Introduzione

L'inserimento dei risultati è stato compromesso da una vulnerabilità della sicurezza del sito web PHP, che ha interessato numerosi portali; la maggior parte dei laboratori si è messa in contatto con UK NEQAS BTLP e molti risultati sono stati inseriti manualmente dal personale di UK NEQAS, con una successiva procedura di verifica. Il tasso di restituzione dei dati è stato superiore alla norma, mentre il tasso di risposta ai questionari è risultato inferiore, poiché tali dati venivano raccolti solo nel caso in cui i partecipanti inserissero i risultati direttamente sul nostro sito web. I controlli supplementari sui dati, effettuati da UK NEQAS, hanno ritardato la fase di refertazione e di questo ce ne scusiamo.

Ai partecipanti è stato richiesto di titolare gli anticorpi anti-A in tre campioni di plasma, utilizzando i globuli rossi di gruppo A rr forniti. Le titolazioni dovevano essere eseguite secondo i metodi e le tecniche di routine (impiegando, laddove clinicamente appropriato, le procedure utilizzate per valutare l'idoneità di un paziente a un trapianto di organo da donatore vivente con incompatibilità ABO) e, ove fossero disponibili le risorse necessarie, anche mediante la tecnica standard BioRad fornita.

L'esercizio prevedeva l'analisi di un campione a titolo medio e di due campioni a titolo basso; uno di questi ultimi conteneva un anticorpo atipico in grado di interferire con i risultati della titolazione mediante IAT (test dell'antiglobulina umana). Pertanto, i risultati IAT relativi a questo specifico campione non sono stati oggetto di valutazione.

Sono stati inoltre inclusi tre campioni di globuli rossi di pazienti, destinati alla tipizzazione A_1, da eseguire a cura dei laboratori che includono tale test nella propria pratica clinica.

Materiale

È stato fornito il seguente materiale:

- Tre campioni di plasma di «pazienti» (Pazienti 1, 2 e 3). Il Paziente 1 era di gruppo O, i Pazienti 2 e 3 erano di gruppo B e sono stati preparati dallo stesso pool di materiale, con l'aggiunta di un piccolo volume di anticorpi anti-s ad alto titolo nel campione del Paziente 2.
- Emazie di fenotipo A_1 rr per la titolazione.
- Tre campioni di globuli rossi in soluzione di Alsever (Pazienti W, Y e Z) per la tipizzazione A_1.

Tutti i campioni di plasma sono stati preparati a partire da plasma fresco congelato filtrato.

Le tecniche standard BioRad per i test diretti (DRT) e indiretti (IAT) sono state fornite insieme alle istruzioni per l'esercizio (si veda l'Appendice 1); nel presente rapporto, tali procedure vengono indicate come tecniche «standard».

Percentuale di restituzione / analisi dei dati

L'esercizio è stato distribuito a 124 laboratori: 34 nel Regno Unito e nella Repubblica d'Irlanda (ROI) e 90 al di fuori del Regno Unito. Entro la data di scadenza, 121 laboratori su 124 (97,6%) hanno inviato i propri risultati.

Tre laboratori hanno fornito risultati esclusivamente per la tipizzazione A_1; essi sono inclusi nel tasso di risposta sopra indicato, ma non nell'analisi dei risultati di titolazione riportata di seguito.

Per i pazienti 1 e 3, il 100% dei laboratori ha riscontrato una qualità del campione soddisfacente. Per il paziente 2, ventitré laboratori hanno segnalato una qualità del campione insoddisfacente; di questi, ventuno hanno specificato che il campione non era idoneo alla titolazione mediante l'impiego delle emazie A_1 fornite, a causa della presenza di un alloanticorpo.

Il paziente 2 è stato escluso dalla valutazione della titolazione mediante IAT (test dell'antiglobulina umana), poiché i risultati riportati non riflettono il contenuto di anticorpi anti-A presenti nel campione.

