

## Verifica esterna di qualità in autoimmunità. Prime esperienze dei laboratori clinici italiani con i programmi UK-NEQAS

N. Bizzaro<sup>a</sup>, P.A.E. White<sup>b</sup>, R. Tozzoli<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale Civile, S. Donà di Piave (VE)

<sup>b</sup>UK-NEQAS, Sheffield, UK

<sup>c</sup>Laboratorio Analisi Chimico-cliniche e Microbiologia, Ospedale Civile, Latisana (UD)

**Premesse.** Lo studio aveva lo scopo di valutare il comportamento dei Laboratori italiani nel campo della diagnostica autoimmune, ad un anno dall'introduzione in Italia di un programma di VEQ distribuito dall'UK-NEQAS.

**Metodi.** Sono stati analizzati i dati prodotti da 494 Laboratori (447 stranieri e 47 italiani) partecipanti ai programmi relativi ai dosaggi autoanticorpali dell'anno 2000. L'analisi statistica è stata condotta valutando la percentuale di risposte corrette, sia in totale che suddivise per i laboratori italiani e non italiani. Nel caso di utilizzo di più metodi, sono state valutate le performances di ciascun metodo, con particolare attenzione alle differenze tra metodi commerciali e metodi fatti in casa.

**Risultati.** La affidabilità delle determinazioni anticorpali è risultata soddisfacente per quasi tutti gli autoanticorpi esaminati, con percentuali di risposte corrette superiori al 90% per 15 anticorpi su 17, con la sola eccezione degli anti-ENA e degli anti- $\beta_2$ GPI. Complessivamente, i laboratori italiani hanno registrato un comportamento in linea con quello generale (95% di risultati corretti per entrambi).

**Conclusioni.** I risultati di questa prima esperienza di VEQ nazionale hanno evidenziato il buon livello di qualità raggiunto dalla maggior parte dei laboratori clinici italiani nella diagnostica delle malattie autoimmuni, ma anche che esistono dosaggi autoanticorpali particolarmente complessi e problematici, la cui affidabilità non è ancora ottimale. Ciò conferma la necessità e l'importanza che ogni laboratorio di autoimmunità partecipi a programmi di VEQ, per una puntuale e continua verifica della qualità dei dati prodotti.

### Introduzione

Negli ultimi dieci anni nel campo della diagnostica autoimmunitaria si è assistito ad una enorme proliferazione di metodi commerciali che hanno in gran parte sostituito i metodi *home made* impiegati per circa 30 anni nei laboratori clinici; attualmente vi sono nel mondo più di 60 produttori di reagenti per la rilevazione di questi autoanticorpi.

Parallelamente la richiesta di test autoanticorpali si è notevolmente espansa in Europa, nel Nord America e in Giappone, per la sempre crescente rilevanza clinica della dimostrazione a scopo diagnostico e prognostico della presenza di autoanticorpi nei pazienti affetti da malattie autoimmuni. Conseguentemente, il dosaggio di questi autoanticorpi si è progressivamente diffuso dai laboratori specializzati di immunologia clinica ai laboratori generali di patologia clinica.

Sebbene sia ampiamente diffuso il convincimento che le nuove tecnologie commerciali presentino caratteristiche di inaffidabilità (in particolare per quanto attiene alla specificità) rispetto alle vecchie tecnologie *home made*<sup>1</sup>, sorprendentemente è poco conosciuta l'ampiezza e la consistenza della variabilità analitica interlaboratorio dei test autoanticorpali

e sono molto scarse le esperienze pilota di verifica esterna di qualità (VEQ).

Studi multicentrici, condotti a livello europeo in laboratori di immunologia clinica<sup>2,3</sup> e a livello nazionale dal nostro gruppo sia in laboratori generali<sup>4,6</sup> che universitari<sup>7,8</sup>, hanno confermato che la variabilità analitica intralaboratorio nei dosaggi autoanticorpali è molto ampia, ma diversa per ciascun tipo di autoanticorpo.

L'United Kingdom – National External Quality Assessment Scheme (UK-NEQAS) è un programma di VEQ governativo, senza scopo di lucro e accreditato dal CPA, che opera da molti anni prevalentemente nel Regno Unito ma a cui partecipano numerosi laboratori di tutto il mondo. Alcune interessanti esperienze relative ad altri settori della diagnostica di laboratorio sono state pubblicate, ad esempio sui marcatori biochimici del metabolismo osseo<sup>9</sup>, sullo screening biochimico prenatale<sup>10</sup>, in microbiologia clinica<sup>11</sup>, in immunoistochimica<sup>12</sup>, in genetica molecolare<sup>13</sup>, nell'analisi del liquido seminale<sup>14</sup> e nel dosaggio dell'anticoagulante lupico<sup>15</sup>.

