

Qualitative test for determination of the A₁ antigen on human red blood cells.

IVD

Store 2 - 8°C.

PRINCIPLE OF THE METHOD

The reagent will cause agglutination (clumping) of test red cells, that carry the A₁ antigen, after centrifugation. No agglutination generally indicates the absence of the A₁ antigen (see **Limitations**).

CLINICAL SIGNIFICANCE¹

A₁ antigen is a subgroup of A and was discovered in 1910. Anti-A₁ is usually non-reactive at 37°C, however examples reactive at 37°C and predominantly IgM can cause *in vivo* red blood cell destruction. About 78% of group A people are A₁ and 22% are A₂, similar proportions apply among AB people.

REAGENTS

Spinreact Anti-A₁ Lectin blood grouping reagent is prepared from an extract of *Dolichos biflorus* seeds, diluted with a sodium chloride solution containing bovine albumin. The reagent is supplied at optimal dilution for use with all recommended techniques stated below without the need for further dilution or addition. For lot reference number and expiry date see **Vial Label**.

PRECAUTIONS

- The reagent is intended for *in vitro* diagnostic use only.
- If a reagent vial is cracked or leaking, discard the contents immediately.
- Do not use the reagent past the expiration date (see **Vial Label**).
- Do not use the reagent if a precipitate is present.
- Protective clothing should be worn when handling the reagents, such as disposable gloves and a laboratory coat.
- The reagent has been filtered through a 0.2 µm capsule to reduce the bio-burden. Once a vial has been opened the contents should remain viable up until the expiry date as long as there is no marked turbidity, which can indicate reagent deterioration or contamination.
- The reagent contains < 0.1% sodium azide. Sodium azide may be toxic if ingested and may react with lead and copper plumbing to form explosive metal azides. On disposal flush away with large volumes of water.
- No known tests can guarantee that products derived from human or animal sources are free from infectious agents. Care must be taken in the use and disposal of each vial and its contents.
- For information on disposal of the reagents and decontamination of a spillage site see **Material Safety Data Sheets**, available on request.

NOTES

- It is recommended a positive control (ideally group A₁B cells) and a negative control (group A₂ cells) be tested in parallel with each batch of tests. Tests must be considered invalid if controls do not show expected results.
- In the **Recommended Techniques** one volume is approximately 40µl when using the vial dropper provided.
- The use of the reagent and the interpretation of results must be carried out by properly trained and qualified personnel in accordance with the requirements of the country where the reagent is in use.
- User must determine suitability of the reagent for use in other techniques.

STORAGE

Do not freeze. Reagent vials should be stored at 2 - 8°C on receipt. Prolonged storage at temperatures outside this range may result in accelerated loss of reagent reactivity. Reagent will remain stable for up to 7 days when subjected to temperatures not exceeding 30°C.

MATERIAL REQUIRED

- Applicator sticks.
- Glass microscope slides.
- Glass test tubes (10 x 75 mm or 12 x 75 mm).
- Lighted Rh viewbox.
- Phosphate Buffered Saline (PBS): NaCl 0.9%, pH 7.0 ± 0.2 at 22°C ± 1°C
- Positive (group A₁B) and negative (group O) control red cells.
- Test tube centrifuge.
- Volumetric pipettes.

SAMPLES

Blood samples should be drawn aseptically into EDTA and tested within 48 hours. If EDTA is unavailable, samples drawn into ACD, CPD or CPDA-1 are acceptable and may be tested up to 35 days from the date of withdrawal. All blood samples should be washed at least twice with PBS before being tested.

PROCEDURE

A. Tube Technique

- Prepare a 2-3% suspension of washed test red cells in PBS.
- Place in a labelled test tube: 1 volume Spinreact Anti-A₁ reagent and 1 volume test red cell suspension.
- Mix thoroughly and then centrifuge all the tubes for 20 seconds at 1000 rcf or for a suitable alternative time and force.
- Gently resuspend red cell button and read macroscopically for agglutination.

