

Introduzione

I partecipanti sono stati invitati a titolare l'anti-A in tre campioni di plasma da testare contro globuli rossi di gruppo A rr forniti con l'esercizio. Le titolazioni dovevano essere eseguite con metodiche e tecniche di routine (utilizzando quelle per valutare l'idoneità del paziente da sottoporre a trapianto di organo ABO incompatibile da vivente, ove appropriato nella pratica clinica), e utilizzando anche la tecnica standard BioRad, laddove le risorse necessarie fossero disponibili.

Erano inclusi tre campioni di globuli rossi paziente per la tipizzazione A₁, per i laboratori che effettuano questo test nella pratica clinica.

I punteggi sono presentati a pagina 6 di questo report, con le regole per calcolare i punteggi.

Materiale

È stato fornito il seguente materiale:

Campioni per il Paziente 1, 2 e 3 (tutti di gruppo O), preparati da plasma fresco congelato filtrato. I Pazienti 2 e 3 provenivano dallo stesso pool di materiale.

Un campione di globuli rossi di gruppo A rr per la titolazione.

Tre campioni di globuli rossi in soluzione di Alsever (Paziente W, Y e Z) per la tipizzazione A₁.

Assieme alle istruzioni dell'esercizio (vedi Appendice 1) sono state fornite le tecniche standard BioRad per DRT e IAT e queste sono indicate in questo report come tecniche "Standard".

Percentuale di restituzione / analisi dei dati

L'esercizio è stato distribuito a 99 laboratori, 37 nel Regno Unito e nella Repubblica d'Irlanda (ROI) e 62 fuori dal Regno Unito. I risultati sono stati restituiti da 99/99 (100%) laboratori entro la data di chiusura.

2/99 (2,0%) dei partecipanti hanno registrato una qualità del campione non appropriata per tutti i campioni di plasma e non hanno completato il test. Un laboratorio ha indicato che le cellule per la titolazione avevano un DAT positivo e un altro non ha presentato risultati poiché ha ottenuto reazioni a "campo misto".