Il comitato direttivo di immunologia dell'UK-NEQAS opera con il sottocomitato per l'immunochimica, organizzando singoli schemi di VEQ anche nella diagnostica autoimmunitaria; il Gruppo di Studio in

Autoimmunologia della Società Italiana di Medicina di Laboratorio ha deciso di collaborare con questo organismo per organizzare un'esperienza di VEQ in Italia.

Il programma ha avuto inizio nei primi mesi dell'anno 2000 e questo lavoro presenta il riepilogo dei risultati forniti dai laboratori italiani aderenti, nel primo anno di esercizio.

## Materiali e Metodi

Sono stati valutati i risultati forniti da 494 laboratori distribuiti nei 5 continenti e appartenenti a 33 diverse nazioni (Tabella I), per un totale di 36.383 dati prodotti nei programmi dell'anno 2000. Per quanto riguarda la partecipazione italiana (47 laboratori), è significativo che i laboratori italiani rappresentino

**Tabella I.** Laboratori partecipanti ai programmi di autoimmunità per l'anno 2000, suddivisi per area geografica.

	n. lab	%	nazioni
Europa	452	91.5	21
Nord America	6	1.1	2
Sud America	1	0.2	1
Asia	31	6.3	7
Africa	2	0.4	1
Oceania	2	0.4	1
Totale	494	100	33

già dal loro primo anno di attività, il 10% dei laboratori, collocandosi come numerosità al secondo posto dietro alla Gran Bretagna che da sola fornisce il 58% dei partecipanti. La distribuzione regionale dei laboratori italiani vede rappresentate 9 regioni con un maggior numero di laboratori della Lombardia (13), e quindi a seguire, del Piemonte (10), Liguria (7), Lazio (5), Veneto (4), Friuli (3), Marche e Toscana (2) e Sardegna (1).

I programmi relativi alle determinazioni autoanticorpali distribuiti dall'UK-NEQAS sono 5, per un totale di 18 anticorpi indagati: il primo (8 distribuzioni) comprende il fattore reumatoide (FR), gli anticorpi anti-perossidasi tiroidea (TPO), gli anticorpi anti-nucleo (ANA), anti-dsDNA, anti-mitocondri (AMA), anti-muscolo liscio (ASMA) e anti-cellule parietali gastriche (APCA). Il secondo (4 distribuzioni), gli anti-ENA, il pattern istochimico degli ANA e gli anticorpi anti-cardiolipina (aCL) e anti- $\beta_2$  glicoproteina I ( $\beta_2$ GPI). Il terzo programma (6 distribuzioni) include gli anticorpi anti-citoplasma dei granulociti neutrofili (ANCA) e gli anti-membrana basale glomerulare (GBM). Il quarto (6 distribuzioni) comprende gli anticorpi diagnostici di malattia celiaca, anti-gliadina (AGA) IgA e IgG, anti-endomisio (EMA) e anti-transglutaminasi tissutale (tTG). Il quinto programma infine (6 distribuzioni), prevede la ricerca degli anticorpi anti-cute.

I risultati attesi su ciascun siero vengono stabiliti in base ai risultati forniti da 5 laboratori di riferimento, arbitrariamente scelti dal comitato scientifico

**Tabella II.** Numerosità dei dati ottenuti e percentuale di risposte corrette per ciascun anticorpo, fornite dai 494 laboratori partecipanti ai programmi per la diagnostica autoimmune, suddivisi per i laboratori italiani e stranieri.

Anticorpo	Totale dati	Lab stranieri		Lab italiani	
		n. dati	% risposte esatte	n. dati	% risposte esatte
FR	2525	2447	94	78	96
TPO	1613	1524	98	89	99
ANA	2478	2288	99	190	100
dsDNA	2111	1927	94	184	94
ENA	10860	9960	89	900	89
aCL	1548	1445	91	103	94
$\beta_2$ GPI	447	447	81	--	--
ANCA	3830	3517	96	213	98
GBM	1624	1574	98	50	88
ASMA	2133	1968	95	165	93
AMA	2193	2018	99	175	98
APCA	2102	1939	91	163	93
AGA IgA	733	687	97	46	93
AGA IgG	501	462	97	39	92
EMA	944	944	99	--	--
tTG	204	187	97	17	100
ASA	537	537	98	--	--
Totale	36.383	33.971		2.412	
Media			95		95

dell'UK-NEQAS tra quelli partecipanti. Il dato di positività o negatività viene assegnato se i risultati di almeno 4 di questi laboratori sono concordi, altrimenti il controllo relativo a quel siero viene invalidato.