B. Slide Technique

- Prepare a 35-45% suspension of test red cells in serum, plasma or PBS.
- Place on a labelled microscope slide: 1 volume Spinreact Anti-A₁ and 1 volume test red cell suspension.
- Using a clean applicator stick, mix reagent and cells over an area of about 20 x 40 mm.
- Slowly tilt the slide back and forth maintaining slide at room temperature.
- Observe for macroscopic agglutination for period not to exceed 30 seconds because after 30 seconds some group A₂ and A₂B cells may show weak agglutination.
- Any weak reactions should be repeated by the tube technique.

INTERPRETATION OF TEST RESULTS

- Positive:** Agglutination of test red cells constitutes positive test result and within the accepted limitations of the test procedure, indicates the presence of A₁ antigen on the test red cell.
- Negative:** No agglutination of the test red cells constitutes negative test result and within the accepted limitations of the test procedure, indicates the absence of A₁ antigen on the test red cell.
- Discrepancies:** If the results obtained with reverse group don't correlate with forward group, further investigation is required.

Stability of the reactions

- Tube tests must be read immediately after centrifugation. Delays may cause dissociation of antigen-antibody complexes leading to false negative or weak positive reactions.
- Slide tests should be completed within 30 seconds to ensure specificity and to avoid the possibility a negative result may be incorrectly interpreted as positive due to drying of the reagent.
- Caution should be exercised in the interpretation of results of tests performed at temperatures other than those recommended.

LIMITATIONS

- Anti-A₁ may react with Tn-polyagglutinable or Cad positive cells.
- Cord blood and specimens from infants cannot be accurately typed using Anti-A₁ Lectin since the A₁ antigen is not fully developed on red blood cells until the age of six months.
- Individuals older than six months should have their ABO blood-grouping results confirmed by testing their serum or plasma against known group A₁ and B cells before their ABO blood group can be confirmed.
- Stored blood may give weaker reactions than fresh blood.
- False positive or false negative results may also occur due to:
 - Contamination of test materials
 - Improper storage, cell concentration, incubation time or temperature
 - Improper or excessive centrifugation
 - Deviation from the recommended techniques
- The user is responsible for the performance of the reagents by any methods other than those mentioned in the **Recommended Techniques**.
- Any deviations from the **Recommended Techniques** should be validated prior to use.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

- The reagent has been characterised by the procedures mentioned in the **Recommended Techniques**.
- Prior to release, each lot of Spinreact anti-A₁ Lectin reagent is tested by the **Recommended Techniques** against a panel of antigen-positive red cells to ensure suitable reactivity
- The Quality Control of the reagents was performed using red cells that had been washed with PBS prior to use.
- The reagent complies with the recommendations contained in the latest issue of the Guidelines for the UK Blood Transfusion Services.

BIBLIOGRAPHY

- Widman FK. Technical Manual, 9th Edition. American Association of Blood Banks, Arlington, VA, 1985; Chapter 8
- Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man, 6th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1975; Chapter 2
- Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 8th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1987; Chapter 7
- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Current Edition.
- British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Recommendations for evaluation, validation and implementation of new techniques for blood grouping, antibody screening and cross matching. Transfusion Medicine, 1995, 5, 145-150.

PACKAGING

Anti-A ₁ Lectin	Ref.:1700010	5 mL
----------------------------	--------------	------

**Tube and Slide Tests
Blood Grouping****Qualitative test for determination of the A₁ antigen on human red blood cells.**

IVD

Store 2 - 8°C.

PRINCIPLE OF THE METHOD

The reagent will cause agglutination (clumping) of test red cells, that carry the A₁ antigen, after centrifugation. No agglutination generally indicates the absence of the A₁ antigen (see **Limitations**).

CLINICAL SIGNIFICANCE¹

A₁ antigen is a subgroup of A and was discovered in 1910. Anti-A₁ is usually non-reactive at 37°C, however examples reactive at 37°C and predominantly IgM can cause *in vivo* red blood cell destruction. About 78% of group A people are A₁ and 22% are A₂, similar proportions apply among AB people.

REAGENTS

Spinreact Anti-A₁ Lectin blood grouping reagent is prepared from an extract of *Dolichos biflorus* seeds, diluted with a sodium chloride solution containing bovine albumin. The reagent is supplied at optimal dilution for use with all recommended techniques stated below without the need for further dilution or addition. For lot reference number and expiry date see **Vial Label**.

