

## Introduzione

I partecipanti sono stati invitati a titolare l'anti-A in tre campioni di plasma da testare contro globuli rossi di gruppo A<sub>1</sub> 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 A<sub>1</sub>, 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 e 2 erano di gruppo O ed erano prodotti dallo stesso pool di materiale. Il Paziente 3 era di gruppo B.
- Cellule di gruppo A<sub>1</sub> rr per la titolazione
- Tre campioni di globuli rossi in soluzione di Alsever (Paziente W, Y e Z) per la tipizzazione A<sub>1</sub>.

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 117 laboratori, 34 nel Regno Unito (UK) e nella Repubblica d'Irlanda (ROI) e 83 fuori dal Regno Unito. I risultati sono stati restituiti da 110/117 (94%) laboratori entro la data di chiusura.

Due laboratori hanno restituito risultati solo per la tipizzazione A<sub>1</sub> e sono inclusi nelle percentuali di restituzione di cui sopra, ma non nell'analisi dei risultati di titolazione sotto.

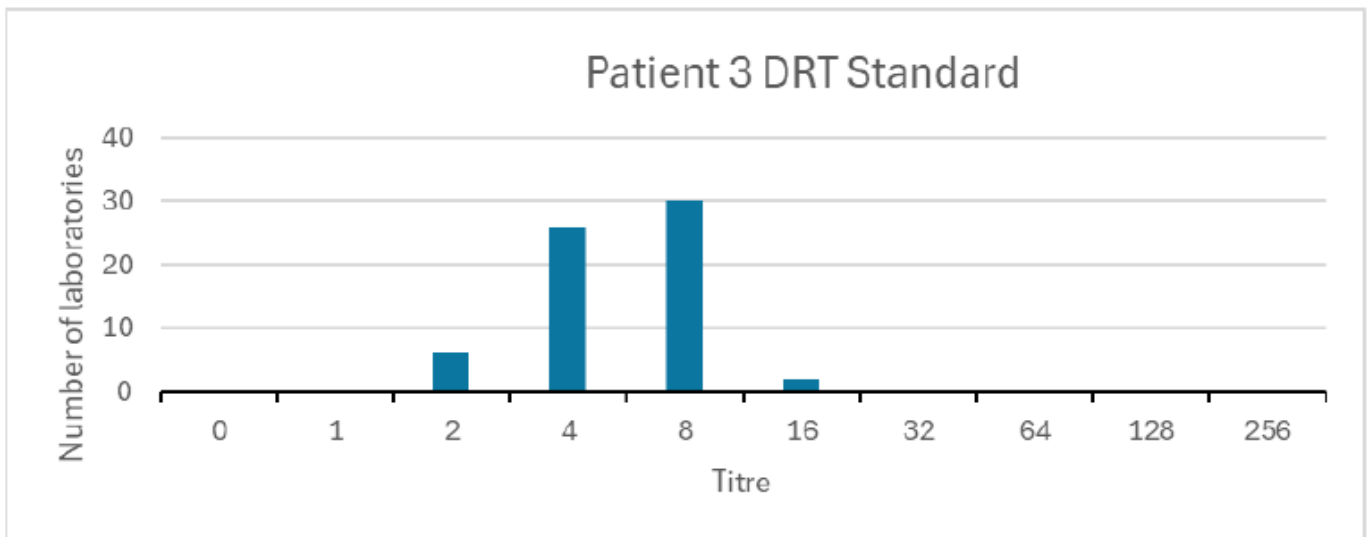
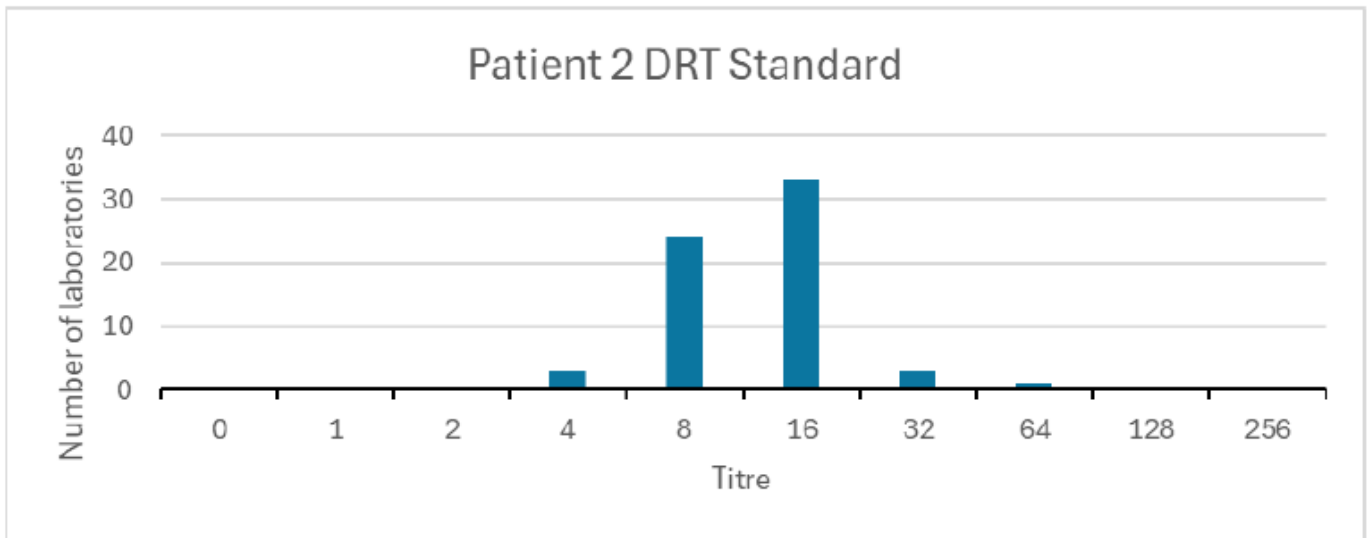
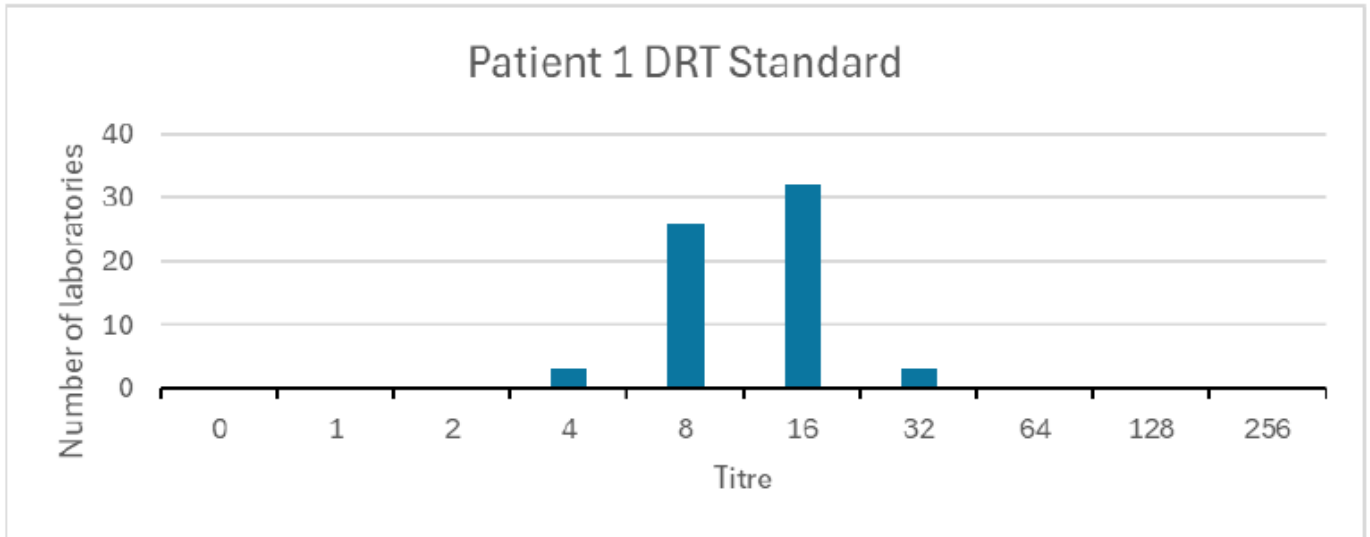
Una qualità soddisfacente dei campioni è stata registrata da tutti i laboratori per tutti i campioni Pazienti.

