

TRACTATENBLAD

VAN HET

KONINKRIJK DER NEDERLANDEN

JAARGANG 1969 Nr. 109

A. TITEL

*Europese Overeenkomst betreffende de uitwisseling
van geneesmiddelen van menselijke oorsprong,
met Bijlagen;
Parijs, 15 december 1958*

B. TEKST

De tekst van Overeenkomst en Bijlagen is geplaatst in *Trb.* 1959, 118. Zie ook *Trb.* 1967, 142 ¹⁾.

Het bij de Overeenkomst behorende Protocol is in overeenstemming met artikel 4, lid 4, van de Overeenkomst gewijzigd door het Comité van Ministers tijdens de 167e bijeenkomst van de Plaatsvervangers in januari 1968. De Engelse en de Franse tekst van het gewijzigde Protocol, met Bijlagen, luiden, blijktens een door de Secretaris-Generaal van de Raad van Europa opgesteld Proces-verbaal d.d. 26 juni 1968, als volgt:

1) De Deense Regering heeft bij brief van 27 september 1968, welke op 30 september 1968 werd ontvangen, aan de Secretaris-Generaal van de Raad van Europa medegedeeld de bij de ondertekening van de Overeenkomst op 30 september 1964 afgelegde verklaring in te trekken.

**Protocol to the European
Agreement on the Exchange of therapeutic
substances of human origin**

PART I

General provisions

A. Labelling

A label printed in English and French, based on the appropriate model to be found in Annexes 2 to 8 to the Protocol, shall be affixed to each container or giving-set.

B. Packing and dispatch

Whole human blood shall be dispatched in containers in which a temperature of 4° to 6° C is maintained throughout the period of transport.

This condition is not required for the derivatives mentioned in the Protocol.

C. Products and apparatus

The products and apparatus referred to in Part II of this Protocol shall be sterile, non-pyrogenic and non-toxic.

It is recommended that the giving-set, as well as the solvents required for the dried products, be sent with each consignment.

D. Freedom from toxicity of plastic blood transfusion equipment

Equipment shall comply with the provisions set out in Annex 9 to this Protocol.

PART II

Specific provisions

1. Whole Human Blood

Whole Human Blood is blood which has been mixed with a suitable anticoagulant, after collection from a human subject in normal health.

The blood shall not be obtained from a human subject:

(a) who is known to be suffering from or to have suffered from syphilis or hepatitis,

(b) whose blood has not been tested with negative results for evidence of syphilitic infection, or

(c) who is not, as far as can be ascertained after medical examination and the study of his antecedents, free from disease transmissible by blood transfusion.

**Protocole à l'Accord européen
relatif à l'échange de substances thérapeutiques
d'origine humaine**

PREMIÈRE PARTIE

Conditions générales

A. Etiquetage

Chaque récipient ou accessoire sera muni, avant son expédition, d'une étiquette en langues anglaise et française, établie selon le modèle correspondant figurant aux annexes 2 à 8 au présent Protocole.

B. Emballage et expédition

Le Sang Humain Total sera toujours expédié dans un emballage qui maintiendra une température de 4° à 6° C durant toute la période du transport.

Cette condition n'est pas exigée pour les dérivés inclus dans le Protocole.

C. Produits et accessoires

Les produits et accessoires mentionnés dans la IIème partie du présent Protocole seront stériles, apyrogènes et non toxiques.

Il est recommandé de joindre aux envois les accessoires nécessaires à l'administration ainsi que les solvants pour les produits secs.

D. Innocuité des appareillages de transfusion sanguine en matière plastique

Les appareillages doivent être conformes aux dispositions prévues à l'Annexe IX au présent Protocole.

IIème PARTIE

Conditions spéciales

1. Sang Humain Total

Le Sang Humain Total est le sang qui a été mélangé à un anti-coagulant approprié après son prélèvement à un sujet humain normal.

Le sang n'est pas prélevé à un sujet:

(a) qui est connu comme atteint ou ayant été atteint de syphilis ou d'hépatite ou

(b) dont les tests sanguins d'infection syphilitique n'ont pas été négatifs, ou

(c) qui n'est pas indemne d'une maladie transmissible par la transfusion sanguine, autant que cela peut être assuré par son simple examen médical et par l'étude de ses antécédents.

The blood shall be withdrawn aseptically through a closed system of sterile tubing into a sterile container in which the anticoagulant solution has been placed before the container is sterilised. The equipment used must be pyrogen-free. When withdrawal is complete the container shall be immediately sealed and cooled to 4° to 6° C and not opened thereafter until immediately before the blood is to be used.

The blood will be collected into a citrate solution of acid reaction containing dextrose. No antiseptic or bacteriostatic substance shall be added. The volume of the anticoagulant solution must not exceed 22% of the Whole Human Blood, and the haemoglobin content must not be less than 9.7 g per 100 ml.

Blood Group – The blood group under the ABO system shall have been determined by examination of both corpuscles and serum and that under the Rh system by examination of the corpuscles, using a separate sample of the donor's blood. When there is a national standard, or nationally recommended technique of blood grouping, that technique shall be used.

The term Rh negative is only to be used when specific tests have shown the absence of the antigens C, D, D^u and E. All other blood must be labelled Rh positive.

Blood exchange under this agreement should only be used for recipients of the corresponding ABO group.

Storage – Whole human blood shall be kept in a sterile container sealed so as to exclude micro-organisms and stored at a temperature of 4° to 6° C until required for use, except during any period necessary for examination and transport at higher temperatures, any such period not to exceed thirty minutes after which the blood must immediately be cooled again to 4° to 6° C.

Labelling – The label on the container shall give all the information shown on the model label (Annex 2). The Rhesus group shall be written as "Positive" or "Negative" or, in abbreviated form, "POS" or "NEG".

2. *Dried Human Plasma*

Dried Human Plasma is prepared by drying the supernatant fluids which are separated by centrifuging or by sedimentation from quantities of Whole Human Blood.

During preparation no antiseptic or bacteriostatic or other substance shall be added. Dried Human Plasma shall be obtained by freeze-drying or by any other method which will avoid denaturation of proteins. The dried product shall be readily soluble in a quantity of water equal to the volume of the liquid from which the substance was prepared. The solution thus obtained must not contain less than

Le sang est prélevé aseptiquement, à travers un dispositif tubulaire clos et stérile, dans un récipient stérile dans lequel la solution anticoagulante a été placée avant sa stérilisation. Le matériel utilisé doit être apyrogène. Lorsque le prélèvement est terminé, le flacon est immédiatement obturé et refroidi à la température de 4° à 6° C. Il ne sera pas ouvert ultérieurement jusqu'au moment de son administration.

Le sang est prélevé sur une solution citratée acide contenant du glucose. Aucune substance antiseptique ou bactériostatique ne doit être ajoutée. Le volume de la solution anticoagulante ne doit pas excéder 22 % de celui du Sang Humain Total et le taux d'hémoglobine ne doit pas être inférieur à 9,7 g. per 10 ml.

Groupe sanguin – Le groupe sanguin du système ABO doit avoir été déterminé par l'examen des globules et du sérum, et le groupe du système Rh par l'examen des globules, en utilisant un échantillon séparé du sang du donneur. Lorsqu'il existe une technique nationale, standardisée ou recommandée, pour le groupage sanguin, elle doit être utilisée.

Le terme Rh négatif doit être seulement utilisé quand les épreuves spécifiques ont montré l'absence des antigènes C, D, D^u et E. Tous les autres sangs doivent être étiquetés Rh positif.

Le sang échangé aux termes de cet accord ne sera transfusé qu'à des sujets appartenant au groupe ABO correspondant.

Conservation – Le Sang Humain Total est maintenu dans le récipient stérile scellé de telle façon qu'il soit à l'abri des micro-organismes, et conservé à la température de 4° à 6° C jusqu'à son administration, excepté pendant les périodes nécessaires à son examen et à son transport à une température plus élevée, de telles périodes n'excédant pas 30 minutes après lesquelles le sang doit être immédiatement refroidi à la température de 4° à 6° C.

Étiquetage – L'étiquette du récipient doit donner toutes les informations demandées sur l'étiquette modèle (Annexe 2). Le groupe Rh doit être écrit „Positif” ou „Négatif”, ou en abrégé „POS” ou „NEG”.

2. *Plasma Humain Desséché*

Le Plasma Humain Desséché est préparé par dessiccation du liquide surnageant obtenu par centrifugation ou sédimentation du Sang Humain Total.

Au cours de la préparation, aucune substance antiseptique, bactériostatique ou autre ne doit être ajoutée. Le Plasma Humain Desséché est obtenu par lyophilisation ou par toute autre méthode évitant la dénaturation des protéines. Le produit sec doit être facilement soluble dans une quantité d'eau égale au volume du liquide à partir duquel il a été préparé. La solution ainsi obtenue ne doit pas

4.5% w/v of protein and must not show visible evidence of the products of haemolysis. The haemagglutinin titre shall not be greater than 1 : 32.

Dried Human Plasma prepared from one or two donations of blood

Donations shown to contain dangerous levels of iso-haemolysins (determined using a sample of fresh serum) of any immune haemagglutinins shall be excluded. Unless the plasma is pooled and frozen within 48 hours of collecting the blood, the sterility of each unit shall be tested by culturing not less than 10 ml.

Dried Human Plasma prepared from pools of more than two donations

Pools shown to contain dangerous levels of immune haemagglutinins or of iso-haemolysins shall be excluded. To avoid untoward effects due to the products of bacterial growth in the plasma no individual donation shall be used if there is any evidence of bacterial contamination, and the sterility of each pool shall be tested by culturing not less than 10 ml. To minimize the risk of transmitting serum hepatitis, plasma should be prepared from pools which should contain not more than twelve donations, or by any other method that has been shown to diminish the risk in comparable manner.

Solubility in water – Add a quantity of water equal to the volume of the liquid from which the sample was prepared; the substance dissolves completely within 10 minutes at 15° to 20° C.

Identification – Dissolve a known quantity of the product in a volume of water equal to the volume of the liquid from which it was prepared; the solution passes the following tests:

- (i) by precipitation tests with specific antisera, it must be shown to contain only human plasma proteins;
- (ii) to 1 ml add a suitable amount of thrombin or calcium chloride; coagulation occurs, which can be accelerated by incubation at 37° C.

Loss of weight on drying – When dried over phosphorus pentoxide at a pressure not exceeding 0.02 mm of mercury for 24 hours, Dried Human Plasma must not lose more than 0.5% of its weight.

Sterility – The final product, after reconstitution, shall be sterile when examined by a suitable bacteriological method.

Storage – Dried Human Plasma must be kept in an atmosphere of nitrogen or in a vacuum in a sterile container sealed so as to exclude

contenir moins de 4,5 % p/v de protéines et ne doit montrer aucun signe visible de l'existence de produits d'hémolyse. Le titre des hémagglutinines ne doit pas excéder 1 : 32.

Plasma Humain Desséché préparé à partir d'un ou de deux prélèvements de sang

Les prélèvements reconnus comme contenant un taux dangereux d'iso-hémolysines (déterminé en utilisant un échantillon de sérum frais) ou une hémagglutinine immune, doivent être exclus. Excepté si le plasma est mélangé et congelé dans les 48 heures qui suivent le prélèvement du sang, la stérilité de chaque unité doit être vérifiée par la culture d'au moins 10 ml.

Plasma Humain Desséché préparé par mélange de plus de deux prélèvements

Les mélanges qui contiennent des taux dangereux d'hémagglutinines immunes ou d'iso-hémolysines doivent être exclus. Pour éviter les effets nocifs des produits de la croissance bactérienne dans le plasma, aucun prélèvement individuel ne sera utilisé s'il présente des signes de contamination bactérienne, et la stérilité de chaque mélange sera contrôlée au moyen de cultures d'au moins 10 ml. Pour réduire le risque de transmission de l'hépatite d'inoculation, le plasma doit être préparé à partir de mélanges ne contenant pas plus de 12 prélèvements ou par toute autre méthode connue comme diminuant ce risque de façon comparable.

Solubilité dans l'eau – Ajouter une quantité d'eau égale au volume liquide à partir duquel l'échantillon a été préparé; la substance se dissout complètement en 10 minutes à la température de 15° à 20° C.

Identification – Dissoudre une quantité donnée du produit dans le volume d'eau égal au volume du liquide à partir duquel elle a été préparée; la solution est soumise aux essais suivants:

- (i) Les tests de précipitation avec des antisérums spécifiques indiquent qu'elle contient seulement des protéines plasmatiques humaines;
- (ii) à 1 ml ajouter une quantité convenable de thrombine ou de chlorure de calcium; la coagulation se produit, ce qui peut être accéléré par incubation à 37° C.

Perte de poids par dessiccation – La dessiccation du Plasma Humain Desséché, en présence d'anhydride phosphorique sous une pression n'excédant pas 0,02 mm de mercure pendant 24 heures, ne doit pas provoquer une perte de poids supérieure à 0,5 %.

Stérilité – Le produit final, après reconstitution, doit être stérile, lorsqu'il est étudié par une méthode bactériologique convenable.

Conservation – Le Plasma Humain Desséché doit être placé dans une atmosphère d'azote ou dans le vide, dans un flacon stérile scellé de façon à exclure tout micro-organisme et, autant que possible,

micro-organisms and, as far as possible, moisture, protected from light and stored at a temperature below 20° C.

Labelling – The label on the container shall give all the information shown on the model label (Annex 3).

3. *Human Albumin and Human Plasma Protein Fraction*

Human Albumin and Human Plasma Protein Fraction are preparations of the protein component which forms about 60% of the total protein content of the plasma of Whole Human Blood.

