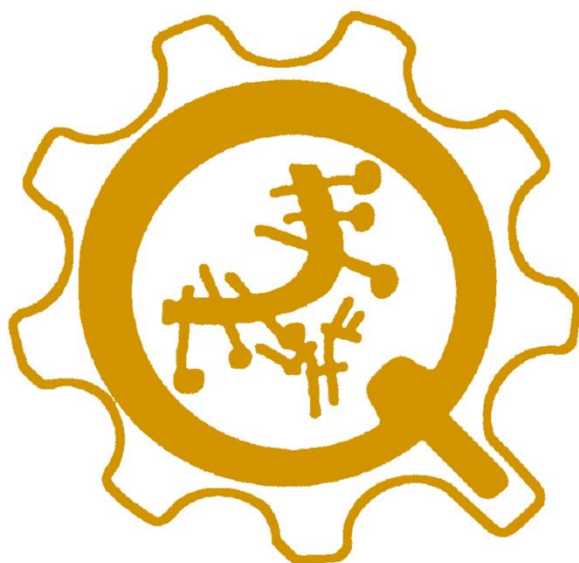


Garantía Externa de Calidad para Laboratorios de Inmunología Diagnóstica
GECLID-SEI 2020

Prospectus: Subprograma de Histocompatibilidad e Inmunogenética



DATOS DE CONTACTO	2
Organización	2
Personal del Programa. Contacto.....	2
GLOSARIO	5
Identificación de las muestras	8
.....	8
HLA-2A: HLA-B27	10
HLA-2B: HLA-B*57:01	10
HLA-2C: HLA de susceptibilidad a E. celiaca	11
HLA-3A: Prueba cruzada-citotoxicidad	12
HLA-3B: Prueba cruzada-citometría	12
HLA-4A: Detección de anticuerpos anti HLA de clase I y II.....	13
HLA-4B: Detección de acs. e Identificación de especificidades anti HLA de clase I y II	14
HLA-5: Tipaje de baja resolución por DNA HLA de clase I /clase II	15
HLA-6: Tipaje de alta resolución por DNA HLA de clase I/clase II	16
HLA-8: Quimerismo	17
HLA-9: Tipaje KIR	18
HLA-10A Anticuerpos antiplaquetarios inducidos por heparina	19
HLA-11A Tipaje HPA.....	19
HLA-11B Tipaje HNA	20
HLA-12: Detección de anticuerpos e Identificación de especificidades anti HPA.....	21
HLA-14A Anticuerpos anti GSTT1	21
HLA-14B Tipaje GSTT1	22
ANEXO: NORMAS GECLID/EFI PARA la introducción de ASIGNACIONES HLA por DNA (baja resolución):	23
NORMAS GECLID/EFI PARA la introducción de ASIGNACIONES HLA por DNA (alta resolución):.....	23
CRITERIOS/REQUISITOS DE PARTICIPACIÓN.....	24
LABORATORIO RESPONSABLE DE LAS DISTRIBUCIONES	24
MUESTRAS, ESPECÍMENES O ÍTEMS.....	24
MÉTODOS ESTADÍSTICOS Y SISTEMAS DE PUNTUACIÓN	25
INFORMES.....	25
POLÍTICA DE RECLAMACIONES	26
BASE DE LA EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO ANUAL	27
REFERENCIAS	27

DATOS DE CONTACTO

Organización

Programa de Garantía externa de Calidad para Laboratorios de Inmunología Diagnóstica- Sociedad Española de Inmunología (GECLID-SEI)

Sede: Centro de Hemoterapia y Hemodonación de Castilla y León

Paseo de Filipinos s/n

47007 – Valladolid

Tel.: [900 405 060](tel:900405060)

Personal del Programa. Contacto.



Centro de Hemoterapia y Hemodonación
de Castilla y León



Dra. M Carmen Martín

Inmunólogo especialista. *Programme Manager*
**Programa de Garantía externa de Calidad para
Laboratorios de Inmunología Diagnóstica GECLID**

Centro de Hemoterapia y Hemodonación de Castilla y León
Paseo de Filipinos s/n
47007 – Valladolid
Tel.: [900 405 060](tel:900405060)
Mail: responsable@geclid.es

Comisión de Calidad para la Inmunología Diagnóstica (CCID) de la Sociedad Española de Inmunología

Presidenta CCID

María Francisca González Escribano

Servicio de Inmunología

H. U. Virgen del Rocío

Avda Manuel Siurot s/n

41014 Sevilla (Spain)

e-mail: mariaf.gonzalez.sspa@juntadeandalucia.es

Phone: +34 955 014 230

Fax: +34 955 014 221

Secretaria CCID

Carmen Cámara Hijón

Inmunología.

Hospital Universitario La Paz

Hospital Infantil. Planta Sótano

Paseo de la Castellana, 261

28046 Madrid (Spain)

Correo electrónico: ccamarah@salud.madrid.org

Phone: +34 91 2071563

Representante de Histocompatibilidad

Antonio Balas Perez

Histocompatibilidad

Centro de Transfusión de Madrid

Av de la Democracia s/n

28032 Madrid (Spain)

Phone: +34 914 017 262

Fax : +34 914 017 253

e-mail: abalas.trans@salud.madrid.org

Representante de Autoinmunidad

Aresio Plaza López
Inmunología. H. U. Puerta de Hierro
Joaquín Rodrigo 2
28222 Majadahonda. Madrid
Correo electrónico: aresio.plaza@salud.madrid.org
Tf.: 91 1917576
Fax: 91 3160644

Representante de Inmunoquímica

Manuel Hernández González
Inmunología
Hospital Vall d'Hebron
Pº Valle de Hebron 119-129
8035 Barcelona
Correo electrónico: manhernandez@vhebron.net
Tf.: 934893842

Representante de Inmunidad celular

Josefa Melero
Hospital Infanta Cristina
Laboratorio de Inmunología
C/ Elvas s/n
06080 Badajoz
BADAJOZ
Correo electrónico: jmelero@unex.es
Tf.: 924218100

Representante del Programa GECLID-SEI

M. Carmen Martín Alonso
Centro de Hemoterapia y Hemodonación de Castilla y León
Paseo de Filipinos s/n
47007 – Valladolid
Tf.: 983418823 ext. 89673
Correo electrónico: cmartinalo@saludcastillayleon.es

Comité Asesor de Histocompatibilidad e Inmunogenética**Antonio Balas Perez**

Histocompatibilidad
Centro de Transfusión de Madrid
Av de la Democracia s/n
28032 Madrid (Spain)
Phone: +34 914 017 262
Fax : +34 914 017 253
e-mail: abalas.trans@salud.madrid.org

Carlos Vilches

Inmunogenética - HLA
Hospital Univ. Puerta de Hierro
Manuel de Falla 1
28220 Majadahonda
Madrid (Spain)
e-mail: carlos.vilches@yahoo.com
Phone: +34 911 917 766
Fax: +34 911 917 806

Dolores Planelles

Laboratorio de Histocompatibilidad
Centro de Transfusiones de la Comunidad Valenciana
Avda. del Cid, 65-A
46014 Valencia (Spain)
Phone: 961971609
e-mail: planelles_dol@gva.es

M^a Dolores de Juan Echávarri

Sección de Inmunología. Laboratorio Unificado
P^o del Dr. Beguiristain, 107
20014 San Sebastián
GUIPUZCOA
Phone: +34 943007040
e-mail: MARIADOLORES.DEJUANECHAVARRI@osakidetza.net

Eduard Palou

Servei Immunologia, CDB
H. Clínic de Barcelona
C/ Villarroel 170;
08036 Barcelona (Spain).
Correo electrónico: epalou@clinic.cat.
Tf.: + 34 932 275 490

José Raul García Lozano (Quimerismo)

Servicio de Inmunología
H. U. Virgen del Rocío
Avda Manuel Siurot s/n
41014 Sevilla (Spain)
e-mail: jraul.garcia.sspa@juntadeandalucia.es
Phone: +34 955 014 230
Fax: +34 955 014 221

GLOSARIO

HLA: *human leucocyte antigen* , antígeno mayor de histocompatibilidad.

EFI: *European Federation for Immunogenetics*. Federación Europea de Inmunogenética.

Consenso: en todos los esquemas serológicos se requerirá que al menos el 75% de los participantes coincidan en los resultados. En caso de que no se alcance el consenso establecido para cada panel en alguna de las muestras, ésta no será evaluada (1).

Células: en este prospectus se emplea el término células para referirse a las muestras de sangre periférica (*buffy coats* diluidos)

Desviación estándar (σ): desviación estándar robusta de los resultados, calculada aplicando el algoritmo A del apéndice C NORMA ISO 13528:2015.

Incertidumbre estándar (U_x): medida de la dispersión global del parámetro

$$u_x = \frac{1.25 * s^*}{\sqrt{n}}$$

Intervalo de aceptación: intervalo de z-score entre -2 y 2, dentro del cual se considera un resultado como correcto.

Media robusta (valor asignado, X): valor de consenso entre los participantes, es el promedio robusto de los resultados obtenidos por todos los participantes, calculado usando el algoritmo A del anexo C – NORMA ISO 13528:2005.

Resultado de referencia o valor asignado: en los esquemas de tipaje molecular HLA, es el resultado suministrado por el Comité Asesor multicéntrico, integrado en su totalidad por laboratorios acreditados por EFI.