Poiché l'UK-NEQAS fornisce per lo più solo i risultati qualitativi (positivo/negativo), l'analisi statistica è stata condotta valutando la percentuale di risposte corrette ed errate, sia in totale che suddivise per i laboratori italiani e non italiani.

Dove sono stati utilizzati più metodi e ove tali dati erano disponibili, sono state valutate le performances di ciascun metodo; un'ulteriore elaborazione ha preso in considerazione le differenze tra i metodi commerciali e i metodi fatti in casa.

E' stato anche calcolato l'indice di errore (OMIS, overall misclassification index score) che assegna un punto negativo ad ogni risposta errata, ha andamento cumulativo, ed è calcolato sui risultati di tutte le distribuzioni dell'ultimo anno (all'ingresso dei dati della nuova distribuzione, escono quelli della corrispondente distribuzione dell'anno precedente). Più alto è il punteggio e peggiore è la performance del laboratorio. Tale elaborazione è stata condotta in maniera separata per i laboratori italiani e per i laboratori non italiani.

## Risultati e discussione

### Dati generali

Un quadro riassuntivo del numero dei dati e dei risultati ottenuti dai laboratori partecipanti per ciascun anticorpo, è

riportato in tabella II, in cui tali dati sono stati scorporati anche per i soli laboratori italiani. Complessivamente, la percentuale di risultati corretti è stata del 95%, sia per i laboratori italiani che per quelli stranieri.

### Fattore Reumatoide

Alla determinazione del FR hanno partecipato 331 laboratori, di cui 11 italiani. La percentuale di risposte corrette è stata del 96% per i laboratori italiani e leggermente inferiore per gli altri laboratori (94%). Degli 8 sieri distribuiti, 5 erano positivi e 3 negativi. La maggior parte degli errori si è verificata con 1 dei sieri negativi dove si è registrato un 18% di falsi positivi per i laboratori italiani e del 29% per gli altri. In totale, i falsi positivi sono stati il 12% e i falsi negativi il 3%. La distribuzione percentuale dei metodi impiegati è indicata in tabella III.

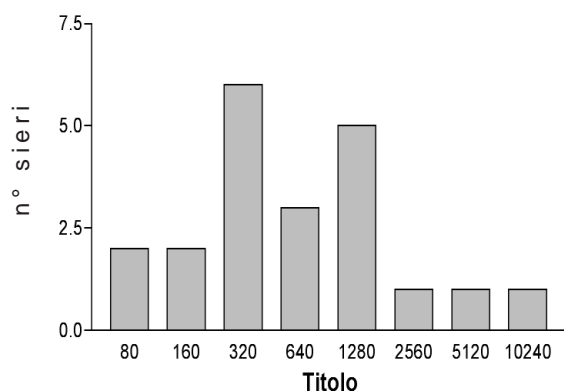
**Tabella III.** Distribuzione percentuale dei metodi utilizzati dai 331 laboratori partecipanti alla determinazione del fattore reumatoide.

Metodi	Lab stranieri %	Lab italiani %
Nefelometria	24	64
Agglutinazione gelatina	23	-
Agglutinazione lattice	19	27
Turbidimetria	16	9
EIA	10	-
Emoagglutinazione	8	-

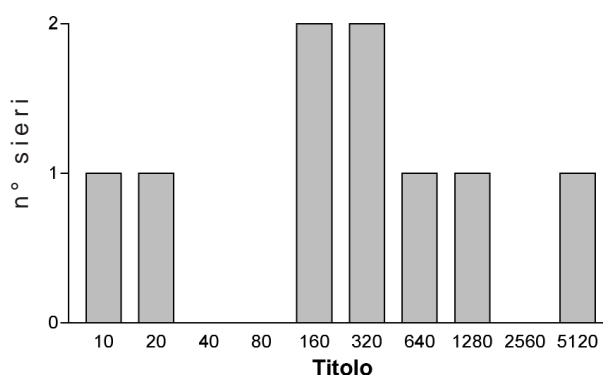
**Tabella IV.** Anticorpi anti-nucleo: confronto tra i laboratori italiani e i laboratori stranieri in rapporto al metodo impiegato

Metodo	%	Lab stranieri		Lab italiani	
		n. risultati	risposte esatte %	n. risultati	risposte esatte %
IFI HEp-2	61	1075	99.7	179	100
IFI rene ratto	24	501	99.6	6	100
IFI rene topo	6	133	100	-	-
IFI altre cell.	5	95	98.9	-	-
EIA	4	64	98.4	17	100

**Figura 1.** Dispersione del titolo anticorpale degli anticorpi anti-nucleo. I dati si riferiscono al siero n. 4 e ai soli laboratori italiani.



