

Introduzione

I partecipanti sono stati invitati a titolare l'anti-B in tre campioni di plasma verso globuli rossi di gruppo B 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.

Questo esercizio è stato progettato per contenere tre campioni con titoli bassi, incluso uno che non conteneva isoagglutinine ABO.

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 3 erano di gruppo A e il Paziente 2 era di gruppo AB.
- Cellule di gruppo B rr 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 124 laboratori, 34 nel Regno Unito (UK) e nella Repubblica d'Irlanda (ROI) e 90 fuori dal Regno Unito. I risultati sono stati restituiti da 120/124 (96.8%) 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 3: due laboratori hanno riportato il Paziente 2 come non soddisfacente in quanto il plasma era di gruppo AB.

La titolazione ABO viene eseguita a supporto dei programmi di trapianto ABO incompatibili in 87/113 (77.0%) laboratori che hanno risposto alla domanda; di questi, 51 supportano trapianti renali ABO incompatibili.

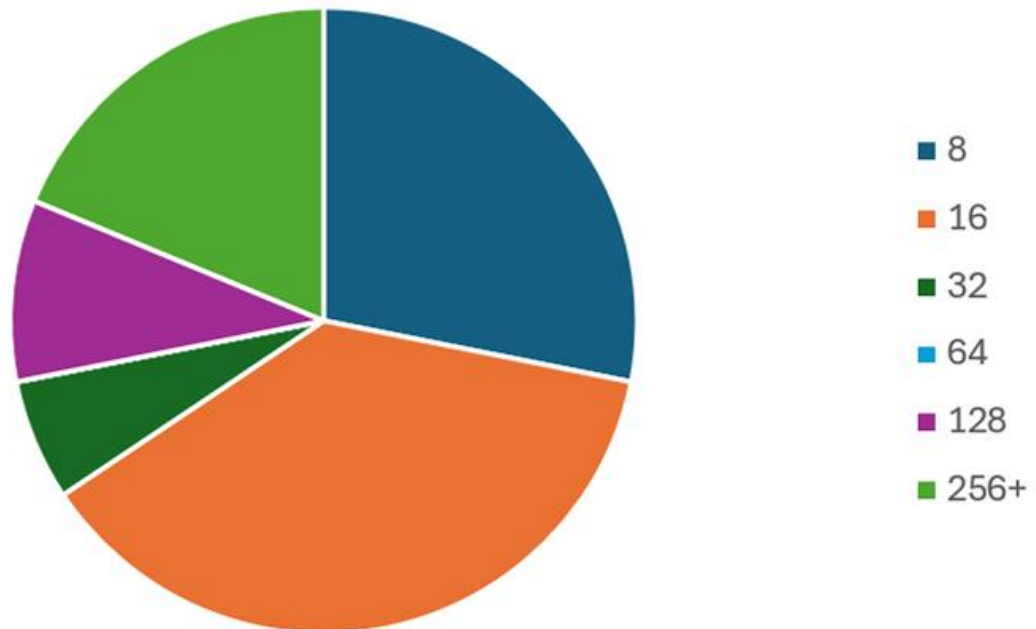
I risultati ottenuti utilizzando le tecniche "standard" DRT e/o IAT sono stati restituiti da 76/117 (65.0%) laboratori. Trentasette di questi hanno restituito anche risultati per un metodo DRT e/o IAT in house. Quarantuno laboratori hanno restituito risultati solo per metodi in house.

Trentotto laboratori hanno riportato il loro limite di esclusione per il trapianto renale; i titoli variavano da 8 a 256+. Trentadue di questi hanno specificato un titolo IAT e una ripartizione dei risultati può essere trovata a pagina 2.

