

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 con un piccolo volume di anti-s ad alto titolo aggiunto al Paziente 1; il Paziente 3 era di gruppo O.
- Cellule di gruppo A₁rr per la titolazione
- Tre campioni di globuli rossi in soluzione di Alsever (Pazienti 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 123 laboratori, 35 nel Regno Unito (UK) e nella Repubblica d'Irlanda (ROI) e 88 fuori dal Regno Unito. I risultati sono stati restituiti da 121/123 (98.4%) 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 dal 100% dei laboratori per i Pazienti 2 e 3. Diciotto laboratori hanno registrato una qualità non soddisfacente per il Paziente 1; tutti hanno indicato che il campione non era utilizzabile per la titolazione usando le cellule fornite a causa della presenza di un alloanticorpo, quindici di questi hanno correttamente identificato l'anticorpo come anti-s.

Il Paziente 1 è stato escluso dal punteggio poiché i risultati riportati non riflettono il contenuto di anti-A del campione.

66/72 (91,7%) laboratori, che hanno riportato risultati IAT Standard sia per il Paziente 1 che per il Paziente 2, hanno riportato per il Paziente 1 risultati di due o più diluizioni superiori rispetto al Paziente 2.

La titolazione ABO viene eseguita a supporto dei programmi di trapianto ABO incompatibili in 90/115 (78,3%) laboratori che hanno risposto alla domanda; di questi, 59 supportano trapianti renali ABO incompatibili.

