

Introduzione

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

Tre campioni plasma 'pazienti' (Pazienti 1, 2 e 3), Paziente 1 era di gruppo O e i Pazienti 2 e 3 erano preparati dallo stesso pool di plasma di gruppo A.

Cellule di gruppo Brr 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 114 laboratori, 33 nel Regno Unito (UK) e nella Repubblica d'Irlanda (ROI) e 81 fuori dal Regno Unito. I risultati sono stati restituiti da 112/114 (98.2%) laboratori entro la data di chiusura.

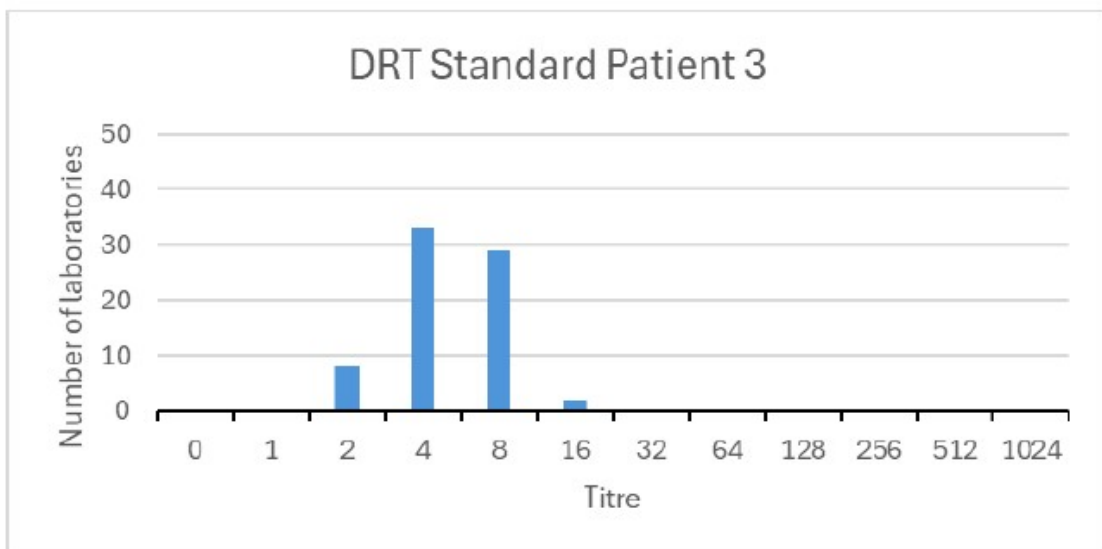
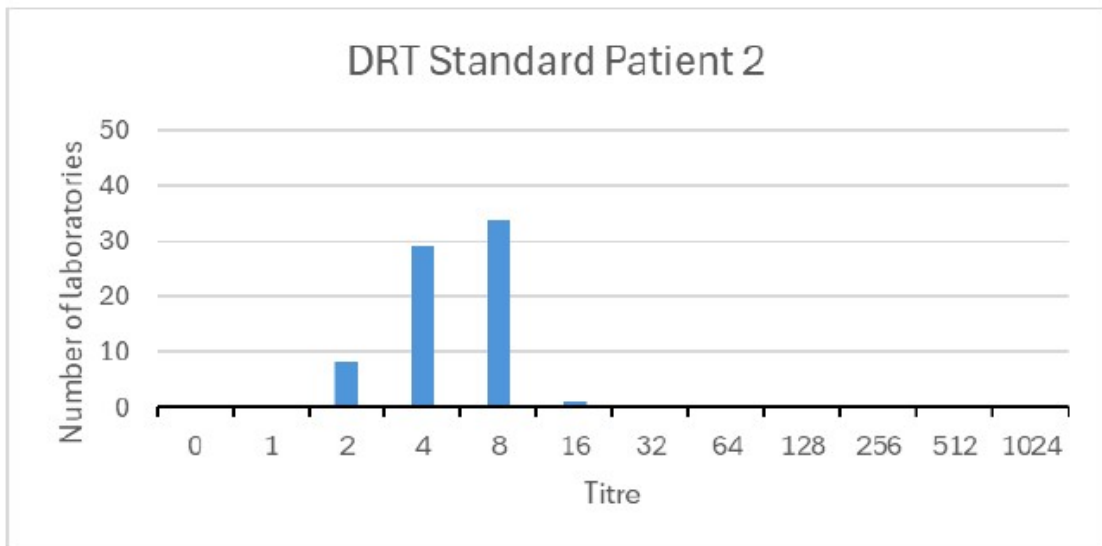
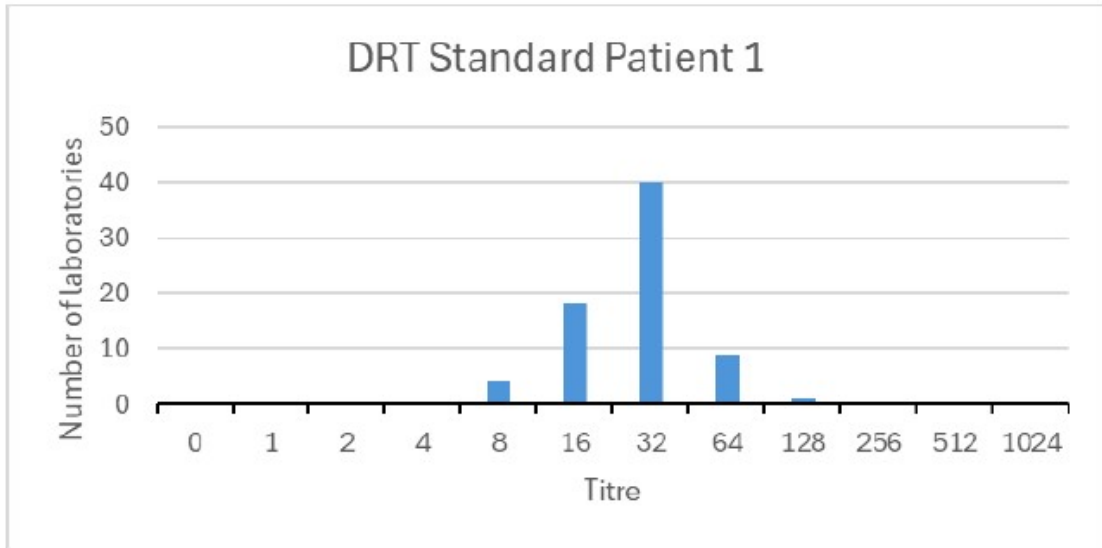
Una qualità soddisfacente dei campioni è stata registrata da tutti i laboratori per tutti e tre i campioni di plasma dei pazienti.

