

Introduzione

I partecipanti sono stati invitati a titolare l'anti-A in tre campioni di plasma verso 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:

- Tre campioni plasma 'pazienti' (Pazienti 1, 2 e 3). I pazienti 1 e 2 erano di gruppo B ed erano prodotti dallo stesso pool di materiale. Il paziente 3 era 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 122 laboratori, 35 nel Regno Unito (UK) e nella Repubblica d'Irlanda (ROI) e 87 fuori dal Regno Unito. I risultati sono stati restituiti da 118/122 (96.7%) laboratori entro la data di chiusura.

Tre laboratori hanno restituito risultati solo per la tipizzazione A₁ e sono inclusi nelle percentuali di restituzione di cui sopra, ma non nell'analisi dei risultati di titolazione sotto riportati.

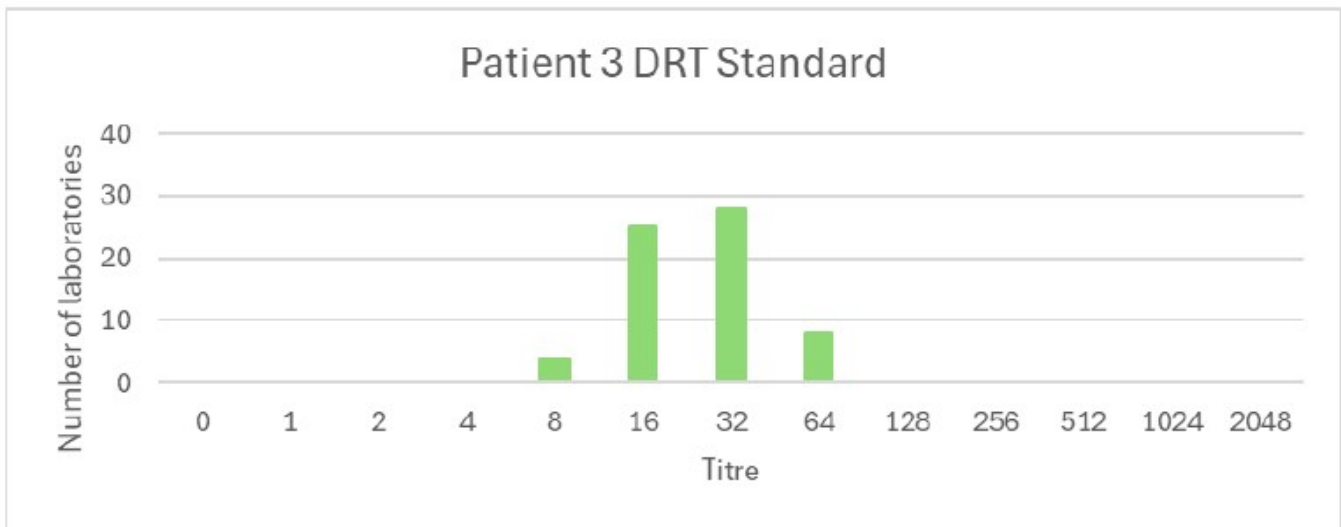
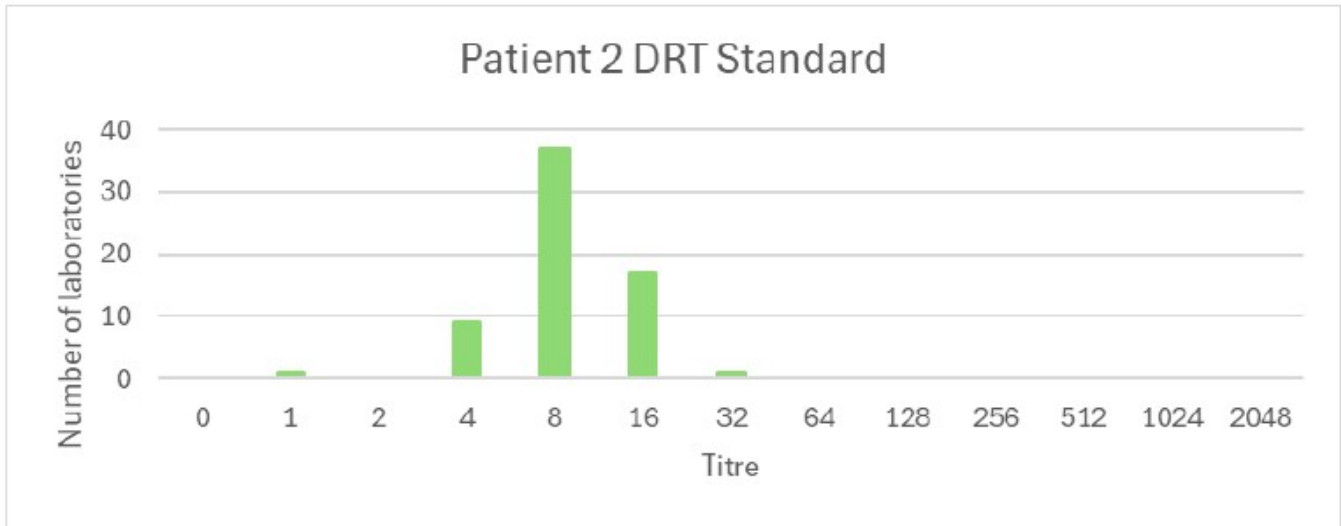
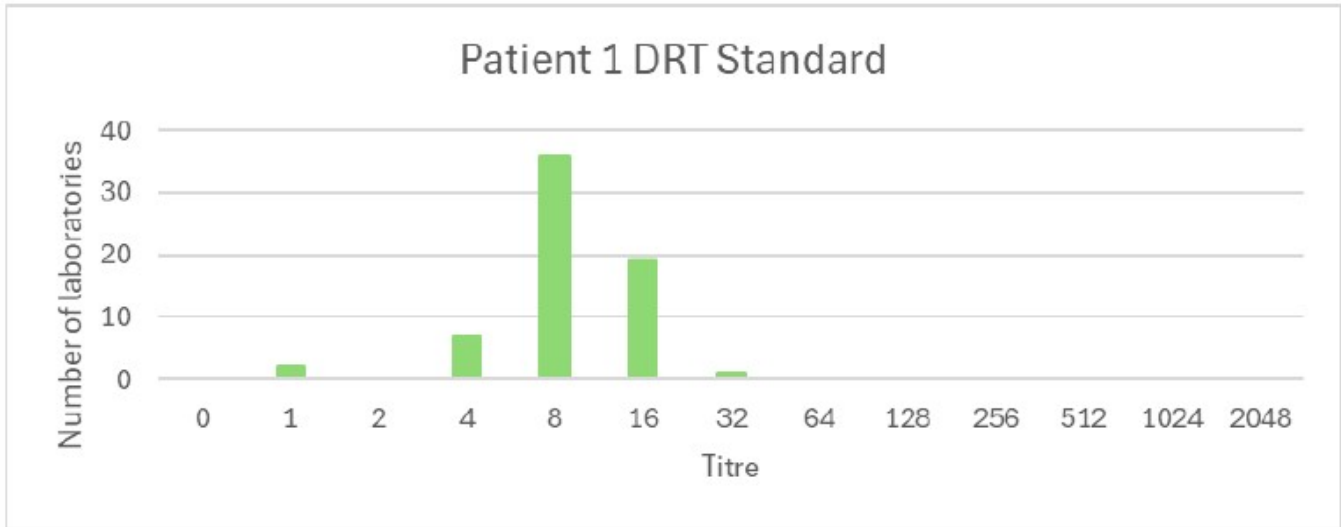
Una qualità soddisfacente dei campioni è stata registrata da tutti i laboratori per i Pazienti 1 e 2; un laboratorio ha registrato una qualità non soddisfacente per il Paziente 3, citando la presenza di fibrina.