The method of preparation used shall be one which produces a material meeting the requirements herein described. Regardless of whether the final product is liquid or dried, the preparation, after the addition of a suitable stabilising agent or agents must have been heated in the liquid state in the final container at 60° C \pm 0.5° C for 10 hours, in order to inactivate the agent causing serum hepatitis. During preparation no antiseptic or bacteriostatic substance shall be added.

In preparations of Human Albumin, not less than 95% of the proteins present shall be albumin. In preparations of Human Plasma Protein Fraction not less than 85% of the protein shall be albumin. In both preparations, not more than 1% immunoglobulin G shall be present.

When the final product is freeze-dried it must contain not less than 95% of protein.

When Human Plasma Protein Fraction is prepared as a solution it shall have a total protein concentration between 4.5 and 5% w/v. When Human Albumin is prepared as a solution it shall have a total protein concentration not less than 4.5% w/v.

Solubility of the dried product – Add water to the recommended volume; the dried preparation must be completely soluble.

Stability – By comparison of the solutions before and after heat treatment no evidence of significant denaturation of the proteins in solution shall have been detected as estimated by viscosity and turbidity measurements, ultracentrifugation and electrophoresis. The solution shall be substantially free from visible particles after heating at 57° C and after agitation in a mechanical shaker for 6 hours at this temperature.

Identification –

- (i) By precipitation tests with specific antisera, both preparations must be shown to contain only human plasma proteins.

toute humidité; il est protégé de la lumière et conservé à une température inférieure à 20° C.

Étiquetage – L'étiquette du récipient doit donner toutes les informations demandées sur l'étiquette modèle (Annexe 3).

3. *Albumine Humaine et Solutions Stables de Protéines Plasmatiques Humaines*

L'Albumine Humaine et les Solutions Stables de Protéines Plasmatiques Humaines sont des préparations de la protéine qui constitue environ 60 % des protéines totales du plasma du Sang Humain Total.

La méthode de préparation est telle que le produit final satisfasse aux conditions décrites plus loin. Que le produit final soit liquide ou sec, la préparation, après addition d'un stabilisateur convenable, doit avoir été chauffée, à l'état liquide et dans le récipient final, à 60° C \pm 0,5° C pendant 10 heures, afin d'inactiver l'agent causal de l'hépatite d'inoculation. Durant la préparation aucune substance antiséptique ou bactériostatique ne doit être ajoutée.

Dans les préparations d'Albumine Humaine, 95 % au moins des protéines doivent être constituées par de l'albumine. Dans les Solutions Stables de Protéines Plasmatiques Humaines, 85 % au moins des protéines doivent être constituées par de l'albumine. Les deux formes de préparations ne doivent pas contenir plus de 1 % d'immunoglobuline G.

Si le produit final est lyophilisé, il doit contenir au moins 95 % de protéines.

Les Solutions Stables de Protéines Plasmatiques Humaines doivent avoir une concentration de 4,5 à 5,0 % p/v en protéines totales. Si l'Albumine Humaine est préparée en solution, elle doit avoir une concentration d'au moins 4,5 % p/v en protéines totales.

Solubilité du produit sec – Complètement soluble après adjonction de la quantité d'eau indiquée.

Stabilité – Des mesures comparatives de viscosité et de turbidité, ainsi que l'ultra-centrifugation et l'électrophorèse, effectuées sur les solutions avant et après le chauffage, ne doivent fournir aucun indice de dénaturation des protéines dissoutes. Après chauffage à 57° C et agitation mécanique pendant 6 heures à cette température, la solution doit être entièrement libre de particules visibles.

Identification –

- (i) Les tests de précipitation au moyen d'antisérums spécifiques indiquent que les deux produits contiennent seulement des protéines plasmatiques humaines.

- (ii) By electrophoresis, using the moving boundary technique under acceptable and appropriate conditions, it must be shown that the percentage of proteins having the mobility of the albumin component of normal human plasma, is not less than 95% in preparations of Human Albumin, or not less than 85% in preparations of Human Plasma Protein Fraction.

Sodium content – The sodium content of salt-poor Human Albumin must not exceed 0.014 g per gramme of albumin. In other preparations of Human Albumin and in Human Plasma Protein Fraction the sodium content must not exceed 0.352 g per 100 ml of solution or reconstituted dried product.

Potassium content – The potassium content of Human Albumin and Human Plasma Protein Fraction must not exceed 2 mEq per litre of solution or reconstituted dried product.

Acidity – The pH of either preparation shall be 6.8 ± 0.2 when measured at a temperature of 15° to 25° C in a solution diluted to 1% w/v of protein with 0.15M sodium chloride.

Loss of weight on drying – Dried preparations, when dried over phosphorus pentoxide at a pressure not exceeding 0.02 mm of mercury for 24 hours, must not lose more than 0.5% of their weight.

Sterility – The final product shall be sterile when examined by a suitable bacteriological method.

Storage — Dried Human Albumin must be kept in an atmosphere of nitrogen or in a vacuum in a sterile container, sealed so as to exclude micro-organisms and, as far as possible, moisture, protected from light and stored at a temperature below 20° C.

Solutions of Human Albumin and Human Plasma Protein Fraction must be kept in sterile containers, sealed so as to exclude micro-organisms, protected from light and stored at a temperature of 4° to 6° C.

Labelling – The label on the container shall give all the information shown on the appropriate model label (Annex 4). For solutions, the date of preparation is the date of heat treatment in the final container.

4. *Human Normal Immunoglobulin*

Human Normal Immunoglobulin is a preparation of the plasma proteins prepared from Whole Human Blood, containing the antibodies of normal adults. It is obtained from pooled liquid human plasma from not less than 1000 donors.

- (ii) L'électrophorèse, pratiquée en migration libre dans des conditions acceptables et appropriées, montre que le pourcentage des protéines qui ont la mobilité du composant albuminique du plasma humain normal est au moins de 95 % pour les préparations d'Albumine Humaine ou d'au moins 85 % pour les Solutions Stables de Protéines Plasmatisques Humaines.

Taux de sodium – Le taux de sodium de l'Albumine Humaine pauvre en sel ne doit pas excéder 0,014 g de sodium par gramme d'albumine. Dans les autres préparations d'Albumine Humaine et dans les Solutions Stables de Protéines Plasmatisques Humaines, la teneur en sodium ne doit pas dépasser 0,352 g par 100 ml de solution ou de produit sec reconstitué.

Taux de potassium – Le taux de potassium ne doit pas dépasser, dans l'Albumine Humaine et dans les Solutions Stables de Protéines Plasmatisques Humaines, 2 mEq par litre de solution ou de produit desséché reconstitué.

Acidité – Mesuré à la température de 15° à 25° C dans une solution diluée à 1 % p/v de protéines et 0,15M en chlorure de sodium, le pH des deux préparations doit être de $6,8 \pm 0,2$.

Perte de poids par dessiccation – S'il s'agit d'une préparation desséchée, la dessiccation en présence d'anhydride phosphorique sous une pression n'excédant pas 0,02 mm de mercure, pendant 24 heures, ne doit pas provoquer une perte de poids supérieure à 0,5 %.

Stériorité – Le produit final doit être stérile lorsqu'il est étudié par une technique bactériologique convenable.

Conservation – L'Albumine Humaine desséchée doit être placée dans une atmosphère d'azote ou dans le vide, dans un récipient stérile scellé de façon à exclure les micro-organismes et l'humidité. Elle est protégée de la lumière et conservée à une température inférieure à 20° C.

Les solutions d'Albumine Humaine et les Solutions Stables de Protéines Plasmatisques Humaines doivent être conservées dans des récipients stériles, scellés de façon à exclure les micro-organismes. Elles sont protégées de la lumière et conservées à la température de 4° à 6° C.

Étiquetage – L'étiquette du récipient doit donner toutes les informations demandées sur l'étiquette modèle (Annexe 4). Pour les solutions, la date de préparation est la date de chauffage dans le récipient final.

4. *Immunoglobuline Humaine Normale*

L'Immunoglobuline Humaine Normale est une préparation de protéines plasmatisques provenant du Sang Humain Total et contenant les anticorps des adultes normaux. Elle est obtenue à partir du mélange du plasma liquide d'au moins 1000 donneurs.

The method of preparation used should be one which produces a material meeting the requirements herein prescribed and which prevents the transmission of serum hepatitis by the final product. In addition the method of preparation shall be such that the antibodies contained in the starting material shall be concentrated in an adequate amount in the final product. The procedure shall be shown, for each final preparation, to be satisfactory in this respect by titrating in the starting material and in the final product antibodies to at least one virus and one bacterial toxin. The antibodies chosen shall be those for which there are recognised methods of titration.

During preparation no antiseptic or bacteriostatic substance shall be added; a suitable preservative and a stabilising agent may be added to the final preparation to maintain bacterial sterility and stability of the final product.

The final product is issued as a solution the immunoglobulin concentration of which shall be between 10 and 17 g per 100 ml.

Identification –

- (i) By precipitation tests with specific antisera, it must be shown to contain only human plasma proteins.
- (ii) By electrophoresis, using the moving boundary technique under acceptable and appropriate conditions, not less than 90% of the proteins have the mobility of the gamma component of the globulins of normal human plasma.

Stability – Both before and after heating the final solution at 37° C for 7 days there should be no visible evidence of precipitation or turbidity. It is advisable also to carry out tests using an ultracentrifugation method to determine the extent of degradation of the product to smaller molecular weight components. The method used should be one approved by the national control authority.

Acidity – The pH of the final solution shall be 6.8 ± 0.4 when measured at a temperature of 15° to 25° C in a solution diluted to 1% w/v of protein with 0.15M sodium chloride.

Sterility – The final product shall be sterile when examined by a suitable bacteriological method.

Storage – Human Immunoglobulin solution must be kept in a sterile container, sealed so as to exclude micro-organisms, protected from light and stored at a temperature of 4° to 6° C.

Labelling – The label on the container shall give all the information shown on the model label (Annex 5). The date of preparation is the date of filling the final container.

Le procédé de préparation doit être tel que le produit satisfasse aux conditions prescrites plus loin, et tel que le produit final ne transmette pas l'hépatite d'inoculation. De plus la méthode de préparation doit être telle que les anticorps contenus dans le produit initial soient concentrés en quantité adéquate dans le produit final. Le procédé utilisé doit être considéré comme satisfaisant à cet égard, pour chaque préparation, en titrant les anticorps correspondant au moins à un virus et à une toxine bactérienne, dans le produit initial et dans le produit final. On choisira des anticorps pour lesquels il existe des méthodes de titrage éprouvées.

Durant la préparation, aucune substance antiseptique ou bactériostatique ne doit être ajoutée; afin de maintenir la stérilité bactérienne et la stabilité du produit final, on peut lui ajouter un agent conservateur et un stabilisant appropriés.

Le produit final est délivré sous forme de solution dont la concentration en immunoglobuline doit être de 10 à 17 g par 100 ml.

Identification -

- (i) Les tests de précipitation au moyen d'antisérums spécifiques indiquent que le produit contient seulement des protéines plasmatiques humaines.
- (ii) L'électrophorèse, utilisée en migration libre dans des conditions acceptables et appropriées doit montrer qu'au moins 90 % des protéines ont la mobilité du composant gamma des globulines du plasma humain normal.

Stabilité - Aucun signe visible de précipitation ou de turbidité ne doit exister dans la solution finale, avant et après chauffage à 37° C pendant 7 jours. Il est recommandé aussi de faire des contrôles d'ultra-centrifugation pour déterminer l'importance de la dégradation du produit en composants de poids moléculaire plus petit. La méthode utilisée doit être choisie parmi celles qui ont l'approbation de l'autorité nationale de contrôle.

Acidité - Le pH de la solution finale, mesuré à une température de 15° à 25° C après dilution au taux de 1% p/v de protéines dans du chlorure de sodium 0,15 M, doit être de $6,8 \pm 0,4$.

Stérilité - Le produit final doit être stérile lorsqu'il est examiné selon une méthode bactériologique convenable.

Conservation - Les solutions d'Immunoglobuline Humaine seront conservées dans un récipient stérile scellé de façon à exclure les micro-organismes, à l'abri de la lumière et à une température de 4° à 6° C.

Étiquetage - L'étiquette du récipient doit donner toutes les informations demandées sur l'étiquette modèle (Annexe 5). La date de préparation correspond à celle de l'introduction dans le récipient final.

5. *Human Specific Immunoglobulins*

Human Specific Immunoglobulins contain antibodies against designated viral or bacterial agents. Therefore they may be prepared from pools of a limited number of donations.

The following human specific immunoglobulins are included in these requirements:

Human Immunoglobulin Anti-Tetanus
Human Immunoglobulin Anti-Vaccinia.

Other specific immunoglobulins may be developed and when the appropriate international standard is in existence, they should be assayed in relation to that standard and their potency expressed in international units.

Human Immunoglobulin Anti-Vaccinia shall contain not less than 500 IU per ml of vaccinia antibody as determined by a neutralisation test on chorio-allantoic membranes or in tissue culture. Human Immunoglobulin Anti-Tetanus shall contain not less than 50 IU per ml of tetanus antitoxin as determined by a neutralisation test in animals.

Human Specific Immunoglobulins must further meet the requirements as described in section 4, Human Normal Immunoglobulin.

Depending on the antibody content, the immunoglobulin concentration of the final solution may vary between 10 and 17 g. per 100 ml.

Labelling – The label on the container shall give all the information shown on the model label (Annex 5). In addition the label shall state the potency in international units in terms of the appropriate International Standard or International Reference Preparation.

6. *Dried Human Fibrinogen*

Dried Human Fibrinogen is a dried preparation which contains the soluble constituent of liquid human plasma which, on the addition of thrombin, is transformed to fibrin. The method of preparation used should be one which produces a material meeting the requirements herein prescribed and which minimises the risk of transmitting serum hepatitis. Plasma pools used in the preparation of fibrinogen should contain as few donations as possible.

During preparation no antiseptic or bacteriostatic substance shall be added. The final product shall be freeze-dried.

