראה נוהל 230-36001.	
2.2	הריאגנטים Anti-A, Anti-B, ו- Anti-D מכילים סודיום אזיד כחומר משמר. חומר זה יכול להגיב עם הנחושת והעופרת שבצנרת הביוב וליצור חומר נפיץ. ע"פ הוראות היצרן, אם שופכים ריאגנטים אלה לכיור, יש לשטוף בהרבה מים. בבנק הדם בדיקות הסוג מבוצעות במבחנות חד-פעמיות המושלכות לאשפה המתאימה בתום הבדיקה.	
	אחריות	3.0
	מורשי ביצוע בלבד, אחראים לביצוע נוהל זה.	
	הגדרות	4.0
4.1	דם מלא מכיל: תאי דם אדומים, תאי דם לבנים, וטסיות דם כשהם מרחפים בתוך נוזל הקרוי פלסמה.	
4.2	תאי הדם אדומים (כדוריות הדם)-מכילים המוגלובין, (מולקולה מורכבת המכילה קומפלקס חלבון ברזל הנושא חמצן).	
4.3	פלסמה – החלק הנוזלי של הדם.	
4.4	סרום (נסיוב) – נוזל צהבהב שמופרד מדם שנקרש דומה בהרכבו לפלסמה אך אינו מכיל פיברינוגן ופקטורי קרישה.	
4.5	נוגדן- חלבון בדם שמיוצר עי מערכת החיסון בתגובה לנוכחות אנטיגן ספציפי בגוף ושתפקידו לקשור את האנטיגן.	
4.7	PC – מנה של כדוריות דם דחוסות	
	מטרת הבדיקה	5.0
5.1	קביעת סוג דם ABO Rh לחולה לצורך התאמת דם לפני עירוי ולפני השתלת איברים.	
5.2	קביעת סוג דם ABO Rh לתורמי דם.	
5.3	אבחנת קליטת השתל או דחייתו במושתלי מח-עצם.	
5.4	קביעת ה- Rh לנשים בהריון או יולדות לצורך מתן זריקת חיסון Rh Immune Globulin למניעת יצירה אקטיבית של נוגדנים Anti-D וגרימת מחלה המוליטית של הילוד.	
5.5	קביעת סוג דם ABO Rh כחלק אינטגרלי של בדיקת אנטיגנים על כדוריות אדומות לבדיקת אבהות.	

בנק הדם ה.מ. הדסה	SOP / נוהל עבודה	בדיקת סוג דם ABO ו-Rh	
עמוד 3 מתוך 14	13.10.03	גרסה מס' 2	230-21001

6.1 קבוצת הדם ABO היא הקבוצה החשובה והמשמעותית ביותר בעירו מרכיבי דם. סוג הדם ABO נקבע לפי האנטיגן שעל הכדוריות ולפי הנוגדנים הנמצאים בסרום. לכל אדם מלבד ילודים ובמספר מצבים קליניים נוספים, יש נוגדנים טבעיים (נוגדנים שמתפתחים ללא חשיפה לכדוריות אדומות) לאנטיגנים של ABO החסרים לו ; לאדם עם סוג דם A יש Anti-B , לאדם עם סוג דם B יש Anti-A , לאדם עם סוג דם O יש Anti-B ו Anti- A ולאדם עם סוג דם AB אין נוגדנים בנסיוב. הנוגדנים הם מסוג IgM הגורמים לצימות ישיר של כדוריות אדומות. בבדיקת סוג הדם חייבת להיות התאמה מלאה בין הסוג שנקבע ע"פ בדיקת האנטיגנים שעל הכדורית לבין הסוג שנקבע ע"פ הנוגדנים בנסיוב של אותו אדם.

6.2 אנטיגן D (מקבוצת הדם Rh) הוא השני בחשיבותו לאחר קבוצת הדם ABO. האוכלוסיה נחלקת ל Rh - חיובי (כ -85% מהאוכלוסיה הלבנה) ו Rh - שלילי (כ - 15% מהאוכלוסיה הלבנה) לפי המצאות או העדר אנטיגן D על הכדורית האדומה בהתאמה. הנוגדן Anti-D אינו נוגדן טבעי, ונוצר רק בעקבות חשיפה של אדם Rh שלילי לכדוריות אדומות Rh חיוביות בעירו דם או בהריון.

עקרון השיטה 7.0

7.1 השיטה מבוססת על עיקרון הצימות או המוליזה של כדוריות אדומות באמצעות נוגדנים ספציפיים (AABB Technical Manual 14th edition עמ' 253).

