



Newsletter

UK NEQAS
International Quality Expertise

Autore: Prof. Bruno Brando
Data: 31 Maggio 2021
Riferimento: UK NEQAS LI

OGGETTO: modifica programma EQA/PT UK NEQAS Leukaemia Immunophenotyping (Part 1)

Gentili Partecipanti,

dopo un lungo lavoro di revisione critica, svoltosi anche grazie ai molti Vostri contributi, annunciamo che dall'esercizio LI212201 del 26 Maggio 2021, lo schema Leukaemia Immunophenotyping (Part 1) apparirà modificato in modo sostanziale, per rispondere alle reali e più aggiornate esigenze dei laboratori di diagnostica oncoematologica.

In breve, il campione verrà distribuito accompagnato da una breve storia clinica e da un'immagine digitale.

Non sarà più presente la vecchia suddivisione in antigeni 'core' e 'recommended' predefiniti, ma ciascun Laboratorio userà il proprio pannello applicato routinariamente in ciascun caso secondo le procedure locali.

Di seguito riportata, trovate una guida per l'accesso alle nuove funzionalità della pagina web, per l'inserimento dei risultati e per l'interpretazione del report

Vi consiglio di consultarla già da ora per familiarizzarsi con le nuove modalità operative.

Come anticipato in alcune nostre comunicazioni preliminari, anche il sistema di generazione dei punteggi prestazionali sarà modificato.

Come vedrete spiegato in maggiore dettaglio nella guida, saranno generati due diversi punteggi prestazionali: il primo riguarderà il giudizio sulla composizione del pannello anticorpale utilizzato, che dovrà includere almeno il 50% dei primi 10 antigeni utilizzati dall'intero gruppo di partecipanti; il secondo riguarderà il consenso su positività / negatività su almeno il 70% dei primi 10 antigeni più testati.

Siamo certi che questa nuova configurazione del programma Leukaemia Immunophenotyping risulterà più agile e rispondente alla comune prassi di Laboratorio e siamo - come sempre - a Vostra disposizione per ogni altro possibile chiarimento.

Un caro saluto e auguri di buon lavoro,

Prof. Bruno Brando
Referente scientifico UK NEQAS for Leucocyte Immunophenotyping



CASELLA DI POSTA PER INFORMAZIONI SCIENTIFICHE: supporto.tecnico@flowassessment.it

Non accontentarti della qualità per crescere ... cresci in formazione per crescere in qualità!

**GUIDA ALLA NUOVA CONFIGURAZIONE DEL PROGRAMMA
LEUKAEMIA IMMUNOPHENOTYPING (Part 1)
Maggio 2021**

L'accesso alla pagina web, l'inserimento delle date di ricezione del campione ed esecuzione del test sono invariati rispetto alla versione precedente.

Leukaemia Immunophenotyping (Part 1)

Distribution No: 212201 Participant: 40420 Issued: 26 May 2021 Closing: 16 June 2021

Date Received:

Date Tested:

If you have any additional comments relating to this trial distribution, please email us at admin@ukneqasli.co.uk quoting the distribution no. and your Participant Reference Number (PRN).

Detection Method: Lysing Reagent: Gating Question:

Scegliere il citometro ed il sistema di lisi utilizzati dalle due ampie liste a tendina.

Il menu più a destra 'Gating Question' richiede di inserire il modo con cui si è scelto di definire la popolazione patologica:

admin@ukneqasli.co.uk quoting the distribution no. and your

E' più logico accedere a questo menu, assieme a quello più sotto '**Select a Gating Strategy**' una volta presa visione della storia clinica e dell'immagine di morfologia digitale (vedi più avanti).

Appena sotto si trovano queste quattro caselle:

Detection Method: BD Biosciences-Facs Canto II Lysing Reagent: -- Select a Method -- Gating Question: -- Select a Method --

Panels	Antigens Tested	Digital Morphology	Case History
--------	-----------------	--------------------	--------------

E' bene iniziare l'approccio all'esercizio partendo da quella più a destra '**Case History**', che descrive il paziente in questione ed alcuni suoi dati clinici, come nell'esempio qui sotto.

