

TRACTATENBLAD

VAN HET

KONINKRIJK DER NEDERLANDEN

JAARGANG 1969 Nr. 19

A. TITEL

*Europese Overeenkomst betreffende de uitwisseling
van testsera voor bloedgroepenonderzoek,
met Protocol en Bijlagen;
Straatsburg, 14 mei 1962*

B. TEKST

De tekst van de Overeenkomst, met Protocol en Bijlagen, is geplaatst in *Trb.* 1965, 4. Zie ook *Trb.* 1967, 141.

De Overeenkomst is nog in overeenstemming met artikel 7, eerste lid, sub *b*, ondertekend voor:

Cyprus 30 november 1967

onder voorbehoud van bekrachtiging.

Bij een door de Secretaris-Generaal van de Raad van Europa op 9 juli 1968 opgesteld Proces-verbaal is het bij de Overeenkomst behorende Protocol op de voet van artikel 4, laatste lid, van de Overeenkomst gewijzigd. De Engelse en de Franse tekst van het gewijzigde Protocol luiden als volgt:

Protocol to the European Agreement on the exchanges of blood-grouping reagents

General provisions

1. Specificity

A blood-grouping¹⁾ reagent must react with all blood samples tested which contain the antigen homologous to the antibody or other substance mentioned on the label.

When a reagent is used according to the technique recommended by the producer there must be no evidence of any of the following factors or phenomena:

- (a) haemolytic properties;
- (b) antibodies or other substances besides those mentioned on the label;
- (c) bacterial products liable to cause false positive or false negative reactions;
- (d) pseudo-agglutination through the formation of rouleaux;
- (e) prozone phenomena.

2. Potency

Titre is measured by making successive two-fold dilutions of the reagent under study in a appropriate medium. To each dilution is added an equal volume of a suspension of red corpuscles. The titre is the reciprocal of the figure representing the highest serum dilution in which a reaction occurs, the dilution being calculated without the inclusion of the volume of the corpuscular suspension in the total volume.

In the case of anti-A, anti-B and other reagents intended for use on slides, avidity is expressed by means of the time required for agglutination on a slide

3. International Standards and International Units

International Standards have been established by the World Health Organisation for anti-A and anti-B and incomplete anti-D blood-

¹⁾ At the time of approving the present version of the Protocol and its annexes, it was understood by the representatives of the Contracting Parties that when in the English text of the Agreement the expression "blood incompatibilities" was mentioned, "blood grouping incompatibilities" was implied.

It was also agreed that the expression "blood-grouping" with a hyphen in the English text of the Agreement and of the Protocol should read as "blood grouping" without a hyphen.

Protocole à l'Accord européen relatif à l'échange des réactifs pour la détermination des groupes sanguins

Dispositions générales

1. Spécificité

Un réactif pour la détermination des groupes sanguins doit réagir avec tous les échantillons de sang examinés qui contiennent l'antigène homologue de l'anticorps ou des autres substances mentionnées sur l'étiquette.

Lorsqu'un réactif est utilisé selon la technique recommandée par le producteur, aucun des facteurs ou des phénomènes suivants ne doit se manifester:

- (a) propriétés hémolytiques;
- (b) anticorps ou substances autres que ceux mentionnés sur l'étiquette;
- (c) produits bactériens susceptibles d'occasionner de fausses réactions, positives ou négatives;
- (d) pseudo-agglutination par formation de rouleaux;
- (e) phénomène de prozone.

2. Puissance

Le titre est mesuré en faisant des dilutions par dédoublements successifs du réactif à étudier dans un milieu approprié. A chaque dilution est ajouté un volume égal d'une suspension de globules rouges. Le titre est la réciproque du chiffre représentant la plus forte dilution dans laquelle on peut observer une réaction visible, la dilution étant calculée en n'incluant pas dans le volume total le volume de la suspension globulaire.

Dans le cas de l'anti-A, de l'anti-B et des autres réactifs destinés à être utilisés sur lames, l'avidité est exprimée au moyen du temps nécessaire à l'agglutination sur lame.

3. Etalons internationaux et unités internationales

Des étalons internationaux ont été établis par l'Organisation Mondiale de la Santé pour les réactifs pour groupage sanguin anti-A et

grouping reagents and are in process of being established for blood-grouping reagents of other specificities. An International Standard Preparation contains, by definition, a certain number of International Units per mg or ml and this definition is independent of the titres observed against particular red corpuscle preparations ¹⁾.

4. *Stability and expiry date*

Each reagent, when kept under the conditions of storage recommended by the manufacturer, should retain the requisite properties for at least one year.

The expiry date of a reagent in the liquid form as given on the label shall be not more than one year from the date of the last satisfactory potency test. The expiry date can be extended for further periods of one year by repetition of potency tests.

The expiry date of reagents in the dried form as given on the label, shall be in accordance with evidence obtained from experiments on stability and shall be approved by the national control authorities.

5. *Preservation*

Blood-grouping reagents may be preserved in the liquid or dried

¹⁾ The potency of blood-grouping reagents of most specificities is expressed as the agglutination titre observed in a dilution series, against a suspension of red-cells. The titre indicates the dilution of reagent in the last mixture of the series which shows agglutination microscopically visible.

The potency of blood-grouping reagents for which International Standard Preparations exist (at present anti-A and anti-B and incomplete anti-D) can be expressed in International Units (*) on the basis of the titration of the unknown reagent in comparison with the International Standard, or a national sub-standard.

The International Standard Preparations of blood-grouping sera are dispensed in ampoules containing dried human serum. When reconstituted to the volume of 1 ml, the anti-A and anti-B sera contain by definition 256 International Units per ml. They can be obtained free of charge from the International Laboratory for Biological Standards of WHO, Statens Seruminstitut, Copenhagen.

The following table shows an example of a comparative titration of the International Standard anti-A Serum (S) and an "unknown" anti-A reagent (U) against A₁ red corpuscles and A₂B red corpuscles.

	Serum S	Reagent U	Serum S	Reagent U
A ₁ corpuscles	1 : 512	1 : 128	256	64
A ₂ B corpuscles	1 : 32	1 : 16	256	128
	titres (observed)	titres (observed)	Units (by definition)	Units (by comparison)

(*) See Bull. Wld. Hlth. Org. 1954, 10, 937, 941 — 1950, 3, 301.

anti-B et anti-D incomplet sont à l'étude pour les réactifs pour groupage sanguin d'autres spécificités. Une préparation-étalon internationale contient, par définition, un certain nombre d'unités internationales par mg ou ml, et cette définition est indépendante des titres observés sur des globules rouges particuliers ¹⁾).

4. Stabilité et date d'expiration

Stocké dans les conditions recommandées par le fabricant chaque réactif devrait conserver les qualités requises au moins un an.

Pour les réactifs à l'état liquide, la date d'expiration indiquée sur l'étiquette ne doit pas être postérieure de plus d'un an à la date du dernier contrôle d'activité satisfaisant. La date d'expiration peut être prorogée par périodes d'une année à la suite de nouveaux contrôles.

En ce qui concerne les réactifs à l'état desséché, la date de péremption indiquée sur l'étiquette dépendra du résultat des épreuves de stabilité et devra être approuvée par les autorités nationales de contrôle.

5. Conservation

Les réactifs pour groupage sanguin peuvent être conservés à l'état

¹⁾ La puissance des réactifs pour groupage sanguin de la plupart des spécificités est exprimée par le titre d'agglutination observé, dans une série de dilutions, sur une suspension de globules rouges. Le titre indique la dilution du réactif utilisé dans le dernier mélange ayant lieu à agglutination (visible au microscope).

La puissance des réactifs pour groupage sanguin, pour lesquels il existe des étalons internationaux (anti-A et anti-B et anti-D incomplet, à l'heure actuelle), peut être exprimée en unités internationales (*) sur la base d'un titrage de réactif inconnu comparé à la préparation-étalon internationale ou à un sous-étalon national.

Les étalons internationaux de sérums pour groupage sanguin sont distribués en ampoules contenant du sérum humain desséché. Ramené au volume de 1 ml, les sérums anti-A et anti-B contiennent par définition 256 U.I. par ml. Elles sont fournies gratuitement par le Laboratoire international des étalons biologiques de l'O.M.S., Stratens Serum-Institut, Copenhague.

Le tableau suivant montre un exemple de titrage comparatif de sérum étalon international anti-A(S) et d'un réactif anti-A „inconnu” (U) avec des globules rouges A₁ et des globules rouges A₂B.

	Sérum S	Réactif U	Sérum S	Réactif U
globules A ₁	1 : 512	1 : 128	256	64
globules A ₂ B	1 : 32	1 : 16	256	128
	titres (observés)	titres (observés)	Unités (selon définition)	Unités (selon comparaison)

(*) voir Bull. Wld. Hlth. Org. (O.M.S.) 1954, 10, 937, 941 — 1950, 3, 301

state. Dried reagents shall be kept in an atmosphere of an inert gas or in vacuo, in the glass container in which they were dried and which shall be closed so as to exclude moisture. A dried reagent must not lose more than 0.5 per cent of its weight when tested by further drying over phosphorus pentoxide at a pressure not exceeding 0.02 mm of mercury for 24 hours.

Reagents shall be prepared with aseptic precautions and shall be free from bacterial contamination. In order to prevent bacterial growth the competent national authority may decide that an antiseptic and/or antibiotic shall be added to the reagent (or to any solvent issued with dried reagents), provided that, in the presence of the added substance, the reagent still fulfils the requirements for specificity and potency.

Blood-grouping sera of human origin must contain at least 2.5 mg of protein nitrogen per ml of liquid or reconstituted serum.

Reagents whether in the liquid state or after reconstitution should be transparent and should not contain any sediment, gel or visible particles.

6. *Coloration*

Blood-grouping reagents for international exchanges should preferably not be artificially coloured at least until an international agreement is reached on a uniform system. Any added colouring matter must not interfere with the specific reaction.

7. *Dispensing and volume*

Blood-grouping reagents shall be dispensed in such a way and in such volumes that the reagent in one container is sufficient for the performance of tests with positive and negative control corpuscles in addition to the performance of tests with the unknown corpuscles. The volume in one container shall be such that the contents can if necessary be used for the performance of the appropriate tests for potency described in this Protocol.

8. *Records and samples*

Written records shall be kept by the producing laboratory of all steps in the production and control of blood-grouping reagents. Adequate samples of all reagents issued shall be retained by the laboratory until it can be reasonably assumed that the batch is no longer in use.

liquide ou desséché. Les réactifs desséchés doivent être placés dans une atmosphère de gaz inerte ou sous vide dans un récipient de verre scellé de telle façon que l'humidité soit exclue. Un réactif desséché de nouveau en présence d'anhydride phosphorique à une pression n'excédant pas 0,02 mm de mercure pendant 24 heures, ne perd pas plus de 0,5 % de son poids.

Les réactifs doivent être préparés avec des précautions d'asepsie et n'être pas contaminés par des bactéries. Pour éviter la prolifération de bactéries, l'autorité nationale compétente peut décider qu'il convient d'ajouter au réactif (ou à tout solvant fourni avec les réactifs desséchés) un antiseptique et/ou un antibiotique, sous réserve que, en présence de la substance ajoutée, le réactif réponde toujours aux normes de spécificité et de puissance.

Les sérums d'origine humaine pour groupage sanguin doivent contenir au moins 2,5 mg d'azote protéinique par ml de sérum liquide ou reconstitué.

Les réactifs, soit à l'état liquide, soit après reconstitution, doivent être transparents et ne doivent contenir ni sédiments, ni gel, ni particules visibles.

6. *Coloration*

Il est préférable que les réactifs pour groupage sanguin destinés à un échange international ne soient pas artificiellement colorés, du moins jusqu'à ce qu'un accord international admette un système uniforme. Toute substance colorante ajoutée doit être sans effet sur les réactions spécifiques.