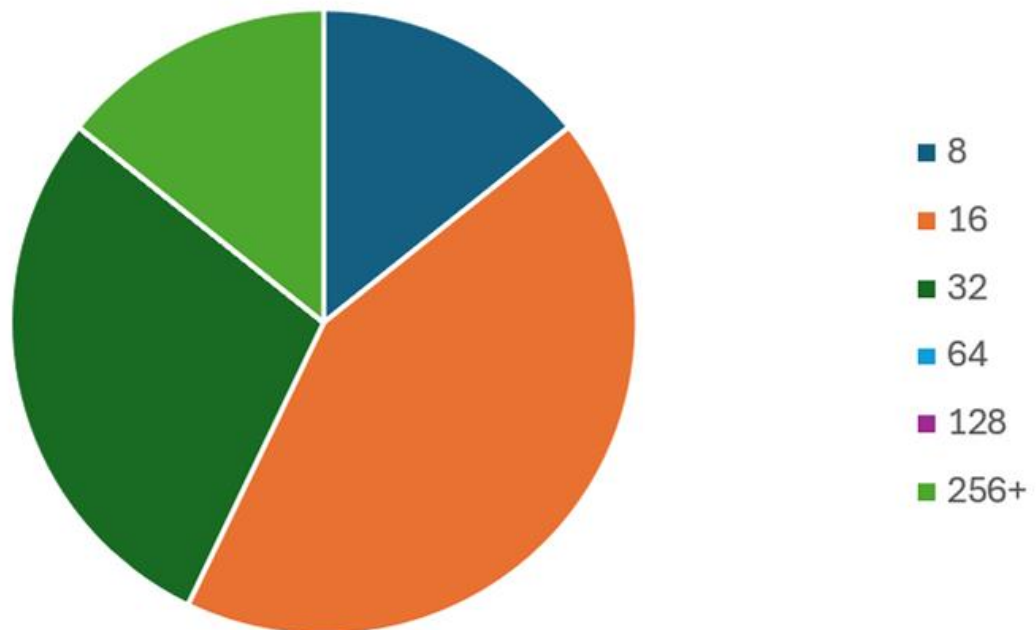
La rappresentazione grafica dei risultati delle tecniche standard è riportata alle pagine 3 e 4.

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.

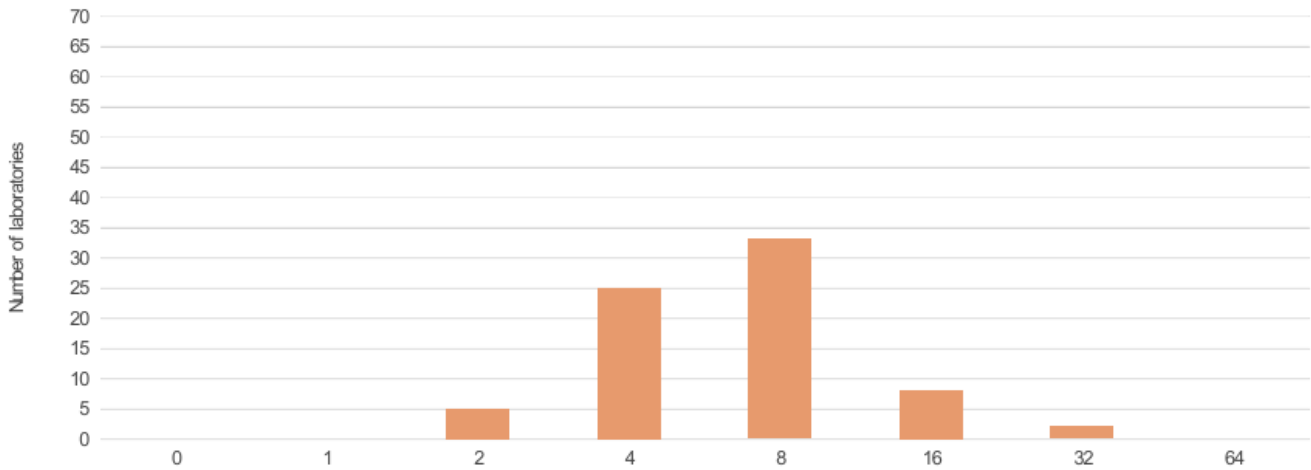
Renal transplant exclusion titres for all laboratories recording an IAT cut off (n=32)