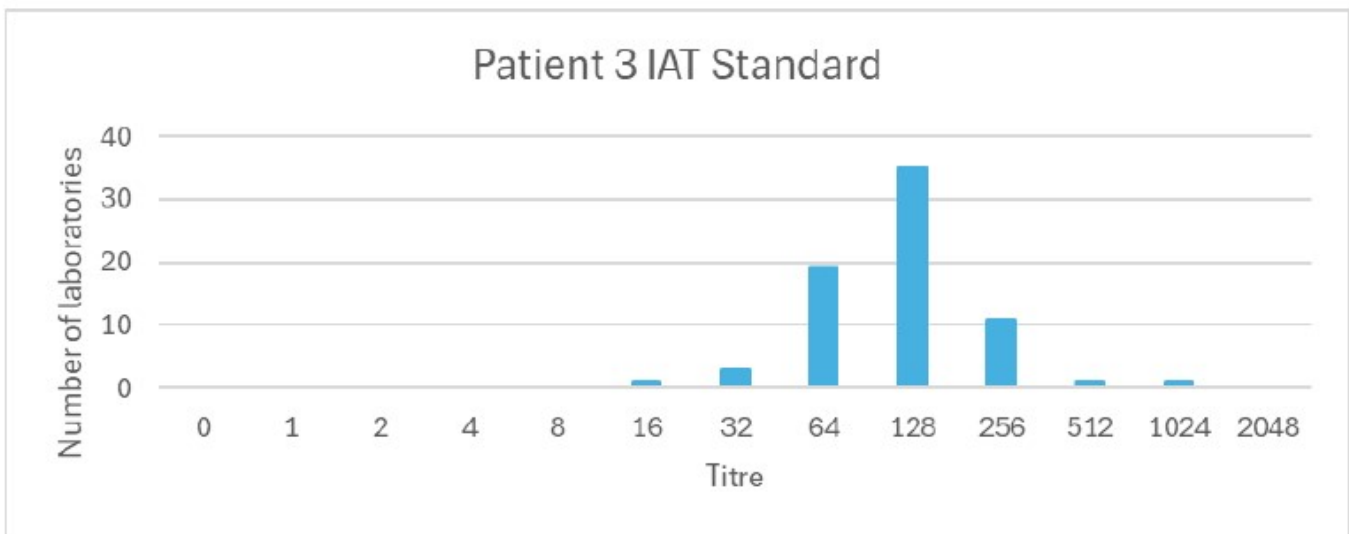
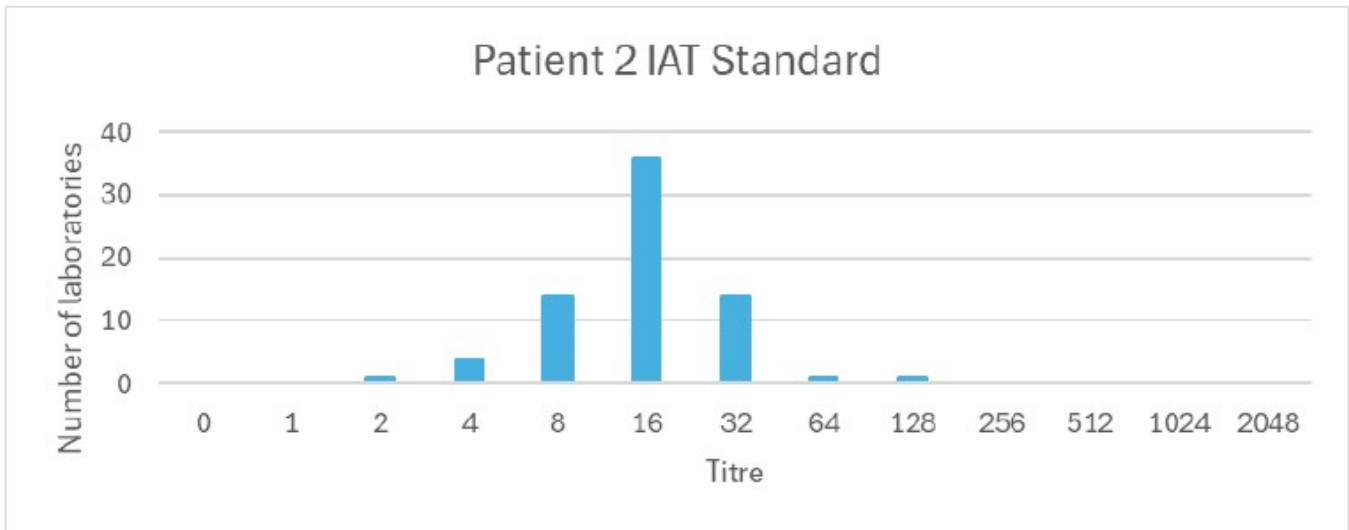
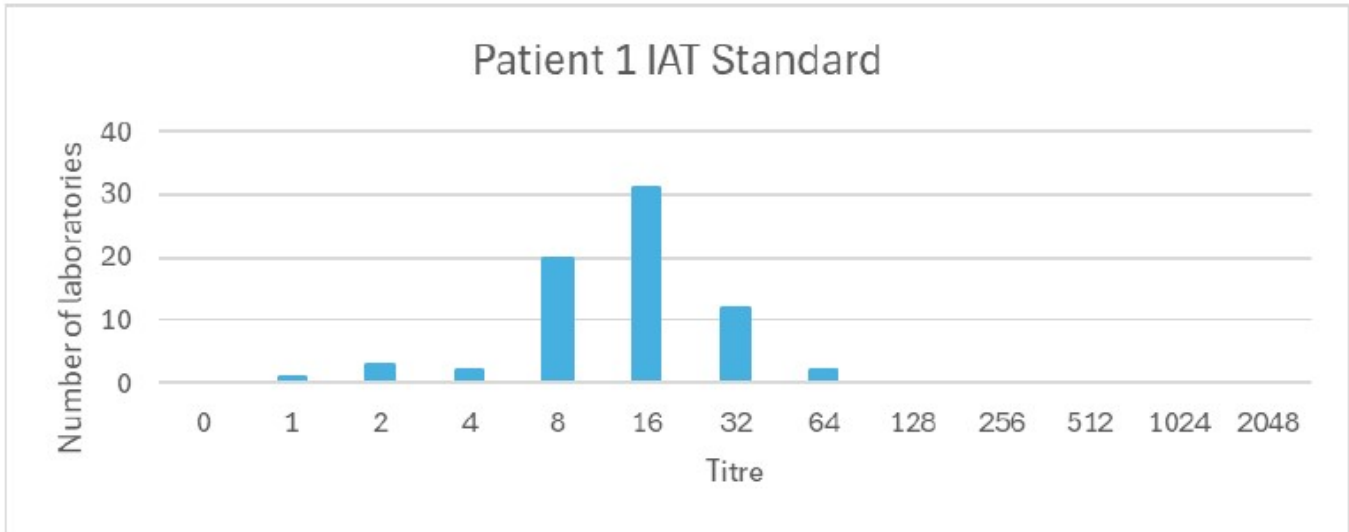
La titolazione ABO viene eseguita per supportare programmi di trapianto ABO incompatibili in 86/115 (74.8%) laboratori che hanno risposto alla domanda; di questi, 55 supportano trapianti renali ABO incompatibili.

