

Esercizio pilota per la titolazione di anti-A e anti-B 16/17ABO T1 distribuito il 14 Giugno 2016

Introduzione

Questo è stato il primo esercizio del ciclo 2016-2017 dello schema pilota ABOT. I partecipanti sono stati invitati a titolare l'anti-A in tre campioni di plasma da testare contro globuli rossi A₁ forniti con l'esercizio. Le titolazioni dovevano essere effettuate con metodi e tecniche di routine (quelle utilizzate per valutare l'idoneità del paziente da sottoporre a trapianto di organo ABO incompatibile da vivente, laddove appropriato nella pratica clinica), e anche con la tecnica standard DiaMed, purché le risorse necessarie fossero disponibili.

Punteggio

I punteggi sono presentati a pagina 3 del presente report con le regole base da utilizzare per il punteggio, sebbene il monitoraggio delle prestazioni non verrà fatto fino a quando lo schema titolazione ABO diventerà uno Schema definitivo nel corso dell'anno dopo che il sistema di punteggio sarà stato testato e ultimato; i partecipanti saranno avvistati in futuro.

Materiale

E' stato fornito il seguente materiale:

- Campioni per i Pazienti 1, 2 e 3 preparati da plasma fresco congelato filtrato di gruppo O. I campioni per i Pazienti 1 e 2 furono preparati da un singolo pool.
- Un campione di globuli rossi di gruppo A₁ D negativo (rr).

Le tecniche standard DiaMed per DRT e IAT sono state fornite assieme alle istruzioni dell'esercizio (vedi Appendice 1), e queste sono indicate in questo report come tecniche "Standard".

Percentuale di restituzione / analisi dei dati

L'esercizio pilota è stato distribuito a 93 laboratori, 43 nel Regno Unito e nella Repubblica d'Irlanda e 51 fuori dal Regno Unito. I risultati sono stati restituiti da 88/93 (94,6%) laboratori entro la data di chiusura, con un laboratorio che ha restituito due set di risultati (DTT con plasma trattato e non trattato). 45 (51%) laboratori hanno restituito i risultati per entrambe le tecniche standard e in-house, 12 (14%) sono con la tecnica in-house e 31 (35%) solo per la tecnica standard. Non tutti i laboratori hanno analizzato i campioni con entrambe le metodiche IAT e DRT. I risultati analizzati per ciascun metodo sono mostrati nella Tabella 1.

La titolazione ABO è eseguita a sostegno di programmi di trapianto renale in 42/88 (48%) laboratori. 35/42 (83%) hanno restituito i risultati ottenuti con la tecnica 'standard' DRT e 14/35 (40%) hanno dichiarato di utilizzare questa tecnica nella pratica clinica. 37/42 (88%) hanno restituito i risultati utilizzando la tecnica IAT 'standard' e 25/37 (68%) hanno dichiarato di utilizzare questa tecnica nella pratica clinica.

Qualità dei campioni riportata

Non ci sono state segnalazioni di qualità insoddisfacente per nessun campione di plasma o di globuli rossi.

Risultati titolazione

La tabella 1 mostra i risultati di titolazione con il metodo della mediana per DRT, per IAT con plasma non trattato e per IAT con plasma pre-trattato.

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

Tecnica	Numero risultati	Risultati titolazione (range) vs. cellule A		
		P1 (Gruppo O)	P2 (Gruppo O)	P3 (Gruppo O)
DRT Standard	67	128 (16-512)	128 (4-512)	32 (4-128)
DRT In-house complessivi	50	32 (2-1024)	48 (4-2048)	16 (2-256)
DRT In-house DiaMed	13	64 (32-128)	64 (16-128)	16 (8-32)
DRT In-house BioVue	7	256 (64-1024)	256 (64-2048)	32 (8-256)
DRT In-house provetta	20	16 (4-128)	16 (4-128)	16 (2-64)
DRT In-house Immucor	7	8 (2-8)	8 (4-8)	4 (2-8)
DRT In-house Grifols	3	128 (64-256)	128 (64-256)	64 (16-64)
IAT Standard	76	512 (256-8192)	512 (128-8192)	64 (0-256) ¹
IAT In-house complessivi non trattato	30	512 (16-8192)	512 (128-4096)	64 (8-512)
IAT In-house DiaMed non trattato	8	1000 (256-1024)	1000 (256-1024)	64 (32-256)
IAT In-house BioVue non trattato	6	1024 (512-8192)	1024 (512-4096)	128 (32-512)
IAT In-house provetta non trattato	6	512 (128-512)	384 (128-512)	48 (16-64)
IAT In-house Immucor non trattato	7	256 (16-512)	256 (128-512)	32 (8-256)
IAT in-house Grifols	3	512 (512-1024)	1024 (512-1024)	128 (64-128)
IAT DTT (o equivalente) complessivi	11	256 (32-2048)	256 (16-2048)	16 (0-256)
IAT DTT (o equivalente) DiaMed	5	256 (64-1024)	256 (64-1024)	16 (1-64)
IAT DTT (o equivalente) tube	5	64 (32-512)	64 (16-512)	16 (0-64)
IAT DTT (o equivalente) BioVue	1	2048	2048	256