Solubility – Add water to the recommended volume; the dried preparation must be completely soluble. No precipitation shall occur within 60 minutes of reconstitution.

5. *Immunoglobulines Humaines Spécifiques*

Les Immunoglobulines Humaines Spécifiques renferment des anticorps correspondant à des agents viraux ou bactériens déterminés. C'est pourquoi ces produits seront préparés à partir de mélanges d'un nombre limité de prélèvements.

Les exigences ci-inclues s'appliquent aux immunoglobulines humaines spécifiques suivantes:

Immuno-globuline Humaine Anti-Tétanos

Immuno-globuline Humaine Anti-Vaccine.

D'autres Immunoglobulines Humaines Spécifiques pourront être préparées; si une norme internationale existe, elles devront être contrôlées en fonction de cette norme, et leur activité devra être exprimée en unités internationales.

L'Immunoglobuline Humaine Anti-Vaccine doit contenir au moins 500 UI par ml d'anticorps anti-vaccin, tels qu'ils sont déterminés par une épreuve de neutralisation sur membrane chorio-allantoïde ou sur culture de tissus. L'Immunoglobuline Humaine Anti-Tétanique doit contenir au moins 50 UI par ml d'antitoxine tétanique telle qu'elle est déterminée par une épreuve de neutralisation chez l'animal.

Les Immunoglobulines Humaines Spécifiques doivent en outre satisfaire aux exigences décrites au paragraphe 4, Immunoglobuline Humaine Normale.

Suivant le taux d'anticorps, la concentration en immunoglobuline de la solution finale variera entre 10 et 17 g par 100 ml.

Étiquetage – L'étiquette du récipient doit donner toutes les informations demandées sur l'étiquette modèle (Annexe 5). En outre l'étiquette devra indiquer l'activité exprimée en unités internationales dans les mêmes termes que pour l'étalon international ou préparation internationale de référence appropriés.

6. *Fibrinogène Humain Desséché*

Le Fibrinogène Humain Desséché est une préparation sèche renfermant le constituant soluble du plasma humain liquide qui, après addition de thrombine, est transformé en fibrine. La méthode de préparation utilisée doit être telle que le produit final satisfasse aux conditions prescrites plus loin, et telle qu'elle réduise le risque de transmission de l'hépatite d'inoculation. Les mélanges de plasma utilisés dans la préparation du fibrinogène doivent provenir d'aussi peu de prélèvements que possible.

Durant la préparation aucune substance antiseptique ou bactériostatique ne doit être ajoutée. Le produit final doit être lyophilisé.

Solubilité – Le produit sec doit être complètement soluble après addition de la quantité d'eau prescrite. Aucun précipité ne doit apparaître dans les 60 minutes qui suivent la reconstitution.

Identification –

- (i) By precipitation tests with specific antisera, it must be shown to contain only human plasma proteins.
- (ii) The freshly reconstituted product has the property of clotting on the addition of thrombin. When thrombin is added to a solution of Human Fibrinogen of the same concentration as that in fresh normal plasma, clotting shall occur in not more than twice the time taken for clotting to occur in fresh normal plasma after the addition of thrombin.
- (iii) Clottable protein. Not less than 50% of the total protein shall be clottable by thrombin.

Loss of weight on drying — Preparations, when dried over phosphorus pentoxide at a pressure not exceeding 0.02 mm of mercury for 24 hours, must not lose more than 0.5% of their weight.

Sterility – The final product after reconstitution shall be sterile when examined by a suitable bacteriological method.

Storage – Human Fibrinogen shall be kept in an atmosphere of nitrogen or in a vacuum in a sterile container, sealed so as to exclude micro-organisms and, as far as possible, moisture, protected from light and stored at the temperature recommended.

Labelling – The label on the container shall give all the information shown on the model label (Annex 6). The date of preparation is the date of placing into final solution before freeze-drying.

Identification –

- (i) Les essais de précipitation au moyen d'antisérums spécifiques doivent indiquer que le produit contient seulement des protéines plasmatiques humaines.
- (ii) Le produit qui vient d'être reconstitué a la propriété de coaguler par addition de thrombine. Après addition de thrombine à une solution de Fibrinogène Humain dont la concentration a été ramenée à celle du plasma normal frais, la coagulation doit apparaître en un temps n'excédant pas le double du temps de coagulation du plasma normal frais après addition de thrombine.
- (iii) Protéine coagulable. Pas moins de 50 % des protéines totales doivent être coagulables par la thrombine.

Perte de poids par dessiccation – La dessiccation en présence d'anhydride phosphorique sous une pression n'excédant pas 0,02 mm de mercure pendant 24 heures, ne doit pas provoquer une perte de poids supérieure à 0,5%.

Stérilité – Le produit final après reconstitution doit être stérile lorsqu'il est étudié par une méthode bactériologique appropriée.

Conservation – Le Fibrinogène Humain est placé dans une atmosphère d'azote ou dans le vide, dans un récipient stérile, scellé de façon à exclure les micro-organismes et autant que possible l'humidité; il est protégé de la lumière et conservé à la température recommandée.

Étiquetage – L'étiquette du récipient doit donner toutes les informations demandées sur l'étiquette modèle (Annexe 6). La date de préparation est la date de la dissolution finale avant la lyophilisation.

ANNEXE 1 AU PROTOCOLE
ANNEX 1 TO THE PROTOCOL
CONSEIL DE L'EUROPE
COUNCIL OF EUROPE

*Accord européen relatif à l'échange
de substances thérapeutiques d'origine humaine*
*European Agreement on the exchange
of therapeutic substances of human origin*

Certificat
(Article 4)
Certificate

A NE PAS DETACHER DE L'ENVOI
NOT TO BE SEPARATED FROM THE SHIPMENT

..... 19.....
(lieu) (date)
(place)

Nombre de
colis
Number of
packages
.....

Désignation
Marked
.....

N^o des lots
Batch No.
.....
.....
.....
.....

Le soussigné déclare que l'envoi spécifié en marge
The undersigned certifies that the shipment in the
margin
.....
préparé sous la responsabilité de
prepared under the responsibility of
.....
.....
organisme visé à l'article 6 de l'Accord, est con-
forme aux spécifications du Protocole à l'Accord et
qu'il peut être délivré immédiatement au destina-
taire (nom et lieu)
one of the bodies referred to in Article 6 of the
Agreement, is in conformity with the specifi-
cations of the Protocol to the Agreement and can
be delivered immediately to the consignee (name
and place)
.....

(cachet) (signature) (titre)
(stamp) (signature) (title)

ANNEXE 2 AU PROTOCOLE
ANNEX 2 TO THE PROTOCOL

CONSEIL DE L'EUROPE
COUNCIL OF EUROPE

*Accord européen relatif à l'échange
de substances thérapeutiques d'origine humaine*
*European Agreement on the exchange
of therapeutic substances of human origin*

1. Nom et adresse du producteur:
Name and address of the producer:
2. Sang Humain Total
Whole Human Blood
3. Numéro de référence:
Reference number:
4. Groupe sanguin:
Blood-group:
5. Groupe Rh:
Rh-group:
6. ml { solution anticoagulante
 { anti-coagulant solution
 % glucose
 { citrate disodique
 { di-sodium citrate
 { de sang
 { blood
 { non déterminé
 { non determined
7. Titre d'iso-hémolysines { déterminé
Iso-haemolysin titre { determined
8. Date de prélèvement {
Date of collection { :
Date de péremption {
Date of expiry { :

9. Conserver de 4° à 6°C.
Store at 4° to 6°C.
 10. Ne pas utiliser en cas de signe visible quelconque d'altération.
Not to be used if there is any visible evidence of deterioration.
-

ANNEXE 3 AU PROTOCOLE
ANNEX 3 TO THE PROTOCOL

CONSEIL DE L'EUROPE
COUNCIL OF EUROPE

*Accord européen relatif à l'échange
de substances thérapeutiques d'origine humaine*

*European Agreement on the exchange
of therapeutic substances of human origin*

1. Nom et adresse du producteur:
Name and address of the producer:
 2. Plasma Humain Desséché
Dried Human Plasma
 3. Numéro de référence:
Reference number:
 4. Reconstituer avec ml d'eau distillée, stérile et apyrogène.
Reconstitute with ...ml sterile, pyrogen-free, distilled water.
 5. Le plasma reconstitué contient:
The reconstituted plasma contains:
% glucose
% { citrate disodique
 { di-sodium citrate
% { au moins de protéines
 { at least protein
 6. Nombre de prélèvements individuels dans le mélange:
Number of individual donations in pool:
 7. Date de préparation:
Date of preparation:
Date de péremption:
Date of expiry:
8. Protéger de la lumière et conserver à une température inférieure à 20°C.
Store, protected from light, below 20°C.
 9. A utiliser immédiatement après la reconstitution.
To be used immediately after reconstitution.

ANNEXE 4 (*suite 1*)
 ANNEX 4 (*continued 1*)
 CONSEIL DE L'EUROPE
 COUNCIL OF EUROPE

*Accord européen relatif à l'échange
 de substances thérapeutiques d'origine humaine*

*European Agreement on the exchange
 of therapeutic substances of human origin*

1. Nom et adresse du producteur:
 Name and address of the producer:
 2. Solution d'Albumine Humaine }
 Human Albumin Solution } ml
 3. Numéro du lot:
 Batch number:
 4. Albumine }
 Albumin } g/100 ml
 Stabilisateur }
 Stabilizer } nature, g/100 ml
 Sodium: mg/g } d'albumine
 } albumin
 5. Date de préparation:
 Date of preparation:
 Date de péremption:
 Date of expiry:
6. Protéger de la lumière et conserver de 4° à 6°C.
 Store, protected from light, at 4° to 6°C.
 7. A injecter seulement si le liquide est clair et sans dépôt.
 Not to be used unless clear and free from deposits.

ANNEXE 4 (*suite 2*)
ANNEX 4 (*continued 2*)

CONSEIL DE L'EUROPE
COUNCIL OF EUROPE

*Accord européen relatif à l'échange
de substances thérapeutiques d'origine humaine*
*European Agreement on the exchange
of therapeutic substances of human origin*

1. Nom et adresse du producteur:
Name and address of the producer:
2. Solution Stable de Protéines Plasmatiques Humaines } ml
Plasma Protein Fraction }
3. Numéro du lot:
Batch number:
4. Albumine } g/100 ml
Albumin }
Stabilisateur } nature g/100 ml
Stabilizer }
Sodium: mg/100 ml
5. Date de préparation:
Date of preparation:
Date de péremption:
Date of expiry:

- | |
|--|
| <ol style="list-style-type: none"> 6. Protéger de la lumière et conserver de 4° à 6° C.
Store, protected from light, at 4° to 6° C. 7. A injecter seulement si le liquide est clair et sans dépôt.
Not to be used unless clear and free from deposits. |
|--|

ANNEXE 5 AU PROTOCOLE
ANNEX 5 TO THE PROTOCOL

CONSEIL DE L'EUROPE
COUNCIL OF EUROPE

*Accord européen relatif à l'échange
de substances thérapeutiques d'origine humaine*

*European Agreement on the exchange
of therapeutic substances of human origin*

1. Nom et adresse du producteur:
Name and address of the producer:
2. Immunoglobuline Humaine Normale
Human Normal Immunoglobulin
3. Numéro du lot:
Batch number:
4. Protéines totales } g/100 ml
Total protein }
Autres substances ajoutées } nature, g/100 ml
Other material introduced }
Volume total } ml
Total volume }
5. Date de préparation:
Date of preparation:
Date de péremption:
Date of expiry:

6. Protéger de la lumière et conserver de 4° à 6° C.
Store, protected from light, at 4° to 6° C.

7. Ne pas injecter par voie intraveineuse.
Not for intravenous injection.

ANNEXE 6 AU PROTOCOLE
ANNEX 6 TO THE PROTOCOL

CONSEIL DE L'EUROPE
COUNCIL OF EUROPE

*Accord européen relatif à l'échange
de substances thérapeutiques d'origine humaine*
*European Agreement on the exchange
of therapeutic substances of human origin*

1. Nom et adresse du producteur:
Name and address of the producer:
 2. Fibrinogène Humain Desséché
Dried Human Fibrinogen
 3. Numéro du lot:
Batch number:
 4. Protéine coagulable } g
Clottable protein }
Autres substan- }
ces ajoutées } nature, g/100 ml } de la solution
Other material } } reconstituée
introduced } } reconstituted
solution
 5. Date de préparation:
Date of preparation:
Date de péremption:
Date of expiry:
 6. Reconstituer avec ml d'eau distillée, stérile et apyrogène.
Reconstitute with ml sterile, pyrogen-free, distilled water.
 7. Nombre de prélèvements individuels dans le mélange }
Number of individual donations in pool }
8. Protéger de la lumière et conserver à une température inférieure à 20° C.
Store, protected from light, below 20° C.
 9. A injecter immédiatement après la reconstitution.
To be used immediately after reconstitution.

ANNEXE 7 AU PROTOCOLE
ANNEX 7 TO THE PROTOCOL

CONSEIL DE L'EUROPE
COUNCIL OF EUROPE

*Accord européen relatif à l'échange
de substances thérapeutiques d'origine humaine*

*European Agreement on the exchange
of therapeutic substances of human origin*

1. Nom et adresse du producteur:
Name and address of the producer:
2. Eau distillée, stérile et apyrogène
Sterile, pyrogen-free distilled water.