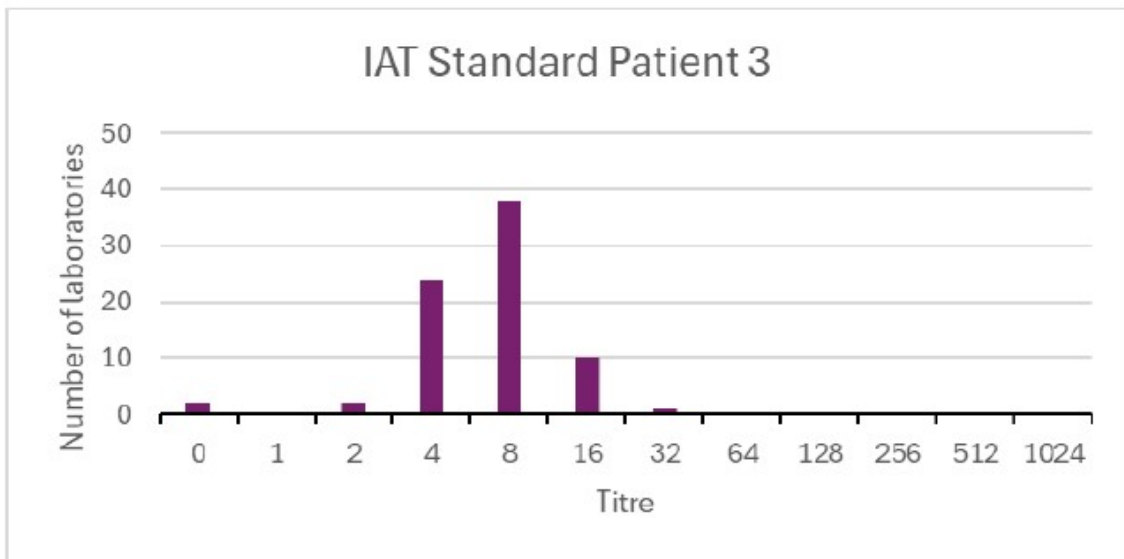
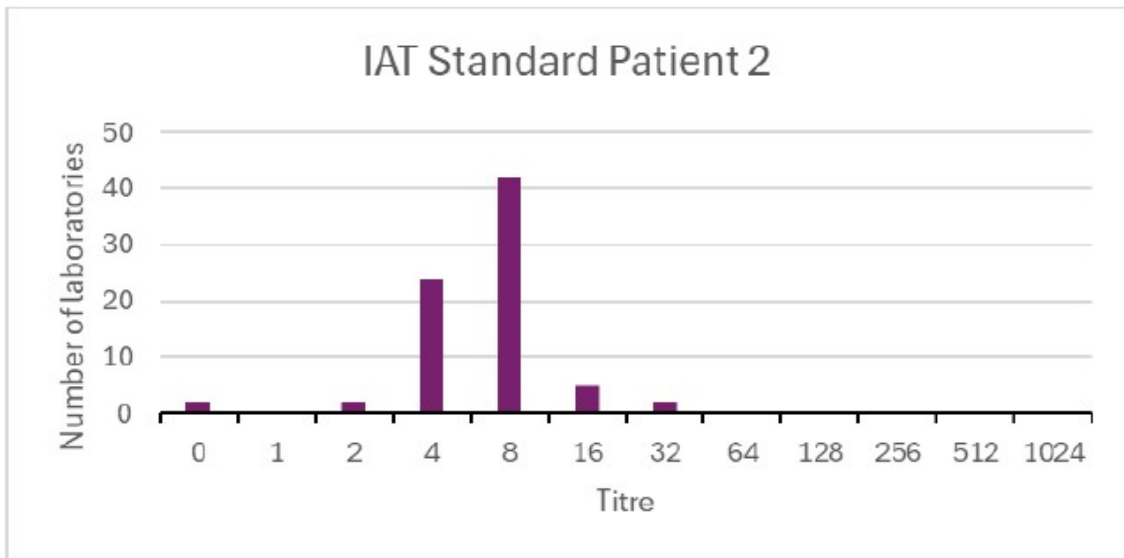
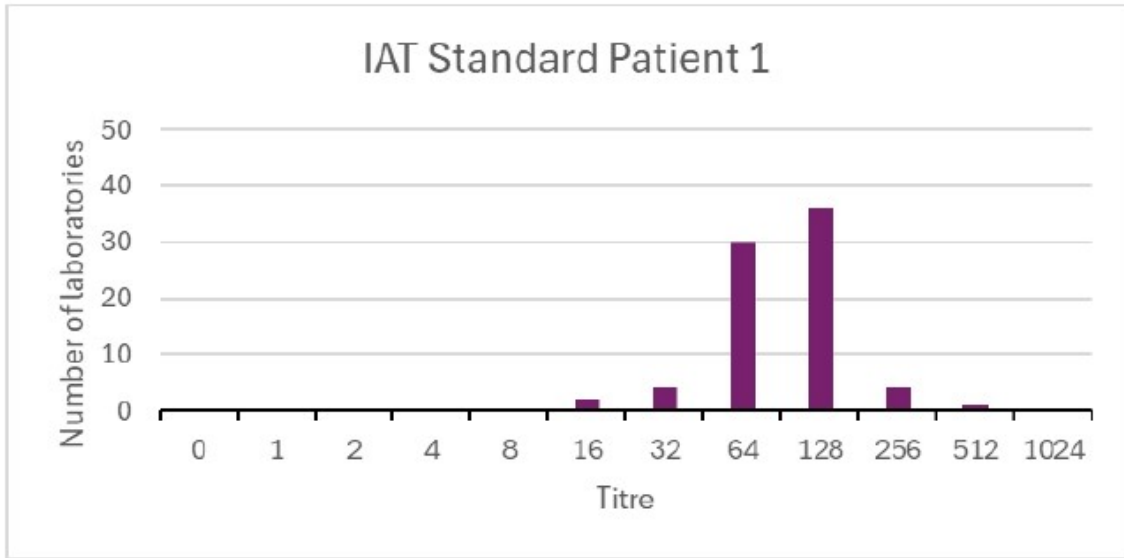
La titolazione ABO viene eseguita per supportare programmi di trapianto ABO incompatibili in 89/112 (79.5%) laboratori che hanno risposto alla domanda; di questi, 57 supportano trapianti renali ABO incompatibili.

