

Introduzione

I partecipanti sono stati invitati a titolare l'anti-A in tre campioni di plasma da testare contro globuli rossi di gruppo A₁ 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.

Materiale

È stato fornito il seguente materiale:

- Campioni Paziente 1 e 3 (plasma di gruppo B) preparati dallo stesso pool di materiale con un piccolo volume di anti-c ad alto titolo aggiunto al Paziente 3
- Paziente 2 (plasma di gruppo O)
- Cellule di gruppo A₁ rr per la titolazione
- Tre campioni di globuli rossi in soluzione di Alsever (Paziente W, Y e Z) per la tipizzazione A₁.

Tutti i campioni di plasma sono stati preparati da plasma fresco congelato filtrato.

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

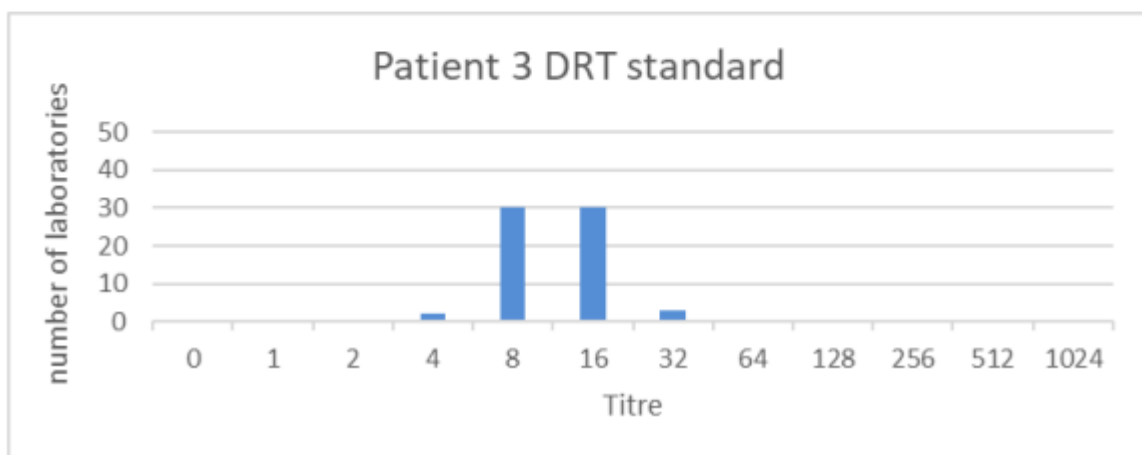
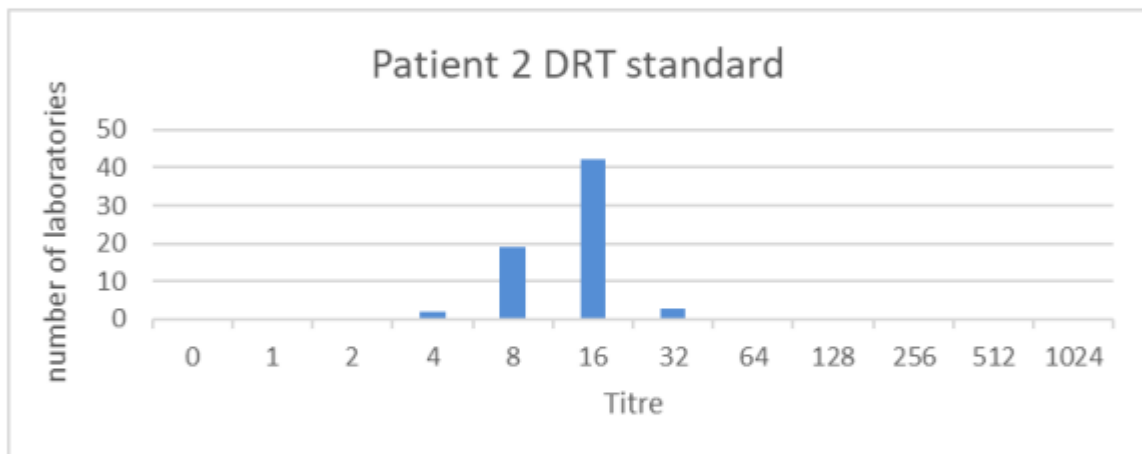
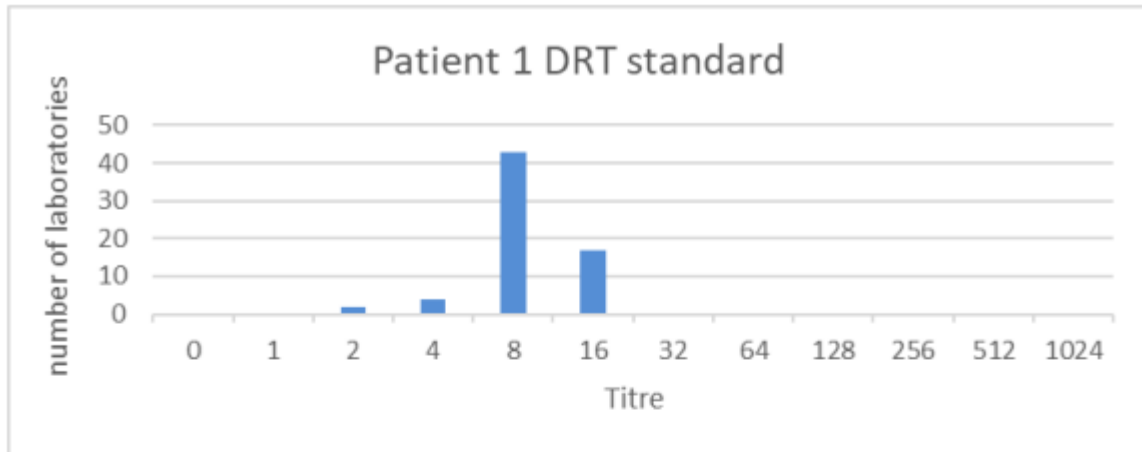
L'esercizio è stato distribuito a 107 laboratori, 36 nel Regno Unito (UK) e nella Repubblica d'Irlanda (ROI) e 71 fuori dal Regno Unito. I risultati sono stati restituiti da 103/107 (96.3%) laboratori entro la data di chiusura.