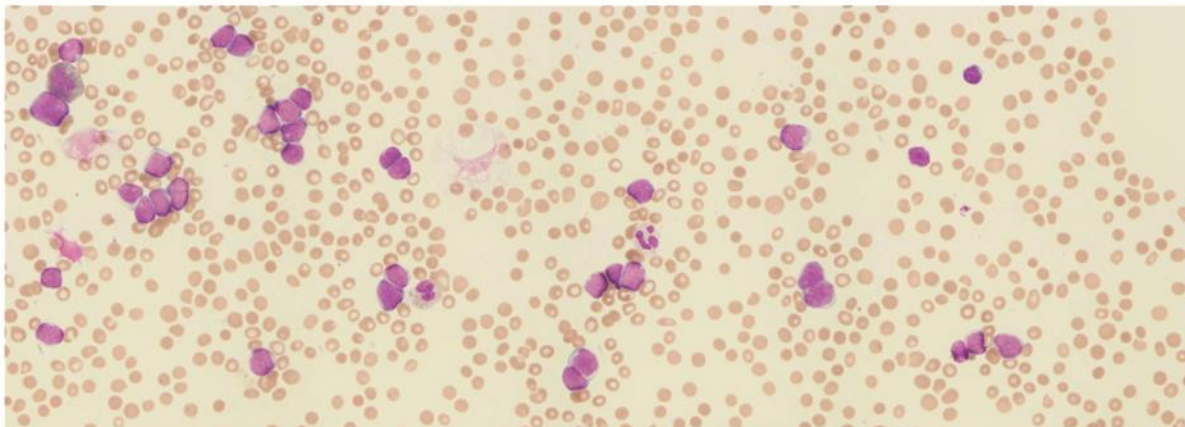
Panels	Antigens Tested	Digital Morphology	Case History
--------	-----------------	--------------------	--------------

A 24 year old man was admitted to Accident and Emergency, a Full Blood Count (FBC) test was carried out; Hb 86 g/L; RBC 2.73 x10¹²/L; WBC 165.83 x 10⁹/L; PLT 27 x 10⁹/L.
A digital image of the original blood film is available under the Digital Morphology tab.

Prendere quindi visione dell'immagine morfologica ad alta risoluzione facendo clic sulla casella '**Digital Morphology**':

Antigens Tested	Digital Morphology
-----------------	--------------------

Click image to use the Digital Morphology Viewer functionality



Facendo clic sull'immagine del vetrino si viene reindirizzati al sito che permette di sfruttare tutte le opzioni di microscopia virtuale (www.ukneqasli.org/sampleentry/MediaViewer.asp), con scelta dell'ingrandimento, spostamento del campo e rotazione.

A questo punto, sulla base delle informazioni cliniche e morfologiche, si possono inserire la **Gating Question**, la **Gating Strategy** (cioè su quale popolazione verrà impostato il gate di cattura) e l'ipotesi diagnostica che si intende seguire con le operazioni di immunofenotipizzazione (**Select a Disorder if Applicable**). Se i dati forniti non permettono di formulare un' ipotesi diagnostica univoca, selezionare '**Other**'.

Please define your target cell population by the gating strategy (e.g. Blasts, Monocytes, Lymphocytes)

This case is considered to be a disorder

Please select the number of antigens as appropriate and choose the number of reagents per tube to generate the

-- Select a Gating Strategy --

- Blasts
- Lymphocytes
- Monocytes

-- Select a Disorder if Applicable --

- Acute Leukaemia
- Chronic Leukaemia
- Other

Impostazione del pannello di fenotipizzazione

ATTENZIONE: La casella **Panels** potrà essere riempita con i propri pannelli anticorpali predefiniti per le varie patologie solo dopo che questi saranno stati utilizzati nei primi esercizi. Ogni nuovo pannello creato nella casella '**Antigens Tested**' e opportunamente definito con un nome potrà quindi venire memorizzato e riutilizzato nel caso una certa patologia dovesse ripetersi in esercizi successivi.

Il primo pannello eseguito dovrà quindi venire inserito come '**New Panel**' e registrato con un nome a piacere.