I risultati ottenuti utilizzando le tecniche 'standard' per DRT e/o IAT sono stati restituiti da 81 laboratori su 113 (71.1%). Trentasette di questi hanno anche restituito i risultati per un metodo DRT e/o IAT in-house. Trentadue laboratori hanno restituito i risultati solo per i metodi in-house.

La rappresentazione grafica dei risultati delle tecniche standard si trova 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

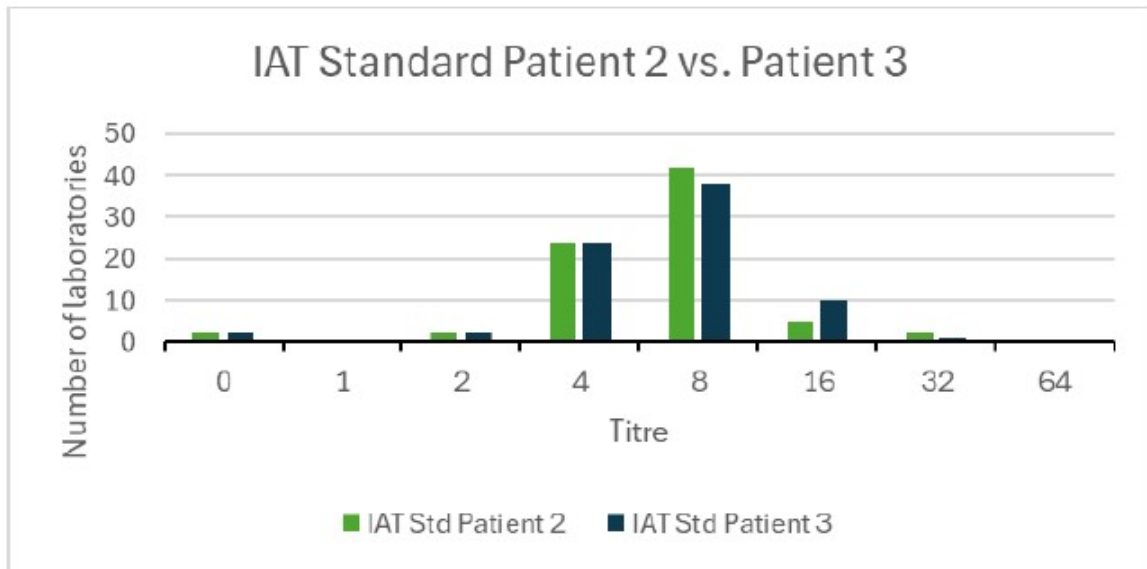
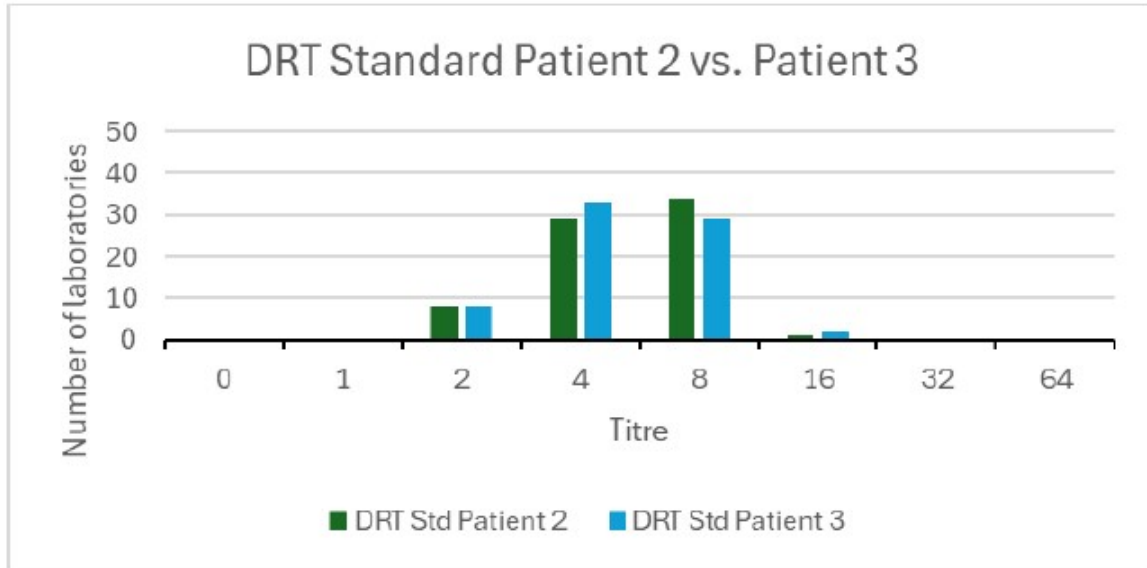
Technique	Titration result (range)					
	Patient1 number of results	Patient1 median (range)	Patient2 number of results	Patient2 median (range)	Patient3 number of results	Patient3 median (range)
DRT Standard	72	32 (8-128)	72	4 (2-16)	72	4 (2-16)
DRT In-house DiaMed	15	16 (8-32)	15	4 (2-8)	15	4 (2-8)
DRT In-house BioVue	10	32 (16-128)	10	4 (2-8)	10	4 (2-16)
DRT In-house Grifols	13	32 (16-64)	13	8 (2-8)	13	4 (4-8)
DRT In-house Tube	11	16 (4-64)	11	8 (2-32)	11	4 (2-32)
DRT In-house Immucor	10	8 (2-8)	10	2 (0-4)	10	2 (0-4)
DRT In-house Other	3	32 (32-128)	3	4 (4-8)	3	4 (4-16)