¹ include un risultato da un laboratorio non-UK che potenzialmente ha usato plasma trattato con DTT; escludendo questo il range rivisto è 16-256

Informazioni aggiuntive

Campioni duplicati

I campioni per i Pazienti 1 e 2 sono stati preparati dallo stesso pool, e la tabella 3 mostra la riproducibilità intra-laboratorio dei risultati per questi campioni.

Tabella 3 Riproducibilità dei test sui campioni duplicati (Paziente 1 e 2) in base alla tecnica usata

Tecnica (numero dei risultati)	Risultati P1 vs P2		
	Numero (%) Identici	Numero (%) Differenza di 1 diluizione	Numero (%) Differenza >1 diluizione
DRT Standard (67)	57	7	3
IAT Standard (76)	62	13	1
DRT in house (50)	38	11	1
IAT In-house non trattati (30)	25	3	2
IAT In-house trattati con DTT (11)	8	3	0

Screening per gli anticorpi anti eritrociti non-ABO

38/88 (43%) laboratori non eseguono di routine uno screening anticorpale antieritrociti sui campioni su cui eseguono la titolazione ABO, e 17/38 (45%) supportano programmi di trapianto renale, inclusi sei laboratori UK.

Automazione della titolazione

Undici laboratori (inclusi quattro in UK) hanno riportato che il loro metodo di titolazione ABO è pienamente automatico. Otto hanno usato metodi in-house (sei Immucor e due BioVue), e gli altri tre hanno riportato risultati solamente con la tecnica Standard (DiaMed). Altri sei laboratori non-UK usano metodi parzialmente automatici. Tre di questi, che hanno riportato solamente la tecnica Standard (DiaMed), hanno sistemi di lettura automatica. Gli altri tre usano l'automazione per la preparazione delle titolazioni (uno ciascuno di BioVue, Immucor e DiaMed).

Uso della preparazione di riferimento NIBSC

La preparazione di riferimento NIBSC 14/300 (alto titolo anti-A e anti-B) è usata come parte del protocollo di titolazione solamente in due laboratori (entrambi non-UK).

Punteggio per la titolazione ABO

Categorie di monitoraggio delle performance

- Differenza dal risultato della mediana per i risultati 'standard' (e per ogni altra tecnologia in-house con numero di laboratori > 20). Vengono inclusi i laboratori che inviano risultati per la tecnica standard:
 - 1) DRT
 - 2) IAT

Definizione di risultati soddisfacenti

- Valore di titolazione entro 1 diluizione al raddoppio sul 'target', calcolato con il metodo della mediana

'Punteggi' per i risultati 'outlying'

- 1 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 delle due categorie, all'interno di ciascun esercizio.
- Punti accumulati tra gli esercizi, anche per categoria.

La Tabella 4 mostra i punteggi per il corrente esercizio e i punteggi cumulativi (incluso questo e i due precedenti esercizi) basati sui criteri di cui sopra. Questi punteggi sono stati generati manualmente, e fino a quando non sarà sviluppato e convalidato un software per questo scopo, lo schema ABO titolazione rimarrà nella fase pilota e non sarà eseguito alcun monitoraggio delle performance. I partecipanti dovrebbero contattare i responsabili dello Schema se essi non sono d'accordo con uno qualsiasi dei punteggi assegnati.

Test	Punteggio per questo esercizio ¹	Punteggio cumulativo ²
DRT provetta		
DRT Standard		
IAT Standard		
Risultati non inviati		

¹ include tutti e tre i campioni correnti

² include tutti i campioni nel corrente esercizio e nei due precedenti

Appendice

1. – Tecniche standard per DRT e IAT emesse con questo esercizio.

Appendice 1

Tecniche Standard da usare: 16/17 ABO T1
--

- 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 DiaMed 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