Valor asignado: valor atribuido a un parámetro de la muestra objeto de intercomparación (2). Denominaremos así en este *Prospectus* tanto al resultado que se decida como correcto por consenso de los participantes, como al Resultado de referencia o valor asignado.

Resultado correcto: resultado completo que no presenta ninguna discrepancia con el valor asignado.

ESQUEMAS

En cada uno de los ejercicios de los esquemas se suministrarán instrucciones precisas y adecuadas incluyendo información relativa a cada muestra, especificaciones de los ensayos si fuera pertinente, unidades en que deben expresarse los resultados y fecha de envío de los mismos.

Cualquier incidencia o comentario que pueda surgir en el desarrollo del ejercicio de intercomparación será comunicada a los participantes y tenida en consideración a la hora de evaluar los resultados.

En la Tabla 1 se recogen los esquemas del Subprograma, así como el calendario de envío de muestras y el de recepción de resultados para su evaluación. Cada envío lleva asignado un código con el número (s) de identificación del (los) esquemas a los que corresponde. En los casos en que hay más de un envío por esquema, se denominan con letras griegas (α para el 1º, β para el segundo...). En los esquemas 4 A, B, C, Y D sólo se realizará un envío de muestras. El primer envío del esquema 3A consta de sueros (indicados con una s) y los siguientes, de células.

Existe, en todos los esquemas la posibilidad para los laboratorios, de inscribirse y participar en el ejercicio de intercomparación recibiendo sus puntuaciones, pero sin ser evaluados. Esta particularidad deberá ser informada al Responsable del Programa.

Tabla 1: Esquemas y muestras del programa de Histocompatibilidad GECLID-SEI 2019

ESQUEMA	PARÁMETROS	Muestras /ronda	Rondas/año	Plazo recepción resultados	de de
HLA-1A Serología clase I	Tipaje Serológico: HLA-A,B,(-Cw)	5 células	2	2 semanas	
HLA-1B Serología clases I y II	Tipaje Serológico: HLA-A,B,(-Cw); HLA-DR,(-DQ)	5 células	2	2 semanas	
HLA-2A HLA-Enfermedad 1	HLA-B27	5 células	2	6 semanas	
HLA-2B HLA-enfermedad 2	HLA-B*57:01	5 células	2	6 semanas	
HLA-2C HLA-Enfermedad 3	HLA de susceptibilidad a E. celiaca	5 células	2	6 semanas	
HLA-3A Prueba cruzada citotoxicidad	Detección de anticuerpos citotóxicos frente a linfocitos T, B y/o totales)	14 sueros 2 células	3 (1 sueros, 2 celulas)	2 semanas	
HLA-3B Prueba cruzada citometría	Prueba cruzada frente a linfocitos T y B (reactividad IgG frente a T y B)	14 sueros 2 células	3 (1 sueros, 2 celulas)	2 semanas	
HLA-4A Detección de Ac. anti HLA de clase I y II	Detección de Ac. anti-HLA clase I y II	14 sueros	único	6 semanas	
HLA-4B Detección y Análisis de Ac. Anti HLA de clase I y II	Detección de anticuerpos e Identificación de especificidades anti HLA de clase I y II	14 sueros	único	6 semanas	
HLA-5 Tipaje molecular HLA-I y II (baja resolución)	Tipaje molecular HLA de baja resolución 5A: HLA-A, -B, -C 5B: HLA-DRB1, -DRB3/DRB4/DRB5 -DQA1, -DQB1	5 células	2	6 semanas	
HLA-6 Tipaje molecular HLA-I y II (alta resolución)	Tipaje molecular HLA de alta resolución 6A: HLA-A, -B, -C 6B: HLA-DRB1, -DRB3/DRB4/DRB5, -DPB1, -DQA1, -DQB1, (-DPA1)	5 células	2	10 semanas	
HLA-8 Quimerismo	Determinación de la proporción de ADN/células en una mezcla de dos componentes (individuos)	2 células 5 mezclas	2	4 semanas	
HLA-9 Tipaje KIR	Tipaje molecular KIR: 2DL1, 2DL2, 2DL3 , 2DL4 , 2DL5 , 2DS1 , 2DS2 , 2DS3 , 2DS4 , 2DS5 , 2DP1 , 3DL1 , 3DL2 , 3DL3 , 3DS1 , 3DP1	5 células	2	6 semanas	
HLA-10A Anticuerpos inducidos por heparina	Anti H-PF4	5 sueros	2	12 semanas	
HLA-10A Anticuerpos anti HPA	Anti HPA	5 sueros	2	12 semanas	
HLA-11A Tipaje HPA	HPA-1, 2, 3, 5, 15	5 sangres	2	3 semanas	
HLA-11A Tipaje HNA	HNA-1a, 1b y 1c	5 sangres	2	3 semanas	
HLA-14A Anti GSTT1	Anticuerpos anti GSTT1	2 sueros	2	6 semanas	
HLA-14B Tipaje GSTT1	Alelo GSTT1	2 sangres	2	6 semanas	

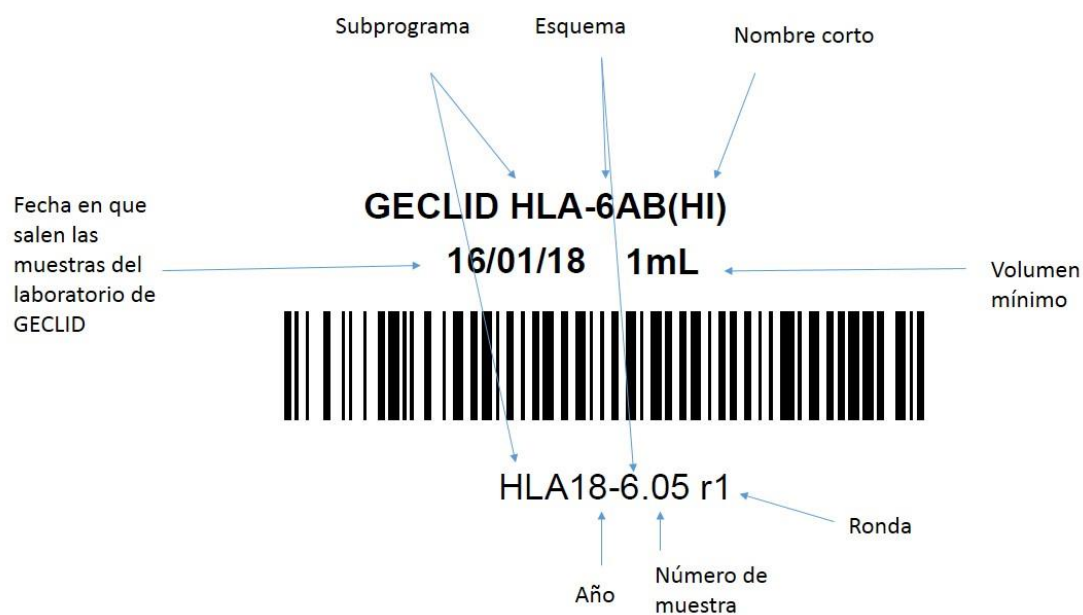
Tabla 2: Calendario del Subprograma de Histocompatibilidad e Inmunogenética GECLID-SEI 2020

RONDA		ESQUEMA
r1	HLA-5 Tipaje de baja resolución	14/01/2020
r1	HLA-6 Tipaje de Alta resolución	
r1	HLA-9 Tipaje KIR	
r1	HLA-4B Anti HLA	04/02/2020
sueros	HLA-3A Xmatch CDC	
sueros	HLA-3B Xmatch FC	
r1	HLA-1 Serología	11/02/2020
r1	HLA-11A Tipaje HPA	
r1	HLA-14A/B GSTT1 ^c	
r1	HLA-8 Quimerismo	04/03/2020
r1	HLA-2A B27	
r1	HLA-2B B57:01	
r1	HLA-2C DQ2/DQ8	
r1	HLA-3A Xmatch CDC	09/03/2020
r1	HLA-3B Xmatch FC	
r2	HLA-3A Xmatch CDC	14/09/2020
r2	HLA-3B Xmatch FC	
r2	HLA-8 Quimerismo	
r2	HLA-4B Anti HLA	06/10/2020
r2	HLA-11A Tipaje HPA	
r2	HLA-1 Serología	
r2	HLA-14A/B GSTT1 ^c	
r2	HLA-5 Tipaje de baja resolución	20/10/2020
r2	HLA-6 Tipaje de Alta resolución	
r2	HLA-9 Tipaje KIR	
r2	HLA-2A B27	09/11/2020
r2	HLA-2B B57:01	
r2	HLA-2C DQ2/DQ8	

* Algunas fechas son orientativas, dependiendo de la disponibilidad de los pacientes

^c Algunos esquemas están condicionados en espera de que se confirme n>5

Identificación de las muestras



HLA-1: Serología de clase I y II

Propósito:

Evaluar el desempeño de los participantes en la determinación de especificidades HLA por métodos serológicos.

Distribución de muestras:

Se evaluarán al menos 10 muestras anuales. Para ello, se distribuirán 10 muestras con un volumen aproximado de 4mL, en dos envíos con 5 muestras cada uno. En caso de que fuera necesario descartar alguna de las muestras del primer envío, se añadirán al segundo. Si fuera necesario, se realizaría un tercero, asegurando así que haya al menos 10 muestras evaluables.