7. *Distribution et volume*

Les réactifs pour la détermination des groupes sanguins doivent être distribués de telle manière et en tels volumes que le réactif contenu dans un récipient suffise pour l'exécution de tests avec globules témoins positifs et négatifs, en plus des tests avec les globules inconnus. Le volume contenu dans chaque récipient doit être tel que, le cas échéant, on puisse procéder aux tests de puissance décrits dans le présent Protocole.

8. *Registres et échantillons*

Le laboratoire producteur devra inscrire sur ses registres toutes les étapes de la production et du contrôle des réactifs pour groupage sanguin. Des échantillons adéquats de tous les réactifs distribués doivent être conservés par le laboratoire jusqu'à ce qu'il soit vraisemblable que le lot n'est plus en usage.

9. *Classification of reagents*

Reagents used for blood-grouping may contain substances of human, animal, vegetable (or mineral) origin, of which some constitute the active principle and others are adjuvants for enhancing the activity or maintaining the stability of the reagent.

For technical reasons these reagents have been divided into three categories according to the origin of their active principle. This does not mean that reagents of human origin contain exclusively substances of human origin or that animal or vegetable reagents cannot contain substances of human origin.

10. *Labels, leaflets and certificates*

A label printed in English and French, in black on white paper, shall be affixed to each final container and shall contain the following information:

1. Name and address of producer
2. Name of the reagent as it appears in the heading of the relevant specification
3. Name and amount of antiseptic and/or antibiotic, if present, or indication of absence
4. The volume or, where the reagent is dried, the volume and composition of the fluid needed for reconstitution
5. Expiry date
6. Batch number.

Moreover, this label or the label of the carton enclosing several final containers, or the leaflet accompanying the containers, shall contain the following information:

1. Full name and address of producer
2. Name of the reagent as is appears in the heading of the relevant specification
3. The volume, or, where the reagent is dried, the volume and composition of the fluid needed for reconstitution
4. Date of last potency test
5. Expiry date (if any)
6. Batch number
7. Adequate description of the method of use recommended by the producer
8. Conditions of storage of unopened ampoules and precautions to be taken after opening
9. Exact composition, including antiseptic and/or antibiotic if any

9. *Classification des réactifs*

Les réactifs utilisables pour la détermination des groupes sanguins peuvent renfermer des substances d'origine humaine, animale, végétale (ou minérale), les uns constituant le principe actif, les autres les adjuvants nécessaires pour un renforcement de leur activité ou le maintien de leur stabilité.

Pour des raisons techniques ces réactifs ont été groupés en trois chapitres selon l'origine de leur constituant actif. Cela ne signifie pas que les réactifs d'origine humaine contiennent exclusivement des produits d'origine humaine ou que les réactifs animaux ou végétaux ne puissent pas contenir des substances d'origine humaine.

10. *Etiquetage, notice et certificat*

Une étiquette en anglais et en français, imprimée en noir sur blanc, sera fixée sur chaque récipient définitif et portera les indications suivantes:

1. Nom et adresse de l'établissement producteur
2. Nom du réactif tel qu'il est indiqué dans le titre des spécifications correspondantes
3. Nom et quantité de l'antiseptique et/ou de l'antibiotique – le cas échéant – ou indication de son absence
4. Volume ou, si le réactif est desséché, volume et composition du liquide nécessaire à sa reconstitution
5. Date de péremption
6. Numéro du lot.

De plus, cette étiquette ou l'étiquette du colis renfermant plusieurs récipients définitifs, ou la notice accompagnant les récipients, portera les indications suivantes:

1. Nom et adresse de l'établissement producteur
2. Nom du réactif tel qu'il est indiqué dans le titre des spécifications correspondantes
3. Volume ou, si le réactif est desséché, volume et composition du liquide nécessaire à sa reconstitution
4. Date du dernier contrôle d'activité
5. Date de péremption (le cas échéant)
6. Numéro du lot
7. Description appropriée du mode d'emploi préconisé par le producteur
8. Conditions de stockage des ampoules non encore ouvertes et précautions à prendre après leur ouverture
9. Composition exacte, y compris (le cas échéant) l'antiseptique et/ou l'antibiotique

10. Statement whether the product contains or does not contain material of human origin.

Each consignment shall be accompanied by a certificate as provided in Article 4 of the Agreement and the Annex to the present Protocol. Examples of labels and leaflets are attached to the present Protocol.

Specific provisions

A. Blood-grouping sera of human origin

(a) Sera of human origin for ABO grouping

(i) Anti-A blood-grouping serum (human)

Anti-A serum is derived from the blood of selected group B persons, who may or may not have been immunised by group A red corpuscles or group A specific substance. Anti-A serum agglutinates human red corpuscles containing A antigen, i.e. those of blood groups A and AB, including sub-groups A₁, A₂, A₁B and A₂B, and does not agglutinate human red corpuscles which do not contain A antigen, i.e. those of blood groups O and B.

POTENCY

Titration

An anti-A serum shall be titrated separately against suspensions of A₁, A₂, and A₂B corpuscles, in parallel with the reconstituted but undiluted International Standard Preparation of anti-A blood-grouping serum or an equivalent reference preparation. The potency of the serum shall in each case be not less than 64 International Units per ml.

Determination of avidity

When anti-A serum is mixed on a slide with an equal volume of a 5 % to 10 % suspension of A₁, A₂, and A₂B corpuscles, agglutination of each suspension should first appear in not more than twice the time taken when the same test is performed with the reconstituted but undiluted International Standard Preparation of anti-A blood-grouping serum or with a reference standard of equivalent avidity.

(ii) Anti-B blood-grouping serum (human)

Anti-B serum is derived from the blood of selected group A persons, who may or may not have been immunised by group B red corpuscles or group B specific substance. Anti-B serum agglutinates human red corpuscles containing B antigen, i.e. those of blood groups B and AB, and does not agglutinate human red corpuscles which do not contain B antigen, i.e. those of blood groups O and A.

10. Indication de la présence ou de l'absence de tout produit d'origine humaine.

Chaque envoi doit être accompagné d'un certificat, conformément aux Dispositions de l'Article 4 de l'Accord et de l'Annexe du présent Protocole. Des exemples d'étiquette et de notice sont joints au présent Protocole.

Dispositions particulières

A. Réactifs d'origine humaine pour détermination des groupes sanguins

(a) Sérums d'origine humaine pour groupage sanguin A.B.O.

(i) Sérum anti-A pour groupage sanguin (humain)

Le sérum anti-A provient du sang de personnes du groupe B sélectionnées, immunisées ou non par des globules rouges du groupe A ou par des substances spécifiques du groupe A. Le sérum anti-A agglutine les globules rouges humains contenant les antigènes A, c'est-à-dire ceux des groupes A et AB, y compris les sous-groupes A₁, A₂, A₁B et A₂B, et n'affecte pas les globules rouges humains dépourvus des antigènes A, c'est-à-dire ceux des groupes O et B.

PUISSANCE:

Titrage

Un sérum anti-A doit être titré séparément sur des suspensions de globules A₁, A₂ et A₂B, parallèlement à la préparation étalon internationale reconstituée mais non diluée de sérum pour groupage sanguin anti-A ou à une préparation équivalente de référence. La puissance du sérum ne doit, en aucun cas, être inférieure à 64 unités internationales par ml.

Détermination de l'avidité

Après un mélange, sur une lame, de sérum anti-A avec un volume égal d'une suspension à 5 %–10 % de globules A₁, A₂ et A₂B, l'agglutination de chaque suspension doit apparaître avant le double du temps nécessaire pour l'agglutination, dans les mêmes conditions, obtenue au moyen de la préparation-étalon internationale (reconstituée mais non diluée), de sérum pour groupage sanguin anti-A ou d'une préparation-standard de même avidité.

(ii) Sérum anti-B pour groupage sanguin (humain)

Le sérum anti-B provient du sang de personnes du groupe A sélectionnées, immunisées ou non par des globules rouges du groupe B ou par des substances spécifiques du groupe B. Le sérum anti-B agglutine les globules rouges humains contenant l'antigène B, c'est-à-dire ceux des groupes B et AB, et n'affecte pas les globules rouges humains dépourvus de l'antigène B, c'est-à-dire ceux des groupes O et A.

POTENCY

Titration

An anti-B serum shall be titrated against a suspension of group B corpuscles in parallel with the reconstituted but undiluted International Standard Preparation of anti-B blood-grouping serum or an equivalent reference preparation. The potency of the serum shall be not less than 64 International Units per ml.

Determination of avidity

When anti-B serum is mixed on a slide with an equal volume of a 5 % to 10 % suspension of B corpuscles, agglutination should first appear in not more than twice the time taken when the same test is performed with the reconstituted but undiluted International Standard Preparation of anti-B blood-grouping serum or with a reference standard of equivalent avidity.

(iii) *Anti-A + Anti-B (group O) blood-grouping serum (human)*

Anti-A + anti-B (group O) serum is derived from the blood of selected group O persons who may or may not have been immunised by group A and group B red corpuscles or group A and group B specific substances. Anti-A + anti-B (group O) serum agglutinates human red corpuscles containing A or B agglutinogens or both, i.e. those of group A including sub-groups A₁ and A₂, group B and group AB including subgroups A₁B and A₂B, and does not agglutinate human red corpuscles which do not contain A or B agglutinogens, i.e. those of group O. It agglutinates human red corpuscles containing the A_x (A_y or A₀) antigen (which are not, in general, agglutinated by anti-A serum derived from group B donors).

POTENCY

Titration

An anti-A + anti-B (group O) serum shall be titrated separately against suspensions of A₁ and A₂ corpuscles in parallel with the reconstituted but undiluted International Standard Preparation of anti-A blood-grouping serum or an equivalent standard preparation. It shall also be titrated against a suspension of group B corpuscles in parallel with the reconstituted but undiluted International Standard Preparation of anti-B blood-grouping serum or an equivalent standard preparation.

The potency of the serum shall in every case be not less than 64 International Units per ml.

Anti-A + anti-B (group O) blood-grouping serum used undiluted shall also give readily detectable agglutination of group A_x (A_y or A₀) corpuscles.

PUISSANCE:

Titrage

Un sérum anti-B doit être titré sur une suspension des globules B parallèlement à la préparation-étalon internationale reconstituée mais non diluée de sérum pour groupage sanguin anti-B ou à une préparation équivalente de référence. La puissance du sérum ne doit pas être inférieure à 64 unités internationales par ml.

Détermination de l'avidité

Après mélange, sur une lame, du sérum anti-B avec un volume égal d'une suspension à 5 %–10 % de globules B, l'agglutination doit apparaître avant le double du temps nécessaire pour l'agglutination, dans les mêmes conditions, obtenue au moyen de la préparation-étalon internationale, reconstituée mais non diluée, de sérum pour groupage sanguin anti-B ou d'une préparation-étalon de même avidité.

(iii) *Sérum anti-A plus anti-B (groupe O) pour groupage sanguin (humain)*

Le sérum anti-A plus anti-B (groupe O) provient du sang de personnes du groupe O sélectionnées, immunisées ou non par des globules rouges A et B ou par des substances spécifiques des groupes A et B. Le sérum anti-A plus anti-B (groupe O) agglutine les globules rouges humains contenant les agglutinogènes A ou B, ou les agglutinogènes A et B, c'est-à-dire ceux du groupe A, y compris les sous-groupes A₁ et A₂, ceux du groupe B et ceux du groupe AB, y compris les sous-groupes A₁B et A₂B, et n'affecte pas les globules rouges humains dépourvus des agglutinogènes A ou B, c'est-à-dire ceux du groupe O. Il agglutine les globules rouges humains contenant l'antigène A_x (A_y ou A₀) (qui ne sont pas, généralement, agglutinés par le sérum anti-A provenant du sang de donneurs du groupe B).

PUISSANCE:

Titrage

Un sérum anti-A plus anti-B (groupe O) doit être titré séparément sur des suspensions de globules A₁ et A₂, parallèlement à la préparation-étalon internationale de sérum pour groupage sanguin anti-A reconstituée, mais non diluée, ou à une préparation équivalente de référence. Il doit être titré également sur une suspension de globules B parallèlement à la préparation-étalon internationale de sérum pour groupage sanguin anti-B reconstituée, mais non diluée, ou à une préparation équivalente de référence.

