

## Introduzione

I partecipanti sono stati invitati a titolare l'anti-A in tre campioni di plasma verso 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). Il Paziente 1 era di gruppo O. I Pazienti 2 e 3 erano di gruppo B e furono preparati dallo stesso pool di materiale.
- Cellule di gruppo A<sub>1</sub>rr per la titolazione
- Tre campioni di globuli rossi in soluzione di Alsever (Pazienti 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 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 116/123 (94.3%) laboratori entro la data di chiusura.

Tre 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 riportati.

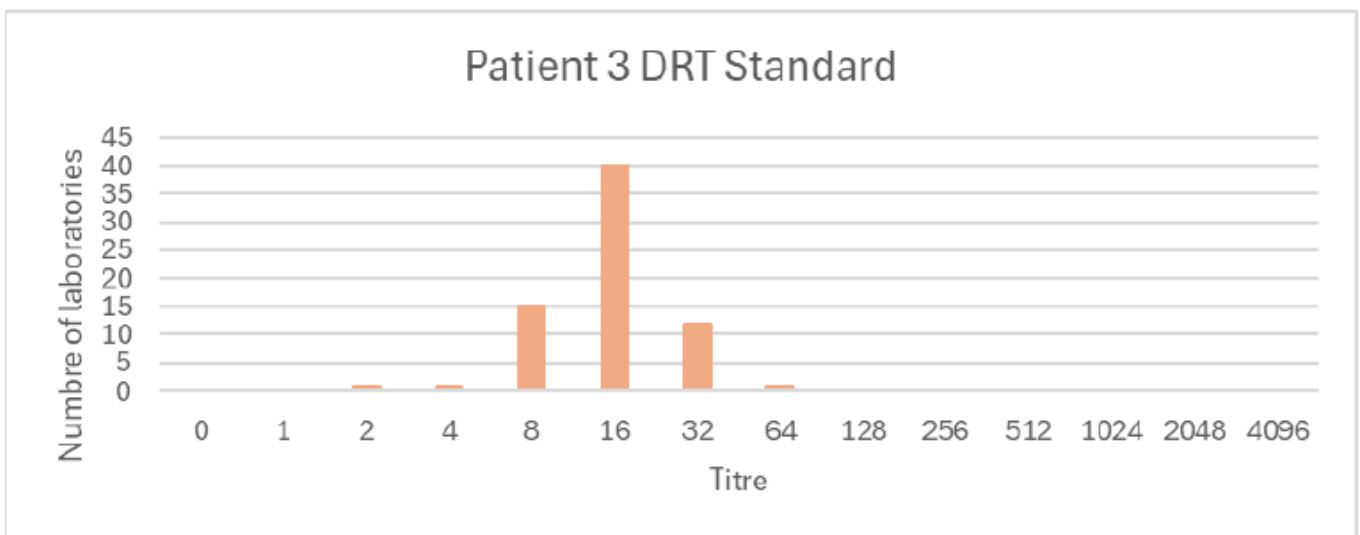
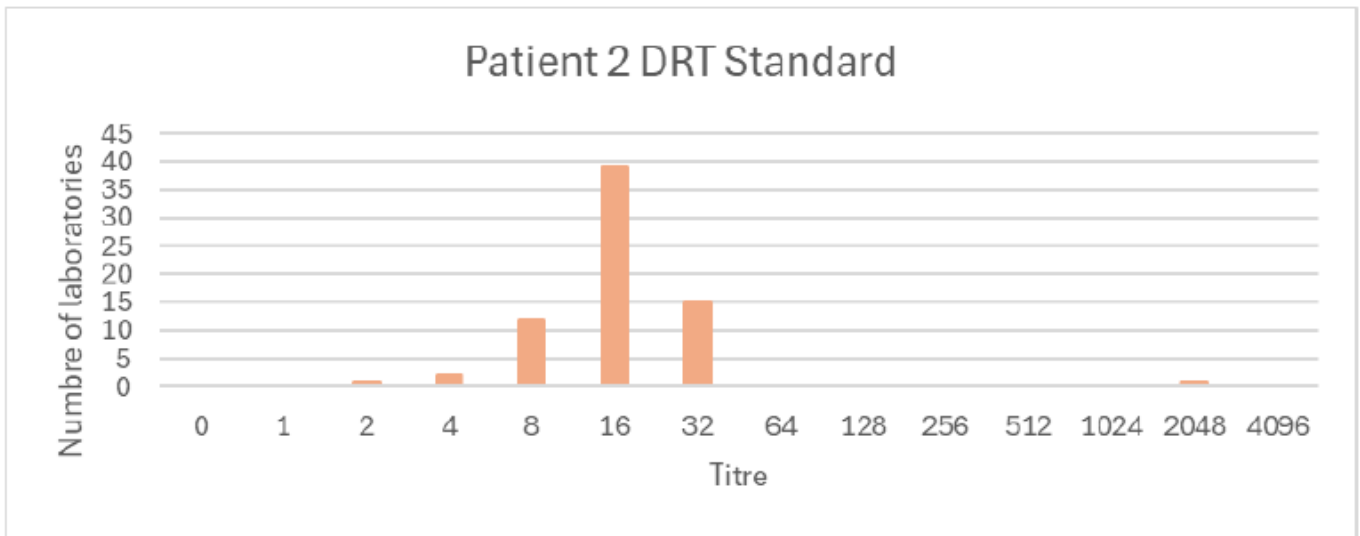
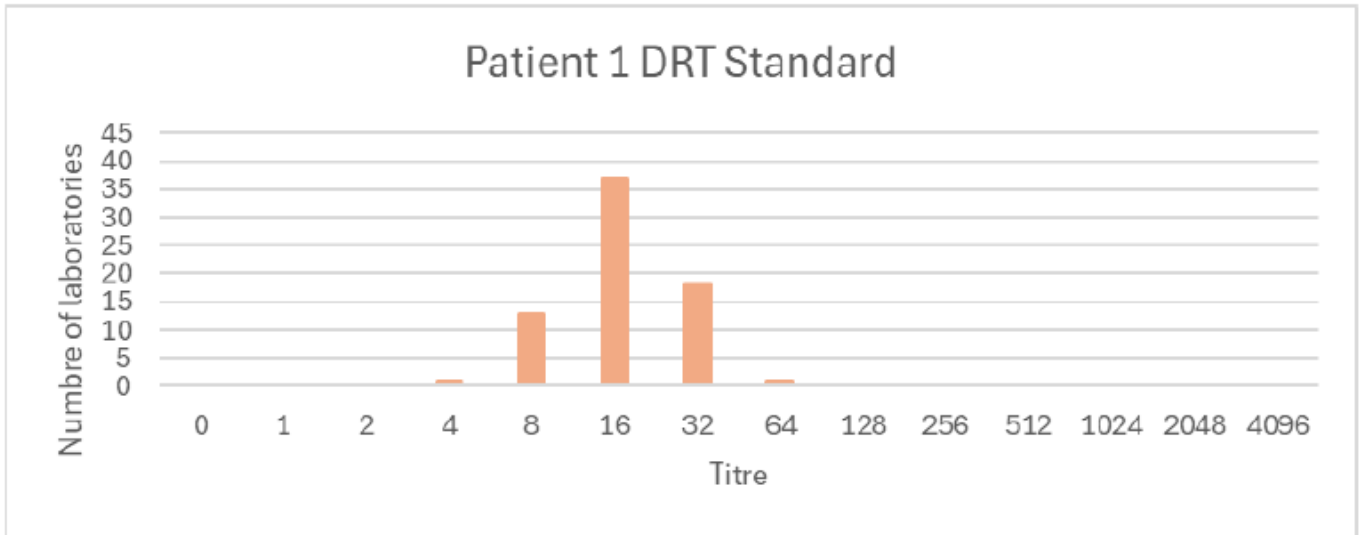
Una qualità soddisfacente dei campioni è stata registrata da tutti i laboratori per tutti i pazienti.