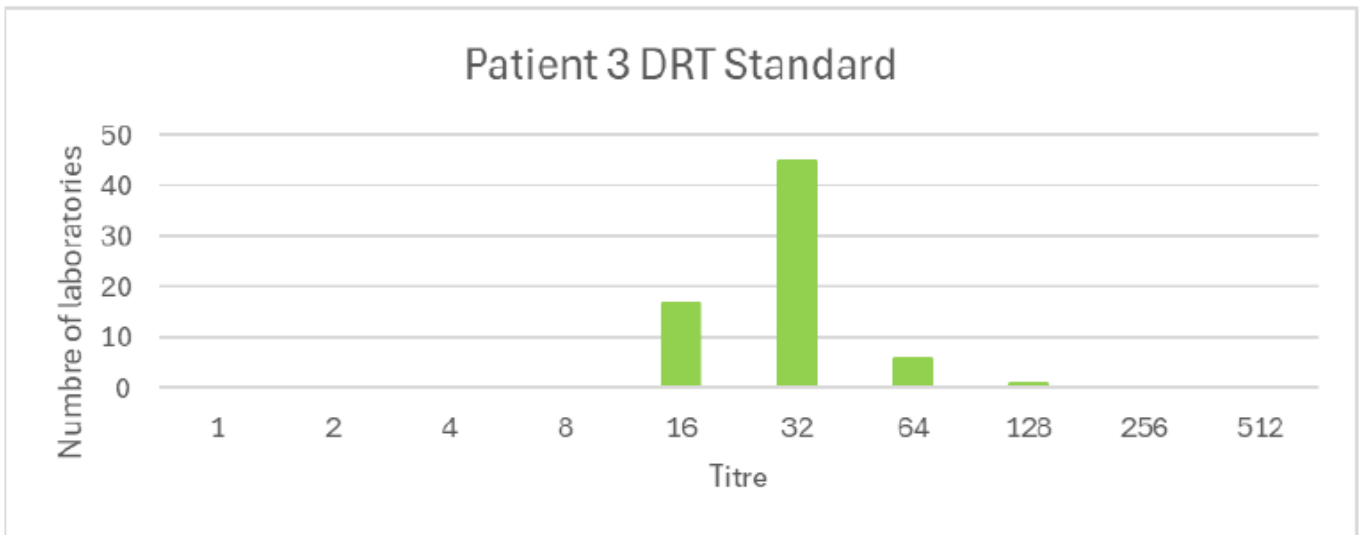
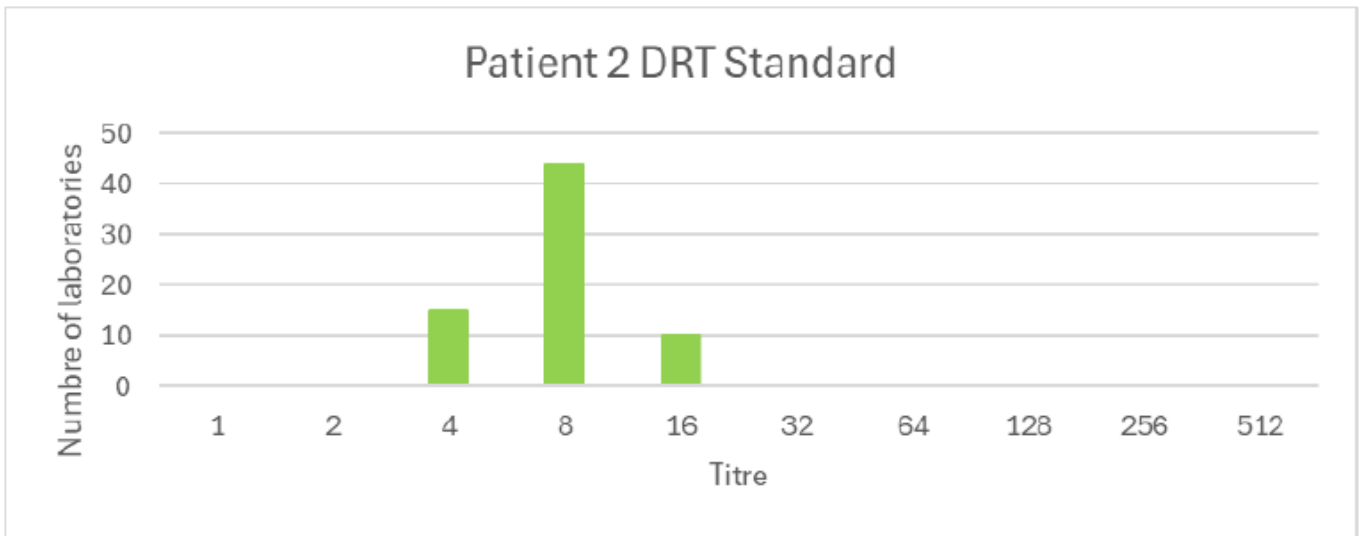
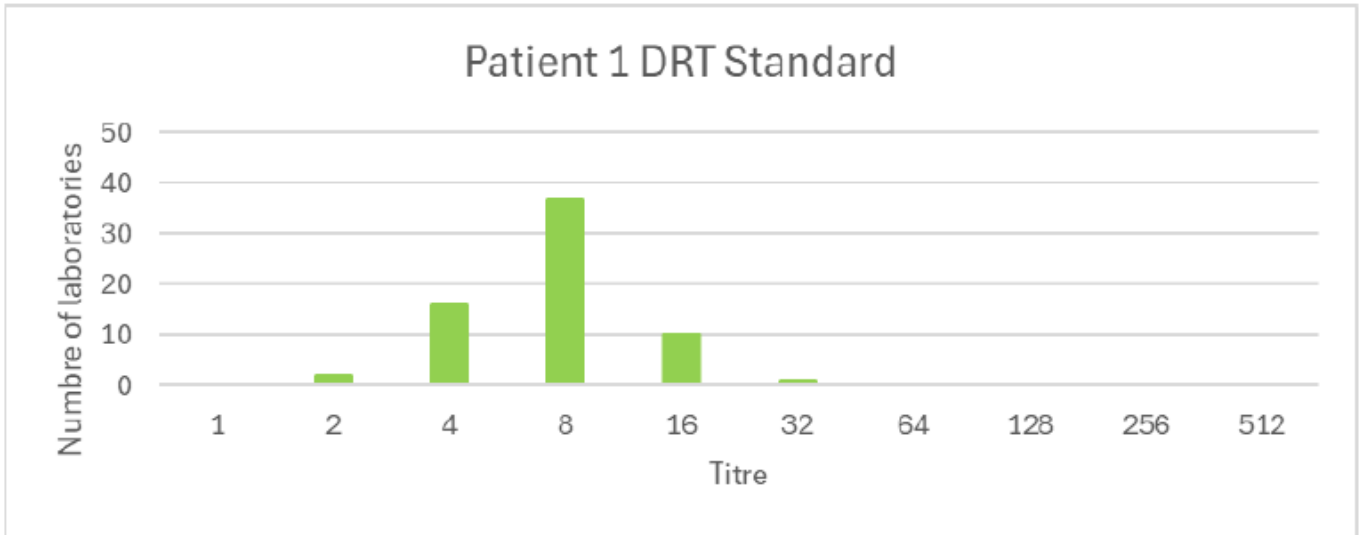
I risultati ottenuti utilizzando le tecniche "standard" DRT e/o IAT sono stati restituiti da 78/118 (66,1%) laboratori. Trentotto di questi hanno restituito anche risultati per un metodo DRT e/o IAT in house. Quaranta laboratori hanno restituito risultati solo per metodi in house.

