

23ABOT1 **Istruzioni Esercizio** **Distribuzione 16/01/23 – Chiusura esercizio 30/01/23**

Materiale fornito

- Fare riferimento alla scheda COSHH fornita per tutti gli aspetti relativi alla salute e alla sicurezza dei campioni. <https://www.ukneqash.org/download/177/UKNEQASBTCOSHHGeneralInstructionsPDF>
- All'interno della busta vi sono un totale di 7 provette, così suddivise:
 - Un campione di globuli rossi di gruppo **A** rr (sospeso in soluzione di Alsever modificata al 30% circa) - **etichettato A Red Cells** -. Queste cellule dovrebbero essere preparate per l'uso nel diluente appropriato.
 - Tre campioni di globuli rossi - **etichettati Patient W, Y e Z** - di gruppo **A** sospesi in circa il 10% nella soluzione modificata di Alsever, per l'esecuzione del sottotipo **A**. Queste cellule devono essere preparate per l'uso nel diluente appropriato.
 - Tre campioni di plasma - **etichettati Patient 1, 2, 3** - due di gruppo **B** e uno di gruppo **0** per la titolazione dell'anti-**A**, preparati da plasma fresco congelato filtrato* Questi campioni dovrebbero essere centrifugati prima di eseguire il test.

* Per coloro che eseguono trapianti renali (o di altro organo solido), si prega di trattare questi campioni come provenienti da pazienti in attesa di un trapianto ABO incompatibile da un donatore vivente di gruppo A.

Test

- I campioni dovrebbero essere trattati come campioni clinici
- Utilizzando il campione di globuli rossi (**A₁ Red Cells**), eseguire la titolazione dell'Anti-A sui 3 campioni di plasma (**Patient 1, Patient 2, Patient 3**) usando le vostre tecniche in house e, se possibile, le tecniche standard equivalenti, quali la tecnica Bio-Rad come descritta di seguito.
- Se eseguite il sottotipo di gruppo A nella pratica clinica, eseguite successivamente il sottotipo di A₁ sui tre campioni di globuli rossi "pazienti" (**Patient W, Patient Y e Patient Z**).

Tecniche Standard (Bio-Rad)

- > Preparare diluizioni di plasma in soluzione salina (PBS o NaCl) usando il metodo della diluizione al raddoppio. Fare le diluizioni con un minimo di 200µl, usando una pipetta automatica. Usare un nuovo puntale per dispensare ciascuna diluizione.
- > Preparare una sospensione di globuli rossi allo 0.8 - 1% in CellStab (usare ID-diluent 2 se il CellStab non è disponibile).
- > Leggere il risultato della titolazione come l'ultima reazione debole.

Test all'antiglobulina indiretto (IAT) con LISS con schedine IgG o polispecifiche

- > Aggiungere 50ul di sospensione cellulare in CellStab o in ID-diluent 2 in ciascun micropozzetto
- > Aggiungere 25ul di ciascuna diluizione di plasma al corrispondente micropozzetto
- > Incubare a 37°C per 15'
- > Centrifugare 10' nella centrifuga Bio-Rad

Agglutinazione diretta a temperatura ambiente (DRT) con schedine NaCl

- > Aggiungere 50ul di sospensione cellulare in CellStab o in ID-diluent 2 in ciascun micropozzetto
- > Aggiungere 50ul di ciascuna diluizione di plasma al corrispondente micropozzetto
- > Incubare a temperatura ambiente per 15'
- > Centrifugare 10' nella centrifuga Bio-Rad

Invio dei risultati

Registrare i risultati delle titolazioni eseguite con il test in house e/o con le tecniche standard, attraverso il sito UKNEQAS (www.ukneqasbtlp.org/participants/login). Le istruzioni per l'inserimento dei dati possono essere trovate in <https://www.ukneqash.org/downloads/ABOT%20data%20entry%20instructions.pdf>

Se avete problemi con il materiale o qualsiasi domanda riguardante il questionario o i risultati si prega di contattare il team BTLP.