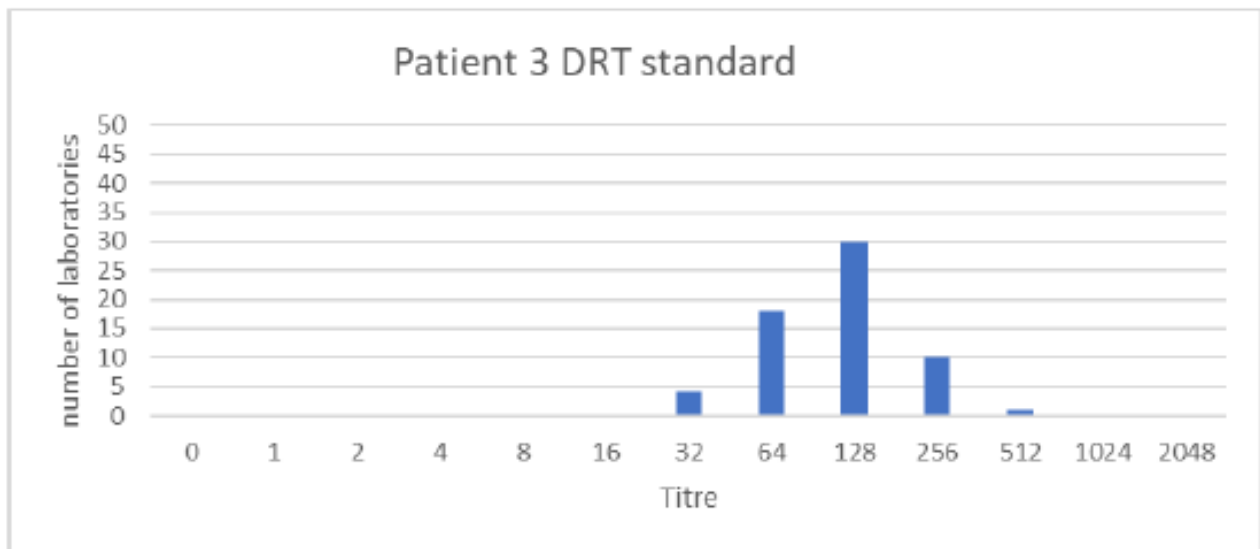
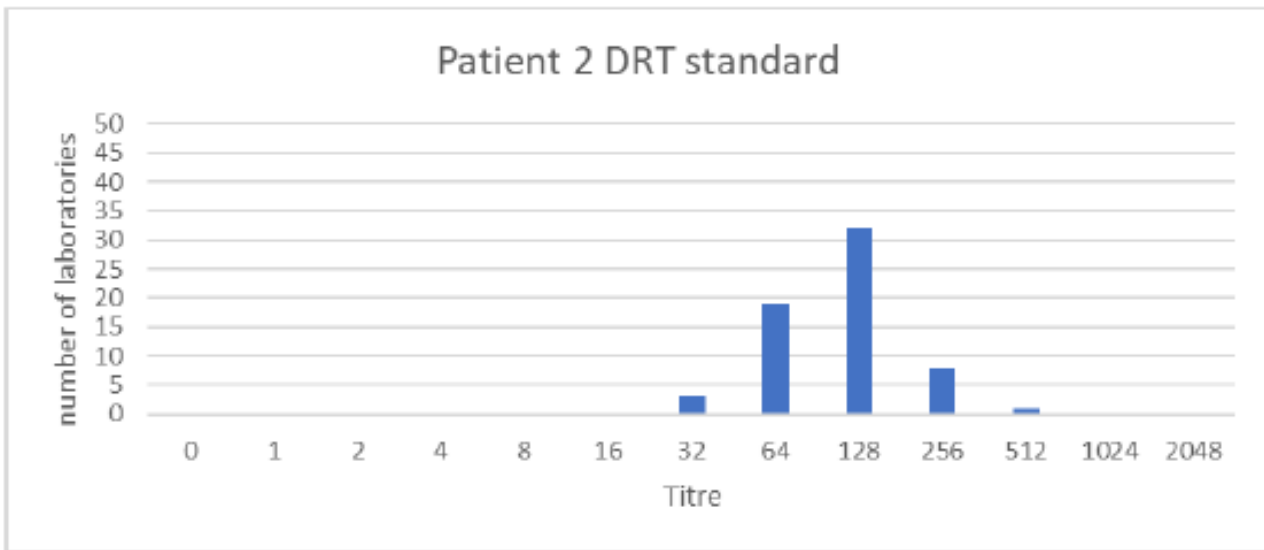
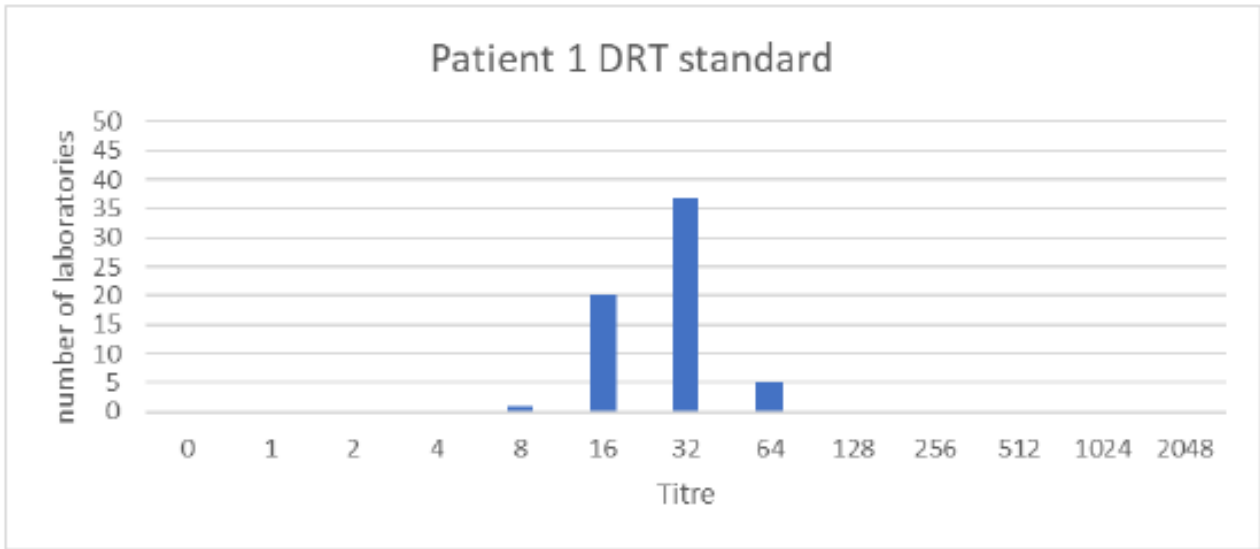
Due partecipanti hanno contattato il UK NEQAS BTLT per segnalare che le cellule A fornite per la titolazione erano DAT positive, il che significa che il titolo non poteva essere ottenuto con lo IAT. Un nuovo test eseguito sul set dei campioni di riserva presso UK NEQAS ha fornito risultati simili in un numero ridotto di provette. Il restante materiale originale ha dato un risultato DAT negativo e stiamo continuando a indagare sulla causa. Di conseguenza, i risultati IAT della titolazione per tutti e tre i campioni di plasma dei pazienti sono stati rimossi dal punteggio e dal monitoraggio delle prestazioni, nonostante i risultati registrati sembrano seguire il normale pattern per i risultati della titolazione ABO.