7.2 בדיקת סוג ABO של הכדוריות האדומות (forward grouping) קובעת נוכחות או העדר אנטיגנים של ABO ע"י הפעלה של נוגדנים ידועים Anti-A ו Anti-B על הכדוריות האדומות ובחינת התגובה.

7.3 בדיקת סוג ABO לפי הפלסמה או הסרום (reverse grouping) קובעת נוכחות או העדר נוגדנים צפויים Anti-A ו/או Anti-B בפלסמה/סרום הנבדק. הבדיקה נעשית ע"י הפעלת הסרום/ פלסמה על כדוריות A ו B ידועות ובחינת התגובה.

7.4 בדיקת האנטיגן D על הכדוריות האדומות נעשית ע"י הפעלת נוגדנים Anti-D ובחינת התגובה.

7.5 אנטיגן D חלש הוא אנטיגן D שאינו מגיב בצימות ישיר ע"י נוגדן Anti-D, אלא דורש שלב נוסף של הוספת AHG / Anti-IgG כדי שיתרחש צימות של הכדוריות (ראה נוהל D חלש 230-21002).

אפיון השיטה 8.0

8.1 הבדיקה סמי כמותית.

8.2 השיטה מתבססת על תהליך של צימות או המוליזה מקרוסקופי של כדוריות אדומות.

בנק הדם ה.מ. הדסה	SOP / נוהל עבודה	בדיקת סוג דם ABO ו-Rh	
עמוד 4 מתוך 14	13.10.03	גרסה מס' 2	230-21001

- 8.3 הצימות יכול להיות בדרגות חוזק שונות: \pm , 1+, 2+, 3+, 4+.
- 8.4 הדגימה תוגדר כ-D חיובית או Rh חיובית רק כאשר דרגת הצימות $\geq +2$.
- 8.5 כשדרגת הצימות חלשה מ-2 יש לבצע בדיקת D חלש (ראה נוהל 230-21002 בדיקת D חלש (Weak D) במבחנות בשיטת הצימות).

9.0 מסמכי ייחוס

- 9.1 AABB Technical Manual 14th edition, pp. 670-671, 677-678.
- 9.2 משרד הבריאות: עדכון לנהלים להפעלת בנקי דם ומתן עירווי דם, אוקטובר 2002. עמ' 14, 29, 30.
- 9.3 הוראות עבודה המצורפות לריאגנטים של כדוריות אדומות A1 ו-B של חברת Gamma Biologicals. (דף הוראות עדכני לריאגנט שבשימוש מתווק בקלסר D של הריאגנטים).
- 9.4 הוראות העבודה המצורפות לריאגנטים של נוגדנים Anti-D, Anti-B, Anti-A של חברת Gamma Biologicals (דף הוראות עדכני לריאגנט שבשימוש מתווק בקלסר D של הריאגנטים).
- 9.5 הוראות העבודה המצורפות לריאגנטים של נוגדנים Anti-D, Anti-B, Anti-A של חברת Ortho Clinical Diagnostics (דף הוראות עדכני לריאגנט שבשימוש מתווק בקלסר D של הריאגנטים).

10.0 חומרים ומגיבים

מק"ט הדסה	שם החומר	מק"ט יצרן	שם יצרן	שם סוכן	תנאי אכסון	זמן תפוגה	הערות
3BB0100051	Anti-A	4-102	Gamma	פרומדיקו	1-8°C	רשום על המוצר	
3BB0100052	Anti-B	4-132	Gamma	דובר	1-8°C	רשום על המוצר	
3BB0100001	Anti-A	ORT-711227	Molter	דובר	1-8°C	רשום על המוצר	
3BB0100002	Anti-B	ORT-712319	Molter	דובר	1-8°C	רשום על המוצר	
2BB0100041	Reagent Red Blood Cells	2-200	Gamma	פרומדיקו	1-8°C	רשום על המוצר	לא לשימוש כשיש המוליזה
3BB0100007	Reagent Red Blood Cells	ORT-719210	Ortho	דובר	1-8°C	רשום על המוצר	לא לשימוש כשיש המוליזה
3BB010517	A2 Cells	ORT-719310	Ortho	דובר	1-8°C	רשום על המוצר	לא לשימוש כשיש המוליזה
3BB0100134	Anti-D (Monoclonal blend)	4-205	Gamma	פרומדיקו	1-8°C	רשום על המוצר	
3BB0100003	Anti-D (Monoclonal blend)	ORT-712369	Molter	דובר	1-8°C	רשום על המוצר	