La puissance du sérum ne doit, en aucun cas, être inférieure à 64 unités internationales par ml.

Le sérum anti-A plus anti-B (groupe O) pour groupage sanguin non dilué doit également produire une agglutination aisément discernable des globules du groupe A_x (A_y ou A₀).

Determination of avidity

When anti-A + anti-B (group O) serum is mixed on a slide with equal volumes of 5 % to 10 % suspensions of A₁ and A₂ corpuscles agglutination shall first appear in not more than twice the time taken when the same tests are performed with the reconstituted but undiluted International Standard Preparation of anti-A blood-grouping serum or with a reference standard of equivalent avidity. When anti-A + anti-B (group O) serum is mixed on a slide with an equal volume of a 5 % to 10 % suspension of B corpuscles, agglutination shall first appear in not more than twice the time taken when the same test is performed with the reconstituted but undiluted International Standard Preparation of anti-B blood-grouping serum or a reference preparation of equivalent avidity. When an anti-A + anti-B (group O) serum is mixed on a slide with an equal volume of a 5 % to 10 % suspension of A_x (A_y or A_o) corpuscles, agglutination shall first appear in not more than 5 minutes at a temperature between 18° and 25°C.

(b) Sera of human origin for Rh grouping

Anti-Rh blood grouping sera, whatever their specificity, may be of either of two varieties differing in the conditions under which agglutination of homologous corpuscles is obtained. Certain sera commonly known as "complete" agglutinate corpuscles suspended in saline. With others, commonly known as "incomplete", agglutination can only be obtained in the presence of certain colloids such as bovine albumin or by means of other special techniques. The sera should be used under the conditions specified by the laboratory preparing them.

Some "incomplete" sera will also agglutinate homologous red corpuscles suspended in their own serum or plasma on slides.

The following requirements of potency for Rh grouping sera may need to be revised when International Standard Preparations become available.

(i) Anti-D (anti-Rh_o) blood-grouping serum (human)

Anti-D serum is derived from the blood of one or more persons immunised by the D antigen of the Rh system. It reacts with human red corpuscles containing the D antigen, but not with human red corpuscles which do not contain the D antigen.

POTENCY

Titration

"Complete" anti-D sera shall have a titre not less than 32 against CcDee corpuscles in 0.9 % solution of sodium chloride.

Détermination de l'avidité

Après mélange, sur une lame, de sérum anti-A plus anti-B (groupe O), avec un volume égal d'une suspension à 5 %-10 % de globules A₁ et A₂, l'agglutination de chaque suspension doit apparaître avant le double du temps nécessaire pour l'agglutination, dans les mêmes conditions, obtenue au moyen de la préparation-étalon internationale reconstituée mais non diluée de sérum pour groupage sanguin anti-A d'une préparation-étalon de même avidité. Après mélange, sur une lame, de sérum anti-A plus anti-B (groupe O) avec un volume égal d'une suspension à 5 %-10 % de globules B, l'agglutination doit apparaître avant le double du temps nécessaire pour l'agglutination, dans les mêmes conditions, obtenue au moyen de la préparation-étalon internationale reconstituée mais non diluée de sérum pour groupage sanguin anti-B ou d'une préparation-étalon de même avidité. Lorsqu'un sérum anti-A plus anti-B (groupe O) est mélangé, sur une lame, avec un volume égal d'une suspension à 5 %-10 % de globules A_x (A_y ou A₀), l'agglutination doit apparaître en moins de 5 minutes à une température comprise entre 18° et 25° C.

(b) Sérums d'origine humaine pour groupage sanguin Rh

Les sérums pour groupage sanguin Rh, quelle que soit leur spécificité, peuvent être de deux variétés différant par les conditions dans lesquelles une agglutination de globules homologues est effectuée. Certains sérums, dits „complets”, agglutinent les globules en milieu salin. D'autres, dits „incomplets”, sont seulement capables de provoquer une agglutination en présence de certains colloïdes tels que l'albumine bovine, ou au moyen d'autres techniques appropriées. Les sérums doivent être utilisés dans les conditions précisées par le laboratoire qui les prépare.

Quelques sérums „incomplets” agglutinent aussi sur lame les globules rouges homologues en suspension dans leur propre sérum ou plasma.

Les conditions suivantes relatives à la puissance des sérums pour groupage Rh pourront être révisées lorsque les préparations-étalon internationales seront disponibles.

(i) Sérum anti-D (anti-Rh₀) pour groupage sanguin (humain)

Le sérum anti-D provient du sang d'une ou plusieurs personnes immunisées par l'antigène D du système Rh. Il réagit avec des suspensions de globules rouges humains contenant l'antigène D, mais non pas avec celles de globules rouges humains dépourvus de l'antigène D.

PUISSANCE:

Titrage

Les sérums anti-D „complets” ne doivent pas avoir un titre inférieur à 32 sur les globules CcDee en suspension en milieu salin (NaCl à 0,9 %).

An "incomplete" anti-D serum shall be titrated against CcDee corpuscles in parallel with the reconstituted but undiluted International Standard Preparation of Incomplete Anti-D (anti-Rh₀) or an equivalent reference preparation. It shall have a potency of not less than 32 International Units. Besides reacting with all red corpuscles containing the D antigen, the serum should, as far as possible, react with corpuscles containing the D^u antigen.

Determination of avidity

Anti-D sera intended for use in the slide test of Diamond and Abelson should, when mixed on a slide with an equal volume of a 40 % to 50 % suspension of CcDee corpuscles at approximately 40°C, show visible agglutination within 30 seconds, and agglutination should be complete within 120 seconds.

(ii) *Anti-C (anti-Rh') blood-grouping serum (human)*

Anti-C serum is derived from the blood of one or more persons immunised by the C agglutinin of the Rh system. It agglutinates suspensions of human red corpuscles containing the C antigen, but not with human red corpuscles, which do not contain the C antigen. In this connection the C antigen is regarded as including the C^w antigen.

Most diagnostic anti-C sera contain "complete" anti-C together with "incomplete" anti-D. These sera are therefore specific for the C antigen only when the corpuscles under test are suspended in a 0.9 % solution of sodium chloride.

POTENCY

Titration

Anti-C sera ("complete" or "incomplete") should have a titre not less than 8 against Ccdee corpuscles.

Determination of avidity

Anti-C sera intended for use in the slide test of Diamond and Abelson (and which must not contain any form of anti-D) should, when mixed on a slide with an equal volume of a 40 % to 50 % suspension of Ccdee corpuscles, at approximately 40°C, show visible agglutination within 30 seconds, and agglutination should be complete within 120 seconds.

(iii) *Anti-E (anti-rh'') blood-grouping serum (human)*

Anti-E serum is derived from the blood of one or more persons immunised by the E antigen of the Rh system. It reacts with human red corpuscles containing the E antigen.

Les sérums anti-D „incomplets” doivent être titrés sur les globules CcDee parallèlement à la préparation-étalon internationale d'anti-D (anti-Rh₀) incomplet reconstituée, mais non diluée ou à une préparation de référence équivalente. La puissance du sérum ne doit, en aucun cas, être inférieure à 32 unités internationales par ml. Les sérums doivent réagir avec tous les globules contenant l'antigène D et en plus, autant que possible, avec des globules contenant l'antigène D^u.

Détermination de l'avidité

Les sérums anti-D destinés à être utilisés dans le test sur lame de Diamond et Abelson devraient, après mélange sur lame à un volume égal d'une suspension à 40 %-50 % de globules CcDee à environ 40°C, produire une agglutination en moins de 30 secondes, et l'agglutination devrait être complète en moins de 120 secondes.

(ii) *Sérum anti-C (anti-Rh') pour groupe sanguin (humain)*

Le sérum anti-C provient du sang d'une ou plusieurs personnes immunisées par l'antigène C du système Rh. Il réagit avec des suspensions de globules rouges humains contenant l'antigène C, mais pas avec celles de globules rouges humains dépourvus de l'antigène C. L'antigène C est conçu comme comprenant l'antigène C^w.

La plupart des sérums anti-C à usage diagnostique contiennent un anticorps anti-C „complet” ainsi qu'un anticorps anti-D „incomplet”. Ces sérums ne sont donc spécifiques pour l'antigène C que si les globules rouges à tester sont en suspension dans une solution de NaCl à 0,9 %.

PUISSANCE:

Titrage

Les sérums anti-C („complets” ou „incomplets”) ne devraient pas avoir un titre inférieur à 8 sur des globules Ccddee.

Détermination de l'avidité

Les sérums anti-C destinés à être utilisés dans le test sur lame de Diamond et Abelson (et qui ne doivent contenir aucune forme d'anti-D) devraient, après mélange sur lame à un volume égal d'une suspension de 40 %-50 % de globules Ccddee à environ 40°C, produire une agglutination visible en moins de 30 secondes, l'agglutination devant être complète en moins de 120 secondes.

(iii) *Sérum anti-E (anti-rh'') pour groupe sanguin (humain)*

Le sérum anti-E provient du sang d'une ou plusieurs personnes immunisées par l'antigène E du système Rh. Il réagit avec des suspensions de globules rouges humains contenant l'antigène E, mais non pas avec des globules rouges humains dépourvus de l'antigène E.

POTENCY

Titration

Anti-E sera ("complete" or "incomplete") should have a titre not less than 8 against ccddEe corpuscles.

Determination of avidity

Anti-E sera intended for use in the slide test of Diamond and Abelson (and which must not contain any form of Anti-D) should, when mixed on a slide with an equal volume of a 40 % to 50 % suspension of ccddEe corpuscles at approximately 40°C, show visible agglutination within 30 seconds, and agglutination should be complete within 120 seconds.

(iv) *Anti-D + C (anti-Rh₀rh') blood-grouping serum (human)*

Anti-D + E (anti-Rh₀rh'') blood-grouping serum (human)

Sera of specificity anti-D + C and of specificity anti-D + E may be obtained directly from the blood of immunised individuals or may be prepared by mixing anti-D with anti-C or anti-E serum. In a given serum both antibodies must be simultaneously active under the conditions of reaction specified by the producer. Each serum must react with all types of red corpuscles which would react with either of the component antibodies, and must fail to react with red corpuscles which contain neither the C nor D antigen in the case of anti-D + C and neither D nor E antigen in the case of anti-D + E. The titres should not be less than those specified for the component antibodies, but in the case of anti-D + C (which is a frequent combination in the serum of immunised persons) it is desirable that the anti-C titre should not be less than 32 and in the case of anti-D + E it is desirable that the anti-E titre should not be less than 8. Where a serum is intended for use in the slide test of Diamond and Abelson, the times of agglutination for all reacting types of red corpuscles should not be less than those specified for the component antibodies.

B. Reagents of non-human origin

(a) *Sera of animal origin*

(i) *Anti-A blood-grouping serum (animal)*

Anti-A serum is derived from the blood of animals which may or may not have been immunised by group A red corpuscles or group A specific substances. Anti-A serum agglutinates human red corpuscles containing A antigen, i.e. those of blood groups A and AB, including sub-groups A₁, A₂, A₁B and A₂B, and does not agglutinate human

PUISSANCE:

Titrage

Les sérums anti-E („complets” ou „incomplets”) ne devraient pas avoir un titre inférieur à 8 sur des globules ccddEe.

Détermination de l'avidité

Les sérums anti-E destinés à être utilisés sur lame de Diamond et Abelson (et qui ne doivent contenir aucune forme d'anti-D) devraient, après mélange sur lame à un volume égal d'une suspension de 40 %–50 % de globules ccddEe, à environ 40°C, produire une agglutination visible en moins de 30 secondes, l'agglutination devant être complète en moins de 120 secondes.