Dentro de este esquema se registrarán los resultados para moléculas HLA de clase I y clase II. Existe la posibilidad de participar enviando exclusivamente resultados para clase I o clase II pero solo si se notifica esta particularidad a GECLID-SEI antes del primer envío de muestras. Se contemplarán exclusivamente las especificidades reconocidas serológicamente (http://hla.alleles.org/antigens/recognised_serology.html).

Informe de Resultados:

Cada laboratorio informará de sus resultados mediante el Formulario de Resultados Telemático y deberá incluir el fenotipo HLA de clase I empleando la nomenclatura oficial HLA más reciente reconocida por la OMS (2). Se registrará asimismo el método de estudio empleado.

Los resultados se informarán a GECLID-SEI en un plazo de 2 semanas desde la recepción de las muestras.

Determinación del valor asignado:

El fenotipo de la muestra será determinado por consenso de al menos el 75% de los laboratorios participantes. GECLID-SEI asegura que todas las muestras que se distribuyan a los participantes para el tipaje serológico, serán tipadas (tras cada cierre de envío de resultados y antes de cada evaluación de resultados) por métodos moleculares por el laboratorio de referencia multicéntrico, integrado por los correspondientes al Comité Asesor de Histocompatibilidad e Inmunogenética, todos ellos acreditados por EFI tal como se recoge en el punto 19.2 de los estándares EFI(3). De ser necesario, GECLID podrá ajustar el valor asignado al tipaje en función de los resultados obtenidos mediante biología molecular con el acuerdo del Comité Asesor

Puntuaciones y Evaluación:

Para que un resultado se considere correcto, el tipaje para los antígenos de HLA-A, -B y -Cw (ó HLA-A y -B en caso de que el laboratorio no requiera control de calidad para HLA-C), -DR y -DQ (ó -DR en su caso) tiene que ser correcto. Los resultados para los antígenos Bw no serán contabilizados para la evaluación final de los participantes.

Discrepancias con el tipaje asignado:

- Informar de una especificidad no incluida en el tipaje asignado
- Dejar de informar un especificidad incluida en el tipaje asignado

Para obtener un informe satisfactorio al final del programa anual será necesario haber fenotipado correctamente (sin ningún error) 9 de las 10 células enviadas.

Todos los laboratorios participantes podrán descargar un certificado de su competencia para el tipaje serológico de HLA de clase I y II, en un plazo no superior a 6 semanas desde el final del ejercicio anual.

HLA-2A: HLA-B27

Propósito:

Evaluar el desempeño de los participantes en la determinación del estado de portador o no de HLA- B27 (B*27).

Distribución de muestras:

Se evaluarán al menos 10 muestras anuales con un volumen aproximado de 4mL. Para ello, se realizarán dos envíos con 5 muestras cada uno. En caso de que fuera necesario descartar alguna de las muestras del primer envío, se añadirán al segundo. Si fuera necesario, se realizaría un tercero, asegurando así que haya al menos 10 muestras evaluables.

Informe de Resultados:

Dentro de este esquema se registrarán los resultados como HLA- B27 (B*27) positivo/negativo independientemente del método por el que se hayan obtenido. De manera opcional, se recogerá el alelo HLA-B*27 encontrado en caso de ser positivo. Se registrará asimismo el método de estudio empleado.

El informe se realizará exclusivamente mediante el Formulario de Resultados.

El informe será remitido a GECLID-SEI en un plazo de 6 semanas desde la recepción de las muestras.

Determinación del valor asignado:

La asignación de B27 será la que marque GECLID-SEI basándose en las indicaciones del Comité Asesor de Histocompatibilidad e Inmunogenética.

Puntuaciones y evaluación:

- Cada determinación de HLA- B27 (B*27) coincidente con el consenso: correcto
- Cada determinación de HLA- B27 (B*27) no coincidente con el consenso: no correcto
- Cada determinación de HLA- B27 (B*27) no testado: no recibe calificación

Para obtener un informe satisfactorio al final del programa (anual) será necesario informar correctamente todos los estados evaluados.

Todos los laboratorios participantes podrán descargar un certificado de su competencia para la determinación de HLA-B27, en un plazo no superior a 6 semanas desde el final del ejercicio anual.

HLA-2B: HLA-B*57:01

Propósito:

Evaluar el desempeño de los participantes en la determinación del estado de portador o no del alelo HLA-B*57:01.

Distribución de muestras:

Se evaluarán al menos 10 muestras anuales. Para ello, se realizarán dos envíos con 5 muestras cada uno con un volumen aproximado de 4mL. En caso de que fuera necesario descartar alguna de las muestras del primer envío, se añadirán al segundo. Si fuera necesario, se realizaría un tercero, asegurando así que haya al menos 10 muestras evaluables.

Informe de Resultados:

Dentro de este esquema se registrarán los resultados como HLA-B*57:01 positivo/negativo. Se registrará asimismo el método de estudio empleado. El informe se realizará exclusivamente mediante el Formulario de Resultados. El informe será remitido a GECLID-SEI en un plazo de 6 semanas desde la recepción de las muestras.

Determinación del valor asignado:

La asignación de HLA-B*57:01 será la que marque GECLID-SEI basándose en las indicaciones del Comité Asesor de Histocompatibilidad e Inmunogenética.

Puntuaciones y evaluación:

- Cada determinación de HLA-B*57:01 coincidente con el consenso: correcto
- Cada determinación de HLA-B*57:01 no coincidente con el consenso: no correcto
- Cada determinación de HLA-B*57:01 no testado: no recibe calificación

Para obtener un informe satisfactorio al final del programa (anual) será necesario informar correctamente todos los estados evaluados.

Todos los laboratorios participantes podrán descargar un certificado de su competencia para la determinación de HLA-B57, en un plazo no superior a 6 semanas desde el final del ejercicio anual.

HLA-2C: HLA de susceptibilidad a E. celiaca

Propósito:

Evaluar el desempeño de los participantes en la determinación del estado de portador o no de las combinaciones de alelos HLA que confieren susceptibilidad a enfermedad celiaca: DQA1*05/DQB1*02 y DQA1*03/DQB1*03:02

Distribución de muestras:

Se evaluarán al menos 10 muestras anuales. Para ello, se realizarán dos envíos con 5 muestras cada uno, con un volumen aproximado de 4mL. En caso de que fuera necesario descartar alguna de las muestras del primer envío, se añadirán al segundo. Si fuera necesario, se realizaría un tercero, asegurando así que haya al menos 10 muestras evaluables.

Informe de Resultados:

Dentro de este esquema se registrarán los resultados de las combinaciones de alelos HLA asociados a celiaquía (DQA1*05/DQB1*02 y DQA1*03/DQB1*03:02 y otros alelos de DQB1 asociados a DQ8) como positivo/negativo,. El informe se realizará exclusivamente mediante el Formulario de Resultados. El informe será remitido a GECLID-SEI en un plazo de 6 semanas desde la recepción de las muestras.

Determinación del valor asignado:

La asignación de combinaciones de alelos HLA de susceptibilidad a enfermedad celiaca será la que marque GECLID-SEI basándose en las indicaciones del Comité Asesor de Histocompatibilidad e Inmunogenética.

Puntuaciones y evaluación:

- Cada determinación de HLA de susceptibilidad a enfermedad celiaca coincidente con el consenso: correcto
- Cada determinación de HLA de susceptibilidad a enfermedad celiaca no coincidente con el consenso: no correcto
- Cada determinación de HLA de susceptibilidad a enfermedad celiaca no testado: no recibe calificación

Para obtener un informe satisfactorio al final del programa anual será necesario informar correctamente todos los estados evaluados.

Todos los laboratorios participantes podrán descargar un certificado de su competencia para la determinación de HLA asociados a enfermedad celiaca, en un plazo no superior a 6 semanas desde el final del ejercicio anual.

HLA-3A: Prueba cruzada-citotoxicidad

Propósito:

Determinar el desempeño de los participantes en la determinación de pruebas cruzadas realizadas mediante microlinfocitotoxicidad.

Distribución de muestras:

Se distribuirán un total de 4 muestras de células (con un volumen aproximado de 4mL) en dos envíos anuales de 2 muestras de sangre cada uno y 14 sueros (con un volumen aproximado de 0,25mL) en un envío único (y comunes a este esquema y al HLA3B Prueba cruzada- citometría), lo que supone un total de 56 pruebas cruzadas. Cada suero será ensayado con todas las muestras de sangre. Los participantes tendrán que analizar obligatoriamente linfocitos T separados o células mononuclear totales de sangre periférica según su práctica habitual con los sueros sin tratar.

GECLID-SEI asegurará que todas las muestras de sueros que se distribuyan a los participantes para las pruebas cruzadas, serán testadas a priori por CDC por el laboratorio de referencia multicéntrico, integrado por los correspondientes al Comité Asesor de Histocompatibilidad e Inmunogenética, todos ellos acreditados por EFI tal como se recoge en el punto 19.2 de los estándares EFI(3)

Informe de Resultados:

Dentro de este esquema se informarán los resultados como positivos o negativos. Los resultados de células T y B se considerarán por separado (además de los de fracción mononuclear total).

El informe se realizará exclusivamente mediante el Formulario de Resultados. El informe será remitido a GECLID-SEI en un plazo de 2 semanas desde la recepción de cada envío de células.

Determinación del valor asignado:

El resultado de la prueba cruzada será determinado por consenso de al menos el 75% de los laboratorios participantes. Aquellas combinaciones donde no se alcance consenso no serán evaluables.