בנק הדם ה.מ. הדסה	SOP / נוהל עבודה	בדיקת סוג דם ABO ו-Rh	
עמוד 5 מתוך 14	13.10.03	גרסה מס' 2	230-21001

מק"ט הדסה	שם החומר	מק"ט יצרן	שם יצרן	שם סוכן	תנאי אכסון	זמן תפוגה	הערות
3BB0100090	Rh Control	ORT-715480	Ortho	דובר	1-8°C		רשום על המוצר
3BB0100067	Rh Control	7-204	Gamma	פרומדיקו	1-8°C		רשום על המוצר
3BB0100143	Anti Human Globulin Anti-IgG-C3d	4-010	Gamma	פרומדיקו	1-8°C		רשום על המוצר
3BB0100143	Anti Human Globulin Anti IgG	4-015	Gamma	פרומדיקו	1-8°C		רשום על המוצר
3BB0100004	Coombs Control Cells	2-250	Gamma	פרומדיקו	1-8°C		לא לשימוש כשיש המוליזה לא בשימוש
-	A2 Cells		Gamma	פרומדיקו	-	-	לא בשימוש
0100107	Anti-A1 (Lectin)	7-121	Gamma	פרומדיקו	-	-	
-	Saline NaCl 0.9% Sterile	-	אגף הרוקחות	-	טמפי' החדר	עד שנתיים	

11.0 מכשור וציוד

מק"ט הדסה	שם הפריט	שם יצרן	זגם	מק"ט יצרן	שם סוכן	הערות
2002001260	צנטריפוגה להפרדת דם	Dade	Immufuge	80475		
-	צנטריפוגה להפרדת דם	Diamed	-	-	מדיגל	
2000016137	צנטריפוגה סרולוגית	Clay Adams	420522	196149	-	
-	צנטריפוגה סרולוגית	Diamed	-	-	מדיגל	
1000023238	צנטריפוגה שוטפת Cell washer	Sorval	06470	9701305	-	
200001638	אינקובטור	Clay Adams	5380	265036	-	
-	מנורה עם מראה מגדילה	Clay Adams	425384	-	אין סוכן בארץ הסוכן בחו"ל Hospac	
4180782	פיפטות חד-פעמיות	אספקה ע"י הדסה, הקובעת את היצרן				
4130266	מבחנות 10x75 mm	אספקה ע"י הדסה, הקובעת את היצרן				
-	מעמד למבחנות	-				

12.0 כיוול

12.1 כיוול פונקציונלי של הצנטריפוגות הסרולוגיות נעשה אחת לחצי שנה (ראה נוהל כיוול 230-21028). בכל שימוש בצנטריפוגות יש לבדוק שהכיוול בר תוקף עפ"י התאריך שרשום במדבקת הכיוול שעל הצנטריפוגה.

בנק הדם ה.מ. הדסה	SOP / נוהל עבודה	בדיקת סוג דם ABO ו-Rh	
עמוד 6 מתוך 14	13.10.03	גרסה מס' 2	230-21001

- 13.0 קריטריונים לקבלת דגימה**
- 13.1 (ראה נוהל קבלת דגימה 230-31002)
- 13.2 אופן שימור הדוגמאות
- 13.2.1 על דגימה שנלקחה במבחנה עם EDTA (פקק סגול) ניתן לבצע את הבדיקה עד 7 ימים מלקיחתה, כאשר הדגימה מאוחסנת בטמפרטורה של $1-8^{\circ}\text{C}$.
- 13.2.2 על דגימה שנלקחה במבחנה ללא חומר נוגד קרישה (פקק אדום), ניתן לבצע את הבדיקה עד 14 יום מהלקיחה, כאשר הדגימה מאוחסנת בטמפי של $1-8^{\circ}\text{C}$.

14.0 בקרת איכות

- 14.1 מתבצעת בקרת איכות יומית של כל הריאגנטים לבדיקת סוג דם ABO ו-Rh. הריאגנטים נכנסים לשימוש רק במידה והם עונים לדרישות בקרת האיכות (ראה נוהל בקרת איכות 230-21023).
- 14.2 אישור לשימוש בריאגנטים שאינם עומדים בדרישות יינתן ע"י אחראית המעבדה או אחראית האיכות.