La rappresentazione grafica dei risultati delle tecniche standard è riportata alle pagine 2 e 3.

Non tutti i laboratori hanno testato sia in IAT che in DRT; il numero di risultati analizzati per ciascun metodo è riportato 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.



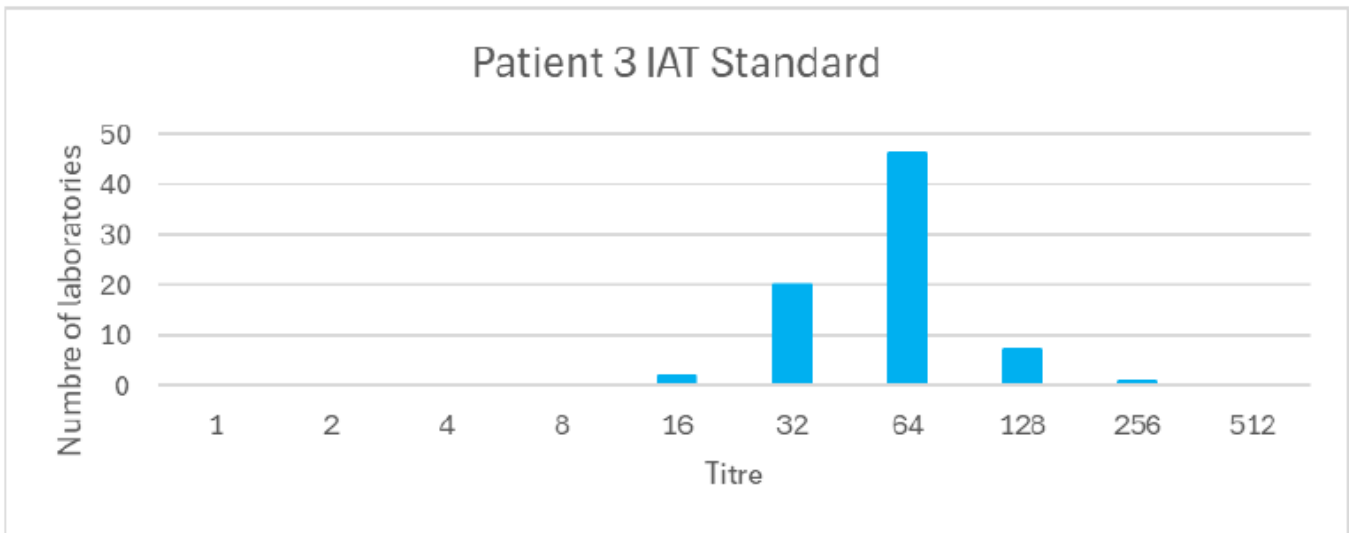
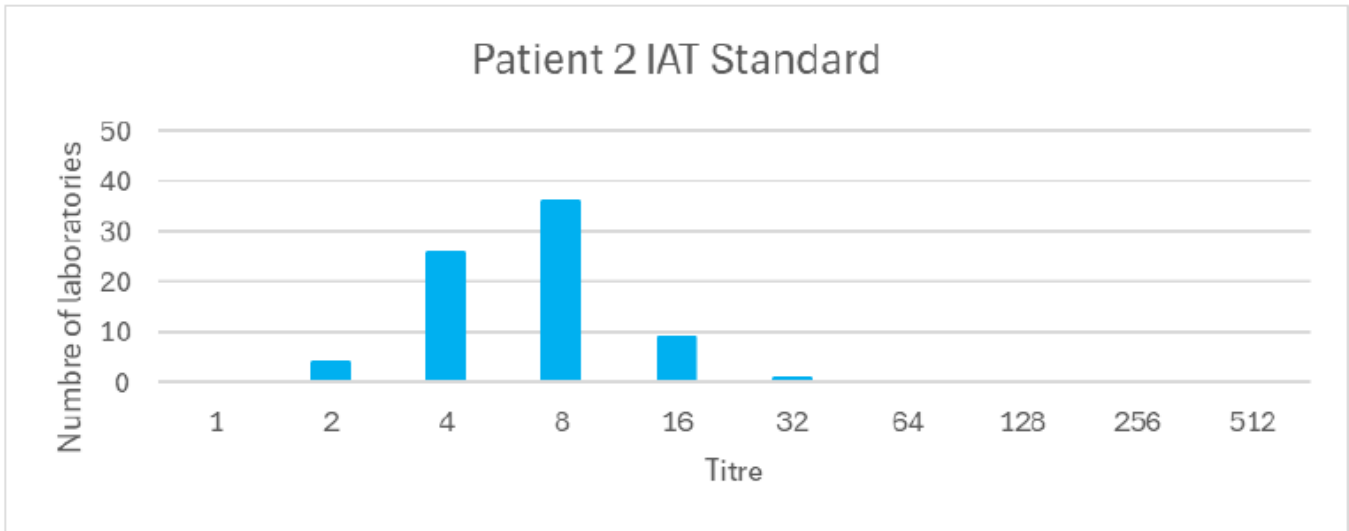
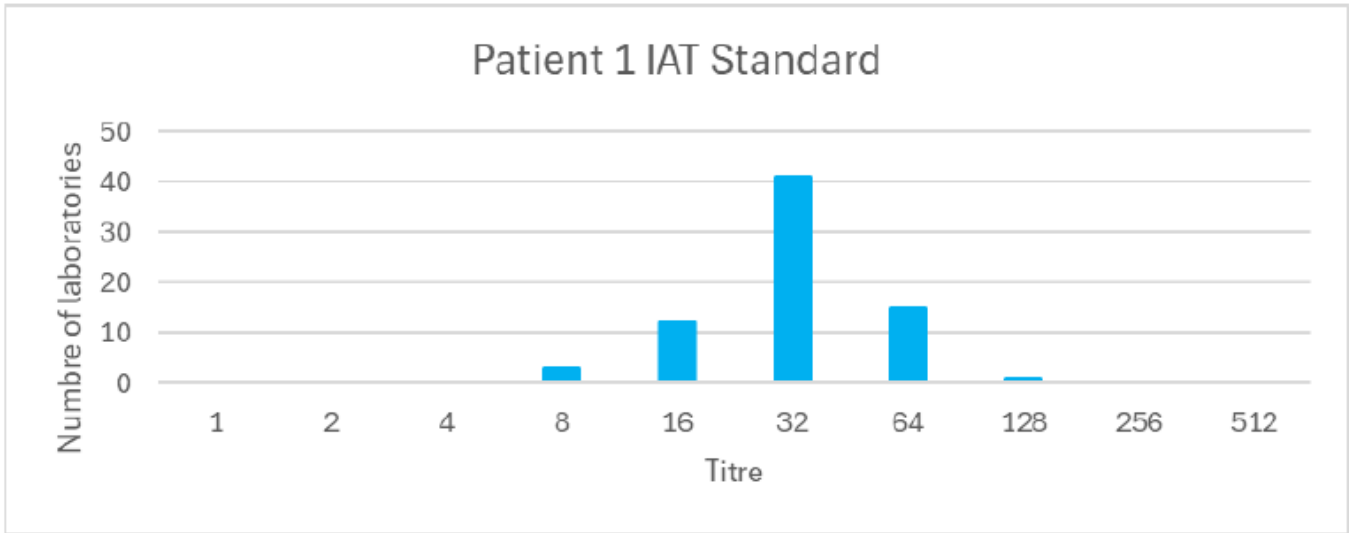