La titolazione ABO viene eseguita per supportare programmi di trapianto ABO incompatibili in 74/97 (76,3%) laboratori che hanno risposto alla domanda; di questi, 47 supportano trapianti renali ABO incompatibili.

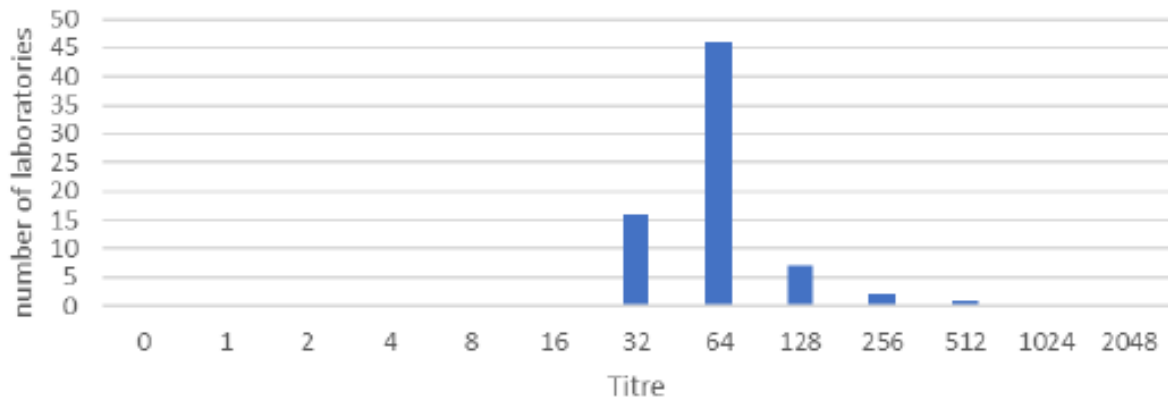
I risultati ottenuti usando le tecniche "standard" per DRT e/o IAT sono stati restituiti da 74/99 (74,7%) laboratori. Quarantadue di questi hanno inoltre restituito risultati per le metodiche in-house DRT e/o IAT. Ventitré laboratori hanno restituito risultati solo per le metodiche in house.

Non tutti i laboratori hanno eseguito i test per entrambi IAT e DRT. I risultati analizzati per ciascun metodo sono mostrati nella Tabella 1.