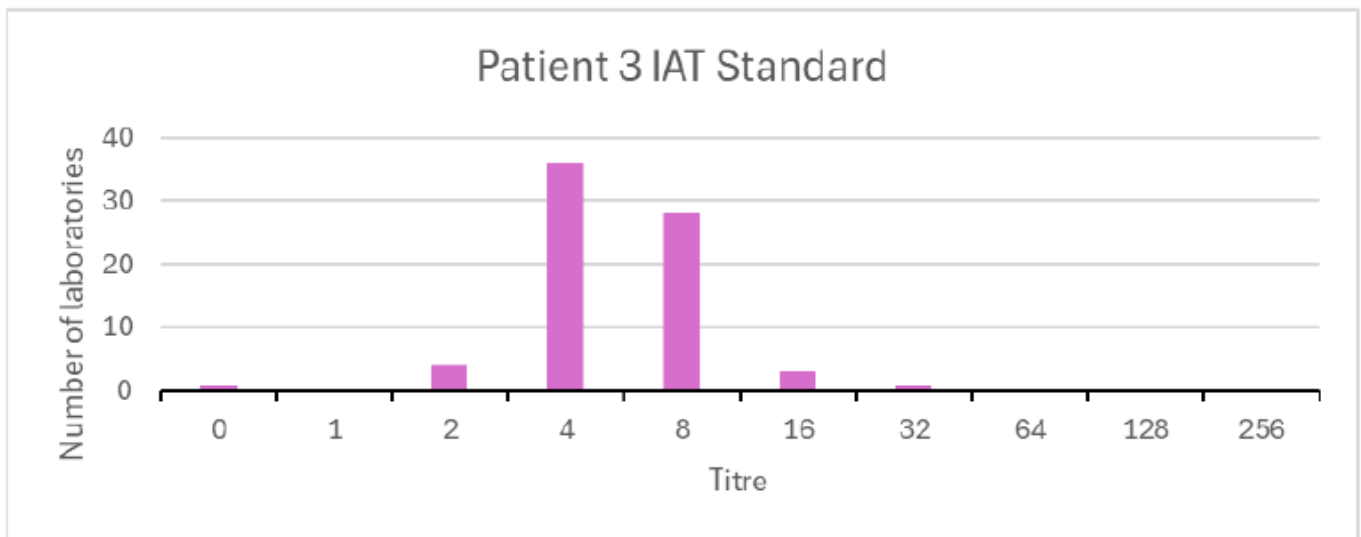
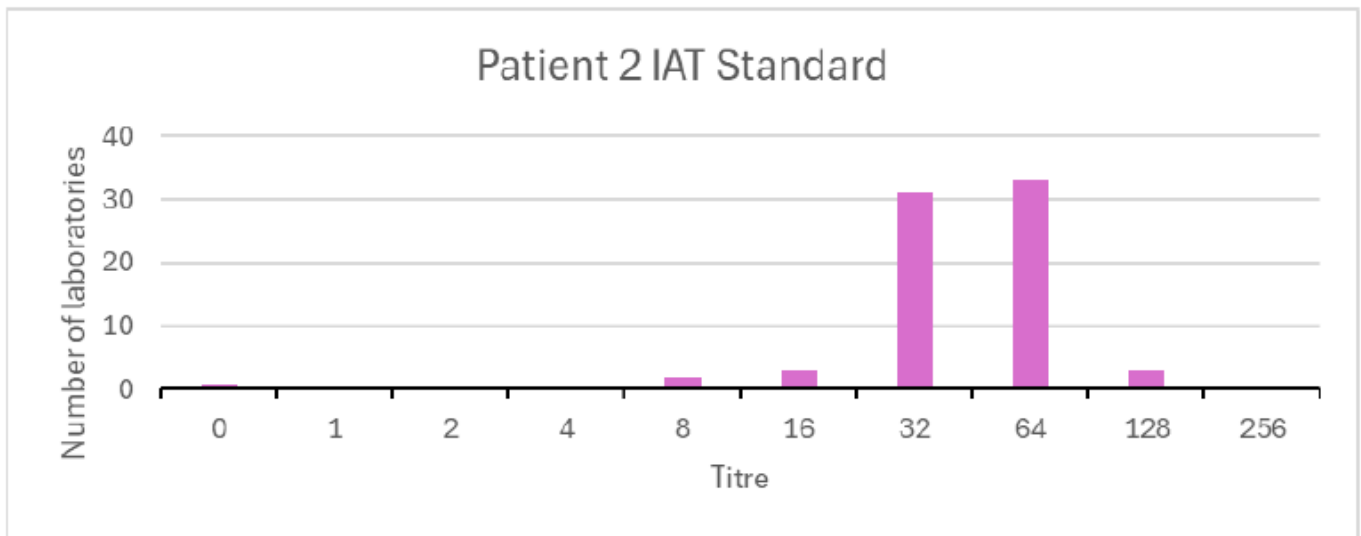
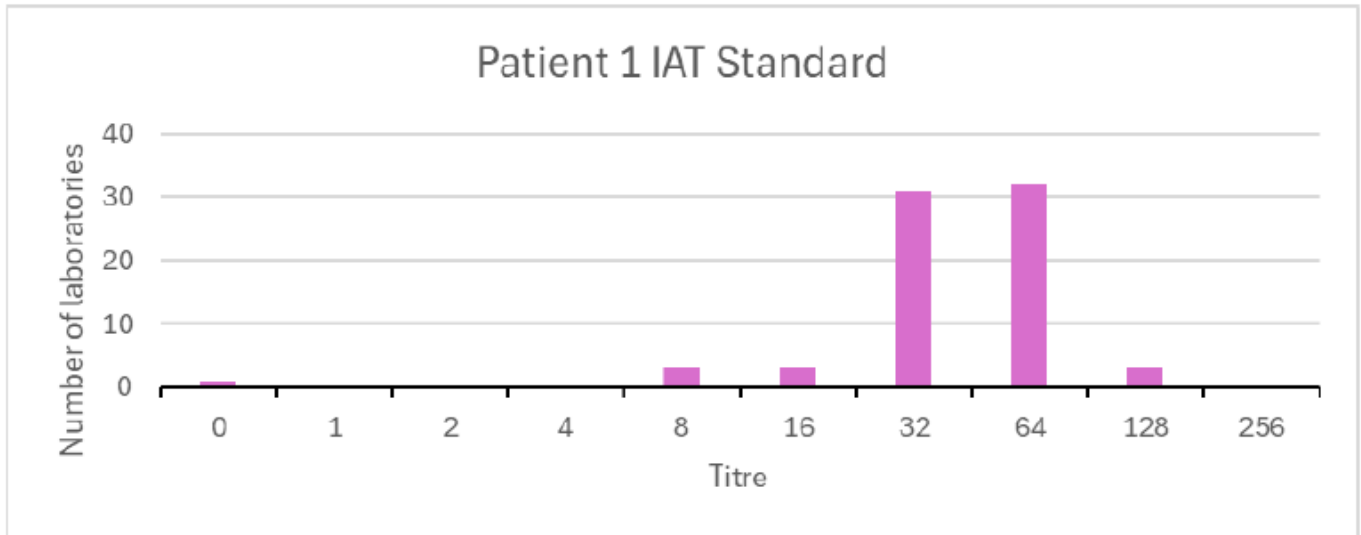
La titolazione ABO viene eseguita per supportare programmi di trapianto ABO incompatibili in 89/107 (83.2%) laboratori che hanno risposto alla domanda; di questi, 57 supportano trapianti renali ABO incompatibili.