Tabella 1 - Risultato mediano titolazione e range, per metodo e tecnologia

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 (2-32)	69	8 (4-16)	69	32 (16-128)
DRT In-house DiaMed	15	8 (4-16)	16	8 (4-16)	16	16 (16-32)
DRT In-house BioVue	12	4 (2-16)	12	4 (2-16)	12	16 (8-128)
DRT In-house Grifols	16	6 (4-16)	16	4 (4-8)	16	24 (16-64)
DRT In-house Tube	9	8 (4-16)	9	8 (4-16)	9	32 (8-64)
DRT In-house Immucor	10	4 (4-8)	10	4 (4-8)	10	16 (8-32)
DRT In-house Other	3	8 (4-16)	3	4 (4-8)	4	16 (16-64)
IAT Standard	72	32 (8-128)	76	8 (2-32)	76	64 (16-256)
IAT In-house (untreated) DiaMed	12	64 (4-128)	12	8 (8-16)	12	64 (64-128)
IAT In-house (untreated) BioVue	11	32 (16-64)	11	16 (4-32)	11	128 (64-256)
IAT In-house (untreated) Grifols	14	32 (4-64)	14	8 (8-16)	14	64 (32-128)
IAT In-house (untreated) Tube	3	32 (16-32)	3	16 (4-32)	3	64 (64-128)
IAT In-house (untreated) Immucor	8	8 (8-8)	8	1.5 (0-2)	8	16 (8-16)
IAT In-house (untreated) Other	4	32 (32-64)	3	8 (1-8)	4	64 (8-128)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) DiaMed	7	8 (4-128)	8	2 (0-8)	8	24 (4-128)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) BioVue	2	4 (4-4)	2	4 (4-4)	2	48 (32-64)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Grifols	3	8 (1-32)	3	2 (1-2)	3	16 (8-32)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Tube	3	4 (4-8)	3	4 (4-8)	3	32 (32-64)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Immucor	2	5 (2-8)	2	0.5 (0-1)	2	8 (8-8)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Other	1	4 (4-4)	1	2 (2-2)	1	32 (32-32)

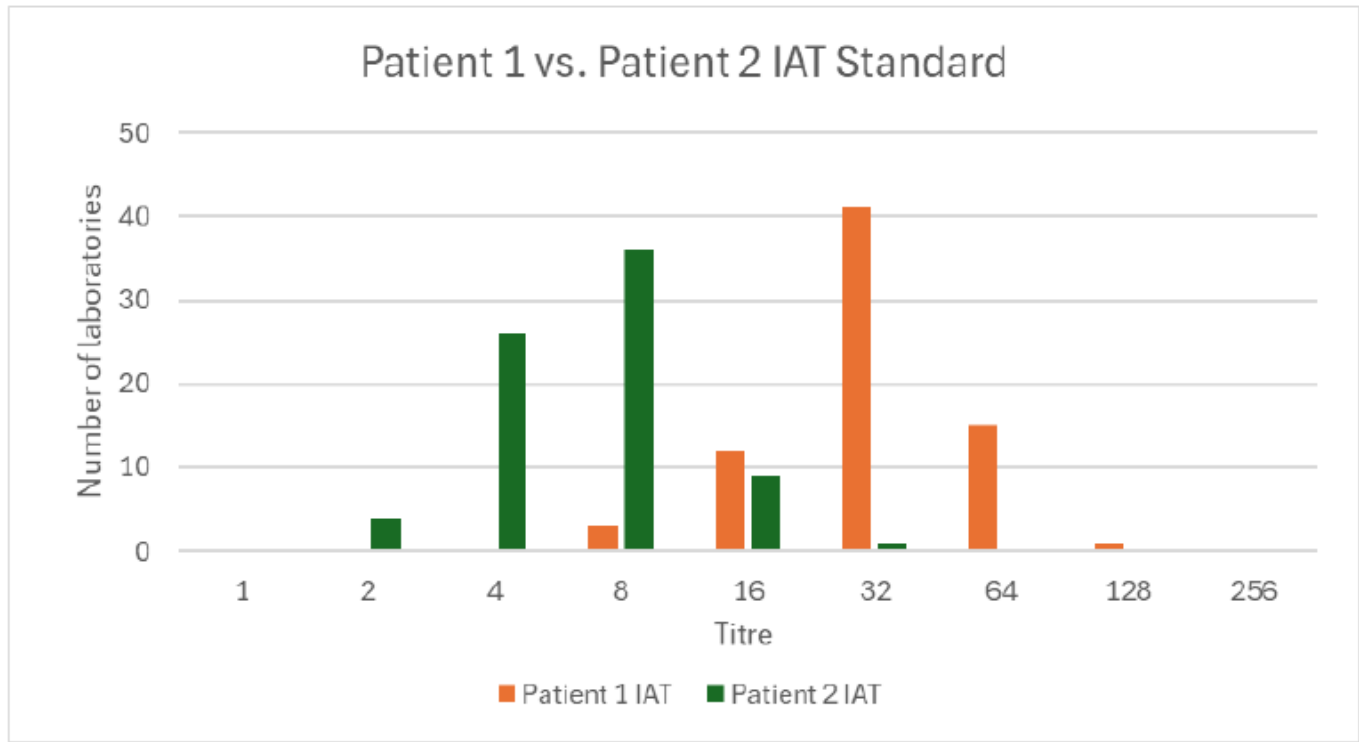
Tabella 2 – I vostri risultati

Omissis

Discussione

Il Paziente 1 e il Paziente 2 sono stati preparati inizialmente dallo stesso pool, ma al Paziente 1 è stato aggiunto un piccolo volume di anti-s ad alto titolo.