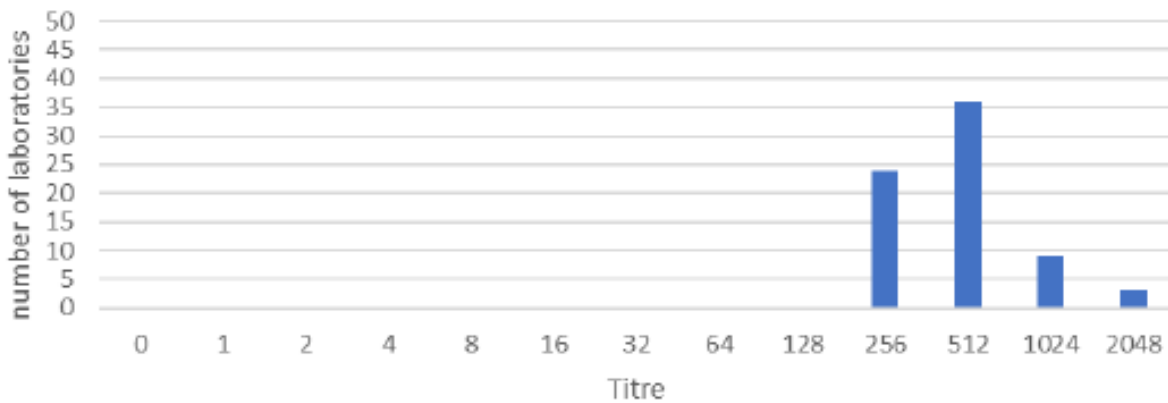
La rappresentazione grafica dei risultati delle tecniche standard si trova alle pagine 2 e 3.