**Figura 2.** Dispersione del titolo anticorpale (metodo IFI su *Crithidia luciliae*) degli anticorpi anti-dsDNA. I dati si riferiscono al siero n. 1 e ai soli laboratori italiani.



### Anticorpi anti-nucleo (ANA)

27 laboratori italiani e 294 stranieri, hanno preso parte al programma relativo alla determinazione degli ANA. La percentuale di risposte corrette è stata in entrambi i casi molto elevata: 100% per i laboratori italiani e 99.3% per gli altri. Tutti i sieri erano positivi ad alto titolo.

Per quanto riguarda i metodi impiegati (tabella IV), il 96% ha utilizzato l'immunofluorescenza indiretta (IFI) e solo il 4% l'ELISA, senza sostanziali differenze nei risultati, mentre per quanto riguarda i substrati, il 60% ha utilizzato cellule HEP-2 e il resto tessuto renale murino o altre linee cellulari. Nonostante gli ottimi risultati ottenuti in termini di positività o negatività, la valutazione dei dati quantitativi per il metodo IFI, ha ancora una volta evidenziato che la dispersione del titolo è risultata sempre molto elevata, con una differenza sempre superiore alle 4 diluizioni o addirittura, nel caso del siero n.4, con un range che andava da 1/80 a 1/10230 (Figura 1).

### Anticorpi anti-dsDNA

Anche per gli anticorpi anti-dsDNA, così come per gli ANA, la percentuale di risposte corrette è stata più o meno analoga per i laboratori italiani in confronto con quelli stranieri (93.5% vs 93.8%). Per quanto riguarda i metodi impiegati (tabella V), la maggior parte dei laboratori ha eseguito la ricerca con metodi EIA (65%), seguita dall'IFI (28%) e dalla tecnica di Farr (7%). I migliori risultati sono stati ottenuti dai laboratori che hanno utilizzato la tecnica radioimmunologica di Farr (100% di risposte esatte) e l'IFI (99%), mentre il metodo ELISA ha prodotto qualche falso negativo in più (93% di risposte corrette). Anche per questi anticorpi, gli 8 sieri distribuiti nel corso dell'anno erano tutti positivi e, anche in questo caso, risultati qualitativi a parte, la deter-

minazione quantitativa ha evidenziato una notevole variabilità (figura 2), con titoli su uno stesso siero che vanno da 1/10 a 1/5120. Poiché una così elevata differenza nell'attribuzione del titolo appare poco credibile, è possibile che qualche laboratorio abbia indicato solamente il titolo iniziale di positività mentre altri abbiano titolato fino all'end-point; perciò il dato va preso con il beneficio del dubbio. Resta comunque che, anche escludendo i titoli più bassi, esiste una variabilità enorme per un test che si giova di calibratori tarati su di uno standard internazionale.

### Anticorpi anti-ENA

Gli anti-ENA, eseguiti da 220 laboratori di cui 22 italiani, hanno fornito i dati di accuratezza tra i più bassi tra tutti gli anticorpi esaminati, con un'identica percentuale di risposte corrette del 89% sia per i laboratori italiani che per gli altri.

Nel caso degli anti-ENA, trattandosi di un'analisi multiparametrica, è stato possibile distinguere per ciascuna specificità anticorpale i dati di sensibilità e specificità, con valori omogeneamente buoni per la specificità, ma mediocri per quanto riguarda la rilevazione di anti-RNP e anti-Sm (sensibilità del 77-79%) (tabella VI).

### Anticorpi anti-cardiolipina (aCL)

Il programma prevedeva la sola determinazione degli aCL di classe IgG. Sono state effettuate 4 distribuzioni, ciascuna comprendente due sieri, di solito a concentrazione anticorpale diversa. Nell'analisi statistica che è stata effettuata sui dati qualitativi (negativo e debole, moderato o forte positivo), i laboratori italiani hanno ottenuto il 94% di risposte corrette contro il 91% degli altri laboratori. Le maggiori difficoltà si sono registrate nei sieri a bassa concentrazione anticorpale, mentre nei campioni negativi o a

**Tabella V.** Anticorpi anti-dsDNA: confronto tra i laboratori italiani e i laboratori stranieri in rapporto al metodo impiegato.