PRECAUTIONS

1. The reagent is intended for *in vitro* diagnostic use only.
2. If a reagent vial is cracked or leaking, discard the contents immediately.
3. Do not use the reagent past the expiration date (see **Vial Label**).
4. Do not use the reagent if a precipitate is present.
5. Protective clothing should be worn when handling the reagents, such as disposable gloves and a laboratory coat.
6. The reagent has been filtered through a 0.2 µm capsule to reduce the bio-burden. Once a vial has been opened the contents should remain viable up until the expiry date as long as there is no marked turbidity, which can indicate reagent deterioration or contamination.
7. The reagent contains < 0.1% sodium azide. Sodium azide may be toxic if ingested and may react with lead and copper plumbing to form explosive metal azides. On disposal flush away with large volumes of water.
8. No known tests can guarantee that products derived from human or animal sources are free from infectious agents. Care must be taken in the use and disposal of each vial and its contents.
9. For information on disposal of the reagents and decontamination of a spillage site see **Material Safety Data Sheets**, available on request.

NOTES

1. It is recommended a positive control (ideally group A₁B cells) and a negative control (group A₂ cells) be tested in parallel with each batch of tests. Tests must be considered invalid if controls do not show expected results.
2. In the **Recommended Techniques** one volume is approximately 40µl when using the vial dropper provided.
3. The use of the reagent and the interpretation of results must be carried out by properly trained and qualified personnel in accordance with the requirements of the country where the reagent is in use.
4. User must determine suitability of the reagent for use in other techniques.

STORAGE

Do not freeze. Reagent vials should be stored at 2 - 8°C on receipt. Prolonged storage at temperatures outside this range may result in accelerated loss of reagent reactivity. Reagent will remain stable for up to 7 days when subjected to temperatures not exceeding 30°C.

MATERIAL REQUIRED

- Applicator sticks.
- Glass microscope slides.
- Glass test tubes (10 x 75 mm or 12 x 75 mm).
- Lighted Rh viewbox.
- Phosphate Buffered Saline (PBS): NaCl 0.9%, pH 7.0 ± 0.2 at 22°C ± 1°C
- Positive (group A₁B) and negative (group O) control red cells.
- Test tube centrifuge.
- Volumetric pipettes.

SAMPLES

Blood samples should be drawn aseptically into EDTA and tested within 48 hours. If EDTA is unavailable, samples drawn into ACD, CPD or CPDA-1 are acceptable and may be tested up to 35 days from the date of withdrawal. All blood samples should be washed at least twice with PBS before being tested.

PROCEDURE**A. Tube Technique**

1. Prepare a 2-3% suspension of washed test red cells in PBS.
2. Place in a labelled test tube: 1 volume Spinreact Anti-A₁ reagent and 1 volume test red cell suspension.
3. Mix thoroughly and then centrifuge all the tubes for 20 seconds at 1000 rcf or for a suitable alternative time and force.
4. Gently resuspend red cell button and read macroscopically for agglutination.

B. Slide Technique

1. Prepare a 35-45% suspension of test red cells in serum, plasma or PBS.
2. Place on a labelled microscope slide: 1 volume Spinreact Anti-A₁ and 1 volume test red cell suspension.
3. Using a clean applicator stick, mix reagent and cells over an area of about 20 x 40 mm.
4. Slowly tilt the slide back and forth maintaining slide at room temperature.
5. Observe for macroscopic agglutination for period not to exceed 30 seconds because after 30 seconds some group A₂ and A₂B cells may show weak agglutination.
6. Any weak reactions should be repeated by the tube technique.

INTERPRETATION OF TEST RESULTS

1. **Positive:** Agglutination of test red cells constitutes positive test result and within the accepted limitations of the test procedure, indicates the presence of A₁ antigen on the test red cell.
2. **Negative:** No agglutination of the test red cells constitutes negative test result and within the accepted limitations of the test procedure, indicates the absence of A₁ antigen on the test red cell.
3. **Discrepancies:** If the results obtained with reverse group don't correlate with forward group, further investigation is required.