Impostare il numero di antigeni studiati nel **Tubo n.1** (nell'esempio 8):

Panel Name: New Panel for Antigen Testing

Please select the number of antigens per tube: 8

#	Antigen	Result	Intensity	Antibody Manufacturer	Clone	Fluorochrome
1	-- Select an Antigen --	-- Select a Result --	-- Select an Intensity --	-- Select a Manufacturer --		-- Select a Fluorochrome --
2	-- Select an Antigen --	-- Select a Result --	-- Select an Intensity --	-- Select a Manufacturer --		-- Select a Fluorochrome --
3	-- Select an Antigen --	-- Select a Result --	-- Select an Intensity --	-- Select a Manufacturer --		-- Select a Fluorochrome --
4	-- Select an Antigen --	-- Select a Result --	-- Select an Intensity --	-- Select a Manufacturer --		-- Select a Fluorochrome --
5	-- Select an Antigen --	-- Select a Result --	-- Select an Intensity --	-- Select a Manufacturer --		-- Select a Fluorochrome --
6	-- Select an Antigen --	-- Select a Result --	-- Select an Intensity --	-- Select a Manufacturer --		-- Select a Fluorochrome --
7	-- Select an Antigen --	-- Select a Result --	-- Select an Intensity --	-- Select a Manufacturer --		-- Select a Fluorochrome --
8	-- Select an Antigen --	-- Select a Result --	-- Select an Intensity --	-- Select a Manufacturer --		-- Select a Fluorochrome --

Nella nuova configurazione dell'esercizio per ogni antigene scelto (CD, Fluorocromo e Fabbricante) verranno DIRETTAMENTE inseriti: nella colonna **Result** il giudizio Positivo / Negativo nella popolazione patologica selezionata, mentre nella colonna **Intensity** verrà inserito il giudizio **Absent** (se negativo), **Strong** (ad alta intensità di espressione) o **Weak** (a bassa intensità di espressione, sulla base delle linee guida AIEOP (Dworzak MN.Cytometry Part B (Clinical Cytometry) 2018; 94B: 82-93) già citate in passato. L'inserimento del clone anticorpale utilizzato è al momento opzionale.

Se il tubo utilizzato ha nel vostro laboratorio il valore di un tubo di screening iniziale, selezionare la casellina corrispondente (**Screening Tube**). Ogni altra informazione concernente la marcatura potrà venire inserita nello spazio **Testing Information**.

Nel caso sia stato necessario utilizzare più tubi, fare click su **Tube 2** o su **Add Tube**, inserendo il rispettivo numero di antigeni testati in ciascuno, mentre si può anche decidere di eliminare un tubo precedentemente inserito facendo clic su **Remove Tube**.

Tube 1 | Tube 2 | Add Tube | Remove Tube

Screening Tube: Testing Information:

Questo pannello memorizzato risulterà disponibile in successive simili occasioni e potrà comunque sempre venire modificato.

Al termine dell'inserimento dei dati richiesti, come di consueto fare clic su **Save** e **Submit** per l'invio dei dati.

REPORT E PUNTEGGI PRESTAZIONALI NELLA NUOVA CONFIGURAZIONE DELLO SCHEMA

Poiché i partecipanti utilizzano numerosissimi diversi reagenti anticorpali, è stato deciso di tenere conto solo di quelli utilizzati da almeno il 50% dei partecipanti, e di questi evidenziare i primi 10, come nel riquadro più spesso nella tabella qui sotto. Le caselle che appaiono vuote indicano che non sono stati inviati dati su questi antigeni dal vostro laboratorio.

Come si può notare dall'esempio, i risultati di **positività/negatività** inviati riguardo agli antigeni più frequentemente analizzati appaiono in rapporto al risultato di consenso di tutti i partecipanti. L'ultima colonna riporta la percentuale di risposte entro il consenso da parte di tutti i laboratori.