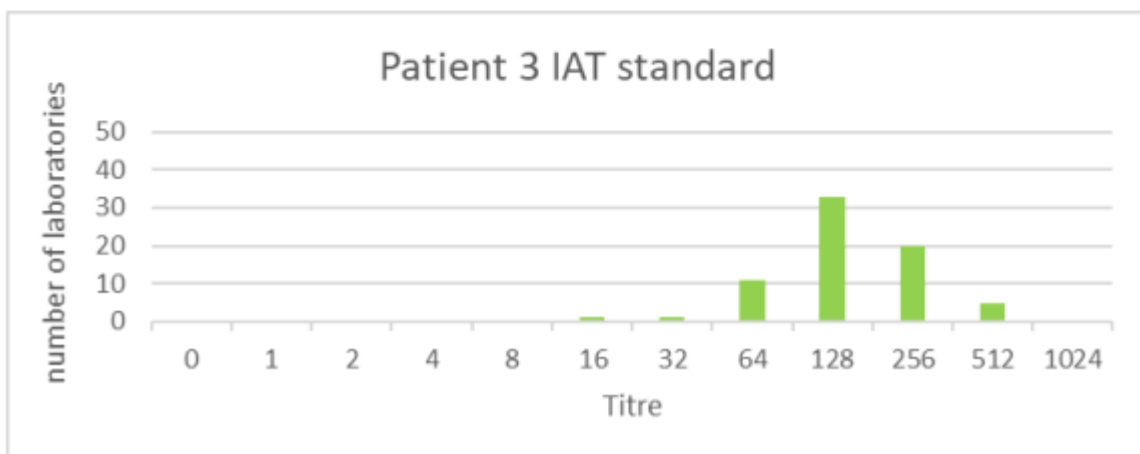
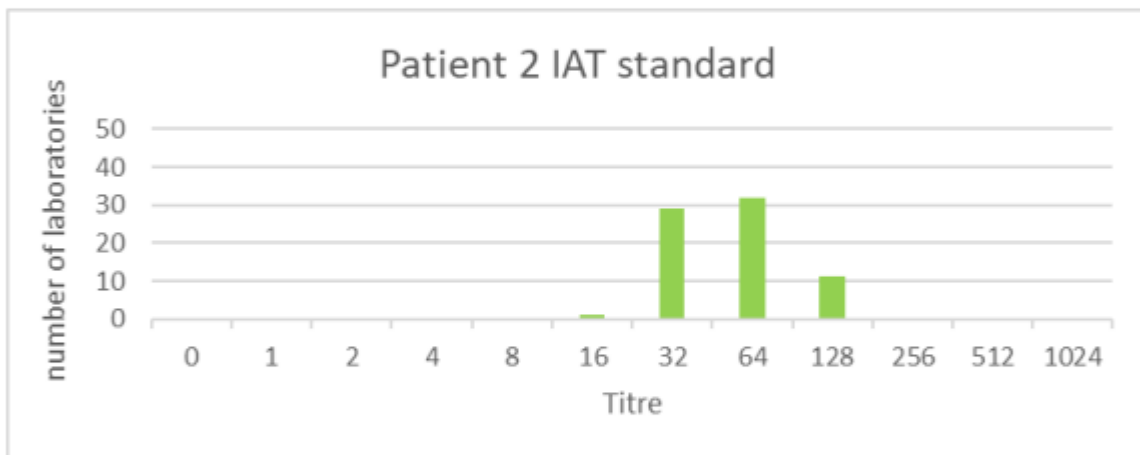
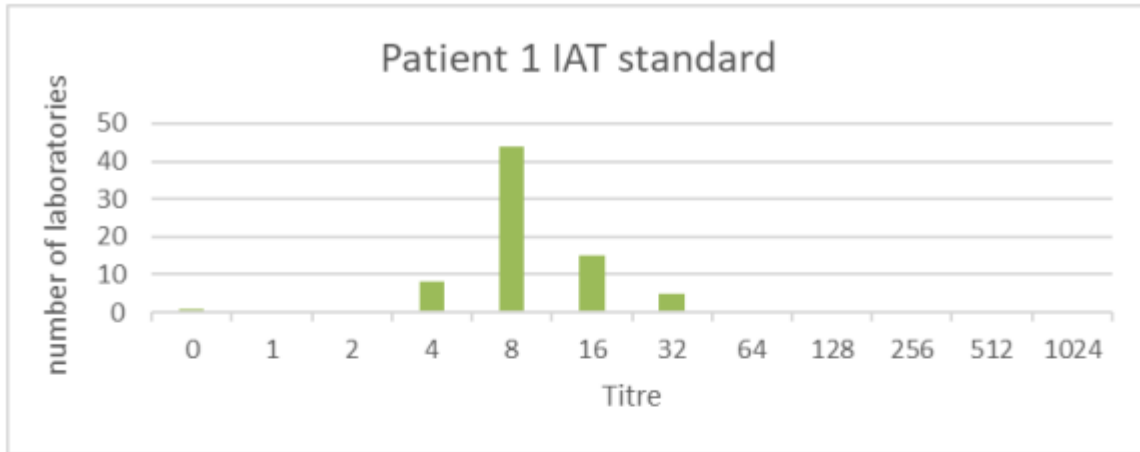
Una qualità soddisfacente dei campioni è stata registrata dai laboratori per i Pazienti 1 e 2. Otto laboratori hanno registrato una qualità non soddisfacente per il Paziente 3, tutti indicando che il campione non era idoneo per la titolazione utilizzando le cellule A₁ fornite, a causa della presenza di un anticorpo.