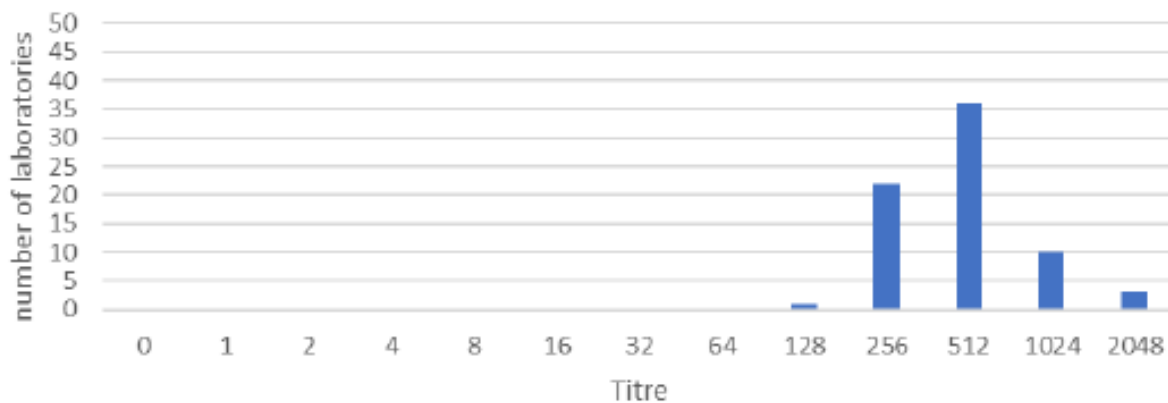
Patient 1 IAT standard



Patient 2 IAT standard



Patient 3 IAT standard



Risultati titolazione

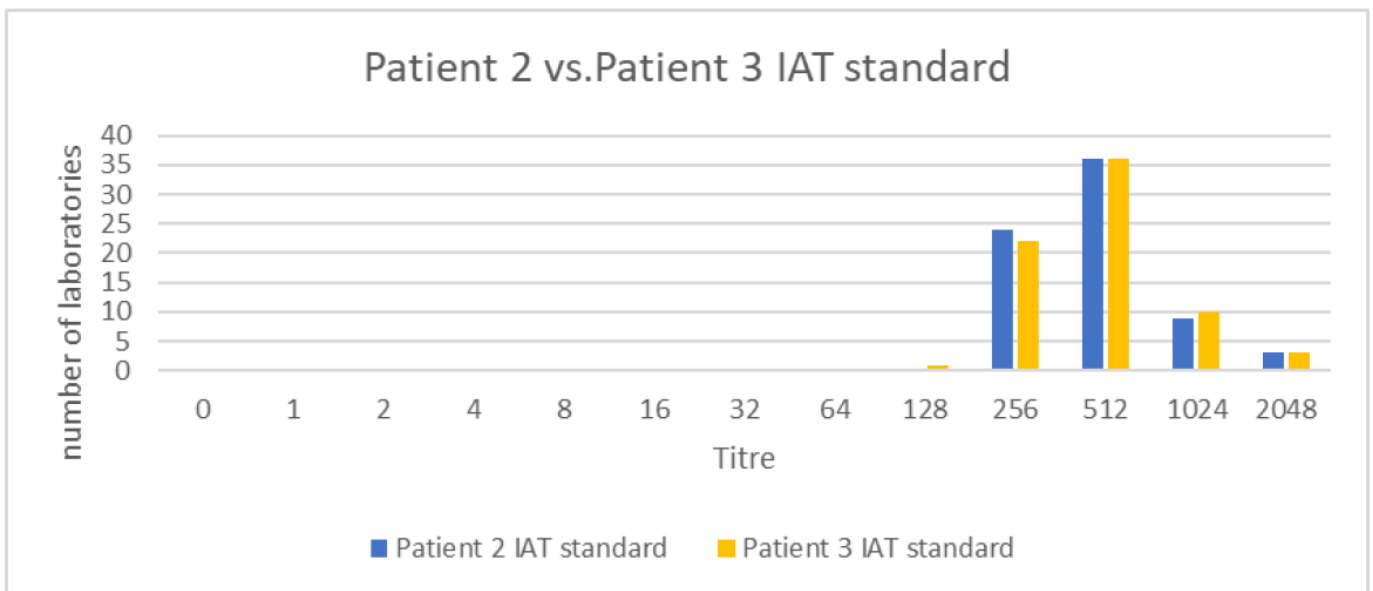
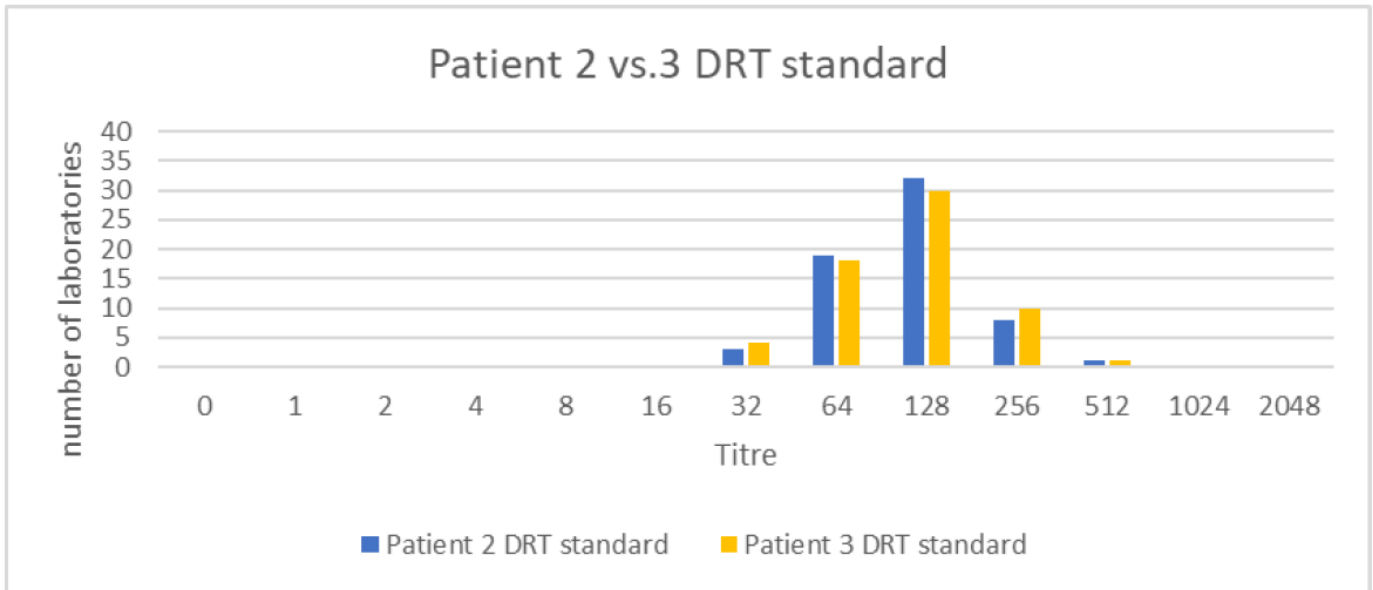
La tabella 1 mostra i risultati della titolazione con il metodo della mediana per DRT, per IAT usando plasma non trattato e per IAT usando plasma pre-trattato.