Puntuaciones y evaluación:

- Cada cruce coincidente con el consenso: correcto
- Cada cruce no coincidente con el consenso: no correcto
- Cada cruce no testado: no recibe calificación

Para obtener un informe satisfactorio al final del programa anual será necesario informar correctamente al menos el 85% de todas las combinaciones suero-células informadas y haber informado un mínimo 10 sueros y 2 células, es decir, un mínimo de 20 cruces.

Todos los laboratorios participantes podrán descargar un certificado de su competencia para la realización de pruebas cruzadas, en un plazo no superior a 6 semanas desde el final del ejercicio anual.

HLA-3B: Prueba cruzada-citometría

Propósito:

Determinar el desempeño de los participantes en la determinación de pruebas cruzadas realizadas mediante citometría de flujo.

Distribución de muestras:

Se distribuirán un total de 4 muestras de células en dos envíos anuales de 2 muestras de sangre (con un volumen aproximado de 4mL) cada uno y 14 sueros en un envío único (comunes a este esquema y al HLA-3A Prueba

cruzada- citotoxicidad, con un volumen aproximado de 0,25mL), lo que supone un total de 56 pruebas cruzadas. Cada suero será ensayado con todas las muestras de sangre. Los participantes tendrán que testar las muestras de sangre periférica según su práctica habitual, distinguiendo los anticuerpos dirigidos frente a las subpoblaciones T y B.

GECLID-SEI asegurará que todas las muestras de sueros que se distribuyan a los participantes para las pruebas cruzadas, serán testadas a priori por CDC por el laboratorio de referencia multicéntrico, integrado por los correspondientes al Comité Asesor de Histocompatibilidad e Inmunogenética, todos ellos acreditados por EFI tal como se recoge en el punto 19.2 de los estándares EFI(3)

Informe de Resultados:

Dentro de este esquema se informarán los resultados como positivos o negativos.

El informe se realizará exclusivamente mediante el Formulario de Resultados. El informe será remitido a GECLID-SEI en un plazo de 14 días desde la recepción de cada envío de células.

Determinación del valor asignado:

El resultado de la prueba cruzada será determinado por consenso de al menos el 75% de los laboratorios participantes. Aquellas combinaciones donde no se alcance consenso no serán evaluables. Los resultados de células T y B se considerarán por separado.

GECLID-SEI asegurará que todas las muestras de sueros que se distribuyan a los participantes para las pruebas cruzadas, serán testadas a priori por CDC por el laboratorio de referencia multicéntrico, integrado por los correspondientes al Comité Asesor de Histocompatibilidad e Inmunogenética, todos ellos acreditados por EFI tal como se recoge en el punto 19.2 de los estándares EFI(3)

Puntuaciones y evaluación:

- Cada cruce coincidente con el consenso en T o B: correcto
- Cada cruce no coincidente con el consenso en T o B: no correcto
- Cada cruce no testado: no recibe calificación

Para obtener un informe satisfactorio al final del programa (anual) será necesario informar correctamente al menos el 85% de todas las combinaciones suero-células informadas y haber informado un mínimo 10 sueros y 2 células, es decir, un mínimo de 20 cruces (20 para linfocitos T y 20 para linfocitos B).

Todos los laboratorios participantes podrán descargar un certificado de su competencia para la realización de pruebas cruzadas, en un plazo no superior a 2 semanas desde el final del ejercicio anual.

HLA-4A: Detección de anticuerpos anti HLA de clase I y II

Propósito:

Las diferentes técnicas utilizadas en la investigación de la presencia de anticuerpos frente a moléculas HLA tienen diferentes grados de sensibilidad y especificidad de manera que no son comparables entre sí. Estas técnicas pueden ser complementarias y de hecho, muchos laboratorios utilizan más de una en la investigación rutinaria de anticuerpos. La finalidad de esta intercomparación no es por tanto comparar técnicas, sino evaluar el desempeño de los participantes en la determinación anticuerpos anti HLA de clase I y II con una o varias técnicas de detección.

Distribución de muestras:

Se distribuirán un total de 14 muestras anuales en un envío único, con un volumen aproximado de 0,4 mL. Dentro de este esquema se informarán los resultados de anticuerpos anti HLA clase I y anti clase II. No obstante, existe la posibilidad de enviar exclusivamente resultados para anticuerpos anti clase I o anti clase II, siempre que tal particularidad se notifique a GECLID-SEI antes del envío de muestras.

GECLID-SEI asegurará que todas las muestras de sueros que se distribuyan a los participantes para la detección de anticuerpos anti HLA, serán testadas a priori por CDC por el laboratorio de referencia multicéntrico, integrado por los correspondientes al Comité Asesor de Histocompatibilidad e Inmunogenética, todos ellos acreditados por EFI tal como se recoge en el punto 19.2 de los estándares EFI(3)

Informe de Resultados:

El informe se realizará exclusivamente mediante el Formulario de Resultados indicando presencia/ ausencia de anticuerpos anti HLA de clase I y II en el apartado correspondiente a la técnica o técnicas utilizadas por el laboratorio. Las interpretaciones no son obligatorias si bien el Comité Asesor recomienda que se completen y son evaluables. El informe será remitido a GECLID-SEI en un plazo de 6 semanas desde la recepción de las muestras.

Determinación del valor asignado:

La presencia/ausencia de anticuerpos en cada muestra se determinará por consenso de al menos el 75% de los laboratorios participantes para cada técnica. Aquellas muestras donde no se alcance consenso o con $n < 2$ para una técnica no serán evaluables.

Puntuaciones y evaluación:

Cada determinación coincidente con el consenso: correcto

- Cada determinación no coincidente con el consenso: no correcto
- Cada determinación no testado: no recibe calificación

Para obtener un informe anual satisfactorio es necesario informar resultados correctos en al menos 12 de las 14 muestras o en un 80% de los informes de todos los sueros, habiendo enviado resultados para un mínimo un mínimo de 12 de ellos.

Todos los laboratorios participantes podrán descargar un certificado de su competencia para la detección de anticuerpos anti HLA de clase I y clase II, en un plazo no superior a 6 semanas desde el final del ejercicio anual.

HLA-4B: Detección de acs. e Identificación de especificidades anti HLA de clase I y II

Propósito:

Las diferentes técnicas utilizadas en la investigación de la presencia y en la determinación de especificidades de anticuerpos frente a moléculas HLA tienen diferentes grados de sensibilidad y especificidad de manera que no son comparables entre sí. Estas técnicas pueden ser complementarias y de hecho, muchos laboratorios utilizan más de una en la investigación rutinaria de anticuerpos. La finalidad de esta intercomparación no es por tanto comparar técnicas, sino evaluar el desempeño de los participantes en la determinación de la presencia anticuerpos anti HLA de clase I y II así como de la especificidades de estos con una o varias técnicas de detección.

Distribución de muestras:

Se distribuirán un total de 14 muestras anuales en un envío único, con un volumen aproximado de 0,4mL. Dentro de este esquema se registrarán las especificidades de anticuerpos anti HLA tanto de clase I como de clase II. No obstante, existe la posibilidad de enviar exclusivamente resultados para anticuerpos anti clase I o anti clase II, siempre que tal particularidad se notifique a GECLID-SEI antes del primer envío de muestras.

Se distribuirán un total de 14 muestras anuales en un envío único, con un volumen aproximado de 0,4 mL. Dentro de este esquema se informarán los resultados de anticuerpos anti HLA clase I y anti clase II. No obstante, existe la posibilidad de enviar exclusivamente resultados para anticuerpos anti clase I o anti clase II, siempre que tal particularidad se notifique a GECLID-SEI antes del envío de muestras.

GECLID-SEI asegurará que todas las muestras de sueros que se distribuyan a los participantes para la detección de anticuerpos anti HLA, serán testadas a priori por CDC por el laboratorio de referencia multicéntrico,

integrado por los correspondientes al Comité Asesor de Histocompatibilidad e Inmunogenética, todos ellos acreditados por EFI tal como se recoge en el punto 19.2 de los estándares EFI(3)

Informe de Resultados:

El informe se realizará exclusivamente mediante el Formulario de Resultado y por tanto, se evaluará la presencia/ausencia de las distintas especificidades de anticuerpos frente a las moléculas HLA clase I y II incluidas en dicho Formulario en el apartado correspondiente a la técnica o técnicas utilizadas por el laboratorio. Las interpretaciones no son obligatorias si bien el Comité Asesor recomienda que se completen y son evaluables. El informe será remitido a GECLID-SEI en un plazo de 6 semanas desde la recepción de las muestras.

Determinación del valor asignado:

La presencia/ausencia en una muestra de anticuerpos para cada especificidad se determinará por consenso de al menos el 75% de los laboratorios participantes para cada técnica, siempre que $n > 2$, , mientras que la ausencia de una especificidad se asignará por consenso de al menos el 95% de los laboratorios participantes para cada técnica.

Puntuaciones:

Cada determinación coincidente con el consenso: correcto

- Cada determinación no coincidente con el consenso: no correcto
- Cada determinación no testado: no recibe calificación

Para obtener un informe anual satisfactorio será necesario haber testado un mínimo de 12 sueros e informar correctamente al menos el 75% de las especificidades que hayan alcanzado consenso.

Todos los laboratorios participantes podrán descargar un certificado de su competencia para el análisis de especificidades de anticuerpos anti HLA de clase I y II, en un plazo no superior a 6 semanas desde el final del ejercicio anual. En caso de que el informe anual sea no satisfactorio, el laboratorio deberá documentar las acciones correctivas que toma al respecto.