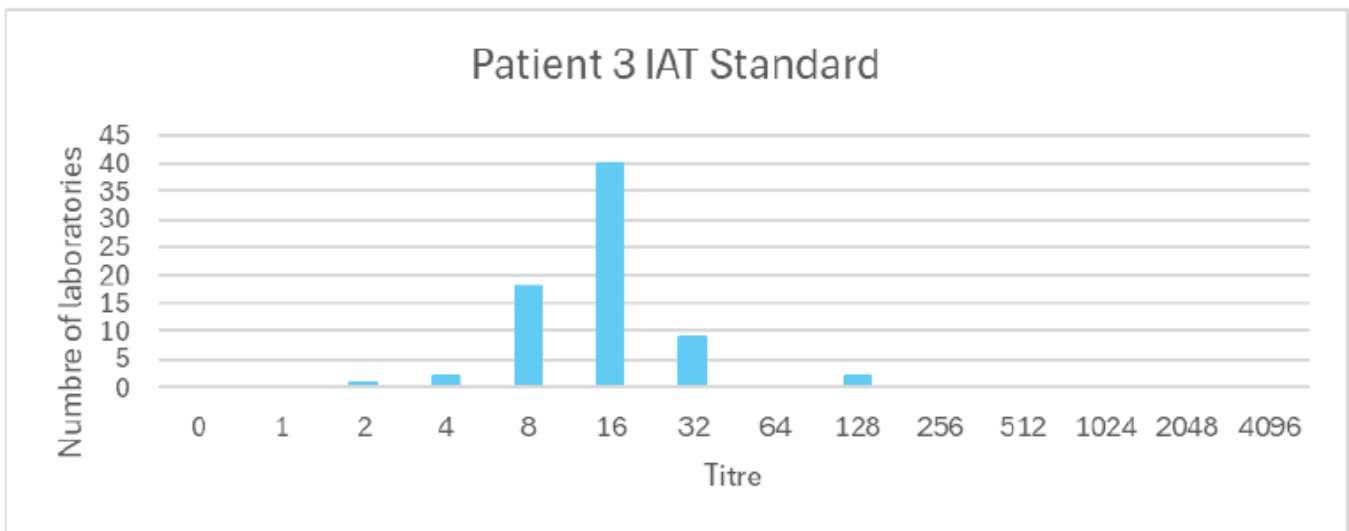
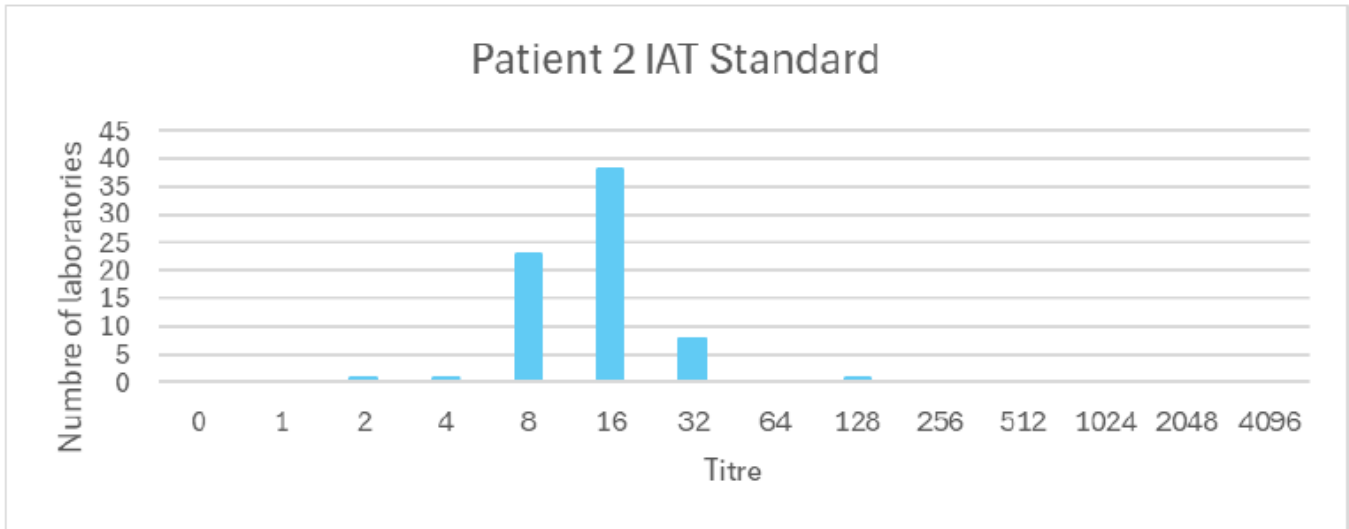
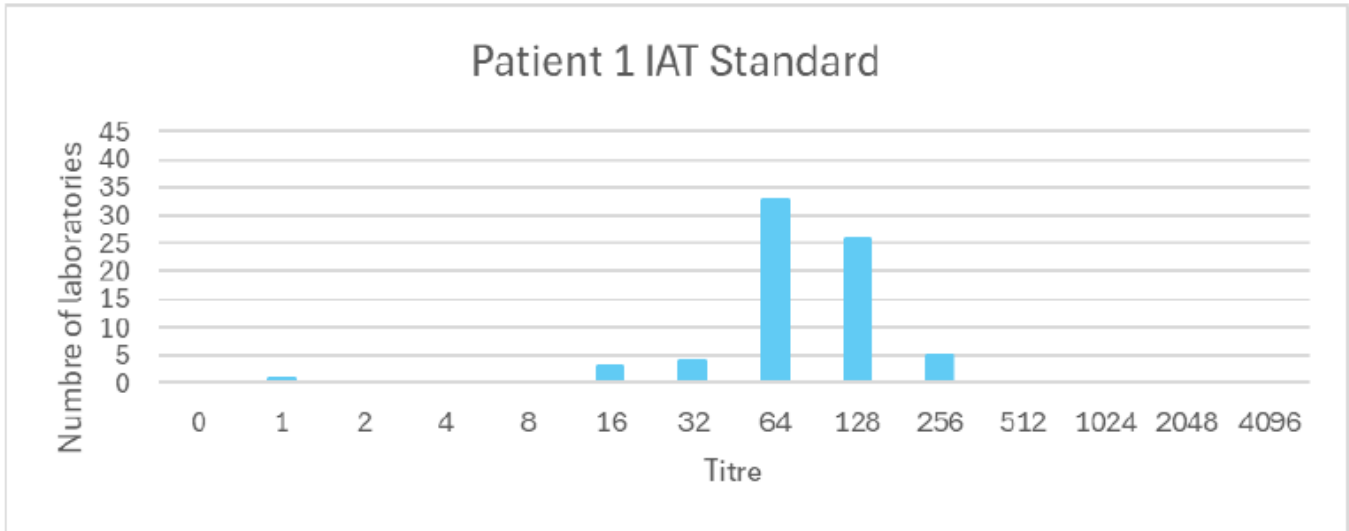
La titolazione ABO viene eseguita a supporto dei programmi di trapianto ABO incompatibili in 86/114 (75.4%) laboratori che hanno risposto alla domanda; di questi, 53 supportano trapianti renali ABO incompatibili.