Pour la reconstitution	du Plasma Humain Desséché, de l'Albumine Humaine Desséchée
ou	du Fibrinogène Humain Desséché
For the reconstitution of	Dried Human Plasma Dried Human Albumin
or	Dried Human Fibrinogen
3. Quantité } ml
Quantity }

ANNEXE 8 AU PROTOCOLE
ANNEX 8 TO THE PROTOCOL

CONSEIL DE L'EUROPE
COUNCIL OF EUROPE

*Accord européen relatif à l'échange
de substances thérapeutiques d'origine humaine*

*European Agreement on the exchange
of therapeutic substances of human origin*

1. Nom et adresse du producteur:
Name and address of the producer:

2. Dispositif à Injection
Giving-set

Dispositif pour l'administration du Sang Humain Total, du Plasma Humain Desséché Reconstitué, de l'Albumine Humaine, des Solutions Stables de Protéines Plasmatiques Humaines ou du Fibrinogène Humain.

Giving-set for the administration of Whole Human Blood, Reconstituted Dried Human Plasma, Human Albumin, Human Plasma Protein Fraction or Human Fibrinogen.

ANNEX 9 TO THE PROTOCOL
COUNCIL OF EUROPE

*European Agreement on the Exchange
of Therapeutic Substances of Human Origin*

**Freedom from toxicity of plastic
blood transfusion equipment**

I. Chemical tests

The material to be tested shall be taken from sterilised equipment, e.g. in the state in which it would be used for transfusion.

The manufacturer of the transfusion equipment is required to disclose to the appropriate health authority the detailed formulations of the plastics material or materials and other materials used in the manufacture of the equipment, the source of the components of the material or materials and their methods of manufacture (or, alternatively, the compound reference numbers), details of manufacture of the equipment, the nature of any processing additives and adhesives and the method of sterilisation. No change shall be permitted in any of the foregoing without prior submission to and approval of the appropriate health authority.

Each batch of raw material used in the manufacture of the equipment shall be identified by a batch number, which shall be recorded by the manufacturer of the equipment together with the identification numbers of all batches of transfusion equipment made from it and the results of all tests relevant to these batches.

Every practicable precaution must be taken to reduce the risk of adventitious contamination at each stage of the manufacturing process.

A. Preparation of eluate and blank

(a) A total test as described below requires 1.250 cm² plastics (total surface area, both sides, of a plastic sample in sheet form with surface area of 625 cm²). The sample – without any printing or label on it – should be cut into pieces of not more than 10 cm².

For tubing with a wall thickness of 1 mm and under, the length (L) in cm is calculated as follows:

$$L = \frac{A}{3.14 (D_1 + D_2)}$$

A = total surface area cm²

D₁ = inner diameter cm

D₂ = outer diameter cm

ANNEXE 9 AU PROTOCOLE
CONSEIL DE L'EUROPE

*Accord européen relatif à l'échange
de substances thérapeutiques d'origine humaine*

**Innocuité des appareillages de transfusion sanguine
en matière plastique**

I. Essais chimiques

Le matériel à essayer doit être prélevé sur un appareil stérilisé, c'est-à-dire dans l'état dans lequel il serait employé pour la transfusion.

Le fabricant d'appareillage de transfusion est tenu de dévoiler aux autorités sanitaires compétentes la formulation détaillée de la ou des matières plastiques et de toute autre substance utilisée pour la fabrication de l'appareillage, ainsi que d'indiquer l'origine des composés entrant dans la fabrication de la ou des matières, leur méthode de fabrication (ou, à défaut, les numéros de référence du composé), les méthodes détaillées de fabrication de l'appareillage, la nature de tout additif et adhésif employés en cours de production, ainsi que le mode de stérilisation. Aucune modification ne peut être apportée aux données ci-dessus si elle n'a pas été communiquée au préalable à l'autorité sanitaire compétente et approuvée par elle.

Chaque lot de matière première utilisée pour la fabrication de l'appareillage est identifié par un numéro qui est consigné par le fabricant, en même temps que les numéros d'identification de tous les lots d'appareillages de transfusion fabriqués à partir de cette matière première et les résultats de toutes les analyses auxquelles ils ont été soumis.

Toutes les précautions possibles doivent être prises pour diminuer les risques de contamination accidentelle à chaque stade de fabrication.

A. Préparation de l'éluat et de la substance témoin

(a) Pour effectuer un essai complet tel qu'il est décrit ci-dessous, on utilise 1.250 cm² de matière plastique (surface totale des deux faces d'un échantillon constitué par une feuille de matière plastique dont chaque face mesure 625 cm²). L'échantillon qui ne porte aucune indication écrite ou étiquette doit être découpé en morceaux de 10 cm² au maximum.

La longueur (L) des tuyaux, dont l'épaisseur de paroi ne dépasse pas 1 mm, est calculée comme suit:

$$L = \frac{A}{3,14 (D_1 + D_2)}$$

- A = surface totale en cm²
D₁ = diamètre intérieur en cm
D₂ = diamètre extérieur en cm

The tubing should be cut lengthwise into sections measuring 10 cm. For the eluation 10 ml of water is used per surface area of 50 cm².

(b) The pieces of the plastic film or tubing should be placed in a bottle of borosilicate glass with 250 ml distilled water obtained from an efficient still having glass condensation surfaces and collecting tubes¹. The neck of the bottle is covered with an inverted beaker and the bottle is then heated in saturated steam at 110° C for 30 minutes (autoclaving) and then quickly cooled to room temperature. It is of no significance if the plastic specimens tend to stick together slightly.

Heat-sensitive plastic material, instead of being heated in an autoclave, may be heated at 70° C for 72 hours.

A blank preparation is made in a corresponding manner omitting the plastic.

B. Tests on the eluate

1. *Oxidisable matter*

To 20 ml of the eluate in an Erlenmeyer flask of borosilicate glass add 20 ml of 0.01 N potassium permanganate solution and 1.0 ml of 2 N sulphuric acid and boil the mixture for 3 minutes. Cool the solution rapidly and add 0.1 g of potassium iodide and 5 drops of starch solution. Titrate with 0.01 N sodium thiosulphate solution. At the same time carry out a blank titration. The difference in the volume of thiosulphate used in the two titrations does not exceed 2.00 ml of 0.01 N sodium thiosulphate.

2. *Chloride*

The eluate complies with a suitable limit test for chloride equivalent to not more than 400 microgrammes Cl⁻ per litre.

3. *Sulphate*

The eluate complies with a suitable limit test for sulphate equivalent to not more than 2.5 mg SO₄²⁻ per litre.

4. *Ammonia*

The eluate complies with a suitable limit test for ammonia equivalent to not more than 2.0 mg NH₃ per litre.

5. *Phosphoric Acid - Phosphate*

The eluate complies with the limit test for phosphate.

If the plastics have been in contact with an anti-coagulant solution, the pieces should first be placed in a similar bottle with cold distilled water (100 ml) and shaken several times. This should be repeated once.

Les tuyaux doivent être découpés dans le sens de la longueur, en tronçons de 10 cm. Pour l'éluat, on utilise 10 ml d'eau par 50 cm².

(b) Les morceaux de pellicule ou de tuyau en matière plastique doivent être introduits dans un flacon de verre borosilicate avec 250 ml d'eau distillée provenant d'un alambic efficace muni de surfaces de condensation et de tubes de captage en verre¹. Le col de la bouteille est recouvert d'un becher renversé et la bouteille est ensuite réchauffée dans la vapeur saturée à 110° C pendant 30 minutes (dans l'autoclave) et rapidement refroidie à la température de la pièce. Il n'est pas nécessaire de tenir compte d'une éventuelle légère adhérence entre les échantillons de matière plastique.

Au lieu d'être chauffées dans un autoclave, les matières plastiques sensibles à la chaleur peuvent être chauffées à 70° C pendant 72 heures.

Une solution témoin correspondante est préparée sans les matières plastiques.

B. Essais sur l'éluat

1. *Matières oxydables*

A 20 ml de l'éluat contenus dans une fiole Erlenmeyer de verre borosilicate, ajoutez 20 ml de solution de permanganate de potassium 0,01 N et 1,0 ml d'acide sulfurique 2 N, et faites bouillir le mélange pendant 3 minutes. Refroidissez la solution rapidement et ajoutez 0,1 g d'iodure de potassium et 5 gouttes de solution d'amidon. Titrez par une solution de thiosulfate de sodium 0,01 N en effectuant un titrage parallèle avec la solution témoin. La différence entre la quantité de thiosulfate utilisée dans les deux titrages ne dépasse pas 2,00 ml de thiosulfate de sodium 0,01 N.

2. *Chlorure*

L'éluat satisfait à un essai-limite approprié pour les chlorures correspondant à un maximum de 400 microgrammes de Cl' par litre.

3. *Sulfate*

L'éluat satisfait à un essai-limite approprié pour les sulfates correspondant à un maximum de 2,5 mg de SO₄' par litre.

4. *Ammoniaque*

L'éluat satisfait à un essai-limite approprié pour l'ammoniaque correspondant à un maximum de 2,0 mg de NH₃ par litre.

5. *Acide phosphorique - phosphate*

L'éluat satisfait à l'essai-limite des phosphates.

¹) Dans le cas de matières plastiques qui ont été en contact avec une solution anti-coagulante, les morceaux devraient être introduits d'abord dans un flacon semblable contenant de l'eau distillée froide (100 ml), qui est agité plusieurs fois. Cette opération doit être répétée une fois encore.

Limit test for phosphate

Evaporate 25 ml of the eluate almost to dryness in a Kjeldahl flask, cool the residue, add 2 drops sulphuric acid and 1 ml nitric acid, heat the mixture until white fumes appear, then cool. Add 1 drop of perchloric acid and heat gently for half an hour. Cool the residue and add water to 25 ml. Transfer 10 ml of the solution to a 25 ml titration flask, add 8 ml ammonium molybdate sulphuric acid solution and 2 ml of freshly prepared 10 per cent w/v solution of ascorbic acid. Heat on a water bath at 50° C for thirty minutes, cool and dilute the mixture to 25 ml. The green or blue colour of the solution is not more intense than that obtained by treating 25 ml of blank solution in the same manner.

6. *Acidity or alkalinity*

10 ml of the eluate is not coloured red on the addition of 2 drops of phenolphthalein solution and requires not more than 0.4 ml of 0.01 N sodium hydroxide to produce a red colour. After removal of the colour by the addition of 0.8 ml 0.01 N hydrochloric acid, the addition of 5 drops of methyl red solution produces a red or orange-red colour.

7. *Residue on evaporation*

Evaporate 100 ml of the eluate to dryness on a water bath and dry at 105° C to constant weight. The residue weighs not more than 5.0 mg.

8. *Clarity and colour*

The eluate, when viewed through a thickness of 5 cm, is clear and colourless when compared with the blank.

9. *Taste and smell*

The eluate compared with the blank is odourless and tasteless.

10. *Special elements*

When examined by spectral analysis the eluate does not reveal: arsenic, cadmium, chromium, copper, lead, silicon, silver or tin.

C. Tests on the plastic material

11. *Residue on ignition*

1.0 g of the plastic material when ignited to constant weight leaves not more than 1 mg of residue.

12. *Heavy metals*

Dissolve the residue on ignition in the minimum quantity of 2 N hydrochloric acid, heating if necessary. Carry out a suitable limit test for heavy metals. The plastic material complies with a limit not exceeding 5 microgrammes per gramme calculated as Pb.

Essai-limite des phosphates

Faites évaporer 25 ml de l'éluat presque à sec dans une fiole Kjeldahl, refroidissez le résidu, ajoutez 2 gouttes d'acide sulfurique et 1 ml d'acide nitrique, chauffez le mélange jusqu'à dégagement de vapeurs blanches et refroidissez. Ajoutez une goutte d'acide perchlorique et chauffez doucement pendant une demi-heure. Refroidissez le résidu et ajoutez de l'eau pour obtenir 25 ml. Transvasez 10 ml de la solution dans une fiole de titrage de 25 ml, ajoutez 8 ml de solution de molybdate d'ammonium-acide sulfurique et 2 ml d'une solution d'acide ascorbique à 10 % p/v récemment préparée. Chauffez au bain-marie à 50° C pendant 30 minutes, refroidissez et étendez le mélange à 25 ml. La coloration verte ou bleue de la solution n'est pas plus intense que celle obtenue en traitant 25 ml de la solution témoin de la même façon.

6. Réaction

10 ml de l'éluat ne prennent pas une coloration rouge par addition de 2 gouttes de solution de phénolphthaléine et n'exigent pas plus de 0,4 ml d'hydroxyde de sodium 0,01 N pour donner une coloration rouge. Après élimination de cette coloration par addition de 0,8 ml d'acide chlorhydrique 0,01 N, l'addition de 5 gouttes de solution de rouge de méthyle donne une coloration rouge ou rouge-orangée.

7. Résidu à l'évaporation

Faites évaporer 100 ml de l'éluat à sec au bain-marie et séchez à 105° C jusqu'à poids constant. Le résidu ne pèse pas plus de 5,0 mg.

8. Limpidité et couleur

L'éluat, observé à travers une épaisseur de 5 cm, est limpide et incolore lorsqu'il est comparé à la solution témoin.

9. Saveur et odeur

Comparé à la solution témoin l'éluat est inodore et sans saveur.

10. Eléments spéciaux

L'analyse spectrale ne fournit aucune trace d'arsenic, de cadmium, chrome, cuivre, plomb, silicium, argent ou étain.

C. Essais sur les matières plastiques

11. Résidu à l'incinération

1,0 g des matières plastiques, incinéré à poids constant, ne doit pas laisser de résidu dépassant 1 mg.

12. Métaux lourds

Dissolvez le résidu à l'incinération dans une quantité minimum d'acide chlorhydrique 2 N en chauffant, le cas échéant. Effectuez un essai-limite approprié pour les métaux lourds. La matière plastique satisfait à une limite ne dépassant pas 5 microgrammes par gramme, calculée comme Pb.

II. Biological tests

(1) A test for undue toxicity shall be carried out, using eluates A and B (as defined in Note below), by the procedure specified in the national pharmacopoeia or some other method approved by the national control authority.