HLA-5: Tipaje de baja resolución por DNA HLA de clase I /clase II

Propósito:

Determinar el desempeño de los participantes en el tipaje de moléculas HLA de clase I(5A)/II (5B) utilizando métodos moleculares de baja resolución. La participación mínima obligatoria es el tipaje de los loci A y B en clase I (5A) y el locus DRB1* en clase II (5B). Este esquema no recogerá resultados de los loci DPA1 ni DPB1.

Distribución de muestras:

Se evaluarán 10 muestras anuales. Para ello, se distribuirán 10 muestras, en dos envíos con 5 muestras cada uno, con un volumen aproximado de 1mL. En caso de que fuera necesario descartar alguna de las muestras del primer envío, se añadirán al segundo. Si fuera necesario, se realizaría un tercero, asegurando así que haya al menos 10 muestras evaluables.

Informe de Resultados:

El informe se realizará exclusivamente mediante el Formulario de Resultados. El informe será remitido a GECLID-SEI en un plazo de 6 semanas desde la recepción de las muestras.

Determinación del valor asignado:

GECLID-SEI garantiza que todas las muestras que se distribuyan a los participantes serán tipadas por métodos moleculares por el laboratorio de referencia multicéntrico integrado por los correspondientes al Comité Asesor de Histocompatibilidad e Inmunogenética, todos ellos acreditados por EFI, con el fin de decidir el Resultado de referencia o valor asignado.

Puntuaciones y evaluación:

5A (clase I): Para que un resultado se considere correcto, la asignación completa de especificidades de clase I de todos los loci para los que participe el laboratorio tiene que ser correcta.

5B (clase II): Para que un resultado se considere correcto, la asignación completa de especificidades de clase II de todos los loci para los que participe el laboratorio tiene que ser correcta

- Cada determinación coincidente con el Resultado de referencia o valor asignado: correcto
- Cada determinación no coincidente con el Resultado de referencia o valor asignado: no correcto
- Cada determinación no testado: no recibe calificación

Para obtener un informe satisfactorio al final del programa anual será necesario informar correctamente al menos 9/10 fenotipos o el 90% de las muestras informadas.

Todos los laboratorios participantes podrán descargar un certificado de su competencia para el tipaje de baja resolución de HLA de clase I/II, en un plazo no superior 6 semanas desde el final del ejercicio anual.

HLA-6: Tipaje de alta resolución por DNA HLA de clase I/clase II

Propósito:

Determinar el desempeño de los participantes en el tipaje de moléculas HLA de clase I(6A)/II (6B) utilizando métodos moleculares de alta resolución. La participación mínima obligatoria es el tipaje de los loci A y B en clase I (6A) y el locus DRB1 en clase II (6B)

Distribución de muestras:

Se evaluarán 10 muestras anuales. Para ello, se distribuirán 10 muestras, en dos envíos con 5 muestras cada uno, con un volumen aproximado de 1mL. En caso de que fuera necesario descartar alguna de las muestras del primer envío, se añadirán al segundo. Si fuera necesario, se realizaría un tercero, asegurando así que haya al menos 10 muestras evaluables.

Informe de Resultados:

Dentro de este esquema se registrarán resultados de alta resolución de clase I (esquema 6A) y/o clase II (esquema 6B). Se recogerán datos de la plataforma de secuenciación, la versión del software, reactivos y accesorios empleados.

Dentro del esquema 6A se registrarán los resultados de tipaje de clase I de alta resolución (mínimo 2 campos) basándose como mínimo en el polimorfismo de los exones 2 y 3 y **excluyendo si los hubiera todos los alelos nulos**, independientemente de la localización de los polimorfismos que definen dichos alelos (3). Dentro del esquema 6B se registrarán los resultados de tipaje de clase II de alta resolución (mínimo 2 campos) basándose como mínimo en el polimorfismo del exon 2 (3). La nomenclatura P/G puede utilizarse siempre que el laboratorio lo considere conveniente para designar indeterminaciones. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que, si se indica el sufijo G, es preciso asegurarse de que no incluye alelos nulos o que se ha realizado la anotación correspondiente en el campo de observaciones de la muestra.

El informe se realizará exclusivamente mediante el Formulario de Resultados. El informe será remitido a GECLID-SEI en un plazo de 10 semanas desde la recepción de las muestras.

Determinación del valor asignado:

GECLID-SEI garantiza que todas las muestras que se distribuyan a los participantes serán tipadas por el laboratorio de referencia multicéntrico integrado por los correspondientes al Comité Asesor de Histocompatibilidad e Inmunogenética, todos ellos acreditados por EFI, con el fin de decidir el Resultado de referencia o valor asignado. Este valor será el de máxima resolución informado por alguno de los laboratorios del Comité Asesor

El Comité Asesor podrá solicitar evidencias adicionales a los participantes si lo estima oportuno y/o declarar un resultado inconcluyente.

Puntuaciones y evaluación:

6A: (clase I): Para que un resultado se considere correcto, la asignación completa de alelos de clase I de todos los loci para los que participe el laboratorio tiene que ser correcta. 6B: (clase II): Para que un resultado se considere correcto, la asignación completa de alelos de clase II de todos los loci para los que participe el laboratorio tiene que ser correcta.

- Cada denominación que incluya alelos nulos no incluidos en el Resultado de referencia o valor asignado: no correcto
- Cada determinación que omita alelos nulos incluidos en el Resultado de referencia o valor asignado: no correcto
- Cada denominación que omita alelos nulos incluidos en el Resultado de referencia o valor asignado: no correcto Cada determinación coincidente con el Resultado de referencia o valor asignado: correcto
- Cada determinación no coincidente con el Resultado de referencia o valor asignado: no correcto
- Cada determinación **que incluya alelos nulos** no incluidos en el Resultado de referencia o valor asignado: no correcto
- Cada determinación que omita alelos nulos incluidos en el Resultado de referencia o valor asignado: no correcto
- Cada determinación no testado: no recibe calificación

Sólo serán evaluados los alelos que aparezcan en el último *HLA Nomenclature Report* (2) y los reconocidos hasta un año antes del envío de resultados en bases de datos (5). En el caso de que apareciese alguna muestra que no cumpliera este requisito, será adecuadamente comentada y explicada en los informes globales de muestras.

Para obtener un informe satisfactorio al final del programa (anual) será necesario informar correctamente al menos 9/10 fenotipos o el 90% de las muestras del ejercicio.

Todos los laboratorios participantes podrán descargar un certificado de su competencia para el tipaje de alta resolución de HLA de clase I/II, en un plazo no superior a 6 semanas desde el final del ejercicio anual.

HLA-8: Quimerismo

Propósito:

Determinar el desempeño de los participantes en la detección de quimerismo hematopoyético mediante la determinación de la proporción de ADN/células en una mezcla de dos componentes (individuos).

Distribución de muestras:

Se evaluarán 10 mezclas anuales. Para ello, se distribuirán 10 mezclas, en dos envíos con 5 mezclas más los 10 componentes individuales (buffy coats anticoagulados con CPD y diluidos en RPMI) de las muestras de la ronda (simulación de estudios en 5 trasplantes) (Se intentará el envío de muestras de hermanos no gemelos univitelinos simulando trasplante familiar) , con un volumen aproximado de 1mL. En caso de que fuera necesario descartar alguna de las muestras del primer envío, se añadirán al segundo. Si fuera necesario, se realizaría un tercero, asegurando así que haya al menos 10 muestras evaluables.

Informe de Resultados:

Los participantes deberán caracterizar los componentes individuales de cada ronda con los marcadores utilizados en ensayos rutinarios, que les permitan distinguir entre ellos. Estos marcadores deberán emplearse para determinar los porcentajes de los componentes minoritarios en las 5 mezclas de la ronda.

Dentro de este esquema se registrarán los resultados de las 5 mezclas: presencia/ausencia de los componentes individuales y porcentaje del componente minoritario.

El informe se realizará exclusivamente mediante el Formulario de Resultados. El informe será remitido a GECLID-SEI en un plazo de 4 semanas desde la recepción de las muestras.

Determinación del valor asignado:

GECLID-SEI garantiza que todas las mezclas que se distribuyan a los participantes tendrán una formulación trazable a partir de los valores de recuento leucocitario proporcionados por el Centro que proporciona las muestras y de los volúmenes de cada espécimen empleados en la muestra (valores de formulación).

La presencia de componentes en la mezcla será determinado por consenso de al menos el 75% de los laboratorios participantes. Si no se alcanza este consenso, se recurrirá al valor de formulación o datos de PCR cuantitativa.

La cuantificación se representará por la media robusta de los resultados de los participantes y su incertidumbre correspondiente (ISO17043:2010). Si el número de participantes fuera $n < 10$ se podrá recurrir a los valores de formulación.

Puntuaciones y evaluación:

Se considerarán discrepancias:

- Informar la no posibilidad de discernir entre las parejas hipotéticas receptor/donante 2 puntos
- Informar un componente no presente en la mezcla (señalar una muestra pura como mezcla) 1 punto
- Dejar de informar un componente presente en la mezcla (señalar una mezcla como muestra pura), si la mezcla está por encima del límite de sensibilidad 1 punto

Para que un porcentaje se considere correcto, su valor z debe encontrarse en el intervalo de aceptación.