Stability of the reactions

1. Tube tests must be read immediately after centrifugation. Delays may cause dissociation of antigen-antibody complexes leading to false negative or weak positive reactions.
2. Slide tests should be completed within 30 seconds to ensure specificity and to avoid the possibility a negative result may be incorrectly interpreted as positive due to drying of the reagent.
3. Caution should be exercised in the interpretation of results of tests performed at temperatures other than those recommended.

LIMITATIONS

1. Anti-A₁ may react with Tn-polyagglutinable or Cad positive cells.
2. Cord blood and specimens from infants cannot be accurately typed using Anti-A₁ Lectin since the A₁ antigen is not fully developed on red blood cells until the age of six months.
3. Individuals older than six months should have their ABO blood-grouping results confirmed by testing their serum or plasma against known group A₁ and B cells before their ABO blood group can be confirmed.
4. Stored blood may give weaker reactions than fresh blood.
5. False positive or false negative results may also occur due to:
 - Contamination of test materials
 - Improper storage, cell concentration, incubation time or temperature
 - Improper or excessive centrifugation
 - Deviation from the recommended techniques
6. The user is responsible for the performance of the reagents by any methods other than those mentioned in the **Recommended Techniques**.
7. Any deviations from the **Recommended Techniques** should be validated prior to use.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

1. The reagent has been characterised by the procedures mentioned in the **Recommended Techniques**.
2. Prior to release, each lot of Spinreact anti-A₁ Lectin reagent is tested by the **Recommended Techniques** against a panel of antigen-positive red cells to ensure suitable reactivity
3. The Quality Control of the reagents was performed using red cells that had been washed with PBS prior to use.
4. The reagent complies with the recommendations contained in the latest issue of the Guidelines for the UK Blood Transfusion Services.

BIBLIOGRAPHY

1. Widman FK. Technical Manual, 9th Edition. American Association of Blood Banks, Arlington, VA, 1985; Chapter 8
2. Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man, 6th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1975; Chapter 2
3. Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 8th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1987; Chapter 7
4. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Current Edition.
6. British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Recommendations for evaluation, validation and implementation of new techniques for blood grouping, antibody screening and cross matching. Transfusion Medicine, 1995, 5, 145-150.

PACKAGINGAnti-A₁ Lectin Ref.:1700010 5 mL

Determinación cualitativa del antígeno A₁ en hematíes humanos.

IVD
Conservar a 2 - 8°C.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Los reactivos provocan la aglutinación directa de los hematíes que contengan el antígeno A₁, después de la centrifugación. La ausencia de aglutinación generalmente es indicativo de la inexistencia del antígeno A₁ (ver **Limitaciones**).

SIGNIFICADO CLÍNICO

El antígeno A₁ es un subgrupo del grupo A y fue descubierto en 1910. Anti-A₁ normalmente es no-reactivo a 37°C, sin embargo ejemplos que reaccionan a 37°C y predominantemente IgM, pueden causar destrucción de los hematíes *in vivo*. Aproximadamente el 78% de la población del grupo A es A₁ y el 22% es A₂. Para la gente perteneciente al grupo AB se aplican proporciones similares.

REACTIVOS

El reactivo del grupo sanguíneo Anti-A₁ Lectina de Spinreact se prepara a partir de un extracto de semillas *Dolichos biflorus*, diluido con una solución de cloruro de sodio que contiene albúmina bovina. El reactivo es suministrado en la dilución óptima para su utilización en todas las técnicas aquí recomendadas sin necesidad de diluciones o adiciones suplementarias. Ver el lote y caducidad de cada referencia en la etiqueta del vial.