15.0 שלבי הבדיקה

- 15.1 מעמד המבחנות עם ריאגנטים לבדיקת סוג דם יהיה מוכן מראש ע"י עובד עמדת החלון בסדר הבא:
- 15.2 המעמד יכיל 20 "סטטים" של מבחנות לבדיקת 20 דגימות דם לסוג.
- 15.3 כל סט מכיל את הריאגנטים בסדר הבא:

1. מקום למבחנת הבדיקה.		דגימה
2. מבחנה ריקה ממוספרת במספר רץ שינתן לדגימה, לאיסוף הפלסמה.		פלסמה
3. 2-3ml סליין איזוטוני להכנת סוספנסיה 3-4% מכדוריות הדגימה.		Saline
4. טיפה אחת מראגנט Rh control. אין סימון על גבי המבחנה.		RhC
5. טיפה אחת מראגנט Anti-D. פס לאורך המבחנה.		A-D
6. טיפה אחת מראגנט Anti-B. (ראגנט צהוב, אין צורך בסימון)		A-B
7. טיפה אחת מראגנט Anti-A. (ראגנט כחול, אין צורך בסימון)		A-A
8. טיפה אחת מראגנט כדוריות B. 2 פסים לרוחב המבחנה.		C-B
9. טיפה אחת מראגנט כדוריות A1. פס אחד לרוחב המבחנה.		C-A
10. מבחנה ריקה ממוספרת במספר הדגימה לאיסוף 3 טיפות פלסמה לבדיקת סקר נוגדנים		סקר

סדר דגימות →

- 15.4 סרכז את מבחנת הדגימה ב-3,000 סל"ד בצנטרפוגה להפרדת דם dade למשך 2-3 דקות לצורך הפרדת הפלסמה/סרום מהכדוריות.
- 15.5 רשום הדגימה במחשב.

בנק הדם ה.מ. הדסה	SOP / נוהל עבודה	בדיקת סוג דם ABO ו-Rh	
עמוד 7 מתוך 14	13.10.03	גרסה מס' 2	230-21001

- 15.5.1 רשום הדגימה במחשב יכול להיעשות בשני אתרים: בעמדת רישום הדגימה שליד מכשיר ה-Auto-Vue. כאשר מכשיר ה-Auto-Vue עובד, הרישום יעשה רק בעמדה זו. האתר השני לרישום הדגימה הוא בעמדת ביצוע הבדיקה הידנית.
- 15.5.2 ממסך תפריט ראשי ← 1 הזנת נתונים ← 1 קבלת דגימה. בלוח קבלת הדגימה הקלד סיסמא אישית בשדה המתאים.
- 15.5.3 בשדה המתאים קרא בקורא ברקוד את מספר הרשומה שעל המבחנה. אם לא ניתן לקרוא בברקוד, יש להקליד את מספר הרשומה ובסיום להקיש Enter. על המסך יעלו פרטי הנבדק. בדוק אם פרטי הנבדק המופיעים במסך תואמים לנתונים על המבחנה.
- 15.5.4 עם פרטי הזהות של הנבדק עולים גם נתונים לגבי מספר הדגימות של נבדק זה בעבר, ותאריך הדגימה האחרונה ← הקש Enter.
- 15.5.5 החלון "מספר דגימה" מהבהב. הדבק מדבקת מספר רץ של מספר דגימה על מבחנת הדגימה, על טופס הבקשה לביצוע בדיקה ועל טופס הזמנת מרכיבים (אם קיים) ← קרא בעזרת קורא הברקוד את המספר שהדבקת על המבחנה ← נפתח חלון.
- 15.5.6 בעזרת קורא הברקוד קרא את מספר הרשומה של הנבדק מהטופס המלווה (רצוי מטופס הבקשה לביצוע בדיקה) ואת מספר הדגימה מהמדבקה שהודבקה על הטופס ← הקש Do לאישור ההדבקה.
- 15.5.7 כאשר אין מדבקות מספרי דגימה עם ברקוד (בהה"צ או עקב מחסור זמני באספקה): לקבלת מס' דגימה לחץ על מקש Insert here ("הכנס רשומה"), ומתקבל מס' הדגימה השוטף. לחץ על מקש Do ("בצע").
- 15.6 דגימות בהמתנה, סידרת 8000 :
- 15.6.1 כאשר מתקבלת דגימה לביצוע בדיקת סוג ללא דרישה להצלבה ומצויות בארכיון לפחות שתי דגימות של הנבדק ועברו פחות מ- 10 ימים מאז בדיקת הסוג האחרונה, אין לבצע את הבדיקה. דגימות אלה תעבורנה לסטטוס של "המתנה":
- 15.6.1.1 מספור הדגימות בהמתנה הוא בסידרת "8000" : הקש F9 ("צמצם מבטי") ← עולה מספר הדגימה בסידרה זו.
- 15.6.1.2 רשום את המספר על המבחנה ועל טופס הבקשה לביצוע בדיקה.
- 15.6.1.3 העבר את המבחנה למעמד המיועד לכך ואת הטופס לקופסה המסומנת המיועדת לכך.
- 15.6.1.4 דגימות אלה נשמרות בטמפרטורה של $1-8^{\circ}\text{C}$ למשך 3 ימים.
- 15.7 החלפת סטטוס הדגימה כאשר מגיעה הזמנה להצלבה ללא דגימה :