Metodo	Lab stranieri		Lab italiani	
	n. risultati	risposte esatte %	n. risultati	risposte esatte %
IFI	403	99	102	94
EIA	1131	93	28	93
Farr	114	100	2	100

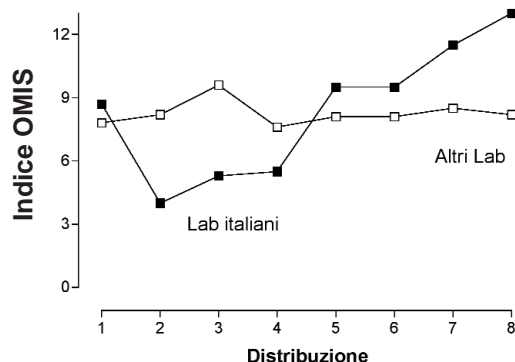
**Tabella VI.** Anticorpi anti-ENA: sensibilità e specificità per ciascun autoanticorpo con tutti i metodi impiegati.

	Sensibilità %	Specificità %
RNP	79	97
Sm	77	98
Ro/SSA	95	93
La/SSB	91	99
Jo-1	93	99.6
Scl70	--	99.6

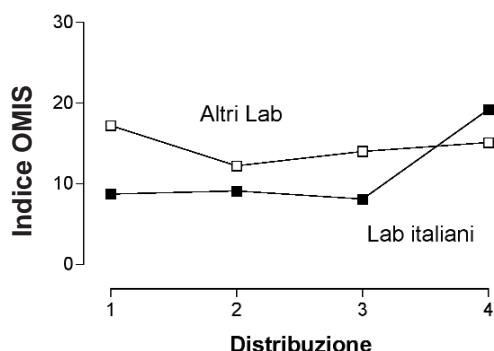
**Tabella VII.** Distribuzione percentuale dei metodi utilizzati dai 276 laboratori partecipanti per la determinazione degli anticorpi anti-TPO.

Metodi	Lab stranieri	Lab italiani
	%	%
EIA	62	88
Agglutinazione microsomiale in gelatina	29	12
Emoagglutinazione	8.7	-
IFI	0.3	-

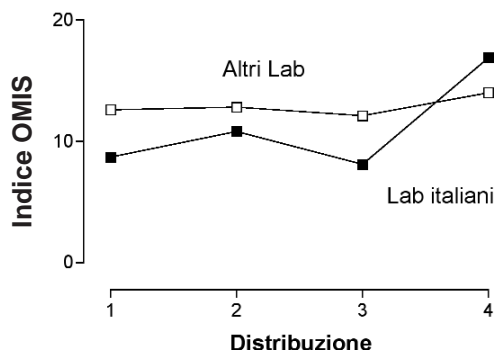
**Figura 3.** Indice cumulativo degli errori dei laboratori italiani e stranieri nella determinazione degli anticorpi relativi al programma di VEQ n. 1 (FR, anti-TPO, ANA, anti-DNA, AMA, ASMA e APCA).



**Figura 4.** Indice cumulativo degli errori dei laboratori italiani e stranieri nella determinazione del pattern istochimico degli ANA (programma n. 2).



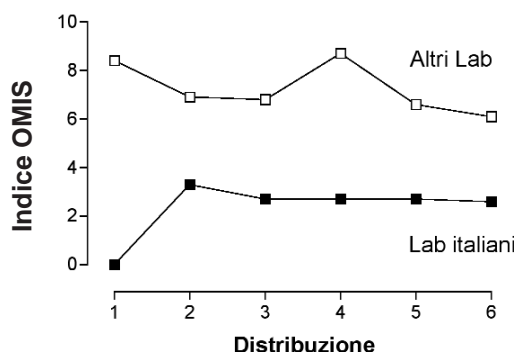
**Figura 5.** Indice cumulativo degli errori dei laboratori italiani e stranieri nella determinazione degli anticorpi anti-ENA (programma n. 2).



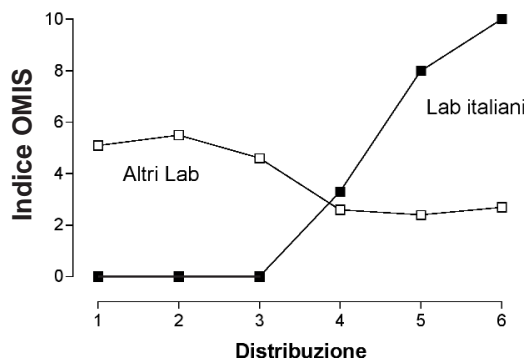
titolo moderato, la percentuale di risposte corrette è sempre stata attorno al 99-100%.