I risultati ottenuti utilizzando le tecniche "standard" DRT e/o IAT sono stati restituiti da 75/113 (66.4%) laboratori. Trentatré di questi hanno restituito anche risultati per un metodo DRT e/o IAT in house. Trentotto 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 mediante il metodo della mediana per DRT, IAT utilizzando plasma non trattato e IAT utilizzando plasma pretrattato.

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

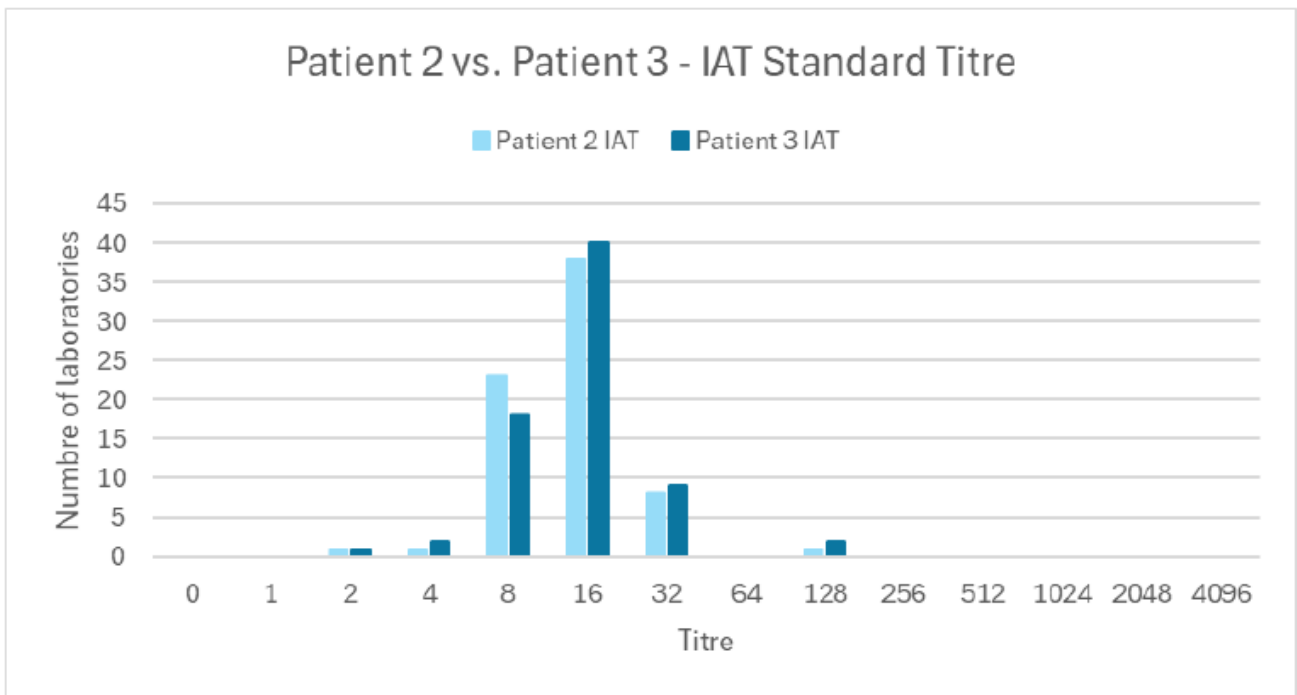
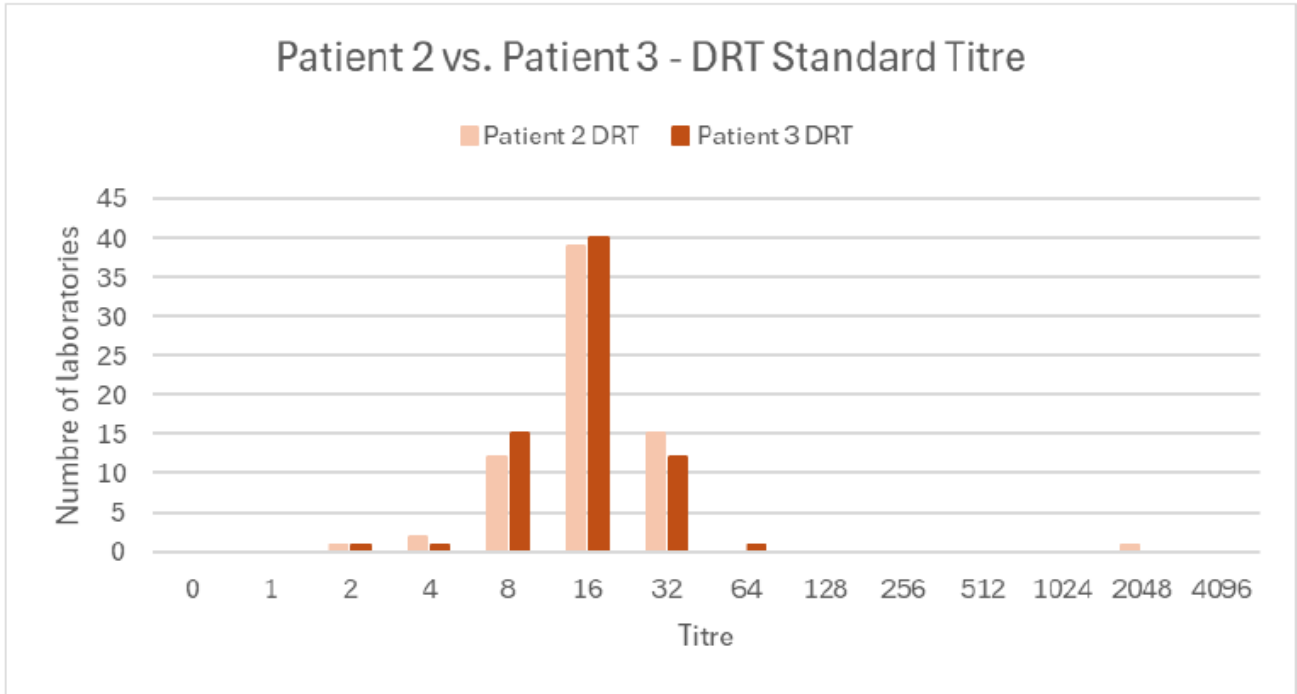
Technique	Titration result (range)					
	Patient1 number of results	Patient1 median (range)	Patient2 number of results	Patient2 median (range)	Patient3 number of results	Patient3 median (range)
DRT Standard	70	16 (4-64)	70	16 (2-2048)	70	16 (2-64)
DRT In-house DiaMed	15	16 (8-16)	15	16 (8-256)	15	16 (8-16)
DRT In-house BioVue	8	24 (16-256)	8	12 (8-32)	8	8 (8-64)
DRT In-house Grifols	14	24 (16-64)	14	16 (8-64)	14	16 (8-128)
DRT In-house Tube	9	16 (4-64)	9	16 (2-64)	9	16 (4-32)
DRT In-house Immucor	11	8 (4-16)	11	8 (4-16)	11	8 (4-16)
DRT In-house Other	4	8 (0-32)	4	4 (0-8)	4	4 (0-8)