I risultati ottenuti utilizzando le tecniche 'standard' per DRT e/o IAT sono stati restituiti da 73 laboratori su 115 (69.4%). Trentaquattro di questi hanno anche restituito risultati per un metodo DRT e/o per un metodo IAT in house. Quarantadue 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

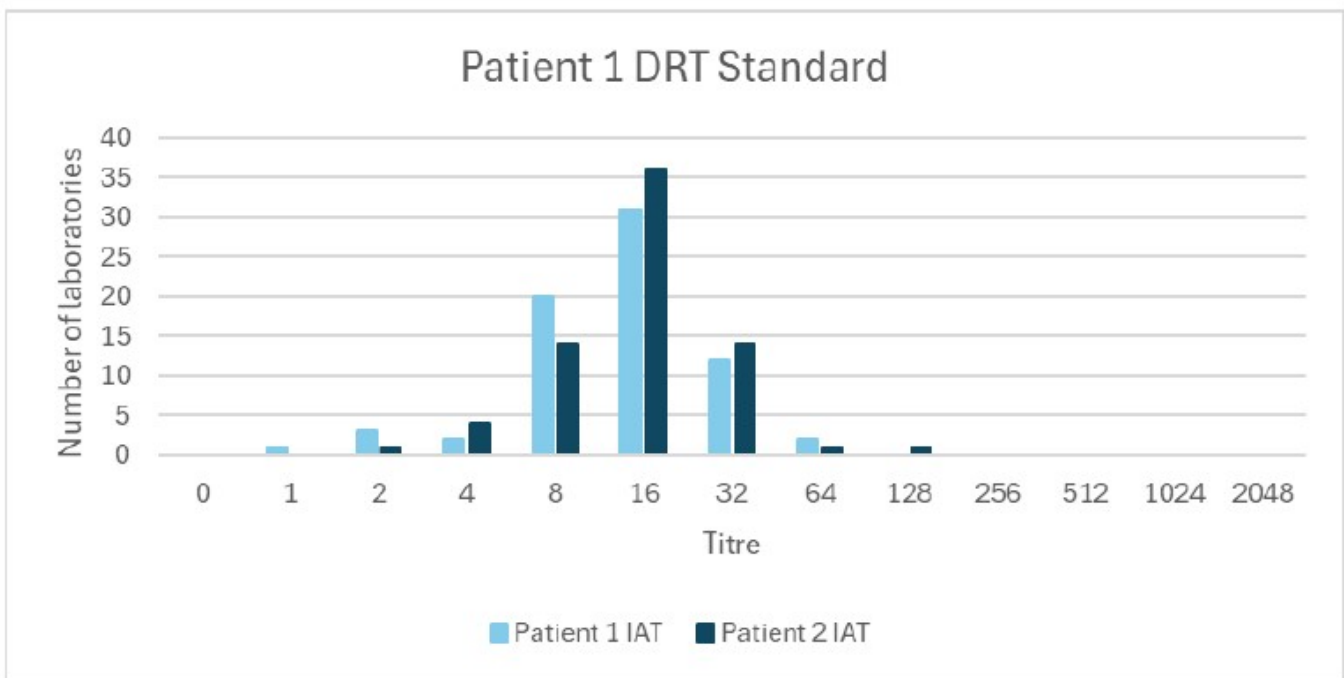
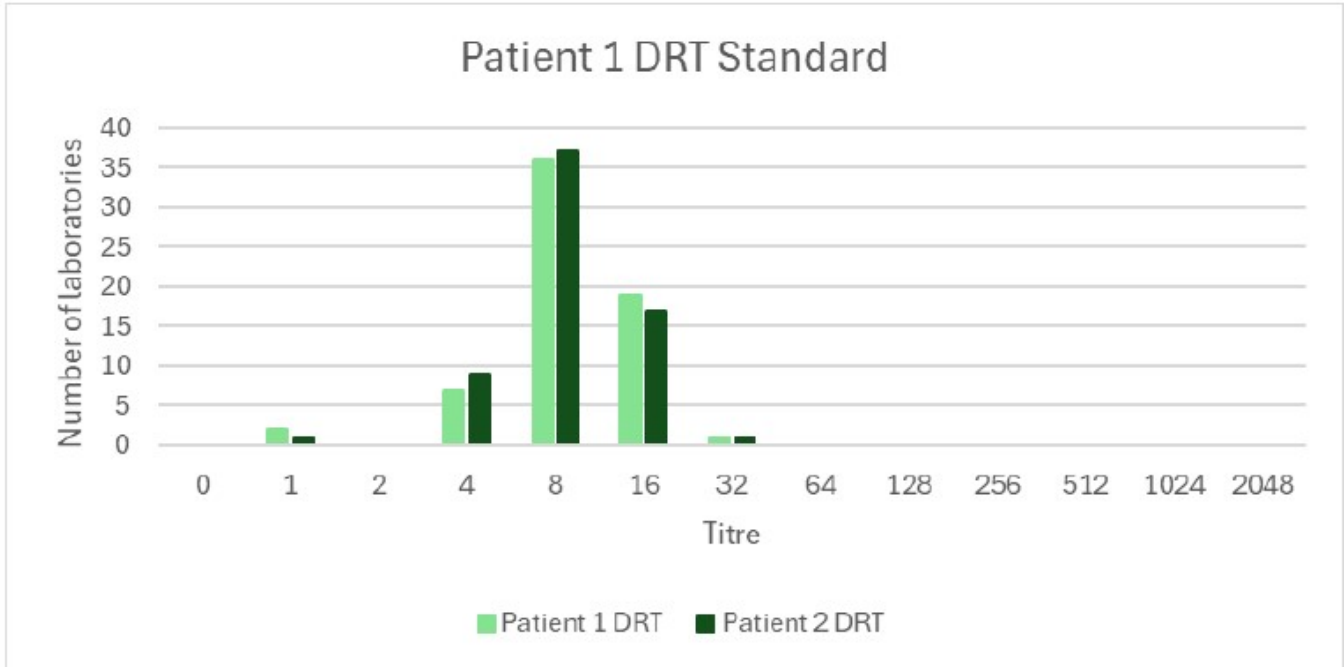
| Technique | Titration result (range) | | | | | |
|--|----------------------------|-------------------------|----------------------------|-------------------------|----------------------------|-------------------------|
| | Patient1 number of results | Patient1 median (range) | Patient2 number of results | Patient2 median (range) | Patient3 number of results | Patient3 median (range) |
| DRT Standard | 65 | 8 (1-32) | 65 | 8 (1-32) | 65 | 32 (8-64) |
| DRT In-house DiaMed | 16 | 8 (1-64) | 16 | 8 (4-64) | 16 | 16 (16-64) |
| DRT In-house BioVue | 14 | 8 (2-32) | 14 | 8 (2-32) | 14 | 24 (4-256) |
| DRT In-house Grifols | 15 | 8 (8-16) | 15 | 8 (8-16) | 15 | 32 (16-32) |
| DRT In-house Tube | 9 | 16 (8-32) | 9 | 16 (8-32) | 9 | 16 (4-128) |
| DRT In-house Immucor | 9 | 8 (4-8) | 9 | 8 (4-8) | 9 | 8 (8-8) |