Tabella 1 - Risultato mediano titolazione e range, per metodo e tecnologia

Technique	Titration result (range)					
	Patient1 number of results	Patient1 median (range)	Patient2 number of results	Patient2 median (range)	Patient3 number of results	Patient3 median (range)
DRT Standard	63	32 (8-64)	63	128 (32-512)	63	128 (32-512)
DRT In-house DiaMed	10	16 (8-64)	10	64 (32-256)	10	64 (32-256)
DRT In-house BioVue	9	16 (8-64)	9	128 (64-1024)	9	128 (64-1024)
DRT In-house Grifols	8	32 (8-32)	8	128 (64-256)	8	128 (64-256)
DRT In-house Tube	11	32 (8-128)	11	64 (16-256)	11	64 (16-256)
DRT In-house Immucor	7	16 (16-64)	7	32 (16-128)	7	32 (16-128)
DRT In-house Other	2	10 (4-16)	2	80 (32-128)	2	72 (16-128)
IAT Standard	72	64 (32-512)	72	512 (256-2048)	72	512 (128-2048)
IAT In-house (untreated) DiaMed	9	64 (32-128)	9	512 (512-2048)	9	512 (256-1024)
IAT In-house (untreated) BioVue	8	128 (64-256)	8	768 (512-2048)	8	1024 (512-2048)
IAT In-house (untreated) Grifols	8	64 (32-128)	8	512 (128-4096)	8	512 (128-4096)
IAT In-house (untreated) Tube	2	96 (64-128)	2	320 (128-512)	2	640 (256-1024)
IAT In-house (untreated) Immucor	5	64 (64-64)	5	256 (256-512)	5	256 (128-256)
IAT In-house (untreated) Other	1	16 (16-16)	1	256 (256-256)	1	128 (128-128)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) DiaMed	7	32 (16-64)	7	512 (256-512)	7	512 (256-512)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) BioVue	2	80 (32-128)	2	768 (512-1024)	2	768 (512-1024)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Grifols	1	32 (32-32)	1	256 (256-256)	1	256 (256-256)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Tube	1	64 (64-64)	1	512 (512-512)	1	512 (512-512)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Immucor	2	64 (64-64)	2	640 (256-1024)	2	256 (256-256)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Other	1	32 (32-32)	1	512 (512-512)	1	1024 (1024-1024)

Discussione

I Pazienti 2 e 3 sono stati preparati dallo stesso pool. I grafici seguenti confrontano i titoli DRT e IAT ottenuti per i pazienti 2 e 3 con la tecnica standard.



La maggior parte dei laboratori che utilizzano le tecniche standard hanno registrato titoli identici per i pazienti 2 e 3; 52/63 (82,5%) per il DRT standard e 45/72 (62,5%) per lo IAT standard. Dei laboratori che hanno registrato risultati non identici, tutti hanno registrato una differenza di una sola diluizione tra il Paziente 2 e 3 per le tecniche DRT standard e/o le tecniche IAT standard.