Tra i 66 laboratori che hanno fornito risultati IAT standard sia per il paziente 2 che per il paziente 3, 62 (93,9%) hanno registrato, per il paziente 2, un titolo superiore di almeno tre diluizioni rispetto a quello ottenuto per il paziente 3.

Settantaquattro laboratori su 118 (62,7%) hanno inviato risultati ottenuti utilizzando tecniche "standard" per DRT e/o IAT; 36 di essi hanno fornito anche risultati ottenuti tramite metodi interni (in-house). Quarantaquattro laboratori hanno presentato esclusivamente risultati ottenuti con metodi interni.

A causa di un tasso di risposta ai questionari inferiore alla norma (circa due terzi), riconducibile a problemi con la piattaforma PHP, per questo esercizio non verranno riportati dati derivanti dai questionari.

La rappresentazione grafica dei risultati ottenuti con le tecniche standard è disponibile alle pagine 2 e 3.

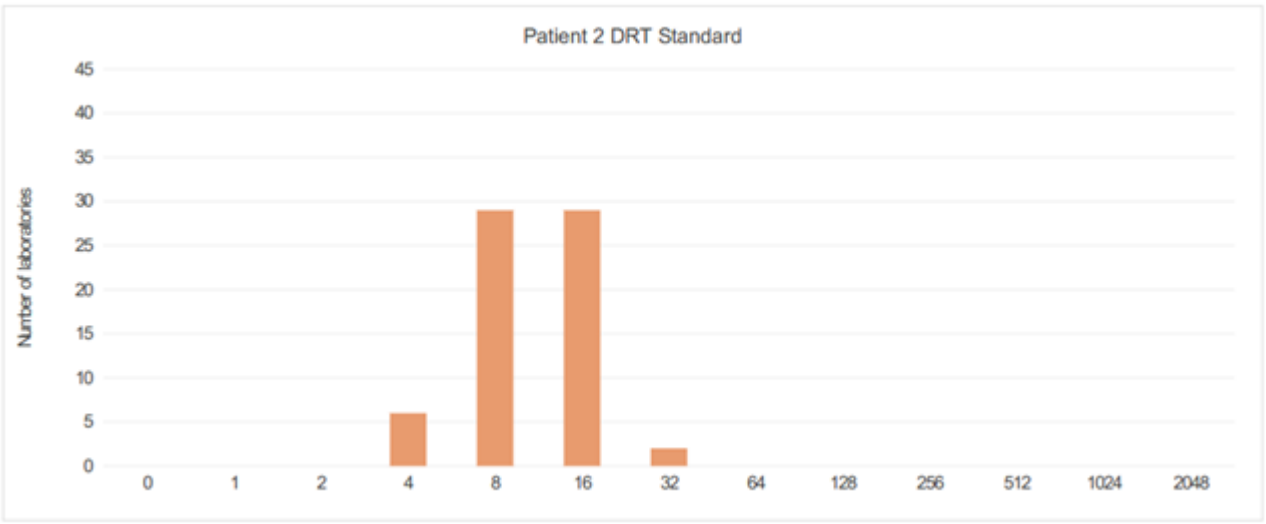
Non tutti i laboratori hanno eseguito i test sia tramite IAT che tramite DRT; il numero di risultati analizzati per ciascun metodo è riportato nella Tabella 1.