IAT Standard	72	64 (1-256)	72	16 (2-128)	72	16 (2-128)
IAT In-house (untreated) DiaMed	12	128 (64-256)	12	16 (8-64)	12	24 (8-32)
IAT In-house (untreated) BioVue	7	256 (128-256)	7	32 (16-64)	7	32 (16-64)
IAT In-house (untreated) Grifols	14	128 (8-128)	14	16 (8-128)	14	16 (8-256)
IAT In-house (untreated) Tube	2	192 (128-256)	2	64 (64-64)	2	48 (32-64)
IAT In-house (untreated) Immucor	9	64 (32-128)	9	2 (0-2)	9	2 (1-2)
IAT In-house (untreated) Other	3	64 (64-128)	3	0 (0-16)	3	0 (0-16)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) DiaMed	8	48 (1-128)	8	2 (0-8)	8	3 (0-8)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) BioVue	2	128 (128-128)	2	8 (8-8)	2	8 (8-8)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Grifols	1	128 (128-128)	1	1 (1-1)	1	1 (1-1)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Tube	3	128 (128-256)	3	8 (4-16)	3	8 (4-16)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Immucor	2	24 (16-32)	2	1.5 (1-2)	2	1.5 (1-2)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Other	2	272 (32-512)	2	32.5 (1-64)	2	32.5 (1-64)