(iv) *Sérum anti-D plus C (Anti-Rh₀rh')* pour groupage sanguin (humain)

Sérum anti-D plus E (Anti-Rh₀rh'') pour groupage sanguin (humain)

Des sérums de spécificité anti-D plus C ou anti-D plus E peuvent être obtenues directement du sang de personnes immunisées ou peuvent être préparés en mélangeant un sérum anti-D avec un sérum anti-C ou anti-E. Dans un sérum donné, les deux anticorps doivent être simultanément actifs dans les conditions de réaction spécifiées par le producteur. Chaque sérum doit réagir avec tous les types de globules rouges qui réagiraient avec l'un ou l'autre des anticorps qui les composent, et ne doit pas réagir avec les globules rouges qui ne possèdent pas l'agglutinogène C ou l'agglutinogène D et qui ne possèdent pas l'antigène D dans le cas de l'anti-D plus E. Les titres ne devraient pas être inférieurs à ceux qui sont requis pour les anticorps qui les composent, mais dans le cas de l'anti-D plus C (combinaison fréquente dans le sérum des personnes immunisées), il est désirable que le titre de l'anti-C ne soit pas inférieur à 32 et dans le cas de l'anti-D plus E, il est désirable que le titre de l'anti-E ne soit pas inférieur à 8. Si un sérum est destiné à être utilisé dans le test sur lame de Diamond et Abelson, les temps d'agglutination pour tous les types de globules rouges réagissants ne devraient pas être inférieurs à ceux qui sont requis pour chaque constituant d'anticorps.

B. Réactifs d'origine non humaine

(a) *Sérums d'origine animale*

(i) *Réactif anti-A pour groupage sanguin (animal)*

Le sérum anti-A provient du sang d'animaux immunisés ou non par des globules rouges du groupe A ou par des substances spécifiques du groupe A. Le sérum anti-A agglutine les globules rouges humains contenant les antigènes A, c'est-à-dire ceux des groupes A et AB, y compris les sous-groupes A₁, A₂, A₁B et A₂B, et n'agglutine pas les

red corpuscles which do not contain A antigen, i.e. those of blood groups O and B.

POTENCY

Titration

An anti-A serum shall be titrated separately against suspensions of A₁, A₂, and A₂B red corpuscles, in parallel with the reconstituted but undiluted International Standard Preparation of anti-A blood-grouping serum or an equivalent reference preparation¹⁾. The potency of the serum shall in each case be not less than 64 International Units per ml.

Determination of avidity

When anti-A serum is mixed on a slide with an equal volume of 5 % to 10 % suspension of A₁, A₂ and A₂B corpuscles, agglutination of each suspension shall in each case first appear in not more than twice the time taken when the same test is performed with the reconstituted but undiluted International Standard Preparation of anti-A blood-grouping serum or with a reference standard of equivalent avidity.

(ii) *Anti-B blood-grouping serum (animal)*

Anti-B serum is derived from the blood of animals which may or may not have been immunised by group B red corpuscles or group B specific substances. Anti-B serum agglutinates human red corpuscles containing B antigen, i.e. those of blood groups B and AB, and does not agglutinate human red corpuscles which do not contain B antigen, i.e. those of blood groups O and A.

POTENCY

Titration

An anti-B serum shall be titrated against a suspension of group B corpuscles in parallel with the reconstituted but undiluted International Standard Preparation of anti-B blood-grouping serum or an equivalent reference preparation¹⁾. The potency of the serum shall be not less than 64 International Units per ml.

Determination of avidity

When anti-B serum is mixed on a slide with an equal volume of a 5 % to 10 % suspension of B corpuscles, agglutination shall first appear in not more than twice the time taken when the same test is performed with the reconstituted but undiluted International Standard Preparation of anti-B blood-grouping serum or with a reference standard of equivalent avidity.

¹⁾ The International Standard Preparation is of human origin; an equivalent reference preparation, if used, may be of human or non-human origin.

globules rouges humains dépourvus des antigènes A, c'est-à-dire ceux des groupes O et B.

PUISSANCE:

Titration

Un sérum anti-A doit être titré séparément sur des suspensions de globules A₁, A₂ et A₂B, parallèlement à la préparation-étalon internationale reconstituée mais non diluée du sérum pour groupage sanguin anti-A, ou à une préparation de référence équivalente¹⁾. La puissance du sérum ne doit, en aucun cas, être inférieure à 64 unités internationales par ml.

Détermination de l'avidité

Après mélange, sur lame, du sérum anti-A avec un volume égal d'une suspension à 5 %-10 % de globules A₁, A₂ et A₂B, l'agglutination de chaque suspension doit apparaître avant le double du temps nécessaire pour l'agglutination, dans les mêmes conditions, obtenue au moyen de la préparation-étalon internationale reconstituée mais non diluée de sérum pour groupage sanguin anti-A ou d'une préparation-étalon de même avidité.

(ii) *Sérum anti-B pour groupage sanguin (animal)*

Le sérum anti-B provient du sang d'animaux immunisés ou non par des globules rouges du groupe B ou par des substances spécifiques du groupe B. Le sérum anti-B agglutine les globules rouges humains contenant l'antigène B, c'est-à-dire ceux des groupes B et AB, et n'agglutine pas les globules rouges humains dépourvus de l'antigène B, c'est-à-dire ceux des groupes O et A.

PUISSANCE:

Titration

Un sérum anti-B doit être titré sur une suspension de globules B parallèlement à la préparation-étalon internationale reconstituée mais non diluée de sérum pour groupage sanguin anti-B ou à une préparation équivalente de référence¹⁾. La puissance du sérum ne doit pas être inférieure à 64 unités internationales par ml.

Détermination de l'avidité

Après mélange, sur lame, du sérum anti-B sur un volume égal d'une suspension à 5 %-10 % de globules B, l'agglutination doit apparaître avant le double du temps nécessaire pour l'agglutination, dans les mêmes conditions, obtenue au moyen de la préparation-étalon internationale reconstituée mais non diluée de sérum pour groupage sanguin anti-B ou d'une préparation-étalon de même avidité.

¹⁾ La „préparation-étalon internationale” est d'origine humaine; la préparation-étalon équivalente que l'on emploiera, le cas échéant, pourra être soit d'origine humaine, soit d'origine animale.

(iii) *Anti-human-globulin serum (animal)* ¹⁾

Anti-human globulin serum for use in blood group serology must contain agglutinating antibodies against IgG globulin and agglutinating antibodies against complement factors. It is derived from the blood of animals immunised by the injection of human serum protein. It must agglutinate all human red corpuscles coated with human IgG and/or complement factors. Under the conditions specified by the manufacturers it does not agglutinate uncoated human red corpuscles, to whatever group they may belong.

Specificity

The specificity of an anti-human globulin serum for use in blood group serology must be tested with human red corpuscles coated with a variety of antibodies i.e. red corpuscles sensitised with human incomplete antibodies anti-D, anti-K and anti-Fy^a, red corpuscles sensitised with complement-binding incomplete antibodies anti-Le^a in the presence of fresh human serum, and red corpuscles sensitised with so-called "incomplete cold antibodies" and with tanned red corpuscles sensitised with human IgG and, finally, with 10 different samples of non-coated red corpuscles with and without A and B antigens.

POTENCY

Titration

An anti-human globulin serum, as supplied, or at the dilution recommended on the label, shall strongly agglutinate human red corpuscles coated with a human incomplete anti-D serum, having a titre of 4 (or less) against D-positive corpuscles, when the titration is performed by the albumin replacement method. At the same dilution it shall agglutinate K-positive human red corpuscles sensitised with selected weak anti-K antibodies and Fy^a positive red corpuscles sensitised with selected weak anti-Fy^a antibodies.

It shall also, at the same or a different dilution, as specified on the label, agglutinate human red corpuscles sensitised with weak complement-binding incomplete anti-Le^a antibodies in the presence of fresh serum.

For clinical use it is desirable that the coating of all the types of incomplete antibodies above shall be detectable with a single dilution of the anti-human globulin serum.

¹⁾ Coombs, R.R.A., Mourant, A.E. and Race R.R. (1945), *Lancet* ii 15.
Coombs, R.R.A., Mourant, A.E. and Race, R.R. (1945), *Brit. J. exp. Path.*, 26, 255.

(iii) *Sérum anti-globulines humaines (animal)* ¹⁾

Le sérum anti-globulines humaines pour l'utilisation dans la sérologie des groupes sanguins doit contenir des anticorps agglutinants anti-IgG et des anticorps agglutinants contre des facteurs du complément. Il provient du sang d'animaux immunisés par injection de protéines sériques humaines. Il doit agglutiner tous les globules rouges humains revêtus d'IgG humaine et/ou de facteurs du complément. Employé conformément aux prescriptions du fabricant, il n'agglutine pas les globules rouges humains non revêtus, quel que soit le groupe sanguin auxquels ils appartiennent.

Spécificité

La spécificité d'un sérum anti-globulines humaines pour l'utilisation dans la sérologie de groupes sanguins doit être contrôlée avec des globules rouges humains sensibilisés par une variété d'anticorps: des globules rouges sensibilisés par des anticorps humains incomplets anti-D, anti-K et anti-Fy^a, des globules rouges sensibilisés par des anticorps incomplets fixant le complément anti-Le^a en présence de sérum humain frais, des globules rouges sensibilisés par des anticorps incomplets du type froid, des globules rouges tannés revêtus d'IgG humaine et finalement 10 échantillons différents de globules rouges humains non revêtus, contenant les antigènes A et B, resp. dépourvus des antigènes A et B.

PUISSANCE:

Titrage

Un sérum anti-globulines humaines doit, tel qu'il est livré, ou après dilution selon les indications portées sur l'étiquette, agglutiner fortement les globules rouges humains sensibilisés, par des anticorps incomplets anti-D d'origine humaine, dont le titre est égal à 4 (ou inférieur), lorsqu'il est titré sur des globules rouges D positifs par la méthode „albumin replacement". A la même dilution, il doit agglutiner les globules rouges humains K positifs sensibilisés par des anticorps anti-K faibles sélectionnés et les globules rouges Fy^a positifs sensibilisés par des anticorps anti-Fy^a faibles sélectionnés à cette fin.

Il doit aussi, à la même dilution ou à une dilution différente (si cela est spécifié sur l'étiquette) agglutiner les globules rouges humains sensibilisés par des anticorps incomplets fixant le complément anti-Le^a en présence de sérum humain frais.

Pour l'usage clinique habituel, il est souhaitable que la sensibilisation par tous les types d'anticorps incomplets mentionnés ci-dessus soit décelable avec une seule dilution du sérum anti-globulines humaines.

¹⁾ Coombs, R.R.A., Mourant, A.E. and Race R.R. (1945), Lancet ii 15.

Coombs, R.R.A., Mourant, A.E. and Race, R.R. (1945), Brit. J. exp. Path., 26, 255.

(b) *Blood-grouping reagents of vegetable origin*

(i) *Anti-B blood-grouping reagent (vegetable)*

Anti-A reagent is prepared by extraction from the seeds or other parts of a suitable plant, followed, if necessary, by purification. Anti-A reagent agglutinates human red corpuscles containing A antigens, i.e. those of blood groups A and AB, including sub-groups A₁, A₂, A₁B and A₂B, and does not agglutinate human red corpuscles which do not contain A antigens, i.e. those of blood groups O and B.

POTENCY

Titration

An anti-A reagent shall be titrated separately against suspensions of A₁, A₂ and A₂B corpuscles, in parallel with the reconstituted but undiluted International Standard Preparation of anti-A blood-grouping serum or an equivalent reference preparation¹).

The potency of the reagent shall in each case be not less than 64 International Units per ml.

Determination of avidity

When anti-A reagent is mixed on a slide with an equal volume of a 5 % to 10 % suspension of A₁, A₂ and A₂B corpuscles, agglutination of each suspension shall first appear in not more than twice the time taken when the same test is performed with the reconstituted but undiluted International Standard Preparation of anti-A blood-grouping serum or with a reference standard of equivalent avidity.

(ii) *Anti-B blood-grouping reagent (vegetable)*

Anti-B reagent is prepared by extraction from the appropriate part of a suitable plant, followed, if necessary, by purification. Anti-B reagent agglutinates human red corpuscles containing B antigen, i.e. those of blood groups B and AB, and does not agglutinate human red corpuscles which do not contain B antigen, i.e. those of blood groups O and A.