Tipizzazione A₁

Per tutti i risultati di tipizzazione A, il 'risultato atteso' mostrato è il risultato di consenso. Quaranta laboratori hanno registrato il paziente Y come A1 positivo o A1 non determinato e trentanove laboratori hanno registrato il paziente Z come A1 positivo o A1 non determinato. I Pazienti Y e Z sono stati preparati dallo stesso materiale donatore ed è possibile che siano del fenotipo A intermedio (A_{INT}); un campione del materiale è stato inviato al laboratorio di riferimento UK NEQAS per conferma. La tipizzazione A1 non è attualmente valutata.

Tabella 2 – Risultati della tipizzazione A1

Campione	Risultati attesi	Risultati complessivi		
		A1 positivo	A1 negativo	A1 non determinato
Paziente W	Positivo	83 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Paziente Y	Negativo	29 (34.94%)	43 (51.81%)	11 (13.25%)
Paziente Z	Negativo	28 (33.73%)	44 (53.01%)	11 (13.25%)

Punteggio per la titolazione ABO

Categorie di monitoraggio delle performance

Differenza dal risultato della mediana per risultati ottenuti da:

1. Standard IAT
2. Standard DRT
3. Ogni altra tecnologia in house con più di 20 laboratori con test in IAT o DRT

Definizione di risultati soddisfacenti

Valore di titolazione entro 1 diluizione al raddoppio sul 'target', con il metodo della mediana.

Punteggi per i risultati 'outlying'

- Un punto per ogni diluizione al raddoppio > 1 dal 'target', ad esempio se il target era 32, un punto viene dato per risultati di 8 o 128, due punti per 4 o 256, tre punti per 2 o 512, etc.
- I punti saranno accumulati all'interno di ciascuna categoria, all'interno di ciascun esercizio.
- I punti saranno accumulati tra gli esercizi, anche per categoria.

Monitoraggio performance (solamente per Laboratori UK)

Definizione di performance non soddisfacente (UP)

- Un totale di tre punti dentro una categoria di test in un singolo esercizio
- Un totale di tre punti dentro una categoria di test su tre esercizi (quello corrente e i due precedenti per i quali sono stati inviati risultati).
- Nessun ritorno di risultati in due dei tre più recenti esercizi.

Definizione di performance persistentemente non soddisfacente (PUP)

- Più di un episodio di performance non soddisfacente in ogni categoria di test, entro 12 mesi.
- Due episodi di UP dovuti a un non invio di risultati in un periodo di 12 mesi.
- Un episodio di UP da ognuno dei precedenti entro un periodo di 12 mesi.

Appendice 1

Tecniche "Standard" 22ABOT1

- Preparare le diluizioni del plasma in soluzione salina (PBS o NaCl) utilizzando un metodo di diluizione al raddoppio. Fare le diluizioni con un volume minimo di 200µl, usando una pipetta automatica. Utilizzare un nuovo puntale per dispensare ogni diluizione.
- Preparare una sospensione allo 0,8 - 1% di eritrociti in CellStab (usare ID-Diluent 2 se il CellStab non è disponibile).
- Leggere il punto finale della titolazione come ultima reazione debole.

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

- a. Aggiungere in ciascun microtubo 50uL di sospensione di cellule in CellStab o ID-diluent 2
- b. Aggiungere 25ul di ogni diluizione del plasma nel microtubo corrispondente
- c. Incubare a 37 °C per 15'
- d. Centrifugare 10' nella centrifuga DiaMed

Agglutinazione diretta a temperatura ambiente (**DRT**), utilizzando schedine NaCl

- a. Aggiungere in ogni microtubo 50uL di sospensione di cellule in CellStab o ID-diluent 2
- b. Aggiungere 50uL di ogni diluizione del plasma nel microtubo corrispondente
- c. Incubare a temperatura ambiente per 15'
- d. Centrifugare 10' nella centrifuga DiaMed

Il referente italiano UK NEQAS
for Blood Transfusion Laboratory Practice
Dott. Francesco Bennardello