I grafici sottostanti confrontano i titoli ottenuti con metodica IAT per i pazienti 1 e 2.



15/104 (14,4%) dei laboratori che hanno risposto alla domanda relativa ai risultati della titolazione hanno dichiarato di non eseguire né ottenere risultati di uno screening/pannello anticorpale per i pazienti sottoposti a titolazione ABO; sei di questi (due nel Regno Unito) sono tra i 90 che supportano programmi di trapianto ABO incompatibili. Degli 89 laboratori che hanno dichiarato di aver eseguito screening anticorpali, venti hanno indicato che questo non sarebbe stato eseguito su ogni campione. Diciassette avrebbero eseguito uno screening solo sul primo campione, uno avrebbe eseguito uno screening aggiuntivo prima di una trasfusione, uno avrebbe eseguito uno screening anticorpale se richiesto e uno avrebbe testato i primi campioni del paziente in quel giorno.

In questo esercizio, le istruzioni richiedevano che i globuli rossi forniti fossero utilizzati per la titolazione e i risultati dell'IAT suggeriscono che la maggior parte dei laboratori ha utilizzato queste cellule come indicato nelle istruzioni. In una situazione clinica, coloro che effettuano uno screening anticorpale sarebbero stati consapevoli della necessità di selezionare per la titolazione cellule s negative, e ventiquattro laboratori hanno contattato lo Schema del Programma per segnalare che ciò sarebbe stato il caso. Tuttavia, se si fosse trattato di una situazione clinica, è possibile che un titolo anti-A IAT falsamente elevato fosse riportato per il Paziente 1 nell'8,9% dei laboratori che supportano trapianti ABO incompatibili. Ciò potrebbe comportare l'esclusione non necessaria dei pazienti da alcuni programmi di trapianto o l'applicazione di misure inappropriate di riduzione degli anticorpi.

Il Paziente 1 è stato escluso dal punteggio per la titolazione IAT poiché i risultati riportati non riflettono il contenuto di anti-A del campione.

Tipizzazione A₁

Escludendo un laboratorio che ha registrato il paziente Y come negativo e il paziente Z come positivo, tutti i laboratori che hanno riportato i risultati hanno registrato i pazienti W e Y come positivi.

Il risultato consensuale per la tipizzazione A₁ del paziente Z è stato negativo. Escludendo il laboratorio sopra menzionato, 95 laboratori hanno registrato il Paziente Z come negativo e cinque hanno registrato "Impossibile da determinare". È possibile che il Paziente Z sia del fenotipo intermedio A (A_{int}). Non c'è stata alcuna correlazione tra il reagente utilizzato e un risultato fuori consenso/indeterminato.

In questo caso, i test in house hanno prodotto reazioni nettamente negative con tre reagenti durante l'intero esercizio. I gradi di reazione non vengono attualmente raccolti per i risultati della tipizzazione A₁ e la tipizzazione A₁ non è attualmente monitorata.

Negli ultimi due anni, sono stati inviati, nell'ambito di questo programma di EQA, quattordici campioni che si prevedeva fossero A₁ negativi; i risultati per sette di questi campioni (50%) indicano che potrebbero essere stati in realtà A_{int}.

Ottenere il risultato corretto per la tipizzazione A₁ è importante quando un donatore A₁ negativo viene selezionato per un trapianto renale ABO incompatibile per ridurre al minimo il rischio di rigetto associato all'incompatibilità ABO. Quando si testa un donatore in questa situazione, ci sono rischi associati sia a risultati falsi positivi che a falsi negativi. Un risultato falso negativo potrebbe aumentare il rischio di rigetto dovuto a 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 nella consegna al ricevente.

Tabella 3 – Risultati della tipizzazione A₁

Campione	Risultati attesi	Risultati complessivi		
		A1 positivo	A1 negativo	A1 non determinato
Paziente W	Positivo	101(100%)	0 (0%)	0 (0%)
Paziente Y	Positivo	100 (99.01%)	1 (0.99%)	0 (0%)
Paziente Z	Negativo	1 (0.99%)	95 (94.06%)	5 (4.95%)

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" 25ABOT4

- 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

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

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

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

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