Anche in questo caso comunque, sui risultati positivi e considerati pertanto come risposte corrette, vi è stata una notevole dispersione dei dati, in alcuni casi, ad esempio, un terzo ciascuno dei partecipanti ha assegnato ad uno stesso siero valori di positività debole, moderata o elevata. Tale osservazione lascia abbastanza sconcertati se si considera che il trattamento terapeutico in un paziente con positività aCL è molto diverso a seconda della concentrazione anticorpale.

**Figura 6.** Indice cumulativo degli errori dei laboratori italiani e stranieri nella determinazione degli anticorpi relativi al programma di VEQ n. 3 (ANCA e anti-GBM).



**Figura 7.** Indice cumulativo degli errori dei laboratori italiani e stranieri nella determinazione degli anticorpi relativi al programma di VEQ sulla diagnostica della malattia celiaca (programma n. 4).



Un dato molto interessante è emerso dall'analisi differenziata dei risultati ottenuti con kit commerciali e con reagenti preparati in proprio. Dei 204 Laboratori partecipanti, 181 hanno utilizzato i kit prodotti da 23 diverse aziende, ottenendo una percentuale di risposte corrette superiore a quella ottenuta dai 23 Laboratori che hanno eseguito il dosaggio con reagenti propri (91% vs 87%). Ciò dimostra una volta di più che la qualità delle preparazioni commerciali non è inferiore, ma semmai analoga se non superiore a quella dei reagenti fatti in casa che ancora oggi vengono considerati come riferimento per questo tipo di diagnostica.

*Anticorpi anti-β<sub>2</sub>GPI*

Nessun laboratorio italiano ha partecipato a questo tipo di controllo in cui i 65 partecipanti hanno ottenuto solo l'81% di risposte esatte che costituisce il dato in assoluto peggiore tra tutti quelli esaminati. Anche per questo anticorpo i metodi commerciali (54 lab.) hanno registrato un risultato migliore di quelli preparati in casa (11 lab.), con una percentuale di risposte esatte del 82% contro 72%.

*Anticorpi anti-citoplasma dei neutrofili (ANCA)*

Il programma di VEQ per gli ANCA prevede 6 distribuzioni con 2 sieri ciascuna, da esaminare con

uno solo o entrambi i metodi che vengono utilizzati per la rilevazione di questi anticorpi, l'immunofluorescenza indiretta su cellule fissate in etanolo o il metodo ELISA per gli anticorpi anti-MPO e anti-PR3. Potendosi ottenere risultati differenti con l'uno o l'altro metodo, i risultati degli ANCA sono stati perciò divisi a seconda del metodo impiegato.

Dei 12 sieri distribuiti, 4 erano anti-MPO positivi con un pattern IFI perinucleare, 2 erano anti-PR3 positivi con un pattern citoplasmatico e 6 erano negativi.

210 laboratori (196 stranieri e 14 italiani) hanno eseguito la ricerca in IFI, con una percentuale di risposte corrette rispettivamente del 96 e del 98% e 198 laboratori (184 stranieri e 14 italiani) hanno utilizzato il metodo ELISA ottenendo esattamente lo stesso risultato complessivo di accuratezza, 96 e 98%.

#### *Anticorpi anti-tireoperossidasi (TPO)*

276 laboratori, di cui 27 italiani, hanno eseguito il controllo degli anticorpi anti-TPO, con una percentuale di risposte esatte del 97.6% per i laboratori stranieri e del 98.9% per quelli italiani. Due sieri sugli 8 distribuiti non hanno ottenuto il consenso di risultati da parte dei laboratori di riferimento e non sono stati perciò presi in considerazione nell'analisi statistica. La distribuzione dei metodi impiegati ha evidenziato come il 60% circa dei partecipanti (88% per gli italiani) abbia utilizzato il metodo ELISA e il 40% circa (12% per gli italiani) metodi di agglutinazione (tabella VII).

#### *Anticorpi anti-mitocondri*

Per quanto riguarda questi anticorpi, ricercati da tutti i laboratori con metodica IFI su tessuto renale murino, i risultati sono di scarso valore pratico, poiché tutti gli 8 sieri distribuiti sono risultati negativi. Comunque, i dati di specificità sono molto buoni, essendo del 99.5% per i laboratori non italiani e solo un po' inferiori (97.7%) per quelli italiani.

#### *Anticorpi anti-muscolo liscio (ASMA)*

Per gli ASMA, la percentuale di risposte esatte è stata del 92.7% per i laboratori italiani e leggermente superiore per gli altri (94.6%). Nei 5 sieri negativi si è registrato l'1% di falsi positivi e nei 3 sieri positivi, il 12% di falsi negativi.