La titolazione ABO viene eseguita per supportare programmi di trapianto ABO incompatibili in 82/103 (79.6%) laboratori che hanno risposto alla domanda; di questi, 56 supportano trapianti renali ABO incompatibili.

I risultati ottenuti utilizzando le tecniche "standard" per DRT e/o IAT sono stati restituiti da 76 laboratori su 103 (73.8%). Trentaquattro di questi hanno anche restituito i risultati per un metodo DRT e/o IAT in-house. Ventisette laboratori hanno restituito i risultati solo per i metodi in-house. La rappresentazione grafica dei risultati delle tecniche standard si trovano alle pagine 2 e 3.

Non tutti i laboratori hanno testato sia con IAT che con DRT; i numeri dei risultati analizzati per ciascun metodo sono riportati nella Tabella 1.





Risultati titolazione

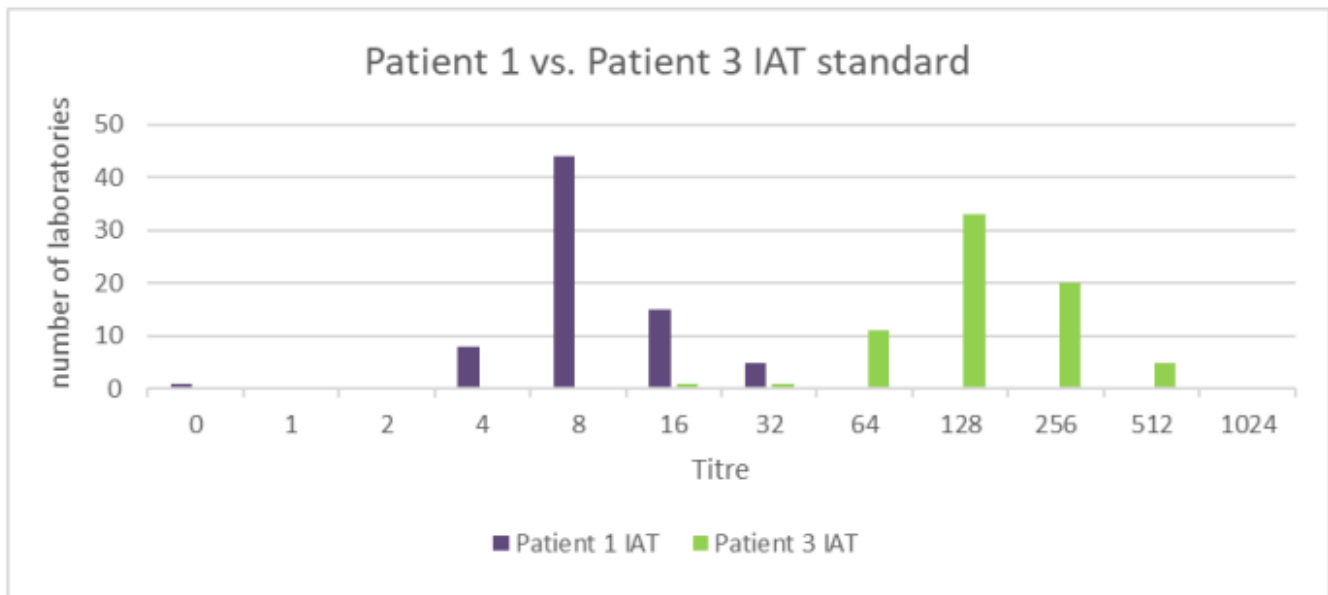
La tabella 1 mostra i risultati della titolazione con il metodo della mediana per DRT, per IAT usando plasma non trattato e per IAT usando plasma pre-trattato.

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	66	8 (2-16)	66	16 (4-32)	65	16 (4-32)
DRT In-house DiaMed	15	8 (4-16)	15	8 (8-64)	14	8 (4-128)
DRT In-house BioVue	8	4 (2-16)	8	8 (4-32)	8	4 (2-32)
DRT In-house Grifols	11	8 (8-16)	11	16 (16-64)	11	16 (8-128)
DRT In-house Tube	10	8 (4-8)	10	8 (4-16)	10	8 (4-32)
DRT In-house Immucor	8	8 (4-8)	8	6 (4-8)	8	8 (4-16)
DRT In-house Other	3	8 (4-8)	3	8 (8-16)	3	16 (1-32)
IAT Standard	73	8 (0-32)	73	64 (16-128)	71	128 (16-512)
IAT In-house (untreated) DiaMed	11	16 (4-32)	11	64 (64-256)	10	128 (8-512)
IAT In-house (untreated) BioVue	4	8 (8-16)	4	64 (64-128)	4	128 (64-128)
IAT In-house (untreated) Grifols	11	16 (8-16)	11	64 (16-128)	11	128 (16-256)
IAT In-house (untreated) Tube	2	10 (4-16)	2	40 (16-64)	2	32 (32-32)
IAT In-house (untreated) Immucor	6	2 (2-4)	6	32 (32-64)	6	128 (64-256)
IAT In-house (untreated) Other	3	4 (2-16)	3	32 (32-128)	3	32 (1-128)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) DiaMed	7	4 (0-8)	7	32 (2-64)	7	128 (16-256)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) BioVue	2	5 (2-8)	2	48 (32-64)	2	17 (2-32)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Grifols	2	2.5 (1-4)	2	24 (16-32)	2	65 (128-256)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Tube	3	8 (8-16)	3	128 (64-128)	3	128 (32-256)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Immucor	2	4 (4-4)	2	64 (64-64)	2	128 (128-128)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Other	1	2 (2-2)	1	16 (16-16)	1	64 (64-64)

Discussione

I Pazienti 1 e 3 sono stati preparati inizialmente dallo stesso pool, ma al Paziente 3 è stato aggiunto un piccolo volume di anti-c ad alto titolo. I grafici seguenti confrontano i titoli IAT ottenuti per i pazienti 1 e 3.