POTENCY

Titration

An anti-B reagent shall be titrated against a suspension of group B corpuscles in parallel with the reconstituted but undiluted International Standard Preparation of anti-B blood-grouping serum or an equivalent reference preparation¹). The potency of the reagent shall not be less than 64 International Units per ml.

¹) The International Standard Preparation is of human origin; an equivalent reference preparation, if used, may be of human or non-human origin.

(b) *Réactifs d'origine végétale*

(i) *Réactif anti-A pour groupage sanguin (végétal)*

Le réactif anti-A est extrait des graines ou de toute autre partie d'une plante propre à cet usage et soumis, ensuite, si besoin est, à un processus de purification. Le réactif anti-A agglutine les globules rouges humains contenant les antigènes A, c'est-à-dire ceux des groupes A et AB, y compris les sous-groupes A₁, A₂, A₁B et A₂B, et n'agglutine pas les globules rouges humains dépourvus des antigènes A, c'est-à-dire ceux des groupes O et B.

PUISSANCE:

Titrage

Un réactif anti-A doit être titré séparément sur des suspensions de globules A₁, A₂ et A₂B parallèlement à la préparation-étalon internationale reconstituée mais non diluée de sérum pour groupage sanguin anti-A, ou à une préparation équivalente de référence¹⁾.

La puissance du réactif ne doit, en aucun cas, être inférieure à 64 unités internationales par ml.

Détermination de l'avidité

Après mélange, sur lame, d'un réactif anti-A avec un volume égal d'une suspension à 5 %–10 % de globules A₁, A₂ et A₂B, l'agglutination de chaque suspension doit apparaître avant le double du temps nécessaire pour l'agglutination, dans les mêmes conditions, obtenue au moyen de la préparation-étalon internationale reconstituée mais non diluée du sérum pour groupage sanguin anti-A ou d'une préparation-étalon de même avidité.

(ii) *Réactif anti-B pour groupage sanguin (végétal)*

Le réactif anti-B est extrait de la partie adéquate d'une plante propre à cet usage et soumis, ensuite, si besoin est, à un processus de purification. Le réactif anti-B agglutine les globules rouges humains contenant l'antigène B, c'est-à-dire ceux des groupes B et AB, et n'agglutine pas les globules rouges humains dépourvus de l'antigène B, c'est-à-dire ceux des groupes O et A.

PUISSANCE:

Titrage

Un réactif anti-B doit être titré sur une suspension de globules B parallèlement à la préparation-étalon internationale reconstituée mais non diluée de sérum pour groupage sanguin anti-B, ou à une préparation équivalente de référence¹⁾. La puissance du réactif ne doit pas être inférieure à 64 unités internationales par ml.

¹⁾ La „préparation-étalon internationale” est d'origine humaine; la préparation-étalon équivalente que l'on emploiera, le cas échéant, pourra être soit d'origine humaine, soit d'origine animale.

Determination of avidity

When anti-B reagent is mixed on a slide with an equal volume of a 5 % to 10 % suspension of B corpuscles, agglutination shall first appear in not more than twice the time taken when the same test is performed with the reconstituted but undiluted International Standard Preparation of anti-B blood-grouping serum or with a reference standard of equivalent avidity.

Exemples d'étiquette

Examples of label

CONSEIL DE L'EUROPE

COUNCIL OF EUROPE

*Accord européen relatif à l'échange
des réactifs pour la détermination des groupes sanguins
European Agreement on the exchange
of blood-grouping reagents*

(a) <i>sérum liquide</i> 1. Laboratoire X, Amsterdam 2. Sérum anti-A (humain) 3. N_3Na 0,1 % 4. 5 ml 5. 7 septembre 1965 6. N° 1 2 3 4	(a) <i>fluid serum</i> 1. . . Laboratory, Amsterdam 2. Anti-A serum (human) 3. Sodium Azide 0.1 % 4. 5 ml 5. 7th September, 1965 6. N° 1 2 3 4
(b) <i>sérum desséché</i> 1. Laboratoire X, Amsterdam 2. Sérum anti-B (animal) 3. Mersalate 0,1 % 4. Reconstituer avec 5 ml d'eau distillée 5. 31 décembre 1968 6. N° 4321	(b) <i>dried serum</i> 1. . . Laboratory, Amsterdam 2. Anti-B serum (animal) 3. Mersalate 0.1 % 4. To be reconstituted with 5 ml of distilled water 5. 31st December, 1968 6. N° 4321

Détermination de l'avidité

Après mélange, sur lame, du réactif anti-B avec un volume égal d'une suspension à 5 %–10 % de globules B, l'agglutination doit apparaître avant le double du temps nécessaire pour l'agglutination, dans les mêmes conditions, obtenue au moyen de la préparation-étalon internationale reconstituée mais non diluée pour le groupage sanguin anti-B ou d'une préparation-étalon de même avidité.

Example of leaflet**COUNCIL OF EUROPE***European Agreement on the exchange of
blood-grouping reagents*

1. Central Blood Transfusion Laboratory, 1 Main Street, Metropolis, Westland
2. Anti-E (anti-rh") serum (human)
3. 10 ml
4. Date of last potency test: 30th May 1961
5. Expiry Date, 30th May 1962
6. N° 5432
7. The red corpuscles to be tested are washed one or more times with 0.9 % saline. An approximately 3 % suspension is prepared by mixing one volume or drop of packed red corpuscles with 30 volumes or drops of saline. With practice the strength of a suspension can be judged adequately by inspection.

A small drop of serum is delivered into a precipitin tube (6 mm × 30 mm) from a Pasteur pipette, and a similar drop of red corpuscle suspension is added. (With practice considerable economy can be achieved by delivering the serum and corpuscle suspension from pipettes marked at a volume of 0.01 ml.) The contents of the tube are mixed and incubated at 37°C for two hours. The contents of the tube are then cautiously transferred to a microscope slide and gently spread upon it. Unless agglutination is unmistakable to the unaided eye the slide is examined for the presence and degree of agglutination under the microscope.

8. Store at - 20°C or below. If to be used after day of opening, add 0.1 ml of a 10 % solution of sodium azide.
 9. Human anti-E (anti-rh") serum: 5 ml, 30 % solution of bovine albumin: 5 ml
 10. This product contains material of human origin.
-

Exemple de notice**CONSEIL DE L'EUROPE***Accord européen relatif à l'échange des réactifs pour la
détermination des groupes sanguins*

1. Laboratoire central de transfusion sanguine, 1 Main Street, Metropolis, Westland
 2. Sérum anti-E (anti-rh") (humain)
 3. 10 ml
 4. Date du dernier contrôle d'activité: 30 mai 1961
 5. Date de péremption: 30 mai 1962
 6. N° 5432
 7. Les globules rouges à examiner doivent être lavés une ou plusieurs fois avec une solution saline de 0,9 %. Une suspension d'environ 3 % est préparée ensuite en mélangeant un volume ou une goutte de culot globulaire avec 30 volumes ou gouttes de solution saline. Avec un peu d'habitude, la concentration d'une suspension peut être évaluée de façon satisfaisante à l'œil nu.

Une petite goutte de sérum est déposée dans un tube à hémolyse (6 mm × 30 mm) à l'aide d'une pipette Pasteur. On ajoute ensuite une petite goutte de suspension de globules rouges. (Avec un peu d'habitude, on peut réaliser une économie considérable en distribuant le sérum et la suspension globulaire à l'aide de pipettes graduées à 0,01 ml.) Le contenu de tube est mélangé et mis à incuber deux heures à 37°C. Le contenu du tube est alors transporté et étalé avec précaution sur une lame de microscope. Si l'agglutination n'est pas clairement visible à l'œil nu, la lame est examinée au microscope pour établir si l'agglutination s'est produite et déterminer son intensité.
 8. Conserver à une température inférieure ou égale à - 20°C. Si le produit n'est pas utilisé le jour même de l'ouverture, ajouter 0,1 ml d'une solution de N_3Na à 10 %
 9. - Sérum humain anti-E (anti-rh"): 5 ml
- Albumine bovine à 30 %: 5 ml
 10. Ce réactif contient une substance d'origine humaine.
-

Annexe au Protocole
Annex to the Protocol

CONSEIL DE L'EUROPE
COUNCIL OF EUROPE

*Accord européen relatif à l'échange
des réactifs pour la détermination des groupes sanguins*

*European Agreement on the exchange
of blood-grouping reagents*

Certificat

(article 4)

Certificate

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

..... 19..

(lieu) (date)

(place)

Nombre de
colis

Le soussigné déclare que l'envoi spécifié en marge
The undersigned certifies that the shipment specified in the margin

Number of
packages

préparé sous la responsabilité de
prepared under the responsibility of

Désignation
Marked

organisme visé à l'article 6 de l'Accord, est conforme aux spécifications du Protocole à l'Accord et qu'il peut être délivré immédiatement au destinataire (nom et lieu)

N° des lots
Batch No.

one of the bodies referred to in Article 6 of the Agreement, is in conformity with the specifications of the Protocol to the Agreement and can be delivered immediately to the consignee (name and place).....

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

C. VERTALING

Zie *Trb.* 1965, 4 en *Trb.* 1967, 141.

De vertaling in het Nederlands van het bij het Proces-verbaal van de Secretaris-Generaal van de Raad van Europa van 9 juli 1968 tot stand gekomen gewijzigde Protocol luidt als volgt:

**Protocol bij de Europese Overeenkomst betreffende de uitwisseling
van testsera voor bloedgroepenonderzoek**

Algemene bepalingen

1. Specificiteit

Een reagens voor bloedgroepenonderzoek moet met alle geteste bloedspecimens reageren, die het aan de antistof homologe antigeen of andere op het etiket vermelde stoffen bevatten.

Wanneer een reagens wordt gebruikt met de door de producent aanbevolen methode, mag geen enkele der navolgende factoren of verschijnselen zich voordoen:

- (a) hemolytische eigenschappen;
- (b) antistoffen of andere stoffen die niet op het etiket vermeld staan;
- (c) bacteriële produkten die vals positieve of vals negatieve reacties teweeg zouden kunnen brengen;
- (d) pseudo-agglutinatie door vorming van geldrollen;
- (e) prozone-effect.

2. Sterkte

De titer wordt gemeten door van het te onderzoeken reagens een reeks tweevoudige verdunningen te maken in een passende oplossing. Bij iedere verdunning wordt een gelijk volume van een suspensie van rode bloedlichaampjes gevoegd. De titer is het getal dat de sterkste verdunning aangeeft waarin nog een reactie valt waar te nemen, waarbij de verdunning wordt berekend zonder in het totale volume het volume van de suspensie van bloedlichaampjes op te nemen.

In geval van anti-A, anti-B en andere reagentia voor gebruik op objectglazen, wordt de aviditeit uitgedrukt door de tijd die nodig is voor de agglutinatie op een objectglas.

3. Internationale standaarden en internationale eenheden

Door de Wereldgezondheidsorganisatie zijn internationale normen opgesteld voor de reagentia anti-A en anti-B en incompleet anti-D; deze normen zijn in studie voor reagentia van andere specificiteiten. Een internationaal standaardpreparaat bevat, per definitie, een bepaald aantal internationale eenheden per mg of ml; deze definitie is onafhankelijk van de titers die worden waargenomen wanneer de reagentia met speciale rode bloedlichaampjes worden onderzocht ¹⁾.

4. Stabiliteit en vervaldatum

Ieder reagens dat is opgeslagen onder de door de producent aanbevolen omstandigheden, moet de vereiste eigenschappen ten minste een jaar behouden.

Voor reagentia in vloeibare toestand mag de op het etiket aangegeven vervaldatum niet later zijn dan een jaar na de datum waarop bij de laatste controle een voldoende werkzaamheid werd bevonden. Na volgende controles op de werkzaamheid kan de vervaldatum steeds een jaar worden opgeschoven.