(2) A test for freedom from pyrogens shall be carried out, using eluates A and C (as defined in Note below), by the procedure specified in the national pharmacopoeia or some other method approved by the national control authority.

(3) A test for haemolytic effects in buffered systems shall be performed using the eluate described in paragraph I. A above. (For method and acceptable limit see Appendix to the present Annex).

(4) A test for the *in vivo* survival of red cells shall be carried out in the initial evaluation of plastics formulations intended for the fabrication of containers for blood. If any change is made in the agreed formulation, the test shall be repeated. (For suggested methods and acceptable limit see Appendix to the present Annex.)

Note

Eluate A is prepared by adding to the eluate described in I.A. above pyrogen-free sodium chloride to a final concentration of 0.9 per cent.

Eluate B: Fill a transfusion set as completely as possible with sterile saline solution, clamp the ends securely and immerse the filled set completely for 1 hour in water maintained at 85° C. Collect the contents of the set.

Eluate C: Pass 40 ml portions of sterile pyrogen-free isotonic saline solution at room temperature through not less than ten transfusion sets at a flow rate of approximately 10 ml per minute and pool the effluents. Test the solution obtained.

APPENDIX

Biological test: limits and methods

A. Test for undue toxicity

(See Item II, 1 of Annex above): limit as specified in national pharmacopoeias.

B. Test for freedom from pyrogens

(See Item II, 2 of Annex above): limit as specified in national pharmacopoeias.

C. Test for haemolytic effects in buffered systems

(See Item II, 3 of Annex above):

II. Analyses biologiques

(1) La recherche d'un excès de toxicité sera effectuée à l'aide des éluats A et B (voir note ci-dessous), selon la procédure prescrite dans la pharmacopée nationale ou toute autre méthode approuvée par l'autorité nationale chargée du contrôle.

(2) Le contrôle d'apyrogénéité sera effectué à l'aide des éluats A et C (voir note ci-dessus) selon la procédure prescrite dans la pharmacopée nationale ou toute autre méthode approuvée par l'autorité nationale chargée du contrôle.

(3) L'analyse des effets hémolytiques dans un système tamponné sera effectuée à l'aide de l'éluat exposé sous I. A ci-dessus. (Pour la méthode et les limites acceptables, voir appendice à la présente annexe).

(4) Un test de survie *in vivo* des globules rouges sera effectué lors de l'analyse initiale des formulations des matières plastiques destinées à la fabrication des flacons de sang. Si quelque modification est apportée à la formulation convenue, le test est répété. (Voir les méthodes proposées et les limites acceptables figurant à l'appendice de la présente annexe).

Note

Eluat A: Ajouter à l'éluat décrit sous I. A ci-dessus du chlorure de sodium apyrogène jusqu'à obtention finale d'une concentration de 0,9 pour cent.

Eluat B: Remplir un appareil de transfusion, aussi complètement que possible, d'une solution saline stérile, en fixer les extrémités et immerger complètement l'appareil ainsi rempli pendant une heure dans de l'eau maintenue à 85° C. Recueillir le contenu de l'appareil.

Eluat C: Passer 40 ml de solution saline isotonique apyrogène stérile, à température ambiante, à travers dix appareils de transfusion au moins, à raison de 10 ml environ par mn et recueillir le filtrat. Analyser la solution ainsi obtenue.

APPENDICE

Analyse biologique: limites et méthodes

A. Analyse concernant la recherche d'un excès de toxicité
(Voir II, 1 de l'annexe ci-dessus): limite prescrite dans la pharmacopée nationale.

B. Analyse concernant le contrôle d'apyrogénéité
(Voir II, 2 de l'annexe ci-dessus): limite prescrite dans la pharmacopée nationale.

C. Analyse des effets hémolytiques dans un système tamponné
(Voir II, 3 de l'annexe ci-dessus):

(a) Limit:

0.50 % salt solution shall not cause a haemolysis value higher than 10 per cent and 0.40 % salt solution shall not differ by more than 10 % in haemolysis value from that caused by the corresponding blank.

(b) Method:

From the primary buffer stock solution for haemolysis three solutions are prepared: 30 ml buffer stock solution and 10 ml water (solution a_0), 30 ml buffer stock solution and 20 ml water (solution b_0) and 15 ml buffer stock solution and 85 ml water (solution c_0).

To each of three centrifuge tubes (1, 2 and 3) 1.40 ml eluate are added. To tube 1 is added 0.10 ml a_0 , to tube 2 0.10 ml b_0 , and to tube 3 0.10 ml c_0 , thus obtaining salt solutions corresponding to 0.50 % (tube 1), 0.40 % (tube 2) and 0.10 % (tube 3) of sodium chloride in so far as electrolyte osmotic action is concerned. To each tube is added 0.020 ml fresh, well mixed heparinised human blood. The tubes are put into water bath at 30° C ($\pm 1^\circ$) for 40 minutes. Then three solutions containing 3.0 ml a_0 and 12.0 ml water (solution a_1), 4.0 ml b_0 and 11.0 ml water (solution b_1), and 4.75 ml b_0 and 10.25 ml water (solution c_1) are prepared.

To the first tube is added 1.50 ml of a_1 , to the second 1.50 ml of b_1 and to the third 1.50 ml of c_1 . The tubes are centrifuged for 5 minutes in a horizontal centrifuge. Subsequently, control solutions, in which the eluate is replaced with water, are prepared for each of the concentrations.

The extinction at 540 nm of the liquid layer is measured. Buffer stock solution for haemolysis is used as blank. The haemolysis value in per cent is calculated according to the following formula:

$$\frac{E_{\text{exp}}}{E_{100\%}} \times 100$$

where $E_{100\%}$ = extinction for 0.10 % salt solution

and E_{exp} = extinction for 0.40 and 0.50 % salt solution respectively.

Buffer stock solution for haemolysis

90.0 g sodium chloride, 13.7 g disodium phosphate and 1.90 g monosodium phosphate are dissolved in 1000.0 ml water.

D. Test for the *in vivo* survival of red cells
(See Item II. 4 of Annex above):

(a) Limite:

Une solution de chlorure de sodium à 0,50 % ne doit pas donner de valeur d'hémolyse supérieure à 10 %, et la valeur d'hémolyse d'une solution salée à 0,40 % ne doit pas différer de plus de 10 % de la valeur obtenue avec la solution-témoin correspondante.

(b) Méthode:

A partir de la solution tampon-mère pour hémolyse, on prépare trois solutions: 30 ml de la solution-mère et 10 ml d'eau (solution a_0), 30 ml de la solution-mère et 20 ml d'eau (solution b_0) et 15 ml de la solution-mère et 85 ml d'eau (solution c_0).

Dans trois tubes à centrifugation (1, 2 et 3), on ajoute 1,40 ml d'éluat. Dans le tube 1, on ajoute 0,10 ml de solution a_0 ; dans le tube 2, 0,10 ml de solution b_0 et dans le tube 3, 0,10 ml de solution c_0 ; on obtient donc des solutions salées correspondant à 0,50 % (tube 1), à 0,40 % (tube 2) et à 0,10 % (tube 3) en chlorure de sodium, en ce qui concerne l'action osmotique de l'électrolyte. On ajoute dans chaque tube 0,020 ml de sang humain hépariné, frais et bien homogénéisé. Les tubes sont placés dans un bain-marie à 30° C ($\pm 1^\circ$) pendant 40 minutes. Puis on prépare trois solutions contenant 3,0 ml de a_0 et 12,0 ml d'eau (solution a_1); 4,0 ml de b_0 et 11,0 ml d'eau (solution b_1) et 4,75 ml de b_0 et 10,25 ml d'eau (solution c_1).

Dans le tube 1, on met 1,50 ml de a_1 , dans le tube 2, 1,50 ml de b_1 et dans le tube 3, 1,50 ml de c_1 . Les tubes sont alors centrifugés 5 minutes dans une centrifugeuse horizontale. Ultérieurement, des solutions-témoins dans lesquelles l'éluat est remplacé par de l'eau sont préparées pour chaque concentration.

L'extinction à 540 nm due à la couche liquide est mesurée. Comme référence, on utilise la solution tampon-mère pure. La valeur de l'hémolyse en % est calculée par la formule suivante:

$$\frac{E_{\text{exp}}}{E_{100\%}} \times 100$$

où $E_{100\%}$ = extinction pour une solution saline à 0,10 %

E_{exp} = extinction pour respectivement des solutions salines à 0,40 et 0,50 %.

Solution tampon-mère pour mesurer le taux d'hémolyse

90,0 g de chlorure de sodium; 13,7 g de phosphate disodique et 1,90 g de phosphate monosodique, dissout dans 1.000 ml d'eau.

D. Test de survie *in vivo* des globules rouges
(Voir II, 4 de l'annexe ci-dessus):

(a) *Limit:*

Whole human blood in ACD anticoagulant which has been stored for 21 days at 4–6° C shall have a 24 hour post-transfusion survival value of at least 70 %. This can be determined according to one of the methods proposed in (b) below.

(b) *Suggested methods:*

1. Method of ISO/TC/76/WGD/3, App. E.
 2. Ashby Technique – Ashby, W. The determination of the length of life of transfused blood corpuscles in man. *J. Exp. Med.* 29: 267-82, 1919.
Young, L. E., Platzer, R. F. and Rafferty, J. A. Differential agglutination of human erythrocytes. *J. Lab. Clin. Med.* 32: 489-501, 1947.
 3. The Gibson-Scheitlin method – Gibson, J. G. and Scheitlin, W.A. A method employing radio-active chromium for assaying the viability of human erythrocytes returned to the circulation after refrigerated storage. *J. Lab. Clin. Med.* 46: 679-88, 1955.
 4. The Strumia method – Strumia, M. M., Taylor, L., Sample A. B., Colwell, L. S. and Dugan, A. Uses and limitations of survival studies of erythrocytes tagged with Cr 51. *Blood* 10: 429-40, 1955.
 5. Cr⁵¹-I¹²⁵ technique – Button, L. N., Gibson, J. G. and Walter, C. W. Simultaneous determination of the volume of red cells and plasma for survival studies of stored blood. *Transfusion* 5: 143-148, 1965.
-

(a) *Limite:*

Le sang humain complet en présence d'une solution anticoagulante ACD, après une conservation de 21 jours à 4°-6° C, doit avoir une survie, 24 heures après la transfusion, d'au moins 70%. Ceci peut être déterminé selon une des méthodes proposées sous (b) ci-après.

(b) *Méthodes proposées:*

1. Méthode de ISO/TC/76/WGD/3, App. E.
 2. Ashby Technique – Ashby, W. The determination of the length of life of transfused blood corpuscles in man. *J. Exp. Med.* 29: 267-82, 1919.
Young, L. E., Platzer, R. F., and Rafferty, J. A. Differential agglutination of human erythrocytes. *J. Lab. Clin. Med.* 32: 489-501, 1947.
 3. The Gibson-Scheitlin method – Gibson, J. G. and Scheitlin, W. A. A method employing radio-active chromium for assaying the viability of human erythrocytes returned to the circulation after refrigerated storage. *J. Lab. Clin. Med.* 46: 679-88, 1955.
 4. The Strumia method – Strumia, M. M., Taylor, L., Sample A. B., Colwell, L. S. and Dugan, A. Uses and limitations of survival studies of erythrocytes tagged with Cr 51. *Blood* 10: 429-40, 1955.
 5. Cr⁵¹-I¹²⁵ technique – Button, L. N., Gibson, J. G. and Walter, C. W. Simultaneous determination of the volume of red cells and plasma for survival studies of stored blood. *Transfusion* 5: 143-148, 1965.
-

De Overeenkomst is in overeenstemming met artikel 7 nog onder-
tekend voor:

Cyprus 30 november 1967

onder voorbehoud van bekrachting of goedkeuring

C. VERTALING

Zie *Trb.* 1959, 118 en *Trb.* 1967, 142.

De vertaling in het Nederlands van het Protocol, met Bijlagen, zoals gewijzigd blijkens het Proces-verbaal d.d. 26 juni 1968 van de Secretaris-Generaal van de Raad van Europa, luidt als volgt:

Protocol bij de Europese Overeenkomst betreffende de uitwisseling van geneesmiddelen van menselijke oorsprong

DEEL I

Algemene voorschriften

A. Etikettering

Elk receptaculum of toedieningssysteem dient voor de verzending te worden voorzien van een in de Engelse en de Franse taal gedrukt etiket, volgens het geëigende model aangegeven in de Bijlagen 2 tot en met 8 van dit Protocol.

B. Verpakking en verzending

Volledig menselijk bloed behoort steeds in een zodanige verpakking te worden verzonden dat, gedurende de gehele periode van het transport, een temperatuur van 4° tot 6° C gehandhaafd wordt.

Deze voorwaarde is geen vereiste voor de verder in het Protocol genoemde, uit bloed bereide produkten.

C. Produkten en apparatuur

De in deel II van dit Protocol genoemde produkten en apparatuur dienen steriel, pyrogeenvrij en niet-toxisch te zijn.

Het verdient aanbeveling bij elke zending het toedieningssysteem zowel als de voor gedroogde produkten benodigde oplosmiddelen mede te zenden.

D. Onschadelijkheid van de plastic bloedtransfusie-apparatuur

De apparatuur dient te voldoen aan de eisen genoemd in bijlage 9 van dit Protocol.

DEEL II

Bijzondere voorschriften*1. Volledig menselijk bloed*

Onder volledig menselijk bloed wordt verstaan bloed dat is afgenomen van een gezond mens en dat is gemengd met een daartoe geschikt antistollingsmiddel.

Het bloed wordt niet afgenomen van een mens:

a) van wie bekend is dat hij lijdende is of geleden heeft aan syfilis of hepatitis;

b) bij wie de serologische reacties op syfilis geen negatieve uitkomsten hebben opgeleverd, of

c) die niet vrij is van enigerlei ziekte die door bloedtransfusie kan worden overgebracht, voor zover dit is na te gaan door een eenvoudig medisch onderzoek en door bestudering van de anamnese.