IAT Standard	77	128 (16-256)	77	8 (0-32)	77	8 (0-16)
IAT In-house (untreated) DiaMed	13	64 (32-256)	13	4 (2-16)	13	8 (2-32)
IAT In-house (untreated) BioVue	7	256 (128-1024)	7	16 (4-32)	7	16 (4-32)
IAT In-house (untreated) Grifols	12	64 (64-128)	12	8 (4-16)	12	8 (4-16)
IAT In-house (untreated) Tube	3	256 (64-512)	3	32 (8-32)	3	16 (8-32)
IAT In-house (untreated) Immucor	9	64 (32-128)	9	2 (0-4)	9	1 (0-2)
IAT In-house (untreated) Other	2	384 (256-512)	2	16 (16-16)	2	16 (16-16)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) DiaMed	8	48 (16-128)	8	0 (0-2)	8	0 (0-4)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) BioVue	2	144 (32-256)	2	1 (0-2)	2	1 (0-2)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Grifols	1	32 (32-32)	1	2 (2-2)	1	2 (2-2)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Tube	3	64 (64-512)	3	4 (2-8)	3	4 (2-8)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Immucor	1	64 (64-64)	1	0 (0-0)	1	0 (0-0)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Other	2	288 (64-512)	2	2 (2-2)	2	2 (2-2)