Puntuaciones:

- $z \in (-2, 2)$ resultado correcto (0 puntos)
- $z \in (-3, -2] \cup [2, 3)$ señal de advertencia: resultado cuestionable (1 punto)
- $z \in (-, -3] \cup [3,)$ señal de acción: resultado incorrecto (2 puntos)

La acumulación de 2 o más puntos en un parámetro en las dos rondas consecutivas evidencian la ocurrencia de anomalías que deberían ser investigadas y corregidas por el laboratorio (4).

Para obtener un informe satisfactorio al final del programa (anual) será necesario haber obtenido 2 o menos puntos en un mismo parámetro y haber enviado resultados para 9 de las muestras. Todos los laboratorios participantes podrán descargar un certificado de su desempeño un plazo no superior a 6 semanas desde el final del ejercicio anual.

HLA-9: Tipaje KIR

Propósito:

Determinar el desempeño de los participantes en el tipaje KIR (presencia/ausencia de los diferentes genes incluidos) utilizando métodos moleculares

Distribución de muestras:

Se evaluarán 10 muestras anuales. Para ello, se distribuirán 10 muestras, en dos envíos con 5 muestras cada uno, con un volumen aproximado de 1mL. En caso de que fuera necesario descartar alguna de las muestras del primer envío, se añadirán al segundo. Si fuera necesario, se realizaría un tercero, asegurando así que haya al menos 10 muestras evaluables.

Informe de Resultados:

Dentro de este esquema se registrarán resultados presencia/ausencia de los genes KIR 2DL1, 2DL2, 2DL3, 2DL4, 2DL5, 2DS1, 2DS2, 2DS3, 2DS4, 2DS5, 2DP1, 3DL1, 3DL2, 3DL3, 3DS1, 3DP1. Se recogerán datos de la plataforma tecnológica, la versión del software, reactivos y accesorios empleados.

El informe se realizará exclusivamente mediante el Formulario de Resultados. El informe será remitido a GECLID-SEI en un plazo de 6 semanas desde la recepción de las muestras.

Determinación del valor asignado:

GECLID-SEI garantiza que todas las muestras que se distribuyan a los participantes serán tipadas por el laboratorio de referencia multicéntrico integrado por los correspondientes al Comité Asesor de Histocompatibilidad e Inmunogenética, todos ellos acreditados por EFI, con el fin de decidir el Resultado de referencia o valor asignado.

Puntuaciones y evaluación:

- Cada determinación KIR coincidente con el consenso: correcto
- Cada determinación KIR no coincidente con el consenso: no correcto
- Cada determinación de KIR no testado: no recibe calificación

Para obtener un informe satisfactorio al final del programa anual será necesario informar correctamente 9 de las 10 muestras enviadas.

Todos los laboratorios participantes podrán descargar un certificado de su competencia para el tipaje KIR, en un plazo no superior a 6 semanas desde el final del ejercicio anual.

HLA-10 Anticuerpos antiplaquetarios inducidos por heparina

Propósito:

Evaluar el desempeño de los participantes en la determinación anticuerpos anti plaquetarios y relacionados con trombocitopenia inmune tipo II inducida por heparina.

Distribución de muestras:

Se distribuirán un total de 10 muestras anuales. Dentro de este esquema se informarán los resultados de anticuerpos anti H-PF4.

Informe de Resultados:

El informe se realizará exclusivamente mediante el Formulario de Resultados indicando presencia/ ausencia de anticuerpos anti H-PF4. El informe será remitido a GECLID-SEI en un plazo de 12 semanas desde la recepción de las muestras.

Determinación del valor asignado:

La presencia/ausencia de anticuerpos en cada muestra se determinará por consenso de al menos el 75% de los laboratorios participantes. Aquellas muestras donde no se alcance consenso o con $n < 2$ para una técnica no serán evaluables.

Puntuaciones y evaluación:

- Cada determinación coincidente con el consenso: correcto
- Cada determinación no coincidente con el consenso: no correcto
- Cada determinación no testado: no recibe calificación

Para obtener un informe satisfactorio al final del programa anual es necesario informar resultados correctos las dos muestras enviadas.

Todos los laboratorios participantes podrán descargar un certificado de su competencia para la detección de anticuerpos anti H-PF4, en un plazo no superior a 6 semanas desde el final del ejercicio anual.

HLA-11A Tipaje HPA

Propósito:

Determinar el desempeño de los participantes en el tipaje de antígenos plaquetarios utilizando métodos moleculares

Distribución de muestras:

Se evaluarán 10 muestras anuales. Para ello, se distribuirán 10 muestras, en dos envíos con 5 muestras cada uno. En caso de que fuera necesario descartar alguna de las muestras del primer envío, se añadirán al segundo. Si fuera necesario, se realizaría un tercero, asegurando así que haya al menos 10 muestras evaluables.

Informe de Resultados:

Dentro de este esquema se registrarán resultados para HPA-1, 2, 3, 5, 15. Se recogerán datos de la plataforma tecnológica, la versión del software, reactivos y accesorios empleados.

El informe se realizará exclusivamente mediante el Formulario de Resultados. El informe será remitido a GECLID-SEI en un plazo de 3 semanas desde la recepción de las muestras.

Determinación del valor asignado:

GECLID-SEI garantiza que todas las muestras que se distribuyan a los participantes serán tipadas por el laboratorio de referencia multicéntrico integrado por los correspondientes al Comité Asesor de Histocompatibilidad e Inmunogenética, todos ellos acreditados por EFL, con el fin de decidir el Resultado de referencia o valor asignado.

Puntuaciones y evaluación:

- Cada determinación coincidente con el consenso: correcto
- Cada determinación no coincidente con el consenso: no correcto
- Cada determinación no testado: no recibe calificación

Para obtener un informe satisfactorio al final del programa anual será necesario informar correctamente 3 de las 4 muestras enviadas.

Todos los laboratorios participantes podrán descargar un certificado de su competencia para el tipaje HPA/HNA, en un plazo no superior a 6 semanas desde el final del ejercicio anual.

Todos los laboratorios participantes podrán descargar un certificado de su competencia para el tipaje HPA/HNA, en un plazo no superior a 6 semanas desde el final del ejercicio anual.

HLA-11B Tipaje HNA

Propósito:

Determinar el desempeño de los participantes en el tipaje de antígenos de neutrófilos utilizando métodos moleculares

Distribución de muestras:

Se evaluarán 10 muestras anuales. Para ello, se distribuirán 10 muestras, en dos envíos con 5 muestras cada uno. En caso de que fuera necesario descartar alguna de las muestras del primer envío, se añadirán al segundo. Si fuera necesario, se realizaría un tercero, asegurando así que haya al menos 10 muestras evaluables.

Informe de Resultados:

Dentro de este esquema se registrarán resultados para HNA-1a, 1b y 1c. Se recogerán datos de la plataforma tecnológica, la versión del software, reactivos y accesorios empleados.

El informe se realizará exclusivamente mediante el Formulario de Resultados. El informe será remitido a GECLID-SEI en un plazo de 3 semanas desde la recepción de las muestras.

Determinación del valor asignado:

GECLID-SEI garantiza que todas las muestras que se distribuyan a los participantes serán tipadas por el laboratorio de referencia multicéntrico integrado por los correspondientes al Comité Asesor de Histocompatibilidad e Inmunogenética, todos ellos acreditados por EFL, con el fin de decidir el Resultado de referencia o valor asignado.

Puntuaciones y evaluación:

- Cada determinación coincidente con el consenso: correcto

- Cada determinación no coincidente con el consenso: no correcto
- Cada determinación no testado: no recibe calificación

Para obtener un informe satisfactorio al final del programa anual será necesario informar correctamente 3 de las 4 muestras enviadas.

Todos los laboratorios participantes podrán descargar un certificado de su competencia para el tipaje HNA, en un plazo no superior a 6 semanas desde el final del ejercicio anual.

HLA-12: Detección de anticuerpos e Identificación de especificidades anti HPA

Propósito:

Evaluar el desempeño de los participantes en la determinación de la presencia anticuerpos anti HPA así como de la especificidades de los mismos.

Distribución de muestras:

Se distribuirán un total de 5 muestras anuales en un envío único, con un volumen aproximado de 0,4mL. Dentro de este esquema se registrarán las especificidades de anticuerpos anti HPA detectadas mediante ELISA y/o técnicas tipo Luminex.

Se distribuirán un total de x muestras anuales en un envío único, con un volumen aproximado de 0,4 mL.

Informe de Resultados:

El informe se realizará exclusivamente mediante el Formulario de Resultado y por tanto, se evaluará la presencia/ausencia de las distintas especificidades de anticuerpos frente a los antígenos HPA incluidos en dicho Formulario en el apartado correspondiente a la técnica o técnicas utilizadas por el laboratorio. El informe será remitido a GECLID-SEI en un plazo de 6 semanas desde la recepción de las muestras.

Determinación del valor asignado:

La presencia/ausencia en una muestra de anticuerpos para cada especificidad se determinará por consenso de al menos el 75% de los laboratorios participantes para cada técnica, siempre que $n > 2$, mientras que la ausencia de una especificidad se asignará por consenso de al menos el 95% de los laboratorios participantes para cada técnica.

Puntuaciones:

- Cada determinación coincidente con el consenso: correcto
- Cada determinación no coincidente con el consenso: no correcto
- Cada determinación no testado: no recibe calificación

Para obtener un informe anual satisfactorio será necesario haber testado el 90% de los sueros enviados e informar correctamente al menos el 75% de las especificidades que hayan alcanzado consenso.