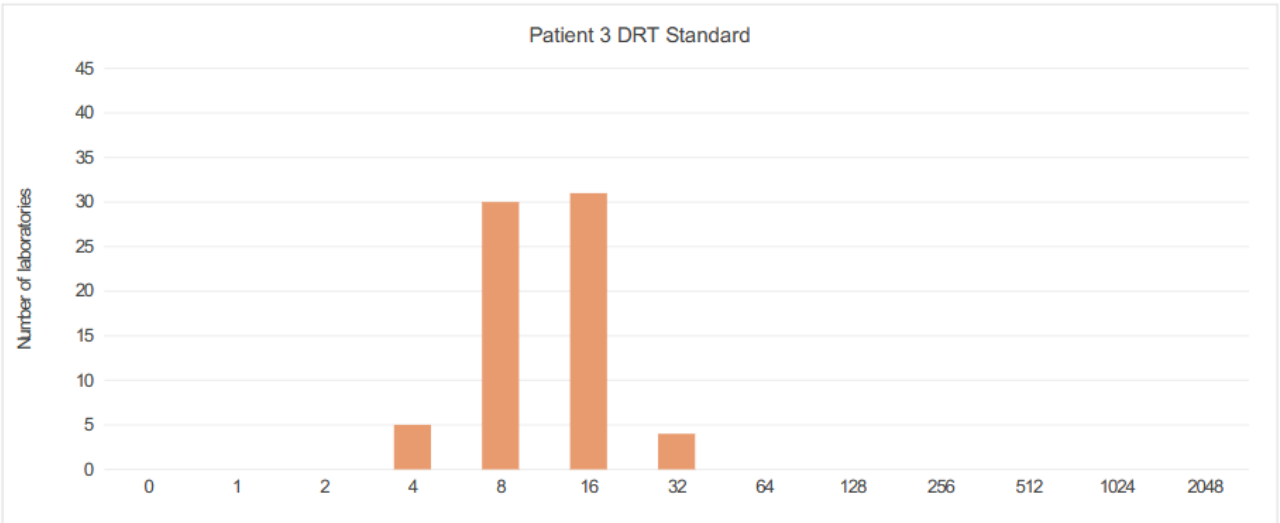
Scheme Director: Katy Veale (Acting)
UK NEQAS BTLP, PO Box 14, WATFORD WD18 0FJ, UK
email: btlp@ukneqas.org.uk Phone: +44 (0) 1923 587 111

Authorised by: Katy Veale (Operations Manager)
© Copyright Notice: UK NEQAS reports are confidential, and no data may be published without the Organiser's permission