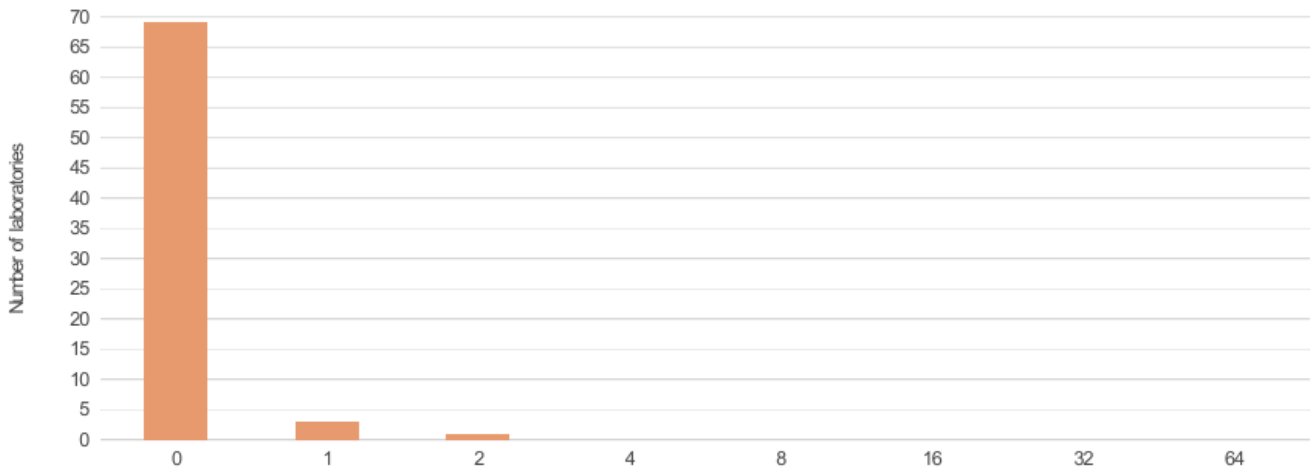
Renal transplant exclusion titres for UK laboratories recording an IAT cut off (n=7)