Het bloed wordt aseptisch afgenomen en door een gesloten en steriel systeem van buizen in een steriel receptaculum geleid waarin, vóór de sterilisatie van het receptaculum, het antistollingsmiddel is gebracht. De gebruikte apparatuur moet pyrogeenvrij zijn. Nadat het bloed is afgenomen, wordt het receptaculum onmiddellijk afgesloten en gekoeld tot een temperatuur van 4° tot 6° C. Het receptaculum wordt daarna niet meer geopend tot het ogenblik waarop het bloed moet worden toegediend.

Het bloed wordt opgevangen in een zure citraat-glucose oplossing. Antiseptische of bacteriostatische stoffen mogen niet worden toegevoegd. Het volume van de antistollingsoplossing mag niet meer bedragen dan 22% van het volume van het afgenomen bloed; het hemoglobinegehalte mag niet lager zijn dan 9,7 g per 100 ml.

Bloedgroepen – De bloedgroep van het ABO-systeem moet bepaald zijn door onderzoek van de rode bloedcellen en van het serum; die van het Rhesussysteem door onderzoek van de rode bloedcellen, waarvoor een afzonderlijk bloedspecimen van de donor wordt gebruikt. Wanneer er een nationaal gestandaardiseerde of aanbevolen techniek bestaat voor bloedgroepen, dient deze techniek te worden toegepast.

De term „Rhesus negatief” mag alleen worden gebruikt wanneer specifieke proeven de afwezigheid van de antigenen C, D, D^u en E in het bloed hebben aangetoond. Al het andere bloed dient van het etiket „Rhesus positief” te worden voorzien.

Het ingevolge deze overeenkomst uitgewisselde bloed mag alleen worden overgebracht op ontvangers behorende tot de overeenkomstige ABO-groep.

Wijze van bewaren – Volledig menselijk bloed wordt bewaard in een steriel receptaculum dat zodanig is afgesloten dat daarin geen micro-organismen kunnen binnendringen; het bloed wordt bewaard

bij een temperatuur van 4° tot 6° C totdat het voor gebruik nodig is, met uitzondering van de perioden die nodig zijn voor onderzoek en transport bij hogere temperaturen; deze perioden mogen echter niet langer dan 30 minuten duren; daarna dient het bloed onmiddellijk weer te worden gekoeld tot 4° tot 6° C.

Etikettering – Op het etiket van het receptaculum dienen alle gegevens te worden vermeld die voorkomen op het model-etiket (Bijlage 2). De Rhesusfactor dient te worden aangegeven met „Positief” of „Negatief” of, afgekort, met „POS” of „NEG”.

2. Gedroogd menselijk bloedplasma

Gedroogd menselijk bloedplasma wordt bereid door de bovengestane vloeistof, die van menselijk bloed door centrifugeren of sedimenteren wordt verkregen, te drogen.

Tijdens de bereiding mogen geen antiseptica of bacteriostatica of andere stoffen worden toegevoegd. Gedroogd menselijk bloedplasma wordt verkregen door gebruik te maken van de vriesdroogmethode, of op elke andere wijze die geen denaturatie van de eiwitten veroorzaakt. Het gedroogde produkt dient gemakkelijk oplosbaar te zijn in een hoeveelheid water die gelijk is aan de hoeveelheid vloeistof waaruit de droge stof werd bereid. De op deze wijze verkregen oplossing moet ten minste 4,5% gewicht/volume eiwit bevatten en mag geen enkel zichtbaar teken van produkten van hemolyse vertonen. De haemagglutinetiter mag niet hoger zijn dan 1 : 32.

Gedroogd menselijk bloedplasma bereid uit het bloed van een of twee donors

Bloed, waarvan is aangetoond dat het een gevaarlijk gehalte aan iso-haemolysinen bevat (hetgeen wordt bepaald in een vers serummonster) of waarin immuno-haemagglutinenen voorkomen, mag niet worden gebruikt. Tenzij het plasma wordt vermengd en bevroren binnen 48 uur nadat het bloed is afgenomen, dient de steriliteit van iedere eenheid te worden gecontroleerd door ten minste 10 ml daarvan te kweken.

Gedroogd menselijk bloedplasma bereid uit mengsels van bloed van meer dan twee donors

Mengsels die gevaarlijke hoeveelheden immuno-haemagglutinenen of iso-haemolysinen blijken te bevatten, mogen niet worden gebruikt. Om schadelijke reacties ten gevolge van produkten van bacteriegroei in het plasma te vermijden, mag geen enkele fles bloed die verschijnselen vertoont van bacteriële besmetting worden gebruikt voor de bereiding van plasma, en wordt van ieder plasma-mengsel een steriliteitsproef verricht, door ten minste 10 ml hiervan te kweken. Ten einde het risico van overbrenging van serum hepatitis te beperken, dient het plasma te worden bereid uit mengsels

die zijn samengesteld uit het plasma van ten hoogste 12 donors, of dient een andere methode te worden toegepast, waarvan is bewezen dat deze het risico in dezelfde mate beperkt.

Oplosbaarheid in water – Wanneer een hoeveelheid water gelijk aan het volume van de vloeistof waaruit het monster werd bereid aan het plasma wordt toegevoegd, behoort de droge stof binnen 10 minuten bij een temperatuur van 15° tot 20° C volledig te zijn opgelost.

Identificatie – Wanneer een gegeven hoeveelheid van het produkt wordt opgelost in een hoeveelheid water gelijk aan het volume van de vloeistof waaruit deze hoeveelheid werd bereid, dient de oplossing aan de volgende proeven te beantwoorden:

1. Door middel van precipitatietechnieken met specifieke antisera mogen uitsluitend menselijke plasma-eiwitten worden aangetoond.
2. Door toevoeging van een geëigende hoeveelheid thrombine of calciumchloride aan 1 ml plasma, treedt stolling op, die kan worden versneld door incubatie bij 37° C.

Gewichtsverlies door droging – Indien gedroogd boven fosforpentoxyde bij ten hoogste 0,02 mm kwikdruk gedurende 24 uur, mag gedroogd menselijk bloedplasma niet meer dan 0,5% aan gewicht verliezen.

Steriliteit – Het opgeloste eindprodukt moet steriel zijn, indien dit bacteriologisch wordt onderzocht volgens een geëigende methode.

Wijze van bewaren – Gedroogd menselijk bloedplasma dient te worden bewaard onder stikstof of in vacuo, in een steriele fles, die zodanig is afgesloten, dat geen micro-organismen kunnen binnendringen en dat voor zover mogelijk de inhoud is gevrijwaard tegen vocht; het plasma wordt beschermd tegen licht en bewaard bij een temperatuur lager dan 20° C.

Etikettering – Op het etiket van de fles dienen alle gegevens te worden vermeld die voorkomen op het modeletiket (Bijlage 3).

3. *Menselijk albumine en gepasteuriseerde plasma-eiwitoplossing*

Menselijk albumine en gepasteuriseerde plasma-eiwitoplossing zijn produkten bestaande uit die eiwitcomponent die ongeveer 60% van het totale eiwitgehalte van plasma bereid uit menselijk bloed uitmaakt.

Het bereidingsproces dient zodanig te zijn dat het eindprodukt voldoet aan de hierna volgende eisen. Onverschillig of het eindprodukt vloeibaar is of gedroogd, dient het preparaat, na toevoeging van een daartoe geëigende stabilisator of van daartoe geëigende stabilisatoren, in vloeibare staat in de laatste fles gedurende 10 uur op 60° C \pm 0,5° C te zijn verhit, ten einde de verwekker van serum-

hepatitis te inactiveren. Tijdens het bereidingsproces mogen geen antiseptica of bacteriostatica worden toegevoegd.

In preparaten van menselijk albumine moet ten minste 95% van de aanwezige eiwitten uit albumine bestaan. In gepasteuriseerde plasma-eiwitoplossing moet ten minste 85% van het eiwit uit albumine bestaan. In geen van beide preparaten mag meer dan 1% immunoglobuline G aanwezig zijn.

Indien het eindproduct volgens de vriesdroogmethode is gedroogd, dient het ten minste 95% eiwit te bevatten.

Indien gepasteuriseerde plasma-eiwitoplossing wordt bereid in de vorm van een oplossing, dient de totale eiwitconcentratie tussen 4,5 en 5% gewicht/volume te liggen. Indien menselijk albumine in de vorm van een oplossing wordt bereid, dient de totale eiwitconcentratie ten minste 4,5% gewicht/volume te bedragen.

Oplosbaarheid van het gedroogde product – Na toevoeging van de aanbevolen hoeveelheid water moet het product volledig oplosbaar zijn.

Stabiliteit – Door vergelijking van de oplossingen voor en na verhitting mag niets wijzen op een duidelijke denaturatie van de eiwitten in de oplossing, zoals kan worden bepaald door middel van viscositeits- en troebelheidsmetingen, ultracentrifugering en elektroforese. De oplossing mag absoluut geen zichtbare deeltjes bevatten na gedurende 6 uur bij 57° C mechanisch te zijn geschud.

Identificatie –

1. Door middel van precipitatietechnieken met specifieke antisera mogen in de beide produkten uitsluitend menselijke plasma-eiwitten worden aangetoond.
2. Bij onderzoek onder aanvaardbare en geëigende omstandigheden met behulp van de vrije elektroforesetechniek moet blijken dat het percentage eiwitten die de loopsnelheid van de albuminecomponent van normaal menselijk bloedplasma hebben, ten minste 95% bedraagt in preparaten van menselijk albumine, of ten minste 85% in preparaten van gepasteuriseerde plasma-eiwitoplossing.

Natriumgehalte – Het natriumgehalte van zoutarm menselijk albumine mag niet hoger zijn dan 0,014 g per gram albumine. In andere produkten van menselijk albumine en in gepasteuriseerde plasma-eiwitoplossing mag het natriumgehalte niet hoger zijn dan 0,352 g per 100 ml oplossing of opgelost gedroogd produkt.

Kaliumgehalte – Het kaliumgehalte van menselijk albumine en gepasteuriseerde plasma-eiwitoplossing mag niet hoger zijn dan 2 mEq per liter oplossing of opgelost gedroogd produkt.

Zuurgraad – De pH van beide produkten moet $6,8 \pm 0,2$ bedragen bij meting bij een temperatuur van 15° C tot 25° C, in

een oplossing die is verdund tot 1% gewicht/volume eiwit met 0,15 M natriumchloride.

Gewichtsverlies bij droging – Indien gedroogd boven fosforpentoxyde, bij ten hoogste 0,02 mm kwikdruk gedurende 24 uur, mag in gedroogde produkten niet meer dan 0,5% gewichtsverlies optreden.

Steriliteit – Het eindprodukt moet steriel zijn, indien dit bacteriologisch wordt onderzocht volgens een geëigende methode.

Wijze van bewaren – Gedroogd menselijk albumine dient te worden bewaard onder stikstof of in vacuo, in een steriele fles, die zodanig is afgesloten dat geen micro-organismen kunnen binnendringen en dat, voor zover mogelijk, de inhoud is gevrijwaard tegen vocht; het albumine wordt beschermd tegen licht en bewaard bij een temperatuur lager dan 20° C.

Oplossingen van menselijk albumine en gepasteuriseerde plasma-eiwitoplossing dienen te worden bewaard in steriele flessen, die zodanig zijn afgesloten dat geen micro-organismen kunnen binnendringen; de produkten worden beschermd tegen licht en bewaard bij een temperatuur van 4° tot 6° C.

Etikettering – Op het etiket van de fles dienen alle gegevens te worden vermeld, die voorkomen op het modeletiket (Bijlage 4). Wat oplossingen betreft, wordt als de datum van bereiding aangehouden de datum van de warmtebehandeling in de laatste fles.

4. *Menselijk normaal immunoglobuline*

Menselijk normaal immunoglobuline is een eiwitprodukt, bereid uit menselijk bloed, dat de antistoffen bevat die normaal in het bloed van volwassenen voorkomen. Het wordt verkregen uit een mengsel van vloeibaar plasma afkomstig van ten minste 1000 donors.

Het bereidingsproces behoort zodanig te zijn dat het produkt voldoet aan de hierna volgende eisen en dat het eindprodukt geen serumhepatitis overbrengt. Bovendien moet de bereidingsmethode zodanig zijn dat de antistoffen die in het oorspronkelijke produkt aanwezig zijn in voldoende mate in het eindprodukt worden geconcentreerd. Voor elk eindprodukt moet worden aangetoond dat de gebruikte methode in dit opzicht bevredigend is door in het oorspronkelijke produkt en het eindprodukt de antistoffen tegen ten minste één virus en één bacteriële toxine te titreren. Hiervoor worden antistoffen gekozen, waarvoor erkende titreermethoden bestaan.

Tijdens het bereidingsproces mogen geen antiseptica of bacteriostatica worden toegevoegd. Ter handhaving van de bacteriële steriliteit en de stabiliteit van het eindprodukt, kan daaraan een passend conserveermiddel en een passende stabilisator worden toegevoegd.

Het eindprodukt wordt uitgegeven in de vorm van een oplossing waarvan de immunoglobulineconcentratie 10 tot 17 g per 100 ml moet zijn.

Identificatie –

- (i) Door middel van precipitatietechnieken met specifieke antisera moet worden aangetoond dat het produkt uitsluitend menselijke plasma-eiwitten bevat.
- (ii) Bij onderzoek onder aanvaardbare en geëigende omstandigheden met behulp van de vrije elektroforesetechniek moet blijken dat ten minste 90% der eiwitten een loopsnelheid heeft gelijk aan die van de gamma-component der globulinen uit normaal menselijk plasma.