¹⁾ De sterkte der reagentia voor bloedgroepenonderzoek van de meeste specificiteiten wordt uitgedrukt als de agglutinatietiter welke wordt waargenomen wanneer het reagens in een reeks verdunningen wordt getest met een suspensie van rode bloedlichaampjes. De titer geeft de verdunning aan van het reagens in het laatste mengsel van de reeks waarin agglutinatie nog microscopisch waarneembaar is.

De sterkte der reagentia voor bloedgroepenonderzoek waarvoor internationale standaardpreparaten (thans alleen nog anti-A en anti-B en incompleet anti-D) bestaan, kan worden uitgedrukt in internationale eenheden *) op basis van titratie van het onbekende reagens in vergelijking met de internationale standaard of met een nationale substandaard.

De internationale standaardpreparaten van sera voor bloedgroepenonderzoek worden afgeleverd in ampullen met gedroogd serum van menselijke oorsprong. Wanneer de inhoud wordt opgelost tot een hoeveelheid van 1 ml bevatten de anti-A en anti-B sera per definitie 256 Internationale Eenheden per ml. Deze ampullen worden gratis verstrekt door het Internationale Laboratorium voor biologische standaarden van de W.G.O., Statens Seruminstituut, Kopenhagen.

De navolgende tabel geeft een voorbeeld van een vergelijkende titratie van het internationale standaardserum anti-A (S) en een „onbekend” reagens anti-A (U) getest met rode bloedlichaampjes van de bloedgroepen A₁ en A₂B.

	Serum S	Reagens U	Serum S	Reagens U
bloed- lichaampjes A ₁	1 : 512	1 : 128	256	64
bloed- lichaampjes A ₂ B	1 : 32	1 : 16	256	128
	(waargeno- men) titers	(waargeno- men) titers	Eenheden (per definitie)	Eenheden (volgens ver- gelijking)

*) Zie Bull. Wld. Hlth. Org. 1954, 10, 937, 941 – 1950, 3, 301.

Ten aanzien van reagentia in gedroogde toestand dient de op het etiket vermelde vervaldatum in overeenstemming te zijn met het resultaat der stabiliteitsproeven, en moet deze worden goedgekeurd door de nationale autoriteiten die met de controle zijn belast.

5. *Wijze van bewaren*

Reagentia voor bloedgroepenonderzoek kunnen in vloeibare of in gedroogde toestand worden bewaard. De gedroogde reagentia dienen te worden bewaard onder inert gas of in vacuo, in een glazen houder die zodanig is afgesloten dat geen vocht kan binnendringen. Indien een gedroogd reagens boven fosforpentoxyde bij ten hoogste 0,02 mm kwikdruk verder wordt gedroogd, mag na 24 uur niet meer dan 0,5 percent gewichtsverlies optreden.

De reagentia moeten onder aseptische voorzorgen worden bereid en mogen niet met bacteriën zijn besmet. Ter bestrijding van bacteriën kan de bevoegde autoriteit van ieder land beslissen dat aan elk reagens (of aan elk oplosmiddel dat bij de gedroogde reagentia wordt geleverd) een antisepticum en/of een antibioticum wordt toegevoegd, op voorwaarde dat het reagens ook met deze toevoeging blijft beantwoorden aan de normen van specificiteit en sterkte.

De sera van menselijke oorsprong voor bloedgroepenonderzoek moeten per ml vloeibaar of opgelost serum ten minste 2,5 mg eiwitstikstof bevatten.

Zowel de vloeibare als de opgeloste sera moeten helder zijn en mogen geen neerslag, gel of zichtbare deeltjes bevatten.

6. *Kleur*

Het is wenselijk dat aan reagentia voor bloedgroepenonderzoek die met het buitenland worden uitgewisseld, geen kleurstof wordt toegevoegd, althans totdat er bij internationale overeenkomst een eenheidssysteem wordt aangenomen. Een toegevoegde kleurstof mag geen invloed hebben op de specifieke reactie.

7. *Verstrekking en hoeveelheid*

De reagentia voor bloedgroepenonderzoek dienen op dusdanige wijze en in dusdanige hoeveelheden te worden verstrekt dat het reagens uit één houder voldoende is voor het uitvoeren van tests met positieve en negatieve controle bloedlichaampjes, evenals voor tests met de onbekende bloedlichaampjes. De hoeveelheid in iedere houder moet zodanig zijn dat men eventueel ook proeven kan uitvoeren ter bepaling van de sterkte zoals omschreven in dit Protocol.

8. *Registers en specimens*

Het laboratorium waar de reagentia voor bloedgroepenonderzoek worden bereid dient nauwkeurig het verloop van produktie en controle van de reagentia bij te houden. Er dienen van alle verstrekte

reagentia voldoende specimens door het laboratorium te worden bewaard totdat mag worden aangenomen dat de desbetreffende partij niet langer in gebruik is.

9. *Indeling der reagentia*

Reagentia voor bloedgroepenonderzoek kunnen stoffen bevatten die van menselijke, dierlijke, plantaardige (of minerale) oorsprong zijn, waarvan sommige de actieve stof en andere hulpmiddelen zijn voor het versterken van de werkingskracht of voor het behoud van de stabiliteit.

Om technische redenen zijn deze reagentia ingedeeld in drie categorieën, en wel naar de oorsprong van hun actieve stof. Dit wil niet zeggen dat reagentia van menselijke oorsprong uitsluitend stoffen van menselijke oorsprong bevatten, of dat de dierlijke of plantaardige reagentia geen stoffen van menselijke oorsprong mogen bevatten.

10. *Etikettering, handleiding, verklaring*

Een wit etiket met zwarte opdruk in het Engels en in het Frans wordt bevestigd op iedere klaargemaakte houder en hierop zijn de navolgende gegevens vermeld:

1. Naam en adres van de instelling waar het reagens is bereid
2. Naam van het reagens zoals aangegeven in de desbetreffende handleiding
3. Naam en hoeveelheid antisepticum en/of antibioticum, indien aanwezig, of aanduiding dat deze stoffen ontbreken
4. Volume of, indien het een gedroogd reagens betreft, volume en samenstelling van de voor de oplossing ervan benodigde vloeistof
5. Vervaldatum
6. Nummer van de partij.

Verder bevat dit etiket of het etiket op de doos waarin zich verschillende klaargemaakte houders bevinden, of de handleiding gevoegd bij de houders, de navolgende gegevens:

1. Naam en adres van de instelling waar het reagens is bereid
2. Naam van het reagens zoals aangegeven in de desbetreffende handleiding
3. Volume of, indien het een gedroogd reagens betreft, volume en samenstelling van de voor de oplossing ervan benodigde vloeistof
4. Datum waarop voor het laatst de werkzaamheid is gecontroleerd
5. (Eventuele) vervaldatum
6. Nummer van de partij

7. Nauwkeurige omschrijving van de door de producent aanbevolen gebruikswijze
8. De omstandigheden waaronder ongeopende ampullen dienen te worden opgeslagen, alsmede de te nemen maatregelen bij het bewaren van geopende ampullen
9. Juiste samenstelling, alsmede het antisepticum en/of het antibioticum, indien aanwezig
10. Aanduiding betreffende de aan- of afwezigheid van stoffen van menselijke oorsprong.

Iedere zending moet vergezeld gaan van een verklaring overeenkomstig het bepaalde in artikel 4 van de Overeenkomst en in de Bijlage bij dit Protocol. Voorbeelden betreffende etiket en handleiding zijn toegevoegd aan dit Protocol.

Bijzondere bepalingen

A. Testsera voor bloedgroepenonderzoek van menselijke oorsprong

(a) *Sera van menselijke oorsprong voor A B O bloedgroepenonderzoek*

(i) *Anti-A serum voor bloedgroepenonderzoek (van menselijke oorsprong)*

Het anti-A serum wordt bereid uit bloed van geselecteerde personen van groep B die al dan niet zijn geïmmuniseerd met rode bloedlichaampjes van groep A of met A substantie.

Het anti-A serum agglutineert rode bloedlichaampjes van menselijke oorsprong die A antigeen bevatten, d.w.z. die van de groepen A en AB, alsmede de subgroepen A₁, A₂, A₁B en A₂B, en agglutineert niet rode bloedlichaampjes van menselijke oorsprong die geen A antigeen bevatten, d.w.z. die van de groepen O en B.

STERKTE:

Titratie

De titer van een anti-A serum dient afzonderlijk te worden vastgesteld met suspensies van rode bloedlichaampjes van de bloedgroepen A₁, A₂ en A₂B aan de hand van het opgeloste maar niet verdunde internationale standaardpreparaat voor bloedgroepenonderzoek anti-A of een equivalent vergelijkingspreparaat. De sterkte van het serum mag in geen geval minder zijn dan 64 internationale eenheden per ml.

Bepaling van de aviditeit

Wanneer het anti-A serum op een objectglas wordt vermengd met een gelijk volume van een 5 à 10 %-ige suspensie van rode bloed-

lichaampjes van de bloedgroepen A₁, A₂ en A₂B moet er bij iedere suspensie agglutinatie optreden binnen het dubbele van de tijd die nodig is voor het onder gelijke omstandigheden tot stand brengen van agglutinatie door middel van het opgeloste maar niet verdunde internationale standaardpreparaat voor bloedgroepenonderzoek anti-A of een vergelijkingspreparaat met dezelfde aviditeit.

(ii) *Anti-B serum voor bloedgroepenonderzoek (van menselijke oorsprong)*

Het anti-B serum wordt bereid uit bloed van geselecteerde personen van groep A, die al dan niet zijn geïmmuniseerd met rode bloedlichaampjes van groep B of met B substantie. Het anti-B serum agglutineert rode bloedlichaampjes van menselijke oorsprong die B antigeen bevatten, d.w.z. die van de groepen B en AB, en agglutineert niet de rode bloedlichaampjes van menselijke oorsprong die geen B antigeen bevatten; d.w.z. die van de groepen O en A.

STERKTE:

Titratie

De titer van een anti-B serum dient te worden vastgesteld met een suspensie van rode bloedlichaampjes van de bloedgroep B aan de hand van het opgeloste maar niet verdunde internationale standaardpreparaat voor bloedgroepenonderzoek anti-B of een equivalent vergelijkingspreparaat.

De sterkte van het serum mag niet minder zijn dan 64 internationale eenheden per ml.

Bepaling van de aviditeit

Wanneer het anti-B serum op een objectglas wordt vermengd met een gelijk volume van een 5 à 10 %-ige suspensie van rode bloedlichaampjes van de bloedgroep B, moet er agglutinatie optreden binnen het dubbele van de tijd die nodig is voor het onder gelijke omstandigheden tot stand brengen van agglutinatie door middel van het opgeloste maar niet verdunde internationale standaardpreparaat voor bloedgroepenonderzoek anti-B of een vergelijkingspreparaat met dezelfde aviditeit.

(iii) *Anti-A plus anti-B serum (groep O) voor bloedgroepenonderzoek (van menselijke oorsprong)*

Het anti-A plus anti-B serum (groep O) wordt bereid uit bloed van geselecteerde personen van groep O, die al dan niet zijn geïmmuniseerd met rode bloedlichaampjes van de bloedgroepen A en B of met AB substantie. Het anti-A plus anti-B serum (groep O) agglutineert rode bloedlichaampjes van menselijke oorsprong die de agglutinenen A of B bevatten of de agglutinenen A en B, d.w.z. die van groep A, alsmede de subgroepen A₁ en A₂, groep B en groep AB, alsmede de subgroepen A₁B en A₂B en agglutineert niet de rode

bloedlichaampjes van menselijke oorsprong die geen agglutinogeen A of B bevatten, d.w.z. die van groep O. Het agglutineert de rode bloedlichaampjes van menselijke oorsprong die het antigeen A_x (A_y of A_o) bevatten (die over het algemeen niet worden geagglutineerd door anti-A serum bereid uit het bloed van donors van groep B).