#### *Anticorpi anti-cellule parietali gastriche (APCA)*

Come per gli AMA, anche per gli APCA tutti i sieri distribuiti nell'anno 2000 non contenevano anticorpi. I falsi positivi sono stati assai contenuti, attorno al 1%, in 6 sieri, ma molto più numerosi negli altri 2 (32-39%). Complessivamente la percentuale di risposte corrette è stata del 92.6% per i laboratori italiani e del 90.6% per gli altri.

#### *Anticorpi anti-gliadina (AGA) IgA e IgG*

Gli anticorpi anti-gliadina sono stati ricercati da 120 laboratori di cui 10 italiani con una percentuale di risposte esatte per gli AGA di classe IgA rispettivamente del 97% e del 93% e del 97 e 92% per gli

AGA IgG. E' interessante notare che i (pochi) laboratori italiani che eseguono la ricerca in IFI hanno ottenuto risultati peggiori di quelli che utilizzano il metodo immunoenzimatico per gli AGA IgA (88 vs 92%), ma migliori per gli AGA IgG (100 vs 81%). Esattamente il contrario si è verificato per i laboratori stranieri che hanno riportato risultati migliori con il metodo IFI per gli AGA IgA (100 vs 97%) e peggiori per gli AGA IgG (87 vs 98%).

Complessivamente questi dati non trovano una spiegazione plausibile e sono probabilmente legati più al caso che ad un'effettiva differenza nelle performances dei metodi.

#### *Anticorpi anti-transglutaminasi (tTG)*

40 Laboratori di cui 4 italiani hanno preso parte a questo programma che ha evidenziato ottimi risultati (100% di risposte esatte per i laboratori italiani e 96.8% per gli altri). Questo tipo di diagnostica è di recente introduzione e certamente vedrà aumentare nei prossimi anni il numero dei partecipanti. E' confortante comunque notare come il livello di affidabilità del dosaggio degli anti-tTG sia già molto elevato, nonostante siano stati utilizzati ben 14 reagenti commerciali diversi e 6 prodotti in casa.

#### *Anticorpi anti-endomisio (EMA)*

A questo esercizio hanno preso parte 167 Laboratori, ma nessun laboratorio italiano. La percentuale complessiva di risposte esatte è stata molto elevata (98.6%); la specificità nei 4 sieri negativi è risultata del 99.2% e la sensibilità nei 2 sieri positivi del 97.6%. Per questo tipo di determinazione sono stati utilizzati 18 diversi substrati commerciali e 20 fatti in casa.

#### *Anticorpi anti-membrana basale glomerulare (GBM)*

Gli anticorpi anti-membrana basale glomerulare sono stati ricercati da 147 laboratori (tra cui 7 italiani); la percentuale di risposte esatte è stata del 98% per i laboratori stranieri e del 88% per quelli italiani.

#### *Anticorpi anti-cute*

Nessun laboratorio italiano ha partecipato a questo programma che ha visto i 94 partecipanti stranieri ottenere una buona percentuale (97.6%) di risposte corrette. Dei 6 sieri inviati, 1 era negativo e gli altri 5 erano positivi per l'antigene desmogleina I, con pattern IFI di tipo sostanza intercellulare.

#### *Overall misclassification index score (OMIS)*

Il sistema adottato dall'UK-NEQAS per valutare in maniera progressiva e cumulativa il comportamento nel tempo dei singoli laboratori, ha evidenziato una migliore performance complessiva dei laboratori italiani nella prima parte dell'anno in tutti i programmi (Figure 3-7) con un lieve peggioramento negli ultimi esercizi, più accentuato per gli anticorpi diagnostici di malattia celiaca (Figura 7). Solo nella determinazione degli ANCA (Figura 6), il numero di errori dei laboratori italiani è stato inferiore a quello dei laboratori stranieri durante tutto l'anno.

## Conclusioni

L'elevata partecipazione dei laboratori clinici di tutto il mondo consente una valutazione attendibile dei risultati prodotti da questo programma di VEQ e rende molto significativo il confronto tra i laboratori italiani e quelli stranieri.

In sintesi, dai dati ottenuti si può constatare come la affidabilità delle determinazioni anticorpali sia piuttosto soddisfacente per quasi tutti gli autoanticorpi esaminati, con percentuali di risposte corrette superiori al 90% per 15 anticorpi su 17, con la sola eccezione degli anti-ENA e degli anti- $\beta_2$ GPI.