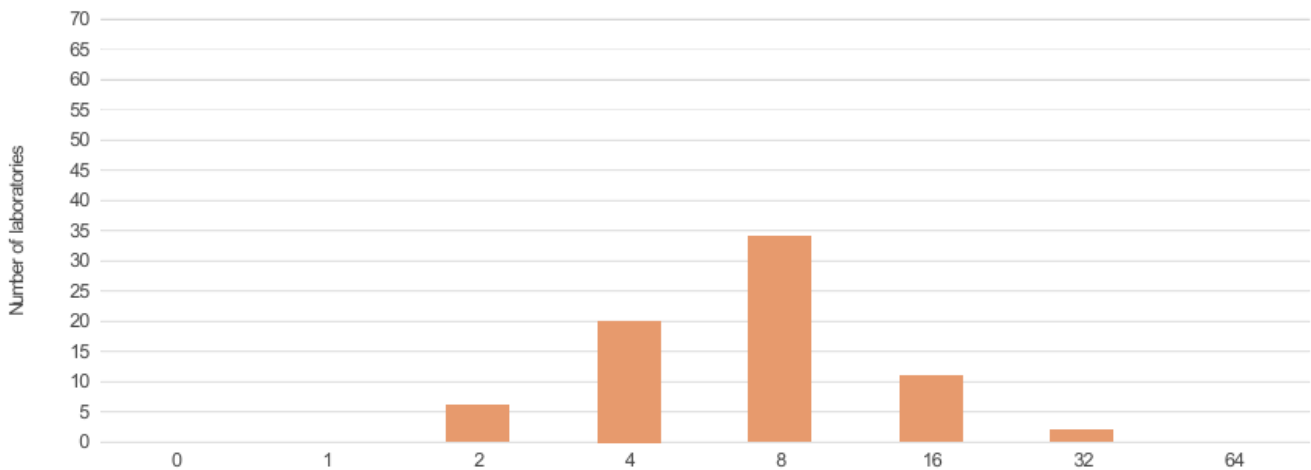
Patient 1 DRT Standard



Patient 2 DRT Standard

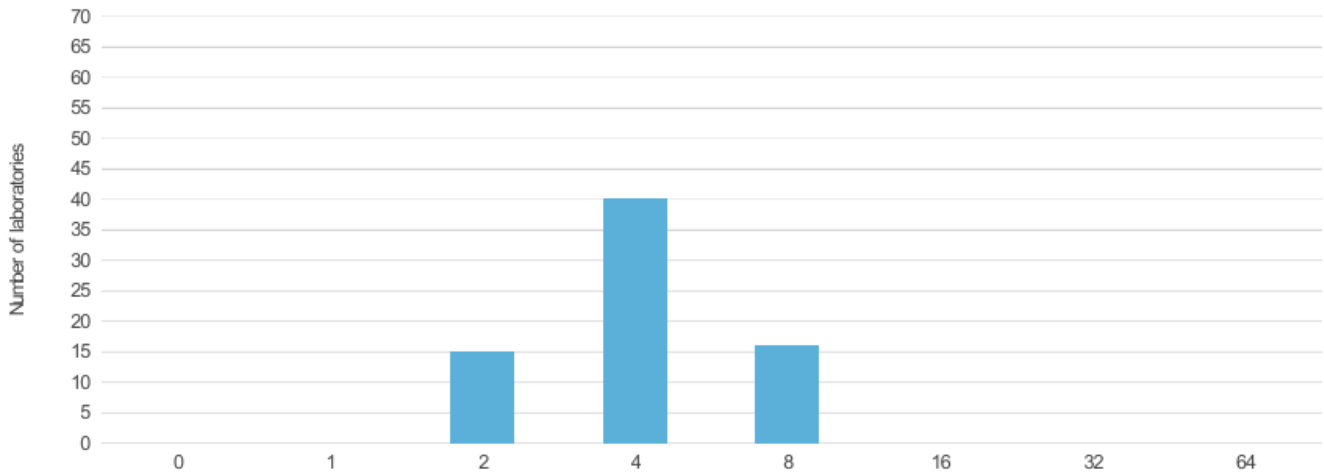


Patient 3 DRT Standard

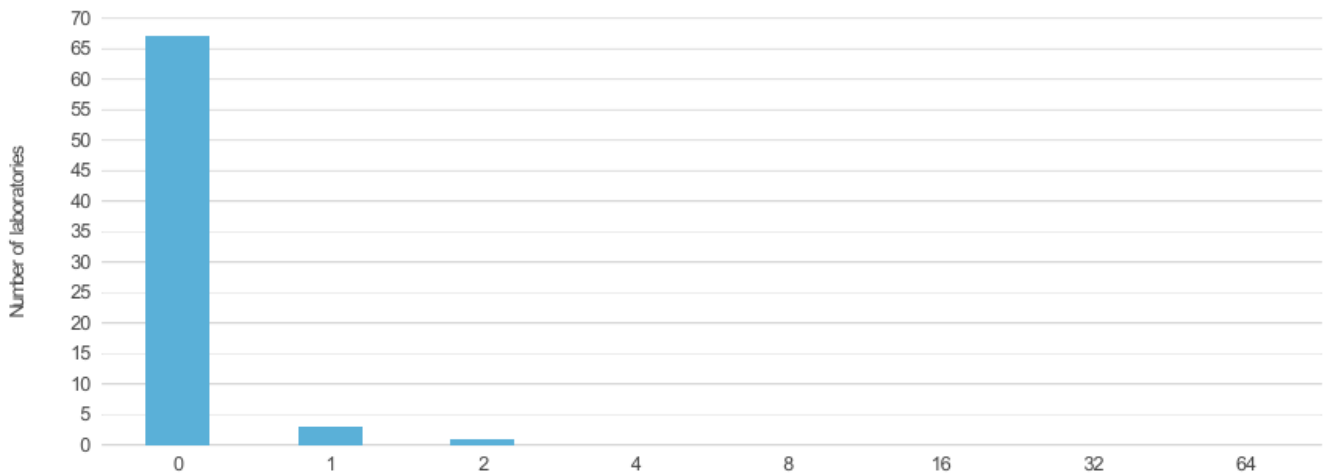


Printed at 13:31 on Monday, 10 August, 2026 (Final Report)