I risultati ottenuti utilizzando le tecniche 'standard' per DRT e/o IAT sono stati restituiti da 75 laboratori su 108 (69.4%). Trentotto di questi hanno anche restituito i risultati per un metodo DRT e/o IAT in-house. Trentatré 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**

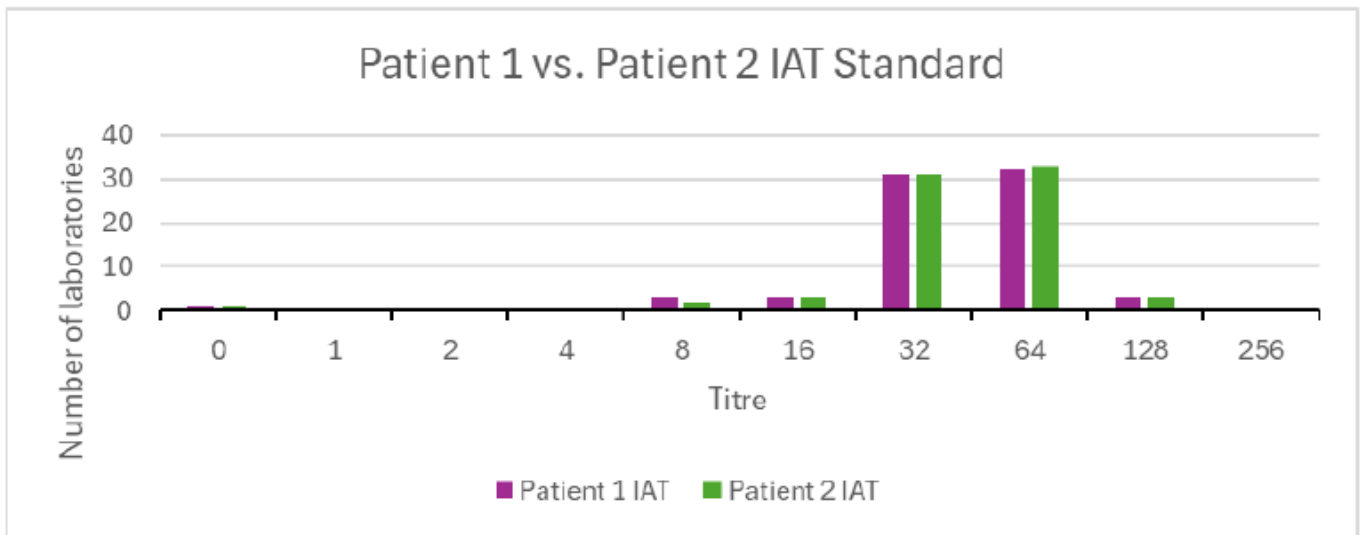
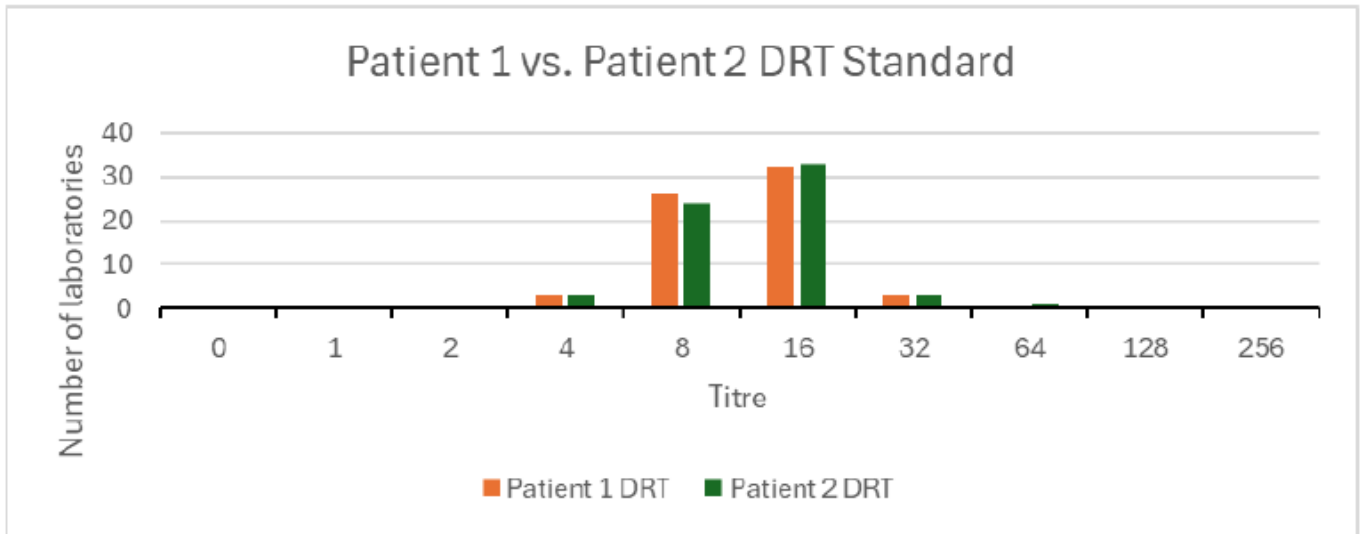
Technique	Titration result (range)					
	Patient1 number of results	Patient1 median (range)	Patient2 number of results	Patient2 median (range)	Patient3 number of results	Patient3 median (range)
DRT Standard	64	16 (4-32)	64	16 (4-64)	64	6 (2-16)
DRT In-house DiaMed	14	8 (4-16)	14	8 (4-16)	14	4 (2-8)
DRT In-house BioVue	11	16 (4-64)	11	16 (8-64)	11	4 (2-16)
DRT In-house Grifols	14	8 (8-32)	14	12 (8-16)	14	4 (2-8)
DRT In-house Tube	11	16 (2-64)	11	8 (2-64)	11	4 (2-16)
DRT In-house Immucor	10	6 (4-8)	10	6 (4-8)	10	4 (2-8)
DRT In-house Other	1	16 (16-16)	1	16 (16-16)	1	4 (4-4)
IAT Standard	73	32 (0-128)	73	32 (0-128)	73	4 (0-32)
IAT In-house (untreated) DiaMed	10	64 (32-128)	10	64 (32-128)	10	8 (4-16)
IAT In-house (untreated) BioVue	8	128 (32-128)	8	128 (32-256)	8	16 (4-16)
IAT In-house (untreated) Grifols	14	64 (32-256)	14	64 (32-128)	14	8 (4-8)
IAT In-house (untreated) Tube	3	128 (64-128)	3	64 (64-128)	3	16 (16-16)
IAT In-house (untreated) Immucor	9	32 (16-64)	9	32 (16-32)	9	1 (0-4)
IAT In-house (untreated) Other	1	256 (256-256)	1	256 (256-256)	1	32 (32-32)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) DiaMed	8	64 (16-64)	8	64 (16-128)	8	2 (0-8)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) BioVue	3	64 (32-64)	3	64 (32-64)	3	4 (2-4)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Grifols	3	8 (1-32)	3	8 (1-32)	3	1 (0-2)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Tube	3	64 (16-64)	3	64 (16-128)	3	4 (2-8)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Immucor	1	16 (16-16)	1	32 (32-32)	1	1 (1-1)