PRECAUCIONES

1. El reactivo es sólo para uso en diagnóstico *in vitro*.
2. Si el vial del reactivo está roto o agrietado, descartar inmediatamente su contenido.
3. No utilizar reactivos caducados. (ver la etiqueta de vial).
4. No utilizar reactivos que presenten precipitados.
5. La manipulación del reactivo debe realizarse con la apropiada indumentaria de protección, tales como guantes desechables y bata de laboratorio.
6. El reactivo ha sido filtrado a través de cápsulas de 0.2 µm para reducir la carga biológica. Una vez abierto el vial, el contenido debe permanecer viable hasta la fecha de caducidad, siempre y cuando no haya una marcada turbidez la cual podría ser indicativa de deterioración o contaminación del reactivo.
7. El reactivo contiene < 0.1% de azida sódica. La azida sódica puede ser tóxica, si se ingiere y puede reaccionar con cobre o plomo de las tuberías y formar azidas metálicas explosivas. En caso de eliminación del producto, hacerlo con abundante agua del grifo.
8. Ningún método puede garantizar que los productos derivados de fuentes humanas o animales están libres de enfermedades infecciosas. Manipular y desechar con precaución los viales y su contenido.
9. Para mayor información sobre la eliminación del producto o descontaminación en caso de derrame, ver las fichas de seguridad.

NOTAS

1. Se recomienda la utilización de un control positivo (idealmente células del grupo A₁B) y un control negativo (células del grupo A₂) para testar de forma paralela en cada lote de tests. Los tests deben considerarse inválidos si los controles no muestran los resultados esperados.
2. En las técnicas aquí recomendadas un volumen es aproximadamente 40µl utilizando el gotero suministrado.
3. La utilización de los reactivos y la interpretación de los resultados deben llevarse a cabo por personal cualificado y formado de acuerdo a los requisitos del país donde los reactivos están siendo utilizados.
4. El usuario debe determinar la idoneidad de los reactivos para otras técnicas.

CONSERVACIÓN

No congelar. Los viales de reactivo deben ser conservados a 2-8°C. Almacenamientos prolongados, a temperaturas fuera de este rango, pueden provocar una aceleración de la pérdida de reactividad. El reactivo seguirá siendo estable hasta 7 días si permanece a temperaturas que no excedan los 30°C.

MATERIAL NECESARIO

- Stick aplicador.
- Portaobjetos de vidrio para el microscopio.
- Tubos de vidrio (10 x 75 mm or 12 x 75 mm).
- Visor de Rh.
- Tampón fosfato salino (PBS): NaCl 0.9%, pH 7.0 ± 0.2 at 22°C ± 1°C
- Hematíes control Positivos (grupo A₁B) y negativos (grupo O) c.
- Centrifuga de tubos.
- Pipetas volumétricas.

MUESTRAS

Sangre extraída con o sin anticoagulante. Si el tipado no se efectúa de inmediato, conservar las muestras a 2-8°C. Las muestras de sangre en EDTA o citrato deben ser tipadas en 48 horas. Las muestras recogidas en ACD, CPD or CPDA-1 pueden ser testadas hasta 35 días desde su fecha de extracción. Todas las muestras de sangre deben ser lavadas con PBS al menos 2 veces antes de realizar el test.

PROCEDIMIENTO
A. Método en tubo

1. Preparar una suspensión de hematíes a testar lavados al 2-3% en PBS.
2. Añadir en un tubo identificado: 1 volumen de reactivo Anti- A₁ y un volumen de la suspensión de hematíes.
3. Mezclar minuciosamente y centrifugar los tubos durante 20 segundos a 1000 rcf (g) o a una fuerza y tiempo alternativos adecuados.

4. Resuspender cuidadosamente el botón celular y leer macroscópicamente por aglutinación.

B. Método en Porta

1. Preparar una suspensión de hematíes a testar al 35-45% en suero, plasma o PBS.
2. Depositar en un porta identificado: 1 volumen del reactivo Anti- A₁ y 1 volumen de la suspensión de hematíes.
3. Utilizando un *stick* aplicador limpio, mezclar el reactivo y las células en una área de unos 20 x 40 mm.
4. Lentamente inclinar el porta de atrás a delante manteniendo el porta a temperatura ambiente.
5. Leer macroscópicamente durante un periodo que no exceda los 30 segundos ya que después de los 30 segundos algunas células de los grupos A₂ y A₂B pueden mostrar una débil aglutinación.
6. Cualquier reacción débil debe ser repetida con la técnica en tubo.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