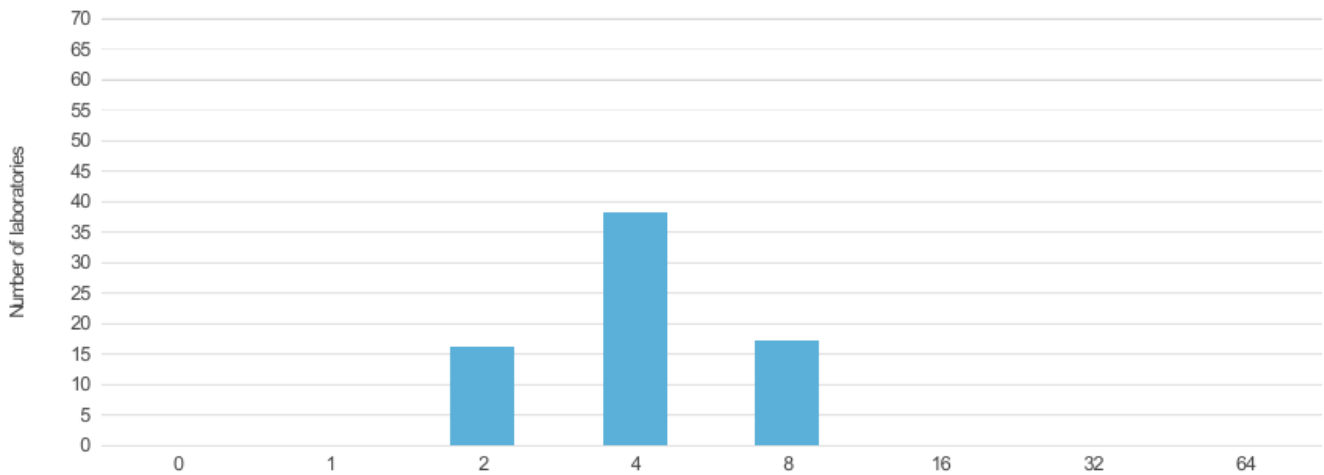
Patient 1 IAT Standard



Patient 2 IAT Standard



Patient 3 IAT Standard



Printed at 13:31 on Monday, 10 August, 2026 (Final Report)

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, e la Tabella 2 mostra i tuoi risultati. Quando viene mostrata una mediana che non è un reciproco di 2, la mediana si trovava tra i due punti finali di diluizione

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

Technique	Titration result (range)					
	Patient 1 number of results	Patient 1 median (range)	Patient 2 number of results	Patient 2 median (range)	Patient 3 number of results	Patient 3 median (range)
DRT Standard	73	8 (2-32)	73	0 (0-2)	73	8 (2-32)
DRT In-house BioRad	19	4 (4-16)	19	0 (0-1)	19	4 (4-16)
DRT In-house BioVue	11	4 (2-32)	11	0 (0-0)	11	4 (2-16)
DRT In-house Grifols	15	8 (4-8)	15	0 (0-0)	15	8 (4-8)
DRT In-house Tube	9	8 (4-16)	9	0 (0-1)	9	8 (2-16)
DRT In-house Immucor	11	4 (4-8)	11	0 (0-1)	11	4 (4-8)
DRT In-house Other	1	2 (2-2)	1	0 (0-0)	1	2 (2-2)
IAT Standard	71	4 (2-8)	71	0 (0-2)	71	4 (2-8)
IAT In-house (untreated) BioRad	13	4 (2-8)	13	0 (0-1)	13	4 (2-8)
IAT In-house (untreated) BioVue	11	8 (0-8)	11	0 (0-0)	11	8 (0-8)
IAT In-house (untreated) Grifols	13	4 (2-8)	13	0 (0-0)	13	4 (2-8)
IAT In-house (untreated) Tube	4	12 (2-32)	4	0 (0-0)	4	12 (2-32)
IAT In-house (untreated) Immucor	10	0 (0-4)	10	0 (0-1)	10	0 (0-4)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) BioRad	10	0 (0-1)	10	0 (0-0)	10	0 (0-1)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) BioVue	2	1 (1-1)	2	0.5 (0-1)	2	1 (1-1)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Grifols	3	2 (0-4)	3	0 (0-0)	3	2 (0-4)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Tube	3	2 (2-4)	3	0 (0-1)	3	4 (2-4)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Immucor	1	0 (0-0)	1	0 (0-0)	1	0 (0-0)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Other	1	4 (4-4)	1	0 (0-0)	1	4 (4-4)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) DIAGAST	1	0 (0-0)	1	0 (0-0)	1	0 (0-0)