I laboratori italiani hanno registrato un comportamento in linea con quello generale (95% di risultati corretti per entrambi) e sarà interessante vedere se tale livello sarà mantenuto anche quando la partecipazione italiana sarà più consistente, potendosi facilmente dedurre che al primo anno di esperienza abbiano partecipato i laboratori più direttamente interessati e motivati a svolgere questo tipo di verifica. In questo senso, l'andamento dell'indice OMIS, che ha evidenziato una flessione per quasi tutti gli analiti verso la fine dell'anno, in coincidenza appunto con l'adesione di un maggior numero di laboratori, conferma la necessità di una continua verifica della qualità dei dati prodotti e l'importanza che ogni laboratorio di autoimmunità partecipi a programmi di VEQ.

Dai dati risulta inoltre che, in tutti i casi in cui è stato possibile effettuare il confronto tra metodi commerciali e metodi prodotti in proprio, questi ultimi abbiano dimostrato un'affidabilità diagnostica inferiore, contribuendo a dissolvere il mito che ciò che è prodotto industrialmente sia comunque di qualità inferiore e minando seriamente la credibilità dei metodi *home made* come metodi di riferimento per la diagnostica autoanticorpale.

## Bibliografia

1. Egner W. The use of laboratory tests in the diagnosis of SLE. *J Clin Pathol* 2000; 53:424-32.
2. van Venrooij WJ, Charles P, Maini TN. The Consensus Workshop for the detection of autoantibodies to intracellular antigens in rheumatic diseases. *J Immunol Methods* 1991; 140:181-9.
3. Charles PJ, van Venrooij WJ, Maini RN and the Consensus Finding Group for Autoantibodies. The Consensus Workshop for the detection of autoantibodies to intracellular antigens in rheumatic diseases: 1989-1992. *Clin Exp Rheumatol* 1992; 10:507-11.
4. Bizzaro N, Tozzoli R, Tonutti E, Piazza A, Manoni F, Ghirardello A, et al. Variability between methods to determine ANA, anti-dsDNA and anti-ENA autoantibodies: a collaborative study with biomedical industry. *J Immunol Methods* 1998; 219:99-107.
5. Bizzaro N, Bassetti D, Manoni F, Piazza A, Tozzoli R, Tonutti E, et al. Sensitivity of commercial reagents for the detection of anti-ENA antibodies. *Clin Chem Lab Med* 1999; 37:480.
6. Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Tozzoli R, Manoni F, et al. Sensitivity and specificity of immunological methods for the detection of anti-topoisomerase I (Scl70) autoantibodies: results of a multicenter study. *Clin Chem* 2000; 46:1681-5.
7. Bizzaro N, Migliorini P, Montecucco C, Tozzoli R. Risultati del primo studio nazionale interdisciplinare "FIRMA" sulla variabilità analitica dei metodi per la determinazione degli autoanticorpi anti-ENA. *Reumatismo* 2000; 52(S2):139-41.
8. Sebastiani GD, Galeazzi M, Morozzi G, De Pità O, Mathieu A, Meroni PL, et al. Anticorpi anti-nucleo e anti-dsDNA: analisi metodologica e controllo di qualità dei risultati. *Reumatismo* 2000; 52(S2):136-8.
9. Whitham KM, Milford-Ward A. External quality assessment of bone metabolism marker assays. Initial experiences in a UK NEQAS programme. *Clin Chem Lab Med* 2000; 38:1121-4.
10. Spencer K. Accuracy of Down's syndrome risks produced in a prenatal screening program. *Ann Clin Biochem* 1999; 36: 101-3.
11. White LO. UK NEQAS in antibiotic assays. *J Clin Pathol* 2000; 53:829-34.
12. Rhodes A, Jasani B, Barnes DM, Bobrow LG, Miller KD. Reliability of immunohistochemical demonstration of oestrogen receptors in routine practice: interlaboratory variance in the sensitivity of detection and evaluation of scoring systems. *J Clin Pathol* 2000; 53:125-30.
13. Preston FE, Kitchen S, Jennings I, Woods TA. A UK National External Quality Assessment scheme (UK NEQAS) for molecular genetic testing for the diagnosis of familial thrombophilia. *Thromb Haemost* 1999; 82: 1556-7.
14. Cooper TG, Atkinson AD, Nieschlag E. Experience with external quality control in spermatology. *Hum Reprod* 1999; 14:765-9.
15. Jennings I, Kitchen S, Woods TA, Preston FE, Greaves M. Potentially clinically important inaccuracies in testing for the lupus anticoagulant: an analysis of results from three surveys of the UK National External Quality Assessment Scheme (NEQAS) for blood coagulation. *Thromb Haemost* 1997; 77:934-7.