Todos los laboratorios participantes podrán descargar un certificado de su competencia para el análisis anticuerpos anti HPA, en un plazo no superior a 6 semanas desde el final del ejercicio anual.

HLA-14A Anticuerpos anti GSTT1

Propósito:

Evaluar el desempeño de los participantes en la determinación anticuerpos anti GSTT1

Distribución de muestras:

Se distribuirán un total de 4 muestras anuales con al menos 250uL de suero. Dentro de este esquema se informarán los resultados de anticuerpos anti GSTT1.

Informe de Resultados:

El informe se realizará exclusivamente mediante el Formulario de Resultados indicando presencia/ ausencia de anticuerpos anti GSTT1 y opcionalmente, la absorbancia obtenida. El informe será remitido a GECLID-SEI en un plazo de 6 semanas desde la recepción de las muestras.

Determinación del valor asignado:

La presencia/ausencia de anticuerpos en cada muestra se determinará por consenso de al menos el 75% de los laboratorios participantes. Aquellas muestras donde no se alcance consenso o con $n < 2$ para una técnica no serán evaluables.

Puntuaciones y evaluación:

Cada determinación coincidente con el consenso: correcto

- Cada determinación no coincidente con el consenso: no correcto
- Cada determinación no testado: no recibe calificación

Para obtener un informe satisfactorio al final del programa anual es necesario informar resultados correctos para 3 de las 4 muestras enviadas.

Todos los laboratorios participantes podrán descargar un certificado de su competencia para la detección de anticuerpos anti GSTT1, en un plazo no superior a 6 semanas desde el final del ejercicio anual.

HLA-14B Tipaje GSTT1

Propósito:

Determinar el desempeño de los participantes en la discriminación entre alelos GSTT1 nulos y expresados utilizando métodos moleculares

Distribución de muestras:

Se evaluarán 4 muestras anuales, en dos envíos con 2 muestras cada uno con al menos 1mL de sangre completa.

Informe de Resultados:

Dentro de este esquema se registrarán resultados para el alelo GSTT1. Se recogerán datos de la plataforma tecnológica, la versión del software, reactivos y accesorios empleados.

El informe se realizará exclusivamente mediante el Formulario de Resultados. El informe será remitido a GECLID-SEI en un plazo de 6 semanas desde la recepción de las muestras.

Determinación del valor asignado:

GECLID-SEI garantiza que todas las muestras que se distribuyan a los participantes serán tipadas por el laboratorio de referencia multicéntrico integrado por los correspondientes al Comité Asesor de Histocompatibilidad e Inmunogenética, todos ellos acreditados por EFL, con el fin de decidir el Resultado de referencia o valor asignado.

Puntuaciones y evaluación:

- Cada determinación coincidente con el consenso: correcto
- Cada determinación no coincidente con el consenso: no correcto
- Cada determinación no testado: no recibe calificación

Para obtener un informe satisfactorio al final del programa anual será necesario informar correctamente 3 de las 4 muestras enviadas.

Todos los laboratorios participantes podrán descargar un certificado de su competencia para el tipaje GSTT1, en un plazo no superior a 6 semanas desde el final del ejercicio anual.

ANEXO: NORMAS GECLID/EFI PARA la introducción de ASIGNACIONES HLA por DNA (baja resolución):

Desde GECLID-SEI, y con el conocimiento y apoyo del Comité Asesor para Histocompatibilidad e Inmunogenética hemos propuesto unas cuestiones muy básicas para la introducción de tipajes HLA de baja resolución. Los motivos son fundamentalmente dos:

- *Cumplir la normativa en vigor de la EFI*
- *Hacer más sencilla la entrada de resultados y el ulterior análisis de los mismos, minimizando errores.*

CUESTIONES PRÁCTICAS/TÉCNICAS:

- 1. No indicar NUNCA las siglas HLA, el nombre del locus HLA, ni el asterisco * dentro del campo de resultados (está ya incluido en la pregunta), por lo que se debe escribir directamente el número de alelo asignado.*
- 2. Se han desdoblado las respuestas (alelo 1 y alelo2): indicar por favor siempre en el campo alelo 1 aquel de más baja numeración.*

NOMENCLATURA OFICIAL:

- 1 En este nivel (DNA baja resolución) se piden exclusivamente baja resolución de los alelos. Los laboratorios que introduzcan 4 o más dígitos no serán penalizados si los 2 primeros son coincidentes con el tipaje final asignado.*
- 2 En particular para los loci DRB3, DRB4 y DRB5 se puede especificar el alelo a nivel de baja resolución, pero se considera también aceptable (para este nivel de resolución exclusivamente) indicar la presencia de algún alelo de estos loci mediante el símbolo + .*
- 3 En el caso de resultados aparentemente homocigotos la notación debe ser p. ej.: B*07,- o B*07, none pero NUNCA B*07,07.*
- 4 Nunca se admitirán designaciones serológicas (como DR-52) como válidas en tipajes de DNA. Por este mismo motivo, no se registrarán datos relativos a Bw4/Bw6.*

NORMAS GECLID/EFI PARA la introducción de ASIGNACIONES HLA por DNA (alta resolución):

Desde GECLID-SEI, y con el conocimiento y revisión del Comité Asesor para Histocompatibilidad e Inmunogenética ser revisan de modo periódico el sistema de introducción de los tipajes HLA de alta resolución para:

- *Cumplir la normativa en vigor de la EFI*
- *Hacer más sencilla la entrada de resultados y análisis de los mismos, minimizando errores.*

CUESTIONES PRÁCTICAS:

- 1. No indicar NUNCA las siglas HLA, el nombre del locus HLA, ni el asterisco "*" dentro del campo de resultados, se debe escribir directamente el número de alelo asignado.*
- 2. Indicar siempre en el campo <alelo 1> el de numeración más baja.*

NOMENCLATURA OFICIAL:

- 1. En este nivel de resolución los estándares EFI piden 2 campos excluyendo los nulos. Los laboratorios que introduzcan más dígitos asumirán el riesgo de penalización si su tipaje no coincide con el tipaje asignado.*

2. La notación a utilizar debe ser la oficial del WHO en su versión más actual, sirviéndose SIEMPRE de los dos puntos ":" como separadores, por ejemplo 01:02 y no 0102 (nomenclatura pre-2010).
3. En el caso de resultados aparentemente homocigotos la notación debe ser p. ej: 29:02,- o 29:02,"none" pero NUNCA 29:02,29:02 (salvo que se tenga evidencias por segregación familiar de que se trata de dos alelos diferentes).
4. Se deben utilizar los grupos de ambigüedades P y G sólo cuando proceda. Si una ambigüedad G contiene alelos nulos, informarla se considerará error salvo que se indique que se hayan excluido los nulos en el campo de observaciones de la muestra.
5. Nunca se admitirán designaciones serológicas (ej.: DR-52).

ERRORES MÁS HABITUALES:

- Utilizar ambigüedades P inconsistentes (que no existen).
- Utilizar el sufijo G con nomenclaturas de alelos de 2 campos
- Indicar tipajes con sufijo G que incluyen alelos nulos que no se han excluido específicamente.
- En resultados aparentemente homocigotos escribir 2 veces el nombre del alelo (se debe escribir sólo en el alelo1, y codificar el alelo 2 como "none" o "-")

CRITERIOS/REQUISITOS DE PARTICIPACIÓN

Se admitirá una única inscripción por laboratorio en el Subprograma a efectos de calcular el consenso de participantes. Para todos los esquemas, los laboratorios participantes en este subprograma deben incluir sus propios controles positivo y negativo.

Para los esquemas 1A y 1B Se contemplarán exclusivamente los loci testados por métodos serológicos. Podrán emplearse técnicas complementarias para confirmar la asignación de especificidades.

Para el tipaje DNA de alta resolución, se asignarán los alelos de HLA de clase I basándose en los exones 2 y 3 como mínimo y los de clase II basándose en el exón 2. Se deben definir las ambigüedades que comprende un alelo *null*, en el lugar que sea que se encuentren los polimorfismos (3).

Para todos los esquemas los participantes deberán anotar el método empleado en el lugar consignado a tal efecto en el formulario de envío de resultados.

LABORATORIO RESPONSABLE DE LAS DISTRIBUCIONES

El laboratorio que se hará responsable de la manipulación y distribución de muestras y de evaluar los resultados de las pruebas es el Laboratorio de Inmunología del Centro de Hemoterapia y Hemodonación de Castilla y León de Valladolid

MUESTRAS, ESPECÍMENES O ÍTEMS

Naturaleza de las muestras

Las muestras de este subprograma son siempre de origen humano, con la mínima manipulación, de manera que sean lo más similares posible a las de la práctica habitual de los laboratorios de diagnóstico. Los métodos empleados en la preparación y distribución de muestras han demostrado (Talleres SEI) ser adecuados para garantizar su homogeneidad y estabilidad en las condiciones que se detallan.

Las muestras provienen en su mayoría de sangre periférica (*buffy coats*). Se distribuirán en alícuotas de aproximadamente 1 mL en la mayoría de los casos, este volumen se incrementará para los esquemas que requieren separación de linfocitos. Toda la manipulación se llevará a cabo en condiciones de esterilidad. Las muestras serán mantenidas y enviadas a temperatura ambiente en un plazo máximo de **36h** desde su extracción. Deben ser empleadas en un máximo de 24h desde su recepción, después de este tiempo no se puede garantizar su viabilidad ni estabilidad.