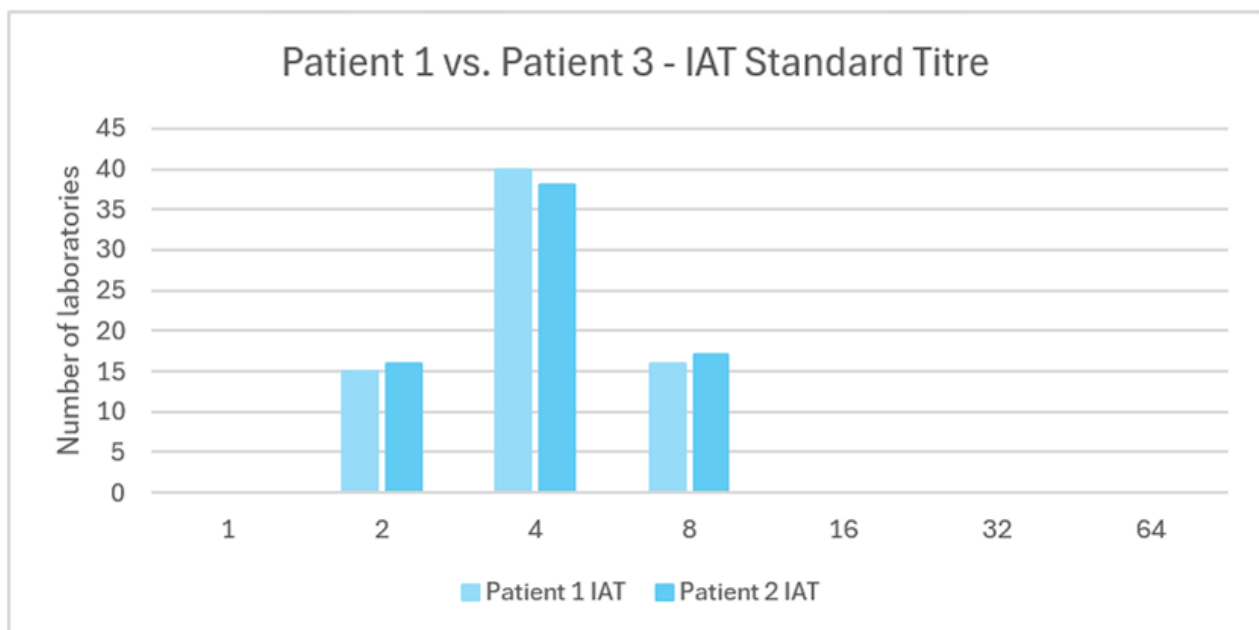
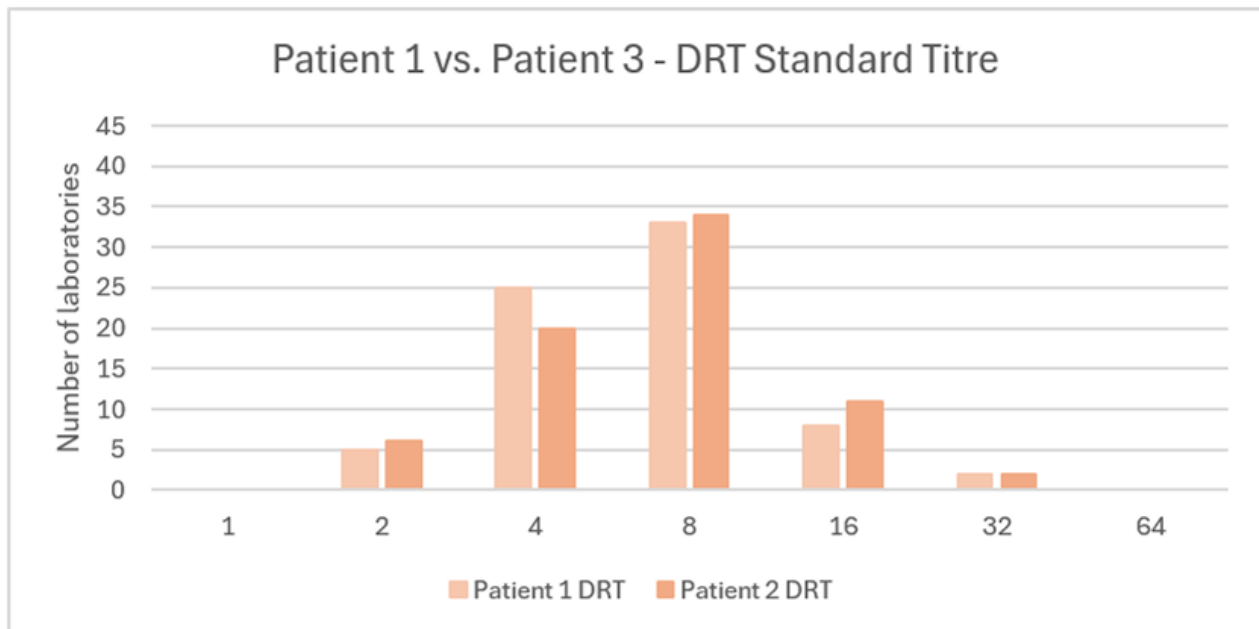
Tabella 2 – I vostri risultati