STERKTE:

Titratie

De titer van een anti-A plus anti-B serum (groep O) dient afzonderlijk te worden vastgesteld met suspensies van rode bloedlichaampjes van de bloedgroepen A_1 en A_2 , aan de hand van het opgeloste maar niet verdunde internationale standaardpreparaat voor bloedgroepenonderzoek anti-A of een equivalent vergelijkingspreparaat. De titer hiervan moet eveneens worden vastgesteld met een suspensie van rode bloedlichaampjes van de bloedgroep B aan de hand van het opgeloste maar niet verdunde internationale standaardpreparaat voor bloedgroepenonderzoek anti-B, of een equivalent standaardpreparaat.

De sterkte van het serum mag in geen geval minder zijn dan 64 internationale eenheden per ml.

Het niet verdunde anti-A plus anti-B serum (groep O) voor bloedgroepenonderzoek moet eveneens een duidelijk waarneembare agglutinatatie te zien geven van rode bloedlichaampjes van groep A_x (A_y of A_o).

Bepaling van de aviditeit

Wanneer het anti-A plus anti-B serum (groep O) op een objectglas wordt vermengd met een gelijk volume van een 5 à 10 %-ige suspensie van rode bloedlichaampjes van de bloedgroepen A_1 en A_2 moet er bij iedere suspensie agglutinatatie optreden binnen het dubbele van de tijd die nodig is voor het onder gelijke omstandigheden tot stand brengen van agglutinatatie door middel van het opgeloste maar niet verdunde internationale standaardpreparaat voor bloedgroepenonderzoek anti-A of een standaardpreparaat met dezelfde aviditeit. Wanneer het anti-A plus anti-B serum (groep O) op een objectglas wordt vermengd met een gelijk volume van een 5 à 10 %-ige suspensie van rode bloedlichaampjes van de bloedgroep B, moet er agglutinatatie optreden binnen het dubbele van de tijd die nodig is voor het onder gelijke omstandigheden tot stand brengen van agglutinatatie door middel van het opgeloste maar niet verdunde internationale standaardpreparaat voor bloedgroepenonderzoek anti-B of een standaardpreparaat met dezelfde aviditeit. Wanneer een anti-A plus anti-B serum (groep O) op een objectglas wordt vermengd met een gelijk volume van een 5 à 10 %-ige suspensie van rode bloedlichaampjes van de bloedgroep A_x (A_y of A_o) moet er binnen 5 minuten agglutinatatie optreden bij een temperatuur van 18° tot 25°C.

(b) *Sera van menselijke oorsprong voor Rhesus-bloedgroepenonderzoek*

De testsera voor Rhesus-bloedgroepen kunnen, ongeacht hun specificiteit, van tweeërlei aard zijn afhankelijk van de omstandigheden waaronder zij homologe rode bloedlichaampjes agglutineren. Sommige sera, de zg. „complete”, agglutineren rode bloedlichaampjes in een fysiologische zoutoplossing, andere sera, de zg. „incomplete”, agglutineren alleen in aanwezigheid van bepaalde colloïden, zoals runderalbumine, of door middel van andere speciale technieken. De sera moeten worden gebruikt volgens de voorschriften van het bereidend laboratorium.

Sommige „incomplete” sera agglutineren ook op een objectglas homologe rode bloedlichaampjes gesuspenderd in hun eigen serum of plasma.

De navolgende eisen betreffende de sterkte der sera voor het Rhesus-groepenonderzoek kunnen herzien wanneer er internationale standaardpreparaten komen.

(i) *Anti-D (anti-Rh₀) serum voor bloedgroepenonderzoek (van menselijke oorsprong)*

Het anti-D serum wordt bereid uit bloed van een of meer personen, die zijn geïmmuniseerd met het D antigeen van het Rhesus-systeem. Het reageert met menselijke rode bloedlichaampjes die het D antigeen bevatten, maar niet met menselijke rode bloedlichaampjes die het D antigeen niet bevatten.

STERKTE:

Titratie

De titer van „complete” anti-D sera mag niet lager zijn dan 32 met een suspensie van rode bloedlichaampjes met het Rhesusgenotype Cc Dee (R_{1r}) in een 0,9 %-ige oplossing van natriumchloride.

De titer van een „incomplete” anti-D serum dient te worden vastgesteld met een suspensie van rode bloedlichaampjes met het Rhesusgenotype Cc Dee aan de hand van het opgeloste maar niet verdunde internationale standaardpreparaat van incompleet anti-D (anti Rh₀) of een equivalent vergelijkingspreparaat. De sterkte mag in geen geval minder zijn dan 32 internationale eenheden. Het serum moet niet alleen reageren met alle rode bloedlichaampjes die het D antigeen bevatten, maar zoveel mogelijk ook met bloedlichaampjes die het D^u antigeen bevatten.

Bepaling van de aviditeit

De anti-D sera voor gebruik volgens de objectglasmethode van Diamond en Abelson moeten, wanneer ze op een objectglas worden vermengd met een gelijk volume van een 40 à 50 %-ige suspensie van rode bloedlichaampjes van het genotype Cc Dee, bij ongeveer

40°C binnen 30 seconden een zichtbare agglutinatie teweegbrengen, die binnen 120 seconden volledig moet zijn.

(ii) *Anti-C serum (anti-Rh')* voor bloedgroepenonderzoek
(van menselijke oorsprong)

Het anti-C serum wordt bereid uit bloed van een of meer personen die zijn geïmmuniseerd met het C antigeen van het Rhesussysteem. Het agglutineert suspensies van menselijke rode bloedlichaampjes die het C antigeen bevatten, maar niet suspensies van menselijke rode bloedlichaampjes die het C antigeen niet bevatten. In dit verband wordt het antigeen C^w gerekend tot het C antigeen te behoren.

De meeste anti-C sera voor diagnostisch gebruik bevatten „complete” antistoffen anti-C evenals „incomplete” antistoffen anti-D. Deze sera zijn derhalve slechts specifiek voor het C antigeen, indien de te testen rode bloedlichaampjes zijn gesuspenseerd in een 0,9 %-ige oplossing van natriumchloride.

STERKTE:

Titratie

De titer van anti-C sera („complete” of „incomplete”) mag niet lager zijn dan 8 met rode bloedlichaampjes van het genotype Ccddee.

Bepaling van de aviditeit

De anti-C sera voor gebruik volgens de objectglasmethode van Diamond en Abelson (die geen enkele vorm van anti-D mogen bevatten) moeten, wanneer ze op een objectglas worden vermengd met een gelijk volume van een 40 à 50 %-ige suspensie van rode bloedlichaampjes van het genotype Ccddee bij ongeveer 40°C binnen 30 seconden een zichtbare agglutinatie teweegbrengen, die binnen 120 seconden volledig moet zijn.

(iii) *Anti-E serum (anti-Rh'')* voor bloedgroepenonderzoek
(van menselijke oorsprong)

Het anti-E serum wordt bereid uit bloed van een of meer personen die zijn geïmmuniseerd met het E antigeen van het Rhesussysteem. Het reageert met menselijke rode bloedlichaampjes die het E antigeen bevatten.

STERKTE:

Titratie

De titer van anti-E sera („complete” of „incomplete”) mag niet lager zijn dan 8 met rode bloedlichaampjes van het genotype ccddEe.

Bepaling van de aviditeit

De anti-E sera voor gebruik volgens de objectglasmethode van Diamond en Abelson (die geen enkele vorm van anti-D mogen bevatten) moeten, wanneer ze op een objectglas worden vermengd met

een gelijk volume van een 40 à 50 %-ige suspensie van rode bloedlichaampjes van het genotype ccddEe, bij ongeveer 40°C binnen 30 seconden een zichtbare agglutinatatie teweegbrengen die binnen 120 seconden volledig moet zijn.

(iv) *Anti-D plus C serum (Anti-Rh_orh') voor bloedgroepenonderzoek (van menselijke oorsprong)*

Anti-D plus E serum (Anti-Rh_orh'') voor bloedgroepenonderzoek (van menselijke oorsprong)

Sera met de specificiteit anti-D plus C of anti-D plus E kunnen rechtstreeks worden verkregen uit het bloed van geïmmuniseerde personen of kunnen worden bereid door een anti-D serum te mengen met een anti-C of anti-E serum. In een bepaald serum moeten de beide antistoffen gelijktijdig werkzaam zijn onder de reactieomstandigheden opgegeven door de producent. Ieder serum moet reageren met alle typen rode bloedlichaampjes die zouden reageren met een van beide antistoffen in het serum, en mogen niet reageren met de rode bloedlichaampjes die noch het C antigeen noch het D antigeen bevatten in geval van anti-D + C, en noch het D, noch het E antigeen in geval van anti-D + E. De titers mogen niet lager zijn dan die, welke zijn aangegeven voor de twee antistoffen die het serum bevat, maar in geval van anti-D plus C (een veelvuldig voorkomende combinatie in het serum van geïmmuniseerde personen) is het wenselijk dat de titer van het anti-C niet lager is dan 32, terwijl het in het geval van anti-D plus E wenselijk is dat de anti-E titer niet lager is dan 8. Bij een serum voor gebruik volgens de objectglasmethode van Diamond en Abelson, mogen de agglutinatietijden voor alle typen reagerende rode bloedlichaampjes niet korter zijn dan die welke voor ieder bestanddeel zijn aangegeven.

B. Sera van niet-menselijke oorsprong

(a) *Sera van dierlijke oorsprong*

(i) *Anti-A serum voor bloedgroepenonderzoek (van dierlijke oorsprong)*

Het anti-A serum wordt bereid uit bloed van dieren die al dan niet zijn geïmmuniseerd met rode bloedlichaampjes van groep A of met A substantie. Het anti-A serum agglutineert menselijke rode bloedlichaampjes die A antigeen bevatten, d.w.z. die van de groepen A en AB, alsmede de subgroepen A₁, A₂, A₁B en A₂B, en agglutineert niet menselijke rode bloedlichaampjes die geen A antigeen bevatten, d.w.z. die van de groepen O en B.

STERKTE:**Titratie**

De titer van een anti-A serum dient afzonderlijk te worden vastgesteld met suspensies van rode bloedlichaampjes van de bloedgroepen A₁, A₂ en A₂B aan de hand van het opgeloste maar niet verdunde internationale standaardpreparaat voor bloedgroepenonderzoek anti-A of een equivalent vergelijkingspreparaat ¹⁾.

De sterkte van het serum mag in geen geval minder zijn dan 64 internationale eenheden per ml.

Bepaling van de aviditeit

Wanneer het anti-A serum op een objectglas wordt vermengd met een gelijk volume van een 5 à 10%-ige suspensie van rode bloedlichaampjes van de bloedgroepen A₁, A₂ en A₂B, moet er bij iedere suspensie agglutinatie optreden binnen het dubbele van de tijd die nodig is voor het onder gelijke omstandigheden tot stand brengen van de agglutinatie door middel van het opgeloste maar niet verdunde internationale standaardpreparaat voor bloedgroepenonderzoek anti-A of een standaardpreparaat met dezelfde aviditeit.

(ii) *Anti-B serum voor bloedgroepenonderzoek (van dierlijke oorsprong)*

Het anti-B serum wordt bereid uit bloed van dieren die al dan niet zijn geïmmuniseerd met rode bloedlichaampjes van groep B of met B substantie. Het anti-B serum agglutineert menselijke rode bloedlichaampjes die het B antigeen bevatten, d.w.z. die van de groepen B en AB, en agglutineert niet menselijke rode bloedlichaampjes die dit B antigeen niet bevatten, d.w.z. die van de groepen O en A.

STERKTE:**Titratie**

De titer van een anti-B serum dient te worden vastgesteld met een suspensie van rode bloedlichaampjes van bloedgroep B aan de hand van het opgeloste maar niet verdunde internationale standaardpreparaat voor bloedgroepenonderzoek anti-B of een equivalent vergelijkingspreparaat ¹⁾.

De sterkte van het serum mag niet minder zijn dan 64 internationale eenheden per ml.