Stabiliteit – Zowel vóór als na verhitting gedurende 7 dagen bij 37° C mag de eindoplossing geen zichtbare tekenen van neerslag of troebeling vertonen. Aanbevolen wordt ook controle-onderzoekingen met behulp van een ultra-centrifuge te verrichten om na te gaan in hoeverre het produkt wordt afgebroken tot bestanddelen van lager moleculair gewicht. De gebruikte methode moet een van de methoden zijn die zijn goedgekeurd door de nationale controle-instantie.

Zuurgraad – De pH van de eindoplossing, gemeten bij een temperatuur van 15° C tot 25° C na verdunning tot 1% g/v eiwit met natriumchlorideoplossing 0,15 M, moet $6,8 \pm 0,4$ zijn.

Steriliteit – Het eindprodukt moet steriel zijn, indien dit bacteriologisch wordt onderzocht volgens een geëigende methode.

Wijze van bewaren – Oplossingen van menselijk normaal immunoglobuline dienen te worden bewaard in een steriele fles, die zodanig is afgesloten dat geen micro-organismen kunnen binnendringen, beschermd tegen licht en bij een temperatuur van 4° tot 6° C.

Etikettering – Op het etiket van het receptaculum dienen alle gegevens te worden vermeld die voorkomen op het model-etiket (Bijlage 5). De datum van bereiding is die van het vullen van de fles waarin de oplossing wordt bewaard.

5. *Menselijke specifieke immunoglobulinen*

Menselijke specifieke immunoglobulinen bevatten antistoffen tegen bepaalde virale of bacteriële agentia. Derhalve kunnen zij worden bereid uit mengsels van bloedplasma afkomstig van een beperkt aantal donors.

De volgende menselijke specifieke immunoglobulinen zijn in deze eisen opgenomen:

- Menselijk anti-tetanus immunoglobuline
- Menselijk anti-vaccinia immunoglobuline.

Andere specifieke menselijke immunoglobulinen kunnen worden ontwikkeld en wanneer er een daarop betrekking hebbende internationale standaard bestaat, dienen zij op basis van die standaard te

worden onderzocht en moet hun activiteit in internationale eenheden worden uitgedrukt.

Menselijk anti-vaccinia immunoglobuline mag niet minder dan 500 IE per ml vaccinia antistoffen bevatten, hetgeen dient te worden bepaald door middel van een neutralisatietest op chorio-allantoïsche membranen of in een weefselkweek. Menselijk anti-tetanus immunoglobuline mag niet minder dan 50 IE per ml tetanus antitoxine bevatten, hetgeen dient te worden bepaald door middel van een neutralisatietest bij dieren.

Menselijke specifieke immunoglobulinen moeten bovendien voldoen aan de eisen omschreven in paragraaf 4, Menselijk normaal immunoglobuline.

Afhankelijk van het gehalte aan antistoffen, kan de immunoglobulineconcentratie van de eindoplossing variëren tussen 10 en 17 g per 100 ml.

Etikettering — Het etiket op het receptaculum dient alle gegevens te vermelden die voorkomen op het modeletiket (Bijlage 5). Bovendien dient op het etiket de activiteit te worden vermeld, uitgedrukt in internationale eenheden, in vergelijking met de desbetreffende internationale standaard of het internationale referentie preparaat.

6. Gedroogd menselijk fibrinogeen

Gedroogd menselijk fibrinogeen is een gedroogd produkt dat het oplosbare bestanddeel bevat van vloeibaar menselijk bloedplasma dat door toevoeging van thrombine wordt omgezet in fibrine. De toe te passen bereidingsmethode dient zodanig te zijn dat een produkt wordt verkregen dat aan de hieronder genoemde eisen voldoet en dat het gevaar van overbrenging van serumhepatitis tot een minimum terugbrengt. Plasmamengsels, die gebruikt worden voor het bereiden van fibrinogeen, dienen te zijn samengesteld uit het bloedplasma afkomstig van een zo gering mogelijk aantal donoren.

Tijdens het bereidingsproces mogen geen antiseptica of bacteriostatica worden toegevoegd. Het eindprodukt dient te worden gedroogd volgens de vriesdroogmethode.

Oplosbaarheid — Bij toevoeging van de aanbevolen hoeveelheid water dient het gedroogde produkt volledig oplosbaar te zijn. Binnen een tijdsduur van 60 minuten na het oplossen mag zich geen neerslag vormen.

Identificatie —

1. Door middel van precipitatietechnieken met specifieke antisera mogen uitsluitend menselijke plasma-eiwitten worden aangetoond.
2. Het pas opgeloste produkt heeft de eigenschap te stollen door toevoeging van thrombine. Indien thrombine wordt toegevoegd aan een oplossing van menselijk fibrinogeen van dezelfde con-

centratie als die van vers normaal bloedplasma, dient stolling op te treden binnen een tijdsduur die niet langer is dan het dubbele van de tijd waarin stolling optreedt in vers normaal bloedplasma na toevoeging van thrombine.

3. Stolbaar eiwit. Ten minste 50% van het totale eiwitgehalte dient door thrombine tot stolling te kunnen worden gebracht.

Gewichtsverlies door droging – Indien gedroogd boven fosfor-pentoxide, bij ten hoogste 0,02 mm kwikdruk gedurende 24 uur, mogen preparaten niet meer dan 0,5% aan gewicht verliezen.

Steriliteit – Het opgeloste eindprodukt moet steriel zijn, indien dit bacteriologisch wordt onderzocht volgens een geëigende methode.

Wijze van bewaren – Menselijk fibrinogeen dient te worden bewaard onder stikstof of in vacuo, in een steriele fles, die zodanig is afgesloten dat geen micro-organismen kunnen binnendringen en dat, voor zover mogelijk, de inhoud is gevrijwaard tegen vocht; het plasma wordt beschermd tegen licht en bewaard bij de daarvoor aanbevolen temperatuur.

Etikettering – Op het etiket van de fles dienen alle gegevens te worden vermeld die voorkomen op het modeletiket (Bijlage 6). De bereidingsdatum is die waarop het produkt voor het laatst werd opgelost vóór het vriesdroogproces.

BIJLAGE 1 BIJ HET PROTOCOL

RAAD VAN EUROPA

*Europese Overeenkomst betreffende de uitwisseling
van geneesmiddelen van menselijke oorsprong***Verklaring***(Artikel 4)*

NIET VAN DE ZENDING VERWIJDEREN

..... 19.....
 (plaats) (datum)

Aantal
 pakketten

Ondergetekende verklaart dat de zending gespecifi-
 ceerd in de marge
 bereid onder verantwoordelijkheid van

Gemerkt

instelling als bedoeld in artikel 6 van de Overeen-
 komst, in overeenstemming is met de voorschriften
 van het Protocol behorend bij de Overeenkomst en
 dat deze zending onmiddellijk kan worden afgeleverd
 aan de geadresseerde (naam en plaats)

 (stempel) (ondertekening) (functie)

BIJLAGE 3 BIJ HET PROTOCOL

RAAD VAN EUROPA

*Europese Overeenkomst betreffende de uitwisseling
van geneesmiddelen van menselijke oorsprong*

1. Naam en adres van de producent
 2. Gedroogd menselijk bloedplasma
 3. Referentienummer:
 4. Oplossen met ml steriel en pyrogeenvrij gedistilleerd water
 5. Het opgeloste plasma bevat:
 % glucose
 % dinatriumcitraat
 ten minste % eiwit
 6. Gebruikte aantal individuele bloedafnamen voor het mengsel:
 7. Datum van bereiding:
 Vervaldatum:
 8. Beschermen tegen licht en bewaren bij een temperatuur beneden
 20° C
 9. Onmiddellijk na het oplossen gebruiken
-

BIJLAGE 4 BIJ HET PROTOCOL
RAAD VAN EUROPA

*Europese Overeenkomst betreffende de uitwisseling
van geneesmiddelen van menselijke oorsprong*

1. Naam en adres van de producent:
 2. Gedroogd menselijk albumine
 3. Partij No.
 4. Albumine g/100 ml
Stabilisator: aard , g/100 ml van de gereconstitueerde
oplossing
Natrium: mg/g albumine
 5. Datum van bereiding:
Vervaldatum:
 6. Oplossen met ml steriel en pyrogeenvrij gedistilleerd water
 7. Beschermen tegen licht en bewaren bij een temperatuur beneden
20° C
 8. Onmiddellijk na het oplossen gebruiken
-

BIJLAGE 4 (1e vervolg)

RAAD VAN EUROPA

*Europese Overeenkomst betreffende de uitwisseling
van geneesmiddelen van menselijke oorsprong*

1. Naam en adres van de producent:
 2. Oplossing van menselijk albumine ml
 3. Partij No.
 4. Albumine g/100 ml
Stabilisator: aard , g/100 ml
Natrium: mg/g albumine
 5. Datum van bereiding:
Vervaldatum:
 6. Beschermen tegen licht en bewaren bij een temperatuur van
4° tot 6° C
 7. Alleen gebruiken wanneer de vloeistof helder en vrij van neerslag is
-

BIJLAGE 4 (2de vervolg)

RAAD VAN EUROPA

*Europese Overeenkomst betreffende de uitwisseling
van geneesmiddelen van menselijke oorsprong*

1. Naam en adres van de producent:
 2. Gepasteuriseerde plasma-eiwitoplossing ml
 3. Partij No.
 4. Albumine g/100 ml
Stabilisator: aard , g/100 ml
Natrium: mg/100 ml
 5. Datum van bereiding:
Vervaldatum:
 6. Beschermen tegen licht en bewaren bij een temperatuur van
4° tot 6° C
 7. Alleen gebruiken wanneer de vloeistof helder en vrij van neerslag is
-

BIJLAGE 5 BIJ HET PROTOCOL

RAAD VAN EUROPA

*Europese Overeenkomst betreffende de uitwisseling
van geneesmiddelen van menselijke oorsprong*

1. Naam en adres van de producent:
 2. Menselijk normaal immunoglobuline
 3. Partij No.
 4. Totaal eiwit: g/100 ml
Andere toegevoegde stoffen: aard, g/100 ml
Totaal volume .. ml
 5. Datum van bereiding:
Vervaldatum:
 6. Beschermen tegen licht en bewaren bij een temperatuur van
4° tot 6° C
 7. Niet bestemd voor intraveneuse toediening
-

BIJLAGE 6 BIJ HET PROTOCOL

RAAD VAN EUROPA

*Europese Overeenkomst betreffende de uitwisseling
van geneesmiddelen van menselijke oorsprong*

1. Naam en adres van de producent:
 2. Gedroogd menselijk fibrinogeen
 3. Partij No.
 4. Stolbaar eiwit: g
Andere toegevoegde stoffen: aard: g/100 ml van de ge-
reconstitueerde oplossing
 5. Datum van bereiding:
Vervaldatum:
 6. Oplossen met ml steriel, pyrogeenvrij, gedistilleerd water
 7. Gebruikte aantal individuele bloedafnamen voor het mengsel
 8. Beschermen tegen licht en bewaren bij een temperatuur beneden
20° C
 9. Onmiddellijk na het oplossen gebruiken
-

BIJLAGE 7 VAN HET PROTOCOL

RAAD VAN EUROPA

*Europese Overeenkomst betreffende de uitwisseling
van geneesmiddelen van menselijke oorsprong*

1. Naam en adres van de producent:
 2. Steriel en pyrogeenvrij gedistilleerd water
Voor het oplossen van gedroogd menselijk bloedplasma
gedroogd menselijk albumine
of gedroogd menselijk fibrinogeen
 3. Hoeveelheid . . ml
-

BIJLAGE 8 BIJ HET PROTOCOL

RAAD VAN EUROPA

*Europese Overeenkomst betreffende de uitwisseling
van geneesmiddelen van menselijke oorsprong*

1. Naam en adres van de producent:
2. Toedieningssysteem

Toedieningssysteem voor het toedienen van menselijk bloed, opgelost gedroogd menselijk bloedplasma, menselijk albumine, gepasteuriseerde plasma-eiwitoplossing of menselijk fibrinogeen

BIJLAGE 9 BIJ HET PROTOCOL

RAAD VAN EUROPA

*Europese Overeenkomst betreffende de uitwisseling
van geneesmiddelen van menselijke oorsprong***Afwezigheid van toxiciteit bij
plastic bloedtransfusie-apparaatuur****I. Chemische proeven**

Het te beproeven materiaal dient afkomstig te zijn uit gesteriliseerde apparatuur, d.w.z. uit apparatuur in de staat waarin deze wordt gebruikt voor transfusie.

De vervaardiger van transfusie-apparatuur is gehouden de bevoegde gezondheidsautoriteiten tot in bijzonderheden mededeling te doen van de samenstelling van het plastic materiaal en van iedere andere stof die bij de vervaardiging van de apparatuur wordt gebruikt, alsmede de oorsprong aan te duiden van de bestanddelen van het materiaal en de wijze waarop zij zijn vervaardigd (of de referentienummers van de bestanddelen), tot in bijzonderheden de wijze aan te geven waarop de apparatuur is vervaardigd, de aard van alle toegevoegde stoffen en gebruikte kleefmiddelen en de wijze van sterilisatie te vermelden. In bovenstaande gegevens mogen geen wijzigingen worden aangebracht zonder voorafgaande mededeling aan en goedkeuring door de bevoegde gezondheidsautoriteit.

Elke partij grondstof die wordt gebruikt bij de vervaardiging van de apparatuur wordt aangeduid met een nummer (batch-nummer) dat door de vervaardiger van de apparatuur wordt geregistreerd te zamen met de identificatienummers van alle partijen („batches”) transfusie-apparatuur die uit deze grondstof wordt vervaardigd en de resultaten van alle proeven waaraan deze partijen zijn onderworpen.