UKAS 7805



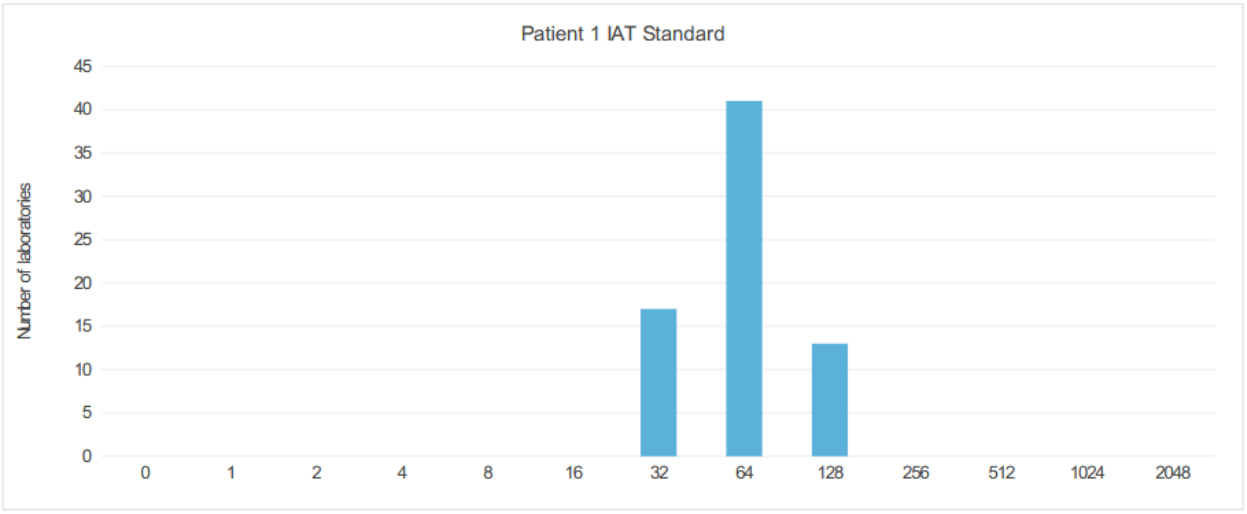


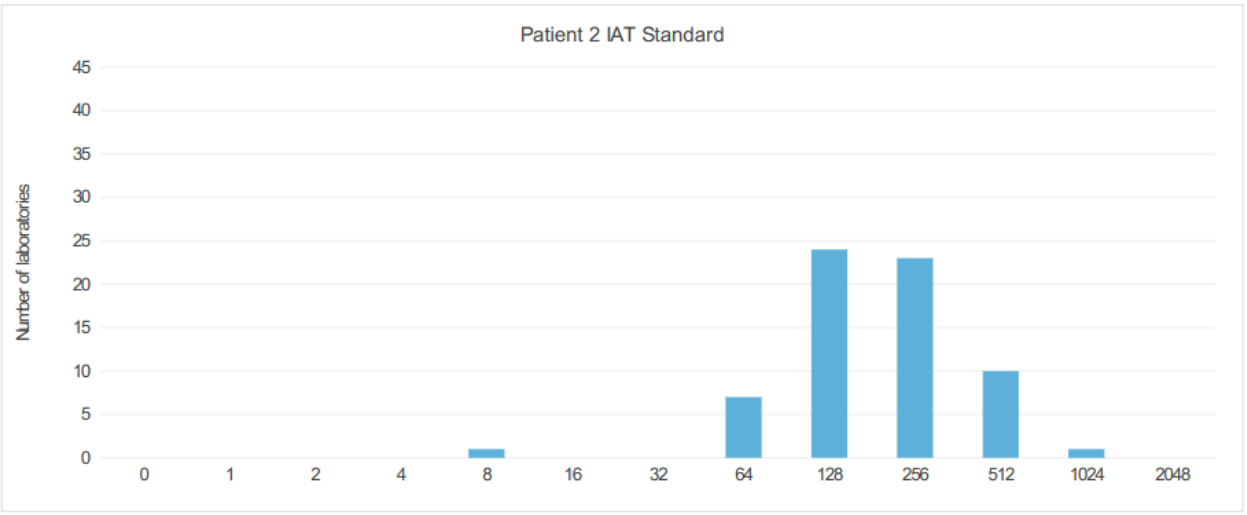


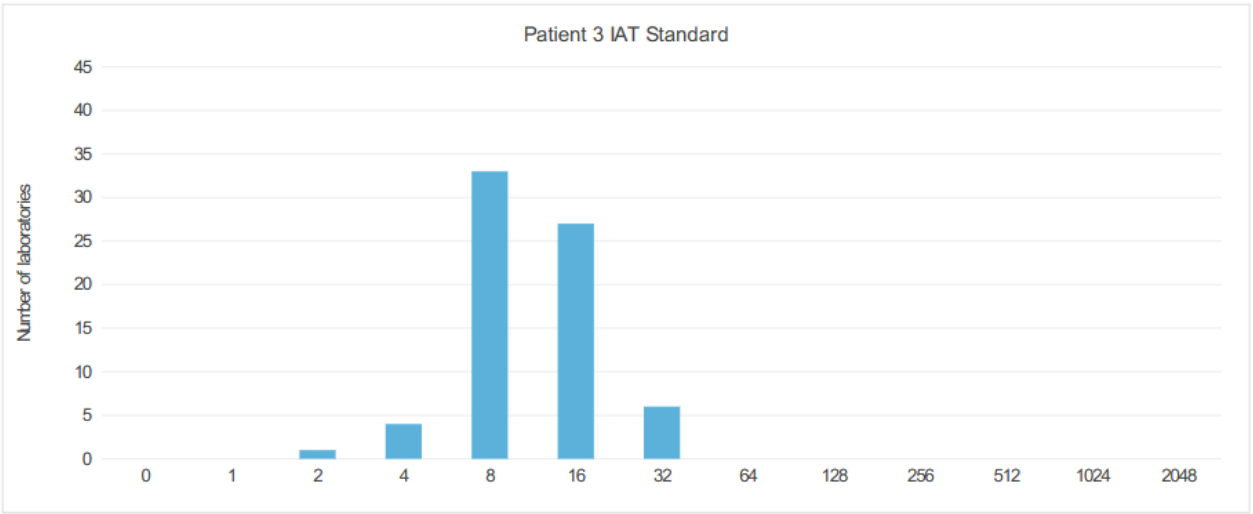
Scheme Director: Katy Veale (Acting)
UK NEQAS BTLP, PO Box 14, WATFORD WD18 0FJ, UK
email: btlp@ukneqas.org.uk Phone: +44 (0) 1923 587 111