| DRT In-house Other | 2 | 2 (0-4) | 2 | 2 (0-4) | 2 | 8 (0-16) |
| IAT Standard | 71 | 16 (1-64) | 71 | 16 (2-128) | 71 | 128 (16-1024) |
| IAT In-house (untreated) DiaMed | 11 | 16 (8-64) | 11 | 16 (8-64) | 11 | 128 (64-512) |
| IAT In-house (untreated) BioVue | 14 | 32 (8-64) | 14 | 32 (8-64) | 14 | 256 (128-512) |
| IAT In-house (untreated) Grifols | 14 | 16 (8-128) | 14 | 16 (8-128) | 14 | 128 (64-512) |
| IAT In-house (untreated) Tube | 2 | 72 (16-128) | 2 | 48 (32-64) | 2 | 576 (128-1024) |
| IAT In-house (untreated) Immucor | 8 | 2 (2-4) | 8 | 2 (2-4) | 8 | 64 (32-64) |
| IAT In-house (untreated) Other | 2 | 8 (0-16) | 2 | 8 (0-16) | 2 | 64 (0-128) |
| IAT In-house DTT Treated (or equivalent) DiaMed | 8 | 4 (0-16) | 8 | 6 (0-16) | 8 | 96 (8-256) |
| IAT In-house DTT Treated (or equivalent) BioVue | 3 | 8 (8-16) | 3 | 16 (8-16) | 3 | 128 (128-128) |
| IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Grifols | 2 | 4.5 (1-8) | 2 | 4.5 (1-8) | 2 | 96 (64-128) |
| IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Tube | 4 | 20 (8-32) | 4 | 16 (16-32) | 4 | 128 (128-512) |
| IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Immucor | 1 | 2 (2-2) | 1 | 1 (1-1) | 1 | 8 (8-8) |