בנק הדם ה.מ. הדסה	SOP / נוהל עבודה	בדיקת סוג דם ABO ו-Rh	
עמוד 8 מתוך 14	13.10.03	גרסה מס' 2	230-21001

15.7.1 הכנס ללוח שליפת נתוני חולה; מתפריט ראשי ← 2 שליפות ← 2 שליפת נתוני חולה.

15.7.2 בשדה המתאים קרא בעזרת קורא הברקוד את פרטי הזיהוי של הנבדק מהמדבקה שעל טופס ההזמנה. אם אין מדבקה הקלד את מספר הרשומה של הנבדק ובסיום הקש F12 ("בצע שאילתא"). על הלוח יעלו פרטי הנבדק. במידה שקיימת דגימה בהמתנה, מספרה יופיע ברשימת הדגימות ב"שוטף".

15.7.3 אתר את המבחנה במעמד שבמקרה.

15.7.4 מספר מחדש את הדגימה:

15.7.4.1 הכנס ללוח קבלת דגימה, הקש F11 ("הזן שאילתא") ← Enter). בלוח יעלו פרטי הנבדק. בדוק התאמה עם הפרטים שעל המבחנה.

15.7.4.2 הקש PF1 ← F9. בשדה מספר הדגימה יעלה מספר עוקב מסדרת מספרי העבודה. כאשר אין מדבקות ממוספרות עם ברקוד (בהה"צ או עקב מחסור זמני באספקה): לחץ על Do ("בצע"). אם יש מדבקות, המשך לפי 15.7.4.3.

15.7.4.3 כאשר יש מדבקות: הדבק למבחנה ולטפסים את מדבקות המספר. ודא התאמה בין פרטי הדגימה והטפסים.

15.7.4.4 חזור לשדה מספר הדגימה ע"י הקשה PF1 ← Enter ומחוק את המספר שעלה ע"י הקשה של F17 ("אפס שדה").

15.7.4.5 קרא באמצעות קורא הברקוד את מספר הדגימה מהמדבקה שעל המבחנה ← המספר יופיע מחדש בשדה מספר הדגימה ובנוסף יופיע לוח לאימות ההדבקה.

15.7.4.6 בעזרת קורא הברקוד קרא את רשומת הנבדק מהמדבקה שעל טופס הזמנת המרכיבים (אם אין מדבקה יש להקליד את מספר הרשומה של הנבדק ← Enter) ואת מספר הדגימה מהמדבקה שעל הטופס. המספרים יעלו בשדות המתאימים בלוח האימות. הקש DO.

15.8 זיהוי דגימה מתורם במבחנות של תורמי דם (דם מלא, SDP, גרנולוציטים), מספר התורם משמש מס' הדגימה:

15.8.1 הכנס ללוח קבלת דגימה, הקש F11 ("הזן שאילתא") והקש -Return. בשדה מס' הדגימה (מהבהב) הקש את מס' התורם בעזרת קורא ברקוד או ידנית. במסך יעלו פרטי התורם. בדוק התאמה עם הפרטים שעל גבי המבחנה.

15.9 ביצוע בדיקת סוג

בנק הדם ה.מ. הדסה	SOP / נוהל עבודה	בדיקת סוג דם ABO ו-Rh	
עמוד 9 מתוך 14	13.10.03	גרסה מס' 2	230-21001