Todas las muestras, del tipo que sean, habrán sido testadas para agentes infecciosos antes de su entrega, asegurando que en caso de se encuentren serologías positivas, los laboratorios estén informados a su recogida. Si se dieran estas circunstancias, GECLID-SEI retirará la muestra del ejercicio de intercomparación, reemplazándola por otra. En general, aun cuando todas las serologías del panel propuesto fuesen negativas, deberían manejarse todas las muestras, como en la práctica clínica, como potencialmente infecciosas.

Tipos de muestras

MUESTRAS DE DONANTES DE SANGRE: previsiblemente sanos, pero que son igualmente analizadas para excluir patologías infecciosas.

MUESTRAS DE PACIENTES: mediante los centros colaboradores de GECLID-SEI se captarán sangre periférica o de cordón y médula ósea en su caso de pacientes para diferentes esquemas. Las muestras distribuidas en los subprogramas y esquemas GECLID se obtendrán de las diferentes Bancos de Sangre y Servicios Clínicos del territorio español de acuerdo a la legislación vigente en la materia.

MUESTRAS DE DISEÑO: para determinados esquemas se prepararán muestras con manipulaciones específicas que permitan emular patologías.

Obtención

La mayoría de las muestras incluidas en este esquema proceden de Biobancos, si bien los laboratorios participantes en los subprogramas y esquemas ofertados, podrán negociar con GECLID-SEI la inclusión de muestras locales (sueros, sangres) de sus pacientes en cualquiera de los esquemas de calidad (máxime cuando los diagnósticos sean infrecuentes o relevantes) de acuerdo con el Manual de Colaboradores. Para esta inclusión deberán aportar todos los datos que permitan la trazabilidad de las muestras, su seguridad (serologías negativas para los agentes infecciosos aplicables) y cumplimiento de la normativa aplicable así como la información clínica asociada.

La obtención de muestras se realizará según el protocolo de los centros Colaboradores/Biobancos tras el correspondiente consentimiento informado del donante.

Procesamiento

Las muestras serán procesadas en las condiciones ambientales apropiadas para preservar su integridad (manipulación a temperatura ambiente y en campana de flujo laminar cuando sea preciso).

Transporte

Todas las muestras serán distribuidas en embalajes adecuados siguiendo la normativa IATA y acompañadas de su documentación que incluirá como mínimo: el número de muestra y lote, aditivos y/o conservantes que contiene y las analíticas que se espera que se realicen en cada muestra por los laboratorios participantes.

Todas las muestras incluidas en los esquemas de calidad tendrán un sistema de trazabilidad documentado: origen, serología, personal que la ha manipulado y envasado, fecha de extracción y de envío, etc.

GECLID-SEI conservará durante al menos un año una parte de cada lote de muestras, de modo que los laboratorios que lo soliciten puedan adquirir volúmenes extras (pagando los costes correspondientes) y se puedan reanalizar, si fuere necesario.

MÉTODOS ESTADÍSTICOS Y SISTEMAS DE PUNTUACIÓN

Se detallan en cada uno de los esquemas, recordamos a los participantes que la acumulación de 2 o más puntos en un mismo parámetro en dos rondas consecutivas evidencian la ocurrencia de anomalías que deberían ser investigadas y corregidas por el laboratorio (2). Los criterios para las puntuaciones de los esquemas serán revisados anualmente por GECLID-SEI en base a la normativa de calidad para proveedores de intercomparación en vigor (4) y a las recomendaciones de ENAC.

INFORMES

Todos los informes de este Subprograma se emitirán en inglés para facilitar su revisión en auditorías EFI. Los informes serán exhaustivos y claros, incluyendo tanto datos numéricos como gráficos que faciliten la comprensión e interpretación de los resultados. En el momento en que existan, se incluirán asimismo datos de

seguimiento. Se evitará el uso de puntuaciones combinadas para varios esquemas (4) . Para cada esquema se emite:

- Informe (global) de muestras: recogerá un estudio descriptivo de todos los datos recogidos y las conclusiones obtenidas. Se incluirán, siempre que haya al menos 10 participantes, análisis estratificados por métodos.
- Resultados de la participación individual del laboratorio y puntuación obtenida en cada uno de los esquemas
- Informe LEM (Laboratorios, equipos y métodos): recogiendo las frecuencias de participación por regiones, métodos y reactivos empleados

Cada laboratorio participante será identificado en estos informes exclusivamente mediante su código único. En ningún caso se ordenarán los laboratorios por su desempeño. Estos informes serán emitidos/publicados por GECLID-SEI en un plazo previsible de 2 semanas desde el cierre de cada ronda de intercomparación para cada esquema. Los laboratorios que hayan enviado por alguna razón sus resultados fuera de plazo recibirán una anotación al respecto en la portada de su informe individual.

Los laboratorios podrán descargar sus informes de cada ronda, así como el resumen de evaluación anual en formato electrónico (pdf) en <https://geclid.splink.es>. Este certificado será emitido por GECLID-SEI en un plazo no superior 6 semanas desde el final del ejercicio anual. Los laboratorios que así lo soliciten podrán obtener un certificado donde se detallen los esquemas en que participa antes de final del ejercicio anual, pero en este caso, no contendrá datos de puntuación ni evaluación.

Al final del año del programa de intercomparación se podrá descargar un certificado-resumen de su desempeño por esquema en el que constarán, su puntuación y evaluación anual, así como el periodo de tiempo cubierto por el Programa. Este certificado será emitido por GECLID-SEI en un plazo no superior 6 semanas desde el final del ejercicio anual. Los laboratorios que así lo soliciten podrán obtener un certificado donde se detallen los esquemas en que participa antes de final del ejercicio anual, pero en este caso, no contendrá datos de puntuación ni evaluación. GECLID se compromete a mantener los datos originales e informes por un periodo de 3 años tras la finalización del ejercicio.

Los laboratorios participantes serán responsables de que su documentación relativa al programa de intercomparaciones esté y se mantenga a disposición de auditores o inspectores de los organismos acreditadores (ENAC, etc...) que les sean de aplicación.

POLÍTICA DE RECLAMACIONES

Para formalizar una reclamación es preciso rellenar el documento <Modelo de reclamación> disponible en la web de todos los esquemas y hacerlo llegar a los Responsables del Programa por correo electrónico, mediante la herramienta web <Reclamaciones: Herramienta de envío> que se encuentra en todos los esquemas.

- Sus reclamaciones serán atendidas:
 - En primera instancia por los Inmunólogos Responsables del Programa GECLID-SEI
 - En segunda instancia por el Comité Asesor del Subprograma de Inmunidad Celular
 - En tercera y última instancia por la Comisión de Calidad para la Inmunología Diagnóstica (CCID) de la Sociedad Española de Inmunología
- Se le mantendrá informado del proceso de su reclamación, y si el resultado de su reclamación conlleva un cambio en la evaluación de su laboratorio, se procederá a realizar un nuevo informe

Recuerde que el plazo para reclamaciones a cada ronda de envíos se cerrará siempre 1 mes después de la fecha de cierre de resultados.

Si la reclamación está relacionada con errores de transcripción de sus resultados, deberá aportar siempre los registros originales del análisis. Este tipo de reclamaciones desde Mayo de 2019 son remitidas a los correspondientes Comités Asesores.

BASE DE LA EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO ANUAL

La evaluación anual será de tipo objetivo, es decir, se realizará frente a objetivos de calidad externos, definidos en este caso por la EFI (3, 4). Para obtener un informe satisfactorio al final del programa (anual) en cada esquema, será necesario obtener informar correctamente al menos:

- el 90% de las muestras para los esquemas de tipaje de HLA (1A, 1B, 5A, 5B, 6A, 6B)
- todas las muestras para los esquemas 2A, 2B, 2C
- el 85% de las combinaciones para las pruebas cruzadas (3A, 3B)
- El 75% de las especificidades para anticuerpos anti HLA (4B)
- El 80% de las detecciones de anticuerpos anti HLA (4A)

Todos los laboratorios participantes podrán descargar un certificado con la evaluación de su desempeño para cada uno de los esquemas en los que haya participado, en un plazo no superior 6 semanas desde el final del ejercicio anual. El laboratorio podrá reclamar acerca de su evaluación en un plazo de 20 días hábiles desde la recepción de la notificación de la misma.

Los criterios para las evaluaciones de los laboratorios serán revisados anualmente por GECLID-SEI en base a las Reglas para Proveedores de Garantía Externa de Calidad de EFI (1), así como a la normativa de calidad para proveedores de intercomparación en vigor (4).

REFERENCIAS

1. Standards for PROVIDERS of External Proficiency Testing (EPT) schemes – Version 7, 2017
2. Nomenclature for Factors of the HLA System, 2010. GE Marsh, ED Albert, WF Bodmer, RE Bontrop, B Dupont, HA Erlich, M Fernández-Vina, DE Geraghty, R Holdsworth, CK Hurley, M Lau, KW Lee, B Mach, WR Mayr, M Maier, CR Müller, P Parham, EW Petersdorf, T Sasazuki, JL Strominger, A Svejgaard, PI Terasaki, JM Tiercy, J Trowsdale. Tissue Antigens 2010 75:291-455
3. Standards for Histocompatibility testing v 7.0, 2018 European Federation for Immunogenetics.
4. ISO-IEC 17043:2010 Conformity assessment_General requirements for Proficiency Testing. International Organization for Standardization, 2010
5. <http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/> (Release 3.38.0, 2019-10-17)