Bepaling van de aviditeit

Wanneer het anti-B serum op een objectglas wordt vermengd met een gelijk volume van een 5 à 10 %-ige suspensie van rode bloed-

¹⁾ Het „internationale standaardpreparaat” is van menselijk oorsprong; het eventueel te gebruiken equivalente vergelijkingspreparaat kan zowel van menselijke als van dierlijke oorsprong zijn.

lichaampjes van bloedgroep B, moet er agglutinatie optreden binnen het dubbele van de tijd die nodig is voor het onder gelijke omstandigheden tot stand brengen van agglutinatie door middel van het opgeloste maar niet verdunde internationale standaardpreparaat voor bloedgroepenonderzoek anti-B of een standaardpreparaat met dezelfde aviditeit.

(ii) *Anti-menselijk globuline-serum (van dierlijke oorsprong)* ²⁾

Anti-menselijk globuline-serum, dat wordt gebruikt bij bloedgroepen-serologie, dient agglutinerende antistoffen tegen immunoglobuline G en agglutinerende antistoffen tegen complement factoren te bevatten. Het wordt bereid uit het bloed van dieren die zijn geïmmuniseerd door inspuiting met menselijk serum-eiwit. Het moet alle menselijke rode bloedlichaampjes agglutineren waarop zich menselijk immunoglobuline G en/of complement factoren hebben gehecht. Wanneer het serum wordt gebruikt overeenkomstig de voorschriften van de producent, agglutineert het niet menselijke rode bloedlichaampjes waarop zich deze globulinen niet bevinden, onverschillig tot welke bloedgroep zij behoren.

Specificiteit

De specificiteit van een anti-menselijk globuline-serum dat wordt gebruikt bij bloedgroepen-serologie dient te worden getest met menselijke rode bloedlichaampjes waarop zich een aantal verschillende antistoffen hebben gehecht, te weten rode bloedlichaampjes die zijn gesensibiliseerd met menselijke incomplete antistoffen anti-D, anti-K en anti-Fy^a, rode bloedlichaampjes die zijn gesensibiliseerd met complement-bindende incomplete antistoffen anti-Le^a in aanwezigheid van vers menselijk serum, rode bloedlichaampjes die zijn gesensibiliseerd met z.g. „incomplete koude antistoffen”, getanneerde rode bloedlichaampjes die zijn gesensibiliseerd met menselijk immunoglobuline G, en ten slotte met tien verschillende monsters van niet gesensibiliseerde menselijke rode bloedlichaampjes, met en zonder A en B antigenen.

STERKTE:

Titratie

Een anti-menselijk globuline-serum moet, in afgeleverde vorm of na verdunning volgens de voorschriften op het etiket, een sterke agglutinatie teweegbrengen van menselijke rode bloedlichaampjes, die zijn gesensibiliseerd met incomplete anti-D antistoffen van menselijke oorsprong waarvan de titer 4 (of minder) is indien bepaald met D-positieve rode bloedlichaampjes met de „albumine vervangings-

²⁾ Coombs, R.R.A., Mourant, A.E. and Race, R.R. (1945), *Lancet*, ii, 15.
Coombs, R.R.A., Mourant, A.E. and Race, R.R. (1945), *Brit. J. exp. Path.*, 26, 255.

methode". Bij dezelfde verdunning moet het agglutinatie tewee brengen van K-positieve menselijke rode bloedlichaampjes die zijn gesensibiliseerd met geselecteerde zwakke anti-K antistoffen en van Fy^a-positieve rode bloedlichaampjes die zijn gesensibiliseerd met geselecteerde zwakke anti-Fy^a antistoffen.

Bij dezelfde verdunning of bij een verschillende verdunning (volgens aanduiding op het etiket), moet het eveneens agglutinatie tewee brengen van menselijke rode bloedlichaampjes die zijn gesensibiliseerd met zwakke complementbindende incomplete antistoffen anti-Le^a, die slechts kunnen worden aangetoond in aanwezigheid van vers serum.

Voor klinisch gebruik is het wenselijk dat de aanwezigheid van alle bovengenoemde incomplete antistoffen op de rode bloedlichaampjes kan worden aangetoond met een enkele verdunning van het anti-menselijke globuline-serum.

(b) Reagentia van plantaardige oorsprong

(i) Anti-A reagens voor bloedgroepenonderzoek (van plantaardige oorsprong)

Het anti-A reagens wordt bereid uit het zaad of uit andere delen van een voor dit gebruik geschikte plant en wordt vervolgens, zo nodig, gezuiverd. Het anti-A reagens agglutineert menselijke rode bloedlichaampjes die A antigenen bevatten, d.w.z. die van de groepen A en AB, alsmede de subgroepen A₁, A₂, A₁B en A₂B en agglutineert niet menselijke rode bloedlichaampjes die deze A antigenen niet bevatten, d.w.z. die van de groepen O en B.

STERKTE:

Titratie

De titer van een anti-A reagens dient afzonderlijk te worden vastgesteld met suspensies van rode bloedlichaampjes van de bloedgroepen A₁, A₂, en A₂B aan de hand van het opgeloste maar niet verdunde internationale standaardpreparaat voor bloedgroepenonderzoek anti-A of een equivalent vergelijkingspreparaat ¹⁾.

De sterkte van het reagens mag in geen geval minder zijn dan 64 internationale eenheden per ml.

Bepaling van de aviditeit

Wanneer het anti-A reagens op een objectglas wordt vermengd met een gelijk volume van een 5 à 10 %-ige suspensie van rode bloedlichaampjes van de bloedgroepen A₁, A₂ en A₂B moet er bij iedere

¹⁾ Het „internationale standaardpreparaat" is van menselijke oorsprong; het eventueel te gebruiken equivalente vergelijkingspreparaat kan zowel van menselijke als van niet-menselijke oorsprong zijn.

suspensie agglutinatie optreden binnen het dubbele van de tijd die nodig is voor het onder gelijke omstandigheden tot stand brengen van de agglutinatie door middel van het opgeloste maar niet verdunde internationale standaardpreparaat voor bloedgroepenonderzoek anti-A of een standaardpreparaat met dezelfde aviditeit.

(ii) *Anti-B reagens voor bloedgroepenonderzoek (van plantaardige oorsprong)*

Het anti-B reagens wordt bereid uit een bepaald deel van een voor dit gebruik geschikte plant en wordt vervolgens, zo nodig, gezuiverd. Het anti-B reagens agglutineert menselijke rode bloedlichaampjes die het B antigeen bevatten, d.w.z. die van de groepen B en AB, en agglutineert niet menselijke rode bloedlichaampjes die dit B antigeen niet bevatten, d.w.z. die van de groepen O en A.

STERKTE:

Titratie

De titer van een anti-B reagens dient te worden vastgesteld met een suspensie van rode bloedlichaampjes van de bloedgroep B aan de hand van het opgeloste maar niet verdunde internationale standaardpreparaat voor bloedgroepenonderzoek anti-B of een equivalent vergelijkingspreparaat. De sterkte van het serum mag niet minder zijn dan 64 internationale eenheden per ml.

Bepaling van de aviditeit

Wanneer het anti-B reagens op een objectglas wordt vermengd met een gelijk volume van een 5 à 10 %-ige suspensie van rode bloedlichaampjes van de bloedgroep B moet er agglutinatie optreden binnen het dubbele van de tijd die nodig is voor het onder gelijke omstandigheden tot stand brengen van de agglutinatie door middel van het opgeloste maar niet verdunde internationale standaardpreparaat voor bloedgroepenonderzoek anti-B of een standaardpreparaat met dezelfde aviditeit.

Etiket-voorbeelden**RAAD VAN EUROPA**

*Europese Overeenkomst betreffende de uitwisseling van
testsera voor bloedgroepenonderzoek*

(a) vloeibaar serum

1. Naam van het laboratorium, Amsterdam
 2. Serum anti-A (van menselijke oorsprong)
 3. N_3Na 0,1 %
 4. 5 ml
 5. 7 september 1965
 6. N° 1 2 3 4
-

(b) gedroogd serum

1. Naam van het laboratorium, Amsterdam
 2. Serum anti-B (van dierlijke oorsprong)
 3. Mersalaat 0,1 %
 4. Op te lossen in 5 ml gedistilleerd water
 5. 31 december 1968
 6. N° 4321
-

—————

Voorbeeld van een bijsluiters

RAAD VAN EUROPA

Europese Overeenkomst betreffende de uitwisseling van testsera voor bloedgroepenonderzoek

1. Centraal Laboratorium voor Bloedtransfusie, 1, Main Street, Metropolis, Westland
 2. Serum anti-E (anti-rh") (van menselijke oorsprong)
 3. 10 ml
 4. De datum waarop de werkzaamheid het laatst is gecontroleerd: 30 mei 1961
 5. Vervaldatum: 30 mei 1962
 6. N° 5432
 7. De te onderzoeken rode bloedlichaampjes worden een of meer malen gewassen in een 0,9 %-ige oplossing van natriumchloride. Vervolgens wordt een suspensie gemaakt van ongeveer 3 % door één volume of één druppel opeengepakte rode bloedlichaampjes te vermengen met 30 volumen of 30 druppels van een fysiologische zoutoplossing. Met enige ervaring kan de sterkte van een suspensie vrij nauwkeurig worden geschat met het blote oog.
Een druppel van het serum wordt met behulp van een Pasteurse pipet in een hemolyse-buisje (6 mm × 30 mm) gedaan, waar vervolgens een gelijke druppel van de suspensie van rode bloedlichaampjes aan wordt toegevoegd. (Met enige ervaring en als men een meetpipet met een schaalverdeling van 0,01 ml gebruikt, heeft men slechts een geringe hoeveelheid serum en suspensie van bloedlichaampjes nodig).
De inhoud van het buisje wordt gemengd en wordt gedurende twee uur geïncubeerd bij een temperatuur van 37° C. Vervolgens wordt de inhoud van het buisje voorzichtig op een object-glaasje overgebracht en uitgespreid. Indien de agglutinatie met het blote oog niet duidelijk waarneembaar is, wordt het object-glaasje met de microscoop onderzocht om vast te stellen of en in welke mate er agglutinatie is opgetreden.
 8. Bewaren bij een temperatuur van -20° C of lager. Bij het resterende produkt dat niet op dezelfde dag wordt gebruikt, 0,1 ml van een 10 %-ige NaNa-oplossing toevoegen.
 9. Menselijk serum anti-E (anti-rh") : 5 ml 30 %-ige runderalbumine-oplossing: 5 ml.
 10. Dit serum bevat een stof van menselijke oorsprong.
-

Bijlage bij het Protocol**RAAD VAN EUROPA**

*Europese Overeenkomst betreffende de uitwisseling van
testsera voor bloedgroepenonderzoek*

Verklaring

(artikel 4)

NIET VAN DE ZENDING VERWIJDEREN

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

Aantal	Ondergetekende verklaart dat de zending gespecifi-
pakketten	ceerd in de marge
.....	
.....	bereid onder verantwoordelijkheid van
Gemerkt	
.....	
.....	instelling als bedoeld in artikel 6 van de Overeen-
Batch No.	komst, in overeenstemming is met de voorschriften
.....	van het Protocol behorend bij de Overeenkomst en
.....	dat deze zending onmiddellijk kan worden afge-
.....	leverd aan de geadresseerde (naam en plaats)
.....	
.....	
	(stempel) (ondertekening) (functie)

D. GOEDKEURING

Zie *Trb.* 1965, 70.

E. BEKRACHTIGING

Zie *Trb.* 1965, 4, *Trb.* 1965, 70 en *Trb.* 1967, 141.

Behalve de aldaar genoemde hebben nog de volgende Staten in overeenstemming met artikel 7, lid 2, een akte van bekrachtiging van de Overeenkomst, met Protocol en Bijlagen, bij de Secretaris-Generaal van de Raad van Europa nedergelegd:

België	18 oktober 1967
Luxemburg	23 januari 1968

G. INWERKINGTREDING

Zie *Trb.* 1965, 4 en *Trb.* 1965, 70.

Het in rubriek B hierboven afgedrukte gewijzigde Protocol geldt van 9 juli 1968 af.

J. GEGEVENS

Zie *Trb.* 1965, 4 en *Trb.* 1967, 141.

Uitgegeven de zesentwintigste februari 1969.

De Minister van Buitenlandse Zaken,
J. LUNS.