Tabella 2 – I vostri risultati

Omissis

Discussione

Il Paziente 2 e il Paziente 3 sono stati preparati dallo stesso pool. I grafici seguenti confrontano i titoli DRT e IAT ottenuti per i Pazienti 2 e 3 per le tecniche standard.



La maggior parte dei laboratori che utilizzano le tecniche standard hanno registrato titoli identici per i Pazienti 2 e 3; 59/72 (81,9%) per la tecnica DRT standard e 61/77 (79,2%) per la tecnica IAT standard.

I laboratori che non hanno registrato titoli identici, tutti tranne un laboratorio, erano dentro una diluizione per entrambe le metodiche DRT e IAT standard.

Tipizzazione A₁

Il risultato di consenso per la tipizzazione A₁ per il paziente Z era Negativo; escludendo i risultati di un laboratorio che ha registrato "Incapace di determinare" per tutti e tre i campioni, 52/96 (54,2%) laboratori hanno riportato questo risultato. Venticinque laboratori hanno registrato questo Paziente come A₁ positivo e 19 lo hanno registrato "non determinato"; non c'era correlazione con il reagente utilizzato. È verosimile che questo campione sia di fenotipo A_{int.}, e sono in corso ulteriori test per determinarlo.

REPORT AGGIORNATO

Il laboratorio di riferimento ha riscontrato che i globuli rossi del paziente Z davano la stessa reazione di intensità rispetto a un controllo A_{int} noto e reazioni di forza leggermente aumentate rispetto al controllo A₂, quando testato con Dolichos biflorus. I globuli rossi del paziente Z sono quindi meglio descritto come A_{int}.

Tabella 3 – Risultati della tipizzazione A₁

Campione	Risultati attesi	Risultati complessivi		
		A1 positivo	A1 negativo	A1 non determinato
Paziente W	Positivo	96 (98,97%)	0 (0%)	1 (1,03%)
Paziente Y	Positivo	96 (98,97%)	0 (0%)	1 (1,03%)
Paziente Z	Negativo	25 (25,77%)	52 (53,61%)	20 (20,62%)

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" 24ABOT2

- 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