Authorised by: Katy Veale (Operations Manager)
© Copyright Notice: UK NEQAS reports are confidential, and no data may be published without the Organiser's permission

UKAS
7805







Scheme Director: Katy Veale (Acting)
UK NEQAS BTLP, PO Box 14, WATFORD WD18 0FJ, UK
email: btlp@ukneqas.org.uk Phone: +44 (0) 1923 587 111

Authorised by: Katy Veale (Operations Manager)
© Copyright Notice: UK NEQAS reports are confidential, and no data may be published without the Organiser's permission

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	70	32 (8-128)	66	8 (4-32)	70	12 (4-32)
DRT In-house BioRad	16	32 (16-32)	15	8 (4-16)	16	8 (4-16)
DRT In-house BioVue	11	32 (8-128)	10	8 (4-32)	11	8 (4-16)
DRT In-house Grifols	16	32 (8-64)	16	8 (8-32)	16	8 (8-32)
DRT In-house Tube	11	32 (4-32)	11	8 (2-16)	11	8 (2-16)
DRT In-house Immucor	11	8 (2-32)	11	4 (4-8)	11	4 (4-8)
DRT In-house Other	2	24 (16-32)	2	8 (8-8)	2	8 (8-8)
IAT Standard	71	64 (32-128)	66	256 (8-1024)	71	8 (2-32)
IAT In-house (untreated) BioRad	13	64 (32-128)	13	512 (64-1024)	13	16 (4-32)
IAT In-house (untreated) BioVue	10	128 (8-256)	8	256 (32-256)	10	24 (8-64)
IAT In-house (untreated) Grifols	14	64 (64-256)	14	128 (16-512)	14	16 (8-256)
IAT In-house (untreated) Tube	4	96 (32-128)	4	128 (64-256)	4	20 (8-64)
IAT In-house (untreated) Immucor	9	32 (16-64)	9	64 (64-128)	9	2 (1-64)
IAT In-house (untreated) Other	2	96 (64-128)	2	288 (64-512)	2	10 (4-16)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) BioRad	9	32 (16-128)	8	48 (2-128)	9	4 (0-16)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) BioVue	2	96 (64-128)	2	20 (8-32)	2	8 (8-8)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Grifols	2	40 (16-64)	2	65 (2-128)	2	3 (2-4)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Tube	3	32 (16-256)	3	64 (2-128)	3	8 (2-8)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Immucor	2	32 (32-32)	2	96 (64-128)	2	2 (2-2)
IAT In-house DTT Treated (or equivalent) Other	1	32 (32-32)	1	256 (256-256)	1	4 (4-4)

Scheme Director: Katy Veale (Acting)
UK NEQAS BTLP, PO Box 14, WATFORD WD18 0FJ, UK
email: btlp@ukneqas.org.uk Phone: +44 (0) 1923 587 111

Authorised by: Katy Veale (Operations Manager)
© Copyright Notice: UK NEQAS reports are confidential, and no data may be published without the Organiser's permission