13/93 (14.0%) laboratori che hanno risposto alla domanda, hanno indicato di non eseguire o ottenere risultati da un pannello di screening/identificazione anticorpale per pazienti sottoposti a titolazione ABO; sei di questi sono tra gli 82 che sostengono programmi di trapianto incompatibili ABO. Degli 80 laboratori che hanno indicato di eseguire uno screening anticorpale, uno ha indicato che ciò veniva fatto solo ogni tre mesi, uno che testava ogni sette giorni prima di una titolazione, un altro solo se richiesto dal medico e uno solo se per il paziente era richiesta una trasfusione di sangue.

In questo esercizio, le istruzioni richiedevano che per la titolazione fossero usati i globuli rossi forniti, e i risultati IAT suggeriscono che la maggior parte dei laboratori ha utilizzato queste cellule come indicato nelle istruzioni. In una situazione clinica coloro che eseguono uno screening anticorpale sarebbero stati consapevoli della necessità di selezionare cellule c negative per la titolazione, e un certo numero di laboratori ha contattato lo schema per indicare che questo sarebbe stato il caso.

Tuttavia, se si trattasse di una situazione clinica, è possibile che un titolo IAT anti-A falsamente alto sia stato riportato per il Paziente 3 nel 7% dei laboratori che supportano trapianti incompatibili ABO. Ciò potrebbe potenzialmente escludere inutilmente i pazienti da alcuni programmi di trapianti o essere soggetti a misure di riduzione degli anticorpi inappropriate.

Il Paziente 3 è stato rimosso dal punteggio per la titolazione IAT poiché i risultati riportati non riflettono il contenuto di anti-A del campione.

Si riporta una nota aggiuntiva rilasciata dal Team BTLP.

Per l'esercizio *ABO Titration*, UK NEQAS è solita inviare circa una volta l'anno un campione contaminato con anti-c. È fondamentale che i laboratori eseguano la titolazione utilizzando le cellule che vengono fornite con l'esercizio, poiché in questo modo, se tutti usano le cellule fornite da UK NEQAS, i risultati saranno tra di loro comparabili.

Gli esercizi con i campioni addizionati con anti-c sono fuori punteggio e non vengono valutati ai fini della performance, perché a volte qualche laboratorio esegue la titolazione utilizzando le proprie cellule e non quelle inviate da UK NEQAS.

Lo scopo del campione addizionato con l'anti-c è sempre quello di sottolineare quanto sia importante eseguire uno screening anticorpale prima di eseguire la titolazione ABO.

Se i laboratori individuano l'anti-c e ce lo comunicano, noi di UK NEQAS ci complimentiamo con loro. In tutti i casi, indipendentemente dal fatto che i laboratori abbiano utilizzato le nostre o le loro cellule, non riceveranno alcun punteggio di penalità.

Tipizzazione A₁

I risultati di consenso per la tipizzazione A₁ per i pazienti W e Z erano negativi. Escludendo un laboratorio che ha registrato risultati errati per tutti i tre pazienti, quindici laboratori hanno registrato uno o entrambi i pazienti W e Z come A₁ positivi o "non determinati". È possibile che i Pazienti W e Z siano del fenotipo A intermedio (A_{INT}). Non c'era alcuna correlazione tra il reagente utilizzato e i risultati fuori consenso / indeterminati. Al momento non raccogliamo dati sui gradi di reazione per i risultati di tipizzazione A₁ e la tipizzazione A₁ non è attualmente sottoposta a valutazione.

Ottenere il risultato corretto per la tipizzazione A₁ è importante quando si seleziona un donatore A₁ negativo per un trapianto renale non compatibile ABO per minimizzare il rischio di rigetto associato all'incompatibilità ABO. Quando si testa un donatore in questa situazione ci sono rischi associati con entrambi i risultati falsi positivi e falsi negativi. Un risultato falso negativo potrebbe aumentare il rischio di rigetto per incompatibilità ABO. Un risultato falso positivo, presenta un rischio minore ma comunque significativo che un organo potenzialmente idoneo non venga utilizzato per il trapianto, causando un ritardo al ricevente.

Tabella 2 – Risultati della tipizzazione A₁

Campione	Risultati attesi	Risultati complessivi		
		A ₁ positivo	A ₁ negativo	A ₁ non determinato
Paziente W	Negativo	6 (6.82%)	80 (90.91%)	2 (2.27%)
Paziente Y	Positivo	86 (97.73%)	2 (2.27%)	0 (0%)
Paziente Z	Negativo	9 (10.23%)	73 (82.95%)	6 (6.82%)

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" 23ABOT3

- 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 50µL di sospensione di cellule in CellStab o ID-diluent 2
- b. Aggiungere 25µl 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 50µL di sospensione di cellule in CellStab o ID-diluent 2
- b. Aggiungere 50µL 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