Antigen Tested	Number of Participants Testing (% value in brackets)	Your Result (Positive/Negative)	Consensus Result (Positive/Negative)	Percentage of Participants in Consensus
CD19	106 (97%)	Positive (+)	Positive (+)	88%
CD34	101 (93%)	Positive (+)	Positive (+)	80%
CD45	89 (82%)	Positive (+)	Positive (+)	97%
CD13	87 (80%)	Positive (+)	Positive (+)	81%
CD33	86 (79%)	Positive (+)	Positive (+)	98%
CD7	84 (77%)	Negative (-)	Negative (-)	92%
CD117	83 (76%)	Negative (-)	Negative (-)	94%
HLA-DR	82 (75%)		Positive (+)	95%
CD10	81 (74%)		Negative (-)	99%
CD3	79 (72%)	Negative (-)	Negative (-)	99%
Myeloperoxidase	76 (70%)	Negative (-)	Positive (+)	91%
CD14	75 (69%)	Negative (-)	Negative (-)	69%
CD20	68 (62%)	Negative (-)	Negative (-)	90%
CD64	61 (56%)	Positive (+)	Positive (+)	77%

Il primo punteggio prestazionale sarà calcolato in base al **numero di antigeni che il laboratorio ha analizzato** in rapporto ai 10 più frequentemente utilizzati da tutti i partecipanti. Un disegno del pannello comprendente **almeno 5 di questi 10** anticorpi determinerà uno score '**Satisfactory**' (soddisfacente) con 3 livelli prestazionali: **A** (per 10 o 9 Antigeni), **B** (per 8 o 7) e **C** (per 6 o 5). Un punteggio '**Critical**' (critico, meritevole di azioni correttive) verrà invece assegnato al disotto del 50% di antigeni presenti tra i 10 più utilizzati, con anche qui tre livelli prestazionali decrescenti, come dalla tabella di esempio qui sotto.

Number of antigens in top ten	Performance grade	Classification
10	A	Satisfactory
9		
8		
7	B	
6		
5	C	
4		
3	D	Critical
2		
1		
0		
	E	
	F	

Un secondo punteggio prestazionale sarà quindi calcolato sulla base del giudizio **positivo/negativo** sui 10 antigeni più comunemente utilizzati nella sola popolazione cellulare patologica. Un consenso di almeno il 70% (ad es. 7 antigeni su 10 o 5 antigeni su 7) determinerà un punteggio soddisfacente, come dalla tabella di esempio qui sotto.

Number of antigens in top ten	In consensus	Classification
10	≥7	Satisfactory
9	≥6	
8	≥6	
7	≥5	
6	≤4	Critical
5	≤3	
4	N/A	Critical
3		
2		
1		
0		

Il mancato invio dei risultati determinerà un giudizio 'Critical'.

La composizione dei due punteggi genererà infine una tabella che potrà risultare con uno di questi tre tipi di combinazioni e conclusioni (**Overall performance grade**):

Panel design grade	Antigen consensus grade	Overall performance grade
Satisfactory	Satisfactory	Satisfactory
Critical	Critical	Critical
Satisfactory	Critical	Critical

Da notare che per le regole sopra esposte non è possibile che si ottenga un giudizio 'Critical' nel disegno del pannello anticorpale ed un giudizio 'Satisfactory' nel consenso positivi/negativi.

Una tabella indicante la numerosità degli anticorpi utilizzati verrà inoltre prodotta, allo scopo di evidenziare la possibilità di eseguire una corretta diagnosi con il minimo numero possibile di reagenti. Il calcolo verrà eseguito facendo salve le ripetizioni (ad es. CD45) o altri marcatori di 'backbone'.

Your Overall Antibody Usage	All Laboratories Overall Antibody Usage			Antigens Tested By Your Laboratory	All Laboratories Antigens Tested		
	Median	Minimum	Maximum		Median	Minimum	Maximum
35	23	10	48	28	18	10	29

Numerosi istogrammi e tabelle di distribuzione dei risultati verranno infine inclusi nei report allo scopo di dettagliare ulteriormente gli andamenti di positività e di giudizio di intensità per ciascuno dei 10 anticorpi più utilizzati, anche suddivisi per fluorocromi e fabbricanti.

Come di consueto, lo Steering Committee dello schema monitorerà e revisionerà costantemente le regole e i limiti di giudizio allo scopo di verificare se questi svolgano effettivamente il ruolo di efficaci indicatori prestazionali.