- 15.9.1 לאחר סרכוז הדגימה טפטף 3 טיפות פלזמה/סרום בעזרת פיפטה חד פעמית למבחנת הסקר (מס' 10 בסט, מסומנות במס' הדגימה) ושתי טיפות פלזמה/סרום לכל אחת משתי המבחנות הבאות (מס' 8 ו-9 בסט) (המכילות תרחיף 4% - 3% כדוריות A1, B, בהתאמה). את שארית הפלזמה/סרום אסוף לתוך המבחנה האחרונה (מס' 2 בסט, מסומנת אף היא במס' הדגימה) וחבר בגומיה למבחנת הדגימה המקורית.
- 15.9.2 בעזרת הפיפטה דגום מהכדוריות האדומות שבמבחנת הדגימה המקורית והכן תרחיף של 4%-3 כדוריות אדומות בסליין (ממבחנת הסליין מס' 3 שבסט) (ראה נוהל 21027-230).
- 15.9.3 מתרחיף הכדוריות טפטף טיפה אחת לכל אחת מהמבחנות הבאות:
- למבחנה מס' 7 בסט (המכילה ריאגנט Anti-A)
 - למבחנה מס' 6 בסט (המכילה ריאגנט Anti-B)
 - למבחנה מס' 5 בסט (המכילה ריאגנט Anti-D)
 - למבחנה מס' 4 בסט (המכילה ריאגנט Rh control).
- 15.9.4 ערבב היטב וסרכז את המבחנות מס' 4,5,6,7,8,9 במהירות המסומנת כ-IS למשך הזמן שמצוין במדבקת הכיול הפונקציונלי שעל הצנטריפוגה. בחן להמוליזה.
- 15.9.5 הרחף את הכדוריות בעדינות מחדש וקרא תוצאות צימות / המוליזה באופן מיידי. דרג את תוצאות הצימות בין 0←+4 ראה נוהל מספר 21005-230.
- 15.9.6 הכנס למחשב את תוצאות הבדיקה עם הריאגנטים השונים ואת סיכום ABO Rh. הכנס תוצאות הסוג שדרגת בטור הימני וסכם את התוצאה בטור השמאלי. לא ניתן לקבוע סוג כשאין התאמה בין forward grouping ו reverse grouping (ראה סעיף 15 בנוהל זה).
- 15.9.7 הדפס את הסוג על טופס הבקשה לביצוע הסוג במחשב, ע"י לחיצה על PF1,P. יש להקפיד ולראות שהפרטים של החולה על המדבקה של טופס הבקשה לבדיקת הסוג זהים לאלו שהודפסו ע"י המחשב.
- 15.9.8 חתום על התוצאה על טופס הסוג.

16.0 פרוש התוצאות

- 16.1 צימות ±, +1, +2, +3, +4 של כדוריות אדומות נבדקות בנוכחות ריאגנט (מבחנות 6,7 בסט), מהווה תוצאה חיובית, שפירושה קיום האנטיגן המתאים. המוליזה במקרה הזה היא תוצאה חיובית שגויה (false positive) שיכולה לנבוע מזיהום בריאגנט.
- 16.2 בבדיקת הסרום עם כדוריות אדומות A1, B (מבחנות 8,9 בסט) ידועות צימות מ- ± עד +4 וגם המוליזה נחשבת תוצאה חיובית שפירושה קיום הנוגדן המתאים. העדר צימות או המוליזה מהווה תוצאה שלילית שפירושה העדר הנוגדן המתאים.
- 16.3 בבדיקת אנטיגן D (מבחנה 5 בסט), צימות מ- ± עד +4 מהווה תוצאה חיובית שפירושה קיום אנטיגן D. התוצאה תחשב חיובית רק אם התגובה במבחנה של Rh control תהיה שלילית (מבחנה 4 בסט).

בנק הדם ה.מ. הדסה	SOP / נוהל עבודה	בדיקת סוג דם ABO ו-Rh	
עמוד 10 מתוך 14	13.10.03	גרסה מס' 2	230-21001

16.4 כאשר הצימות עם Anti-D חלש מ-2+, יש לבצע בדיקה ל-weak D (ראה נוהל 21002-230).

16.5 טבלת סיכום תוצאות וקביעת סוג

16.5.1 תוצאות ABO

סיכום סוג דם	כדוריות הדגימה עם		פלסמה/סרום הדגימה עם	
	Anti-B	Anti-A	כד"א B	כד"א A
O	-	-	+	+
A	-	+	+	-
B	+	-	-	+
AB	+	+	-	-

16.5.2 תוצאות D

Rh	Rh control (6-8% Albumin)	Anti-D
+	-	+
(*)-	-	-
Invali d	+	+

(*) במקרה של בדיקה שלילית עם Anti-D, בצע בדיקה ל-weak D (ראה נוהל לבדיקת D חלש 21002-230).

17.0 הפרעות אפשרויות בהתייחסות

17.1 במצבים מיוחדים, כגון תגובות לעירוי, בהם יש צורך לחזור על בדיקת הסוג, ניתן לבצע את הבדיקה גם לאחר הזמן שנקבע ועד חודש מיום קבלת הדגימה. בצוע זה יעשה רק באישור האחראי על המעבדה, אחראי משמרת או אחראי האיכות.