Tabella 2 – I vostri risultati

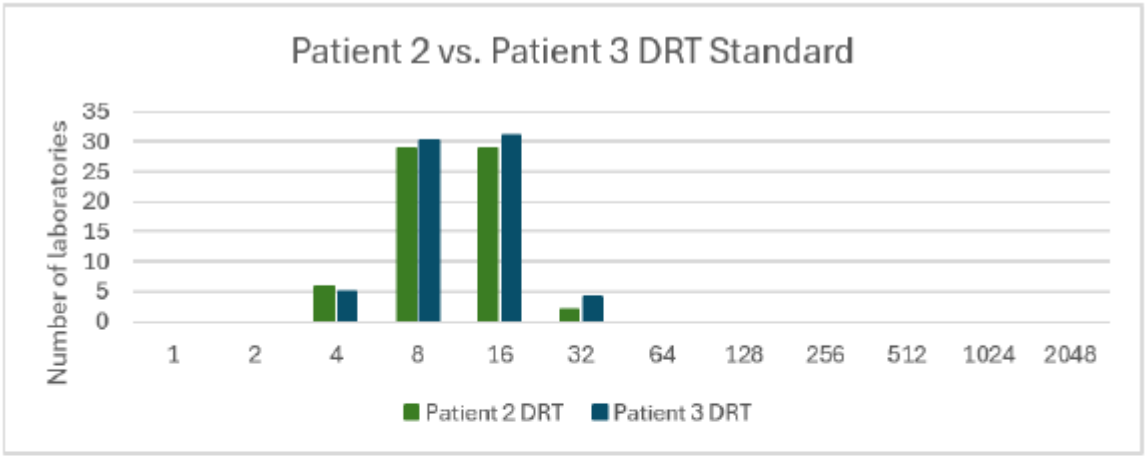
Omissis

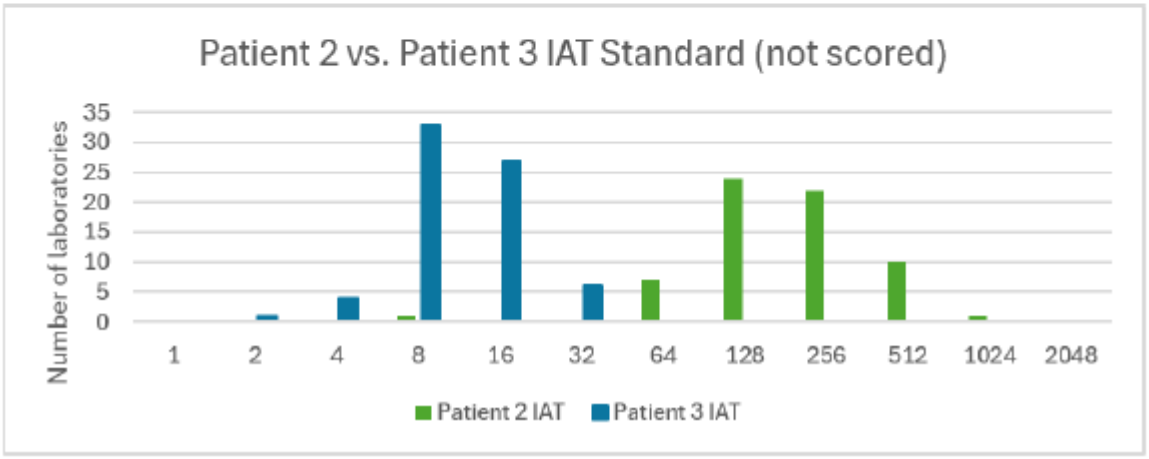
Scheme Director: Katy Veale (Acting)
UK NEQAS BTLP, PO Box 14, WATFORD WD18 0FJ, UK
email: btlp@ukneqas.org.uk Phone: +44 (0) 1923 587 111

Authorised by: Katy Veale (Operations Manager)
© Copyright Notice: UK NEQAS reports are confidential, and no data may be published without the Organiser's permission

Discussione

I campioni 2 e 3 sono stati inizialmente preparati a partire dallo stesso pool; tuttavia, al campione 2 è stato aggiunto un piccolo volume di anticorpi anti-s ad alto titolo. Le tabelle sottostanti confrontano i titoli ottenuti mediante DRT e IAT per i campioni 2 e 3. Il campione 2 è stato escluso dalla valutazione relativa alla titolazione IAT, poiché i risultati riportati non riflettono il contenuto di anticorpi anti-A presenti nel campione.