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; 48/65 (73.8%) per lo standard DRT e 51/71 (71.8%) per lo standard IAT. Dei venti laboratori che hanno registrato titoli differenti per lo standard IAT, diciotto hanno registrato titoli oltre una diluizione, uno ha registrato titoli oltre due diluizioni, e uno ha registrato un titolo per il Paziente 2 tre diluizioni più alte rispetto al Paziente 1.

Tipizzazione A₁

I risultati di consenso per i Pazienti Y e Z erano A₁ negativi, con l'81.4% e l'83.5% dei laboratori che hanno registrato questo risultato rispettivamente; ciò riflette i nostri test interni con vari reagenti.

Poiché attualmente non raccogliamo i gradi di reazione per la tipizzazione A₁, le intensità di reazione ottenute dai laboratori che hanno registrato "non determinato" sono sconosciute.

Tabella 3 – Risultati della tipizzazione A₁

| Campione | Risultati attesi | Risultati complessivi | | |
|------------|------------------|-----------------------|-------------|--------------------|
| | | A1 positivo | A1 negativo | A1 non determinato |
| Paziente W | Negativo | 0 (0%) | 97 (100%) | 0 (0%) |
| Paziente Y | Negativo | 11 (11.34%) | 79 (81.44%) | 7 (7.22%) |
| Paziente Z | Negativo | 10 (10.31%) | 81 (83.51%) | 6 (6.19%) |

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" 25ABOT3

- 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