1. **Positivo:** La aglutinación constituye un resultado positivo y dentro de las limitaciones aceptadas para el procedimiento del test, indica la presencia del antígeno A₁ en los hematíes testados.
2. **Negativo:** La ausencia de aglutinación de hematíes constituye un resultado negativo y dentro de las limitaciones aceptadas para el procedimiento de la técnica, indica la ausencia del antígeno A₁ en los hematíes testados.
3. **Discrepancias:** Si no existe correlación entre los resultados obtenidos en el grupo directo y el grupo inverso, es preciso realizar más pruebas

Estabilidad de las reacciones

1. Leer los tests realizados en tubos inmediatamente después de la centrifugación. Los retrasos pueden suponer la disociación de los complejos antígeno-anticuerpo, causando falsos negativos o resultados positivos débiles.
2. Los tests en porta deben ser interpretados en 30 segundos a fin de asegurar la especificidad y evitar la posibilidad de que un resultado negativo sea incorrectamente interpretado como positivo debido al secado del reactivo.
3. Los resultados, de tests realizados a otras temperaturas de las aquí recomendadas, deben ser interpretados con cautela.

LIMITACIONES

1. Anti-A₁ puede reaccionar con células Tn-poliaglutinables o Cad-positivas.
2. La sangre de los neonatos no puede ser tipada con precisión usando el reactivo Anti-A₁ Lectina ya que el antígeno A₁ no está completamente desarrollado en los hematíes hasta los 6 meses de edad.
3. Antes de confirmar el grupo sanguíneo ABO de individuos mayores de 6 meses, deberían confirmarse los resultados de su grupaje sanguíneo ABO, testando su suero o plasma frente a células conocidas del grupo A₁ y B .
4. Muestras conservadas pueden dar reacciones más débiles que muestras frescas.
5. Puede también ocurrir falsos resultados positivos o negativos debido a:
 - Contaminación de los materiales del test.
 - Inadecuadas conservación, concentración celular, tiempo o temperatura de incubación.
 - Centrifugación inapropiada o excesiva.
 - Introducción de suero humano/globulinas gamma en el test.
6. El usuario es responsable del funcionamiento de los reactivos en cualquier otro método distinto de los mencionados como **técnicas aquí detalladas**.
7. Cualquier desviación de las **técnicas aquí recomendadas** debería ser validada antes de su utilización.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

1. El reactivo ha sido caracterizado para todos los procedimientos aquí mencionados.
2. Préviamente a su liberación, cada lote de Anti-A₁ Lectina de Spinreact es testado a través de las técnicas recomendadas frente a un panel de hematíes antígenos-positivo, a fin de asegurar la adecuada reactividad.
3. El Control de Calidad del reactivo se llevó a cabo utilizando hematíes lavados en PBS, previa utilización.
4. El reactivo cumple las recomendaciones de la última versión de las Guías para los Servicios de transfusión de sangre del Reino Unido.

BIBLIOGRAFÍA

1. Widman FK. Technical Manual, 9th Edition. American Association of Blood Banks, Arlington, VA, 1985; Chapter 8
2. Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man, 6th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1975; Chapter 2
3. Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 8th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1987; Chapter 7
4. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Current Edition.
6. British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Recommendations for evaluation, validation and implementation of new techniques for blood grouping, antibody screening and cross matching. Transfusion Medicine, 1995, 5, 145-150.

PRESENTACIÓN

Anti- A₁ Lectina Ref.:1700010 5 mL

Determinación cualitativa del antígeno A₁ en hematíes humanos.

IVD
 Conservar a 2 - 8°C.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Los reactivos provocan la aglutinación directa de los hematíes que contengan el antígeno A₁, después de la centrifugación. La ausencia de aglutinación generalmente es indicativo de la inexistencia del antígeno A₁ (ver **Limitaciones**).

SIGNIFICADO CLÍNICO

El antígeno A₁ es un subgrupo del grupo A y fue descubierto en 1910. Anti-A₁ normalmente es no-reactivo a 37°C, sin embargo ejemplos que reaccionan a 37°C y predominantemente IgM, pueden causar destrucción de los hematíes *in vivo*. Aproximadamente el 78% de la población del grupo A es A₁ y el 22% es A₂. Para la gente perteneciente al grupo AB se aplican proporciones similares.