La maggior parte dei laboratori che hanno utilizzato la tecnica DRT standard ha registrato titoli identici per i pazienti 2 e 3 (55/66; 83,3%). Tra gli undici laboratori che hanno riportato titoli differenti per la tecnica DRT standard, nove presentavano una differenza di una diluizione e due una differenza di due diluizioni.

22/72 (30,6%) dei laboratori che hanno inviato i risultati della titolazione e risposto al quesito hanno indicato che lo screening anticorpale non viene eseguito su ogni campione sottoposto a titolazione; otto di essi hanno specificato che tale screening non viene mai effettuato. Uno di questi laboratori si trova nel Regno Unito.

Nell'ambito di questa esercitazione, le istruzioni richiedevano l'impiego dei globuli rossi forniti per la titolazione; i risultati del test dell'antiglobulina umana (IAT) suggeriscono che la maggior parte dei laboratori abbia utilizzato tali cellule come indicato. In un contesto clinico, gli operatori che eseguono uno screening anticorpale sarebbero stati consapevoli della necessità di selezionare, per la titolazione, globuli rossi negativi per l'antigene s; molti laboratori hanno infatti contattato gli organizzatori del programma per segnalare che avrebbero proceduto in tal modo. Se si fosse trattato di un campione clinico, è possibile che, nel 30,6% dei laboratori, per il paziente 2 sarebbe stato riportato un titolo anti-A (mediante IAT) falsamente elevato. Ciò potrebbe comportare l'esclusione ingiustificata di pazienti da alcuni programmi di trapianto o l'adozione di misure inappropriate per la riduzione degli anticorpi.

Scheme Director: Katy Veale (Acting)
UK NEQAS BTLP, PO Box 14, WATFORD WD18 0FJ, UK
email: btlp@ukneqas.org.uk Phone: +44 (0) 1923 587 111

Authorised by: Katy Veale (Operations Manager)
© Copyright Notice: UK NEQAS reports are confidential, and no data may be published without the Organiser's permission

UKAS
7805

Tipizzazione A_1

Tabella 3 – Risultati della tipizzazione A_1

Campione	Risultati attesi	Risultati complessivi		
		A_1 positivo	A_1 negativo	A_1 non determinato
Paziente W	Positivo	103 (99.0%)	1 (1.0%)	0 (0%)
Paziente Y	Positivo	104 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Paziente Z	Negativo	0 (0%)	103 (99.0%)	1 (1.0%)

Scheme Director: Katy Veale (Acting)
UK NEQAS BTLP, PO Box 14, WATFORD WD18 0FJ, UK
email: btlp@ukneqas.org.uk Phone: +44 (0) 1923 587 111

Authorised by: Katy Veale (Operations Manager)
© Copyright Notice: UK NEQAS reports are confidential, and no data may be published without the Organiser's permission

7805

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 perfomance 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.

Scheme Director: Katy Veale (Acting)
UK NEQAS BTLP, PO Box 14, WATFORD WD18 0FJ, UK
email: btlp@ukneqas.org.uk Phone: +44 (0) 1923 587 111

Authorised by: Katy Veale (Operations Manager)
© Copyright Notice: UK NEQAS reports are confidential, and no data may be published without the Organiser's permission

UKAS 7805

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

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 BioRad

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 BioRad

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

Scheme Director: Katy Veale (Acting)
UK NEQAS BTLP, PO Box 14, WATFORD WD18 0FJ, UK
email: btlp@ukneqas.org.uk Phone: +44 (0) 1923 587 111

Authorised by: Katy Veale (Operations Manager)
© Copyright Notice: UK NEQAS reports are confidential, and no data may be published without the Organiser's permission

UKAS 7805