Omissis

Discussione

In questo esercizio, 19 laboratori hanno registrato i risultati per una tecnica in-house DRT BioRad. Se vengono registrati venti risultati per qualsiasi categoria di test, la categoria viene valutata in quell'esercizio.

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



La maggior parte dei laboratori che utilizzavano le tecniche standard ha registrato titoli identici per i Pazienti 1 e 3; 55 su 73 (75,3%) per lo standard DRT e 55 su 71 (77,5%) per lo standard IAT. Dei diciotto laboratori che hanno registrato titoli diversi per lo standard DRT e dei sedici laboratori che hanno registrato titoli diversi per lo standard IAT, tutti differivano di una sola diluizione, indicando una buona riproducibilità.

Tipizzazione A₁

Escludendo un laboratorio che ha registrato tutti e tre i pazienti come positivi, i laboratori che hanno restituito i risultati hanno registrato i Pazienti W e Z come negativi.

Il risultato di consenso per la tipizzazione A₁ del Paziente Y è stato negativo. Escludendo il laboratorio sopra menzionato, 84 laboratori hanno registrato il Paziente Y come negativo, nove hanno indicato "Impossibile determinare" e undici lo hanno registrato come positivo; è possibile che il Paziente Y abbia il fenotipo intermedio A (A_{int}). Non c'è stata una correlazione statisticamente significativa tra il produttore o il tipo di reagente e un risultato fuori consenso / indeterminato.

In questa occasione, i test interni hanno dato reazioni chiaramente negative con solo uno dei tre reagenti utilizzati durante l'esercizio. Attualmente i gradi di reazione non vengono raccolti per i risultati della tipizzazione A₁ e la tipizzazione A₁ non viene attualmente monitorata nelle prestazioni.

Ottenere il risultato corretto per la tipizzazione A₁ è importante quando viene selezionato un donatore A₁ negativo 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 sia di falsi positivi che di falsi negativi. Un risultato falso negativo potrebbe aumentare il rischio di rigetto dovuto all'incompatibilità ABO. Un risultato falso positivo comporta un rischio minore ma comunque significativo che un organo potenzialmente adatto non venga utilizzato per il trapianto, causando ritardi per il ricevente previsto.

È importante controllare le istruzioni per l'uso del produttore per eventuali limitazioni, per assicurarsi che le reazioni deboli vengano segnalate correttamente.

Tabella 3 – Risultati della tipizzazione A₁

Campione	Risultati attesi	Risultati complessivi		
		A1 positivo	A1 negativo	A1 non determinato
Paziente W	Negativo	1 (1.0%)	103 (99.0%)	0 (0%)
Paziente Y	Negativo	11 (10.6%)	84 (80.8%)	9 (8.7%)
Paziente Z	Negativo	1 (1.0%)	103 (99.0%)	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" BioRad

- 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 BioRad

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 BioRad

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