17.2 תוצאות בדיקת הסוג של הכדוריות ושל הסרום של דגימה של direct and reverse grouping חייבות להתאים. אם קיימת אי התאמה, אין לסכם את הסוג במחשב ואין לבצע פעולת הצלבה עד לבירור סיבת אי ההתאמה.

17.2.1 ניתן לחזק תגובות צימות חלשות של הסרום הנבדק עם כדוריות A ו-B ידועות ע"י הדגרת המבחנות המתאימות בטמפרטורת החדר $23^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ או ב- $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ למשך 5-15 דקות.

17.2.2 ניתן לחזק תגובות חלשות של כדוריות הנבדק עם ריאגנטים Anti-A ו-Anti-B מונוקלונליים ע"י הדגרה בטמפרטורת החדר $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$ למשך 5-15 דקות.

17.2.3 בחיפוש נוגדנים בסרום (reverse grouping) בתינוקות עד גיל 6 חודשים יכולה להיות תוצאה מוטעית. לילודים אין עדיין נוגדנים Anti-A ו-Anti-B. ולעתים

בנק הדם ה.מ. הדסה	SOP / נוהל עבודה	בדיקת סוג דם ABO ו-Rh	
עמוד 11 מתוך 14	13.10.03	גרסה מס' 2	230-21001

- הנוגדנים הנמצאים בדם התינוק הם ממקור האם. ברר את גיל התינוק וברר לפי מס' רשומה של האם מה סוג דמה וציין את הממצאים בהערה לסוג במחשב.
- 17.2.4 בקשישים, יתכן מצב שבו הנוגדנים בסרום לא יהיו ברמה מספקת לזיהוי. ניתן לחזק תגובה חלשה של נוגדנים אלה ע"י הדגרת המבחנות בטמפרטורת החדר $23\pm 3^{\circ}\text{C}$, או ב- $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ למשך 5-15 דקות. ציין בהערה לסוג במחשב את התוצאה של הנוגדנים אחרי ההדגרה.
- 17.2.5 במושתלי מח עצם בהם יש אי התאמה ב-ABO בין התורם למקבל ולא ניתן לקבוע את הסוג, רשום במחשב תוצאת סוג ND ובהערה ציין "מושתל מח-עצם".
- 17.2.6 לעתים קיימים בסרום הנבדק נוגדני קור בלתי ספציפיים או נוגדנים ספציפיים מסוג IgM המגיבים עם כדוריות A ו-B וגורמים לאגלוטינציה בסרכוז מיידי. במקרה כזה תתכן אי התאמה בין forward grouping ו-reverse grouping. זהה נוכחות נוגדנים אלה בסרום הנבדק ע"י ביצוע בדיקת סקר נוגדנים (ראה נהלים לבדיקת סקר נוגדנים 230-21003, 230-21004). רשום בהערה לסוג את תוצאות הבדיקה.
- 17.2.7 כאשר נבדקו כל האפשרויות לאי התאמה בתוצאות בדיקת הסוג ולא ניתן להסביר ולהוכיח אותן, הזמן דגימת דם חדשה וחזור על הבדיקה.
- 17.3 במקרה שמתקבלת תוצאה שמשמעותה סתירה בסוג דם לדגימות שהיו לחולה בעבר, עובד נוסף יחזור על הבדיקה. אם עדיין קיימת סתירה, הזמן דגימה חדשה (ראה נוהל קבלת דגימה 230-31002). דווח למנהל המעבדה על המקרה ותעד בקלסר מס' 13 "טעויות בלקיחת דם במחלקות".
- 17.4 בחולים שקבלו עירוי דם עם מנות מסוג דם שונה משלהם אך מתאים להם: חולה עם סוג דם AB שקבל PC מסוג A או B או O; חולה עם סוג דם A או B שקבל PC מסוג O; תתקבל תוצאת סוג דם זהה למנות שקבל או שדה מעורב בו ייראה גם סוג דמו המקורי וגם הסוג של מנות העירוי.
- 17.4.1 ברר בלוח מתן דמים או עם הרופא המטפל אם קבל החולה דם בבית חולים אחר.
- 17.4.2 חזור על הבדיקה מדגימה חדשה ואם ניתן, במקביל עם בדיקה קודמת.
- 17.4.3 הכנס את התוצאות למחשב, אך סיכום הסוג יהיה כמו הסוג המקורי ובהערה רשום את סוג המנות שקבל החולה.
- 17.4.4 כאשר מתקבל סוג עם שדה מעורב והחולה לא מוכר במחשב בנק הדם, ברר אם: החולה קבל מנות דם בבית חולים אחר, האם הנבדק הוא פצוע שקבל עירוי דם בשטח, האם החולה עבר השתלת מח עצם.
- 17.4.5 סכם את תוצאות הסוג כ-ND עד לקבלת תוצאה ברורה. בהערה רשום את הסיבה.