REACTIVOS

El reactivo del grupo sanguíneo Anti-A₁ Lectina de Spinreact se prepara a partir de un extracto de semillas *Dolichos biflorus*, diluido con una solución de cloruro de sodio que contiene albúmina bovina. El reactivo es suministrado en la dilución óptima para su utilización en todas las técnicas aquí recomendadas sin necesidad de diluciones o adiciones suplementarias. Ver el lote y caducidad de cada referencia en la etiqueta del vial.

PRECAUCIONES

1. El reactivo es sólo para uso en diagnóstico *in vitro*.
2. Si el vial del reactivo está roto o agrietado, descartar inmediatamente su contenido.
3. No utilizar reactivos caducados. (ver la etiqueta de vial).
4. No utilizar reactivos que presenten precipitados.
5. La manipulación del reactivo debe realizarse con la apropiada indumentaria de protección, tales como guantes desechables y bata de laboratorio.
6. El reactivo ha sido filtrado a través de cápsulas de 0.2 µm para reducir la carga biológica. Una vez abierto el vial, el contenido debe permanecer viable hasta la fecha de caducidad, siempre y cuando no haya una marcada turbidez la cual podría ser indicativa de deterioración o contaminación del reactivo.
7. El reactivo contiene < 0.1% de azida sódica. La azida sódica puede ser tóxica, si se ingiere y puede reaccionar con cobre o plomo de las tuberías y formar azidas metálicas explosivas. En caso de eliminación del producto, hacerlo con abundante agua del grifo.
8. Ningún método puede garantizar que los productos derivados de fuentes humanas o animales están libres de enfermedades infecciosas. Manipular y desechar con precaución los viales y su contenido.
9. Para mayor información sobre la eliminación del producto o descontaminación en caso de derrame, ver las fichas de seguridad.

NOTAS

1. Se recomienda la utilización de un control positivo (idealmente células del grupo A₁B) y un control negativo (células del grupo A₂) para testar de forma paralela en cada lote de tests. Los tests deben considerarse inválidos si los controles no muestran los resultados esperados.
2. En las técnicas aquí recomendadas un volumen es aproximadamente 40µl utilizando el gotero suministrado.
3. La utilización de los reactivos y la interpretación de los resultados deben llevarse a cabo por personal cualificado y formado de acuerdo a los requisitos del país donde los reactivos están siendo utilizados.
4. El usuario debe determinar la idoneidad de los reactivos para otras técnicas.

CONSERVACIÓN

No congelar. Los viales de reactivo deben ser conservados a 2-8°C. Almacenamientos prolongados, a temperaturas fuera de este rango, pueden provocar una aceleración de la pérdida de reactividad. El reactivo seguirá siendo estable hasta 7 días si permanece a temperaturas que no excedan los 30°C.

MATERIAL NECESARIO

- Stick aplicador.
- Portaobjetos de vidrio para el microscopio.
- Tubos de vidrio (10 x 75 mm or 12 x 75 mm).
- Visor de Rh.
- Tampón fosfato salino (PBS): NaCl 0.9%, pH 7.0 ± 0.2 at 22°C ± 1°C
- Hematíes control Positivos (grupo A₁B) y negativos (grupo O) c.
- Centrifuga de tubos.
- Pipetas volumétricas.

MUESTRAS

Sangre extraída con o sin anticoagulante. Si el tipado no se efectúa de inmediato, conservar las muestras a 2-8°C. Las muestras de sangre en EDTA o citrato deben ser tipadas en 48 horas. Las muestras recogidas en ACD, CPD or CPDA-1 pueden ser testadas hasta 35 días desde su fecha de extracción. Todas las muestras de sangre deben ser lavadas con PBS al menos 2 veces antes de realizar el test.

PROCEDIMIENTO
A. Método en tubo

1. Preparar una suspensión de hematíes a testar lavados al 2-3% en PBS.
2. Añadir en un tubo identificado: 1 volumen de reactivo Anti- A₁ y un volumen de la suspensión de hematíes.
3. Mezclar minuciosamente y centrifugar los tubos durante 20 segundos a 1000 rcf (g) o a una fuerza y tiempo alternativos adecuados.