In ieder stadium van vervaardiging dienen alle mogelijke voorzorgsmaatregelen te worden genomen om het risico van toevallige besmetting te verminderen.

A. Bereiding van eluaat en controlevloeistof

(a) Voor een volledige proef zoals hieronder wordt beschreven is 1250 cm² plastic nodig (totale oppervlakte van de beide zijden van een plastic proefplaat van 625 cm²). Het monster, waarop geen aanduiding of etiket staat, wordt in stukken van maximaal 10 cm² geknipt.

De lengte (L) van de slangen, waarvan de wanddikte niet meer bedraagt dan 1 mm, wordt als volgt berekend:

$$L = \frac{A}{3,14 (D_1 + D_2)}$$

A = totale oppervlakte in cm^2

D_1 = inwendige doorsnede in cm

D_2 = uitwendige doorsnede in cm

De slangen dienen over de lengte in stukken van 10 cm te worden geknipt. Voor de elutie wordt 10 ml water per 50 cm^2 gebruikt.

(b) De stukken plastic folie of slang worden geplaatst in een fles van borosilicaatglas met 250 ml gedestilleerd water uit een goede destillatieapparaat met glazen condensor en glazen opvangbuizen¹⁾. De hals van de fles wordt afgedekt met een omgekeerd bekerglas en de fles wordt vervolgens 30 minuten lang verhit in verzadigde stoom van 110° C (in autoclaaf) en daarna snel afgekoeld tot kamertemperatuur. Er behoeft geen rekening te worden gehouden met het eventueel enigszins aan elkaar kleven van de plastic monsters.

Plastic stoffen die geen hoge temperaturen kunnen verdragen, kunnen 72 uur op een temperatuur van 70° C worden gehouden, in plaats van in een autoclaaf te worden verhit.

Op overeenkomstige wijze wordt een controlevloeistof bereid zonder de plastic stoffen.

B. Proeven met eluaat

1. Oxydeerbare stoffen

Bij 20 ml eluaat in een Erlenmeyer-kolf van borosilicaatglas voegt men 20 ml 0,01 N kaliumpermanganaatoplossing en 0,1 ml 2 N zwavelzuur en laat het mengsel 3 minuten koken. Men laat de oplossing snel afkoelen en voegt 0,1 g kaliumjodide en 5 druppels stijfsel-oplossing toe. Vervolgens titreren met 0,01 N natriumthiosulfaat-oplossing. Tegelijkertijd voert men een blanco titratie uit. Het verschil in hoeveelheid thiosulfaat dat bij beide titraties wordt gebruikt is niet meer dan 2,00 ml 0,01 N natriumsulfaat.

2. Chloride

Het eluaat moet voldoen aan een geëigende grensreactie op chloride, overeenkomend met ten hoogste 400 microgram Cl^- per liter.

3. Sulfaat

Het eluaat moet voldoen aan een geëigende grensreactie op sulfaat, overeenkomend met ten hoogste 2,5 mg SO_4^{2-} per liter.

¹⁾ Indien de plastic stoffen in aanraking zijn geweest met een antistollingsmiddel, moeten de stukken eerst in eenzelfde fles met koud gedestilleerd water (100 ml) worden geplaatst en enige keren geschud. Dit moet één keer worden herhaald.

4. Ammoniak

Het eluaat moet voldoen aan een geëigende grensreactie op ammoniak, overeenkomend met ten hoogste 2,0 mg NH_3 per liter.

5. Fosforzuur – Fosfaat

Het eluaat moet voldoen aan een geëigende grensreactie op fosfaat.

Grensreactie op fosfaat

Verdamp 25 ml eluaat in een Kjeldahl-kolf tot bijna droog, laat de rest afkoelen en voeg 2 druppels zwavelzuur en 1 ml salpeterzuur toe; verhit het mengsel totdat een witte damp wordt ontwikkeld en laat vervolgens afkoelen. Voeg een druppel perchloorzuur toe en verwarm het mengsel matig gedurende een half uur. Laat de rest afkoelen en voeg water tot 25 ml toe. Giet vervolgens 10 ml van de oplossing over in een titreerkolfje van 25 ml en voeg toe 8 ml van een ammoniummolybdaatzwavelzuur-oplossing, alsmede 2 ml van een versbereide 10% (gew./vol.) ascorbinezuur-oplossing. Houd de oplossing gedurende 30 minuten met behulp van een waterbad op een temperatuur van 50° C. Koel vervolgens af en verdun het mengsel tot 25 ml.

De groene of blauwe kleur van de oplossing is niet donkerder dan die welke wordt verkregen indien 25 ml van de controlevloeistof op dezelfde wijze wordt behandeld.

6. Zuurgraad

10 ml eluaat mag niet rood kleuren na toevoegen van 2 druppels phenolphthaleïne-oplossing, terwijl na niet meer dan 0,4 ml 0,01 N natriumhydroxyde een rode kleur moet ontstaan.

Na toevoeging van 0,8 ml 0,01 N zoutzuur ontstaat met 5 druppels van een methylood-oplossing een rode of oranje-rode kleur.

7. Verdampingsrest

Verdamp 100 ml eluaat op een waterbad en droog bij een temperatuur van 105° C tot constant gewicht. De rest mag niet meer dan 5,0 mg bedragen.

8. Helderheid en kleur

Vergeleken met de controlevloeistof is het eluaat bij een doorzichtlengte van 5 cm helder en kleurloos.

9. Smaak en geur

In vergelijking met de controlevloeistof is het eluaat reukloos en smaakloos.

10. Bijzondere elementen

Bij een spectraalanalyse mogen in het eluaat geen sporen aanwezig zijn van arsenicum, cadmium, chroom, koper, lood, silicium, zilver of tin.

C. Proeven op plastic stoffen

11. *Asrest*

Na verassen van 1,0 g van het plastic materiaal tot constant gewicht mag de rest niet meer bedragen dan 1 mg.

12. *Zware metalen*

Los de asrest op in de kleinst mogelijke hoeveelheid 2 N zoutzuur, indien nodig onder verwarming. Voer een geëigende grensreactie uit op zware metalen. Het plastic materiaal moet voldoen aan een grens overeenkomend met maximaal 5 microgram, berekend als Pb.

II. Biologische proeven

(1) Een onderzoek op giftigheid wordt uitgevoerd met de eluaten A en B (zie noot hieronder) volgens de in de nationale farmacopee voorgeschreven procedure of volgens een methode die is goedgekeurd door de nationale toezichhoudende autoriteit.

(2) Controle op de afwezigheid van pyrogenen wordt verricht met de eluaten A en C (zie noot hieronder) volgens de in de nationale farmacopee voorgeschreven procedure of volgens een methode die is goedgekeurd door de nationale toezichhoudende autoriteit.

(3) Een test ter bepaling van haemolytische effecten in gebufferde systemen wordt verricht met het eluaat zoals in paragraaf I.A hierboven is aangegeven. (Voor methode en aanvaardbare limieten, zie het aanhangsel van deze bijlage).

(4) Een test ter bepaling van de overlevingsduur in vivo van erythrocyten geschiedt bij de eerste toepassing van een kunststof voor de vervaardiging van ampullen voor het bewaren van bloed. Indien een wijziging wordt aangebracht in de overeengekomen samenstelling, wordt de proef herhaald. (Voor voorgestelde methoden en aanvaardbare limieten, zie het aanhangsel van deze bijlage).

Noot

Eluaat A: aan het in I.A hierboven beschreven eluaat pyrogeenvrij natriumchloride toevoegen tot men een concentratie van 0,9 procent verkrijgt.

Eluaat B: vul een transfusie-apparaat zo goed mogelijk met een steriele natriumchloride-oplossing, maak de uiteinden zorgvuldig dicht en leg het gevulde apparaat een uur in water waarvan de temperatuur op 85° C wordt gehouden. Verzamel vervolgens de inhoud van het apparaat.

Eluaat C: voer 40 ml van een steriele pyrogeenvrije natriumchloride-oplossing, op kamertemperatuur, door tenminste tien transfusie-apparaten met een snelheid van ± 10 ml per minuut en vang het filtraat op. Onderzoek de aldus verkregen oplossing.

AANHANGSEL

Biologische analyse: limieten en methoden**A. Onderzoek op giftigheid**

(Zie II, 1 van bijlage hierboven): limiet als voorgeschreven in de nationale farmacopee.

B. Controle op de afwezigheid van pyrogenen

(Zie II, 2 van bijlage hierboven): limiet als voorgeschreven in de nationale farmacopee.

C. Test ter bepaling van hemolytische effecten in gebufferde systemen

(Zie II, 3 van bijlage hierboven):

(a) Limiet:

Een 0,50% natriumchloride-oplossing mag geen hemolysewaarde opleveren die hoger is dan 10%, en de hemolysewaarde van een 0,40% natriumchloride-oplossing mag niet meer dan 10% verschillen van de waarde verkregen bij de overeenkomstige controle-vloeistof.

(b) Methode:

Uitgaande van de bufferstam-oplossing voor hemolyse bereidt men drie oplossingen: 30 ml bufferstam-oplossing en 10 ml water (oplossing a_0), 30 ml bufferstam-oplossing en 20 ml water (oplossing b_0) en 15 ml bufferstam-oplossing en 85 ml water (oplossing c_0).

In drie centrifugebuisen (1, 2 en 3) doet men 1,40 ml eluaat. Aan buisje 1 voegt men 0,10 ml a_0 toe; aan buisje 2, 0,10 ml b_0 en aan buisje 3, 0,10 ml c_0 ; men verkrijgt zodoende zoutoplossingen overeenkomend met 0,50% (buisje 1), 0,40% (buisje 2) en 0,10% (buisje 3) natriumchloride wat de osmotische elektrolytwerking betreft. Aan ieder buisje wordt 0,020 ml vers, goed gemengd menselijk heparine-bloed toegevoegd. De buisjes worden 40 minuten in een waterbad van 30° C ($\pm 1^\circ$) geplaatst. Vervolgens bereidt men drie oplossingen bevattende 3,00 ml a_0 en 12,00 ml water (oplossing a_1); 4,00 ml b_0 en 11,00 ml water (oplossing b_1) en 4,75 ml b_0 en 10,25 ml water (oplossing c_1).

Aan buisje 1 wordt 1,50 ml a_1 toegevoegd, aan buisje 2, 1,50 ml b_1 en aan buisje 3, 1,50 ml c_1 . De buisjes worden vervolgens gedurende 5 minuten gecentrifugeerd in een horizontale centrifuge. Daarop worden voor elk van de concentraties controle-oplossingen bereid waarin het eluaat is vervangen door water.

De extinctie bij 540 nm van de vloeistoflaag wordt gemeten. De bufferstam-oplossing voor de hemolyse wordt gebruikt als blanco.

De hemolysewaarde in % wordt berekend aan de hand van de volgende formule:

$$\frac{E_{\text{exp}} \times 100}{E_{100\%}}$$

waarin $E_{100\%}$ = de extinctie voor een 0,10% natriumchloride-oplossing, en

E_{exp} = de extinctie voor onderscheidenlijk 0,40% en 0,50% natriumchloride-oplossing.

Bufferstam-oplossing voor het meten van het hemolysegehalte

90,0 g natriumchloride, 13,7 g dinatriumfosfaat en 1,90 g mononatriumfosfaat worden opgelost in 1000 ml water.

D. Test ter bepaling van de overlevingsduur in vivo van erythrocyten

(Zie II, 4 van bijlage hierboven):

(a) *Limiet:*

70% van de erythrocyten uit vol menselijk bloed, opgevangen in een citraat-glucose antistollingsmiddel en gedurende 21 dagen bewaard bij 4° tot 6° C, moet 24 uur na transfusie nog in leven zijn. Dit kan worden bepaald aan de hand van een van de hieronder onder (b) voorgestelde methodes.

(b) *Voorgestelde methodes:*

1. Methode van ISO/TC/76/WGD/3, App. E.
2. Ashby Technique – Ashby, W. The determination of the length of life of transfused blood corpuscles in man. *J. Exp. Med.* 29: 267-82, 1919.
Young, L. E., Platzer, R. F. and Rafferty, J. A. Differential agglutination of human erythrocytes. *J. Lab. Clin. Med.* 32: 489-501, 1947.
3. The Gibson-Scheitlin method – Gibson, J. G. and Scheitlin, W.A. A method employing radio-active chromium for assaying the viability of human erythrocytes returned to the circulation after refrigerated storage. *J. Lab. Clin. Med.* 46: 679-88, 1955.
4. The Strumia method – Strumia, M. M., Taylor, L., Sample, A.B., Colwell, L. S. and Dugan, A. Uses and limitations of survival studies of erythrocytes tagged with Cr 51. *Blood* 10: 429-40, 1955.
5. Cr⁵¹-I¹²⁵ technique – Button, L. N., Gibson, J. G. and Walter, C. W. Simultaneous determination of the volume of red cells and plasma for survival studies of stored blood. *Transfusion* 5: 143-148, 1965.

D. GOEDKEURING

Zie *Trb.* 1961, 98.

E. BEKRACHTIGING

Zie *Trb.* 1961, 98 en *Trb.* 1967, 142.

G. INWERKINGTREDING

Zie *Trb.* 1959, 118, *Trb.* 1961, 98 en *Trb.* 1967, 142.

Het in rubriek B hierboven afgedrukte gewijzigde Protocol, met Bijlagen, geldt van 26 juni 1968 af.

J. GEGEVENS

Zie *Trb.* 1959, 118, *Trb.* 1961, 98 en *Trb.* 1967, 142.

Voor de op 14 mei 1962 te Straatsburg tot stand gekomen Europese Overeenkomst betreffende de uitwisseling van testsera voor bloedgroepenonderzoek, zie ook *Trb.* 1969, 19.

Uitgegeven de achttiende juli 1969.

De Minister van Buitenlandse Zaken.

J. LUNS.