**Tabella 2 – I vostri risultati**

Omissis

**Discussione**

Il Paziente 2 e il Paziente 3 sono stati preparati dallo stesso pool. I grafici sottostanti confrontano i titoli DRT e IAT ottenuti per i pazienti 1e 2 con le tecniche standard.



La maggior parte dei laboratori che utilizzano le tecniche standard ha registrato titoli identici per i pazienti 2 e 3: 58/70 (82,9%) per lo standard DRT e 59/72 (81,9%) per lo standard IAT. Dei tredici laboratori che hanno registrato titoli diversi per lo standard IAT, dieci hanno registrato titoli con una differenza di una diluizione, uno con due differenze, uno con tre differenze e uno con quattro differenze.

## Tipizzazione A<sub>1</sub>

Tutti e tre i campioni dei pazienti in questo esercizio sono stati prodotti per risultare A<sub>1</sub> negativi.

10/101 (9,9%) laboratori che hanno eseguito la tipizzazione A<sub>1</sub> hanno registrato interpretazioni diverse da quella negativa. Due laboratori hanno registrato tutti e tre i campioni dei pazienti come "Impossibile da determinare" (UTD); un laboratorio ha registrato UTD per i pazienti W e Z e un laboratorio solo per il paziente Z. Sei laboratori hanno registrato almeno un'interpretazione positiva; quattro per i pazienti W e Z e due solo per il paziente Z. Nessun laboratorio ha registrato un'interpretazione positiva per il paziente Y.

I test vengono eseguiti internamente utilizzando due diverse lectine e un reagente monoclonale in provette e tutti vengono letti macroscopicamente. Il paziente Z ha mostrato una debole reazione granulare al momento dell'accettazione, una reazione negativa il giorno della spedizione e una reazione 2+ il giorno della chiusura con una delle lectine; tutti gli altri risultati dei test sono stati negativi. Tutti i controlli negativi sono stati classificati come 0 e tutti i controlli positivi come 4+.

Come osservato in precedenti esercitazioni, sembra probabile che almeno uno dei pazienti in questa esercitazione avesse il fenotipo A intermedio (A<sub>int</sub>).

L'analisi iniziale dei dati ha indicato che i laboratori hanno meno probabilità di aver registrato un'interpretazione negativa se utilizzano un reagente a base di lectina, ma poiché alcuni produttori producono più di un tipo di reagente, non è stato possibile determinare con certezza il tipo di reagente utilizzato da ciascun laboratorio. Per ovviare a questo problema nelle future esercitazioni, verrà posta una domanda aggiuntiva che consentirà di identificare il tipo di reagente (lectina / monoclonale / policlonale umano).

Ottenere il risultato corretto per la tipizzazione A<sub>1</sub> è importante quando si seleziona un donatore A<sub>1</sub> negativo per un trapianto renale con incompatibilità ABO, per minimizzare il rischio di rigetto associato all'incompatibilità ABO. Quando si testa un donatore in questa situazione, esistono rischi associati sia a risultati falsi positivi che falsi negativi. Un risultato falso negativo potrebbe aumentare il rischio di rigetto dovuto all'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 per il ricevente previsto.

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

Campione	Risultati attesi	Risultati complessivi		
		A1 positivo	A1 negativo	A1 non determinato
Paziente W	Negativo	4 (3.96%)	94 (93.07%)	3 (2.97%)
Paziente Y	Negativo	0 (0%)	99 (98.02%)	2 (1.98%)
Paziente Z	Negativo	6 (5.94%)	91 (90.1%)	4 (3.96%)

## 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" 26ABOT2

- 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