4. Resuspender cuidadosamente el botón celular y leer macroscópicamente por aglutinación.

B. Método en Porta

1. Preparar una suspensión de hematíes a testar al 35-45% en suero, plasma o PBS.
2. Depositar en un porta identificado: 1 volumen del reactivo Anti- A₁ y 1 volumen de la suspensión de hematíes.
3. Utilizando un *stick* aplicador limpio, mezclar el reactivo y las células en una área de unos 20 x 40 mm.
4. Lentamente inclinar el porta de atrás a delante manteniendo el porta a temperatura ambiente.
5. Leer macroscópicamente durante un periodo que no exceda los 30 segundos ya que después de los 30 segundos algunas células de los grupos A₂ y A₂B pueden mostrar una débil aglutinación.
6. Cualquier reacción débil debe ser repetida con la técnica en tubo.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

1. **Positivo:** La aglutinación constituye un resultado positivo y dentro de las limitaciones aceptadas para el procedimiento del test, indica la presencia del antígeno A₁ en los hematíes testados.
2. **Negativo:** La ausencia de aglutinación de hematíes constituye un resultado negativo y dentro de las limitaciones aceptadas para el procedimiento de la técnica, indica la ausencia del antígeno A₁ en los hematíes testados.
3. **Discrepancias:** Si no existe correlación entre los resultados obtenidos en el grupo directo y el grupo inverso, es preciso realizar más pruebas

Estabilidad de las reacciones

1. Leer los tests realizados en tubos inmediatamente después de la centrifugación. Los retrasos pueden suponer la disociación de los complejos antígeno-anticuerpo, causando falsos negativos o resultados positivos débiles.
2. Los tests en porta deben ser interpretados en 30 segundos a fin de asegurar la especificidad y evitar la posibilidad de que un resultado negativo sea incorrectamente interpretado como positivo debido al secado del reactivo.
3. Los resultados, de tests realizados a otras temperaturas de las aquí recomendadas, deben ser interpretados con cautela.

LIMITACIONES

1. Anti-A₁ puede reaccionar con células Tn-poliaglutinables o Cad-positivas.
2. La sangre de los neonatos no puede ser tipada con precisión usando el reactivo Anti-A₁ Lectina ya que el antígeno A₁ no está completamente desarrollado en los hematíes hasta los 6 meses de edad.
3. Antes de confirmar el grupo sanguíneo ABO de individuos mayores de 6 meses, deberían confirmarse los resultados de su grupaje sanguíneo ABO, testando su suero o plasma frente a células conocidas del grupo A₁ y B .
4. Muestras conservadas pueden dar reacciones más débiles que muestras frescas.
5. Puede también ocurrir falsos resultados positivos o negativos debido a:
 - Contaminación de los materiales del test.
 - Inadecuadas conservación, concentración celular, tiempo o temperatura de incubación.
 - Centrifugación inapropiada o excesiva.
 - Introducción de suero humano/globulinas gamma en el test.
6. El usuario es responsable del funcionamiento de los reactivos en cualquier otro método distinto de los mencionados como **técnicas aquí detalladas**.
7. Cualquier desviación de las **técnicas aquí recomendadas** debería ser validada antes de su utilización.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

1. El reactivo ha sido caracterizado para todos los procedimientos aquí mencionados.
2. Previamente a su liberación, cada lote de Anti-A₁ Lectina de Spinreact es testado a través de las técnicas recomendadas frente a un panel de hematíes antígenos-positivo, a fin de asegurar la adecuada reactividad.
3. El Control de Calidad del reactivo se llevó a cabo utilizando hematíes lavados en PBS, previa utilización.
4. El reactivo cumple las recomendaciones de la última versión de las Guías para los Servicios de transfusión de sangre del Reino Unido.

BIBLIOGRAFÍA

1. Widman FK. Technical Manual, 9th Edition. American Association of Blood Banks, Arlington, VA, 1985; Chapter 8
2. Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man, 6th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1975; Chapter 2
3. Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 8th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1987; Chapter 7
4. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Current Edition.
6. British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Recommendations for evaluation, validation and implementation of new techniques for blood grouping, antibody screening and cross matching. Transfusion Medicine, 1995, 5, 145-150.

PRESENTACIÓN

Anti- A₁ Lectina Ref.:1700010 5 mL