## Tabella 2 – I vostri risultati

Omissis

**Discussione**

Il Paziente 1 e il Paziente 2 sono stati preparati dallo stesso pool. I grafici sottostanti confrontano i titoli DRT e IAT ottenuti per i pazienti 1 e 2 con le tecniche standard.



La maggior parte dei laboratori che utilizzano le tecniche standard ha registrato titoli identici per i pazienti 1 e 2; 58/64 (90,6%) per lo standard DRT e 60/73 (82,2%) per lo standard IAT. Dei laboratori che non hanno registrato titoli identici, tutti rientravano in una diluizione sia per lo standard DRT che per quello IAT.

**Tipizzazione A<sub>1</sub>**

Il risultato di consenso per il paziente Y è stato A<sub>1</sub> negativo, con l'86% dei laboratori che hanno registrato questo risultato. Escludendo un laboratorio che può avere trasposto campioni o risultati per i Pazienti 2 e 3, due laboratori hanno registrato un risultato di A<sub>1</sub> positivo per il Paziente Y e 10 hanno registrato A1 non determinato, compresi i test interni eseguiti presso UK NEQAS dove è stato ottenuto un risultato positivo debole con reagenti sia a base di lectina che monoclonali. Poiché al momento non raccogliamo gradi di reazione per la tipizzazione A1, le intensità di reazione ottenute dai laboratori che registrano "non determinato" sono sconosciute.

**Tabella 3 – Risultati della tipizzazione A<sub>1</sub>**

Campione	Risultati attesi	Risultati complessivi		
		A1 positivo	A1 negativo	A1 non determinato
Paziente W	Positivo	96 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Paziente Y	Negativo	3 (3,13%)	83 (86,46%)	10 (10,42%)
Paziente Z	Positivo	95 (98,96%)	1 (1,04%)	0 (0%)

## 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" 24ABOT4

- 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