בנק הדם ה.מ. הדסה	SOP / נוהל עבודה	בדיקת סוג דם ABO ו-Rh	
עמוד 12 מתוך 14	13.10.03	גרסה מס' 2	230-21001

17.5 לילודים שסוג דם האם O+ או Rh שלילי, נלקח דם מחבל הטבור ונשלח לקביעת סוג ו-DAT בבנק הדם. דם טבורי מכיל חלבון הנקרא Wharton Jelly. נוכחות חלבון זה בכמות גדולה עלולה לגרום לצימות הכדוריות וקבלת תוצאה חיובית שגויה (False Positive). לכן, כאשר יש צימות במבחנות 4,5,6,7 בסט (גם בביקורת Rh-con), צריך לחזור על הבדיקה אחרי שטיפת תרחיף הכדוריות 3 פעמים בסליין.

17.6 כאשר סוג הדם כפי שנקבע ע"פ הכדוריות הוא A או AB, וסרום הנבדק מגיב עם כדוריות הריאגנט A1 יש לבדוק אם כדוריות הנבדק הן מסוג A2 ובסרום מצוי Anti-A1.

17.6.1 קביעת אנטיגן A2 על הכדוריות:

17.6.1.1 טפטף טפה אחת ראגנט Anti-A1 lectin למבחנה מסומנת עם מספר הדגימה.

17.6.1.2 הוסף טיפה אחת תרחיף 3-4% של כדוריות הדגימה, נער היטב וסרכז במהירות המסומנת כ- IS למשך הזמן שמצוין במדבקת הכיול הפונקציונלי שעל הצנטריפוגה. הרחף ובדוק צימות.

17.6.1.3 בקורת חיובית: טפטף טפה אחת ראגנט Anti-A1 lectin

וטיפה אחת כדוריות A1 של חברת גאמא נער היטב וסרכז במהירות המסומנת כ- IS למשך הזמן שמצוין במדבקת הכיול הפונקציונלי שעל הצנטריפוגה. הרחף ובדוק לצימות.

17.6.1.4 בקורת שלילית: טפטף טיפה אחת ראגנט Anti-A1 lectin

וטיפה אחת כדוריות A2. נער היטב וסרכז במהירות המסומנת כ- IS למשך הזמן שמצוין במדבקת הכיול הפונקציונלי שעל הצנטריפוגה. הרחף ובדוק לצימות.

17.6.2 קביעת הנוגדן Anti-A1 בסרום:

17.6.2.1 סמן 4 מבחנות במספר הדגימה. סמן המבחנות לפי הסדר: A1, A2, O ו-Autocontrol.

17.6.2.2 טפטף 2 טיפות של סרום הדגימה לכל אחת מהמבחנות.

17.6.2.3 הוסף טיפה אחת ריאגנט כדוריות A1, A2, O, וכדוריות עצמיות מהסוספנסיה למבחנות המתאימות.

17.6.2.4 הדגר את המבחנות בטמפרטורת החדר ($23 \pm 3^{\circ}\text{C}$) למשך 5-30 דקות.

נער וסרכז במהירות המסומנת כ- IS למשך הזמן שמצוין במדבקת הכיול הפונקציונלי שעל הצנטריפוגה. הרחף וקרא תוצאות.

17.6.2.5 טבלת תוצאות קביעת סוג A2 עם נוגדן Anti-A1

בנק הדם ה.מ. הדסה	SOP / נוהל עבודה	בדיקת סוג דם ABO ו-Rh	
עמוד 13 מתוך 14	13.10.03	גרסה מס' 2	230-21001

<u>סוג הדם</u>	<u>כדוריות דגימה ו-</u> <u>Anti-A1 lectin</u>	<u>כ"א A1 ו-</u> <u>Anti-A1 lectin</u>	<u>סרום נבדק</u> <u>וכ"א A1</u>	<u>סרום נבדק</u> <u>וכ"א A2</u>	<u>סרום נבדק</u> <u>וכ"א O</u>	<u>סרום נבדק</u> <u>וכ"א עצמיות</u>
A2	-	+	+	-	-	-

בנק הדם ה.מ. הדסה	SOP / נוהל עבודה	בדיקת סוג דם ABO ו-Rh	
עמוד 14 מתוך 14	13.10.03	גרסה מס' 2	230-21001