

COUNCIL OF EUROPE



CONSEIL DE L'EUROPE

Annexes au Protocole à l'Accord européen relatif à l'échange de substances thérapeutiques d'origine humaine (STE n° 26)

Annexes to the Protocol to the European Agreement on the Exchange of Therapeutic Substances of Human origin (ETS No. 26)

Paris, 11.XII.1953

Revised text as adopted by the Committee of Ministers at its 318th meeting (28-30 April 1980).

Texte révisé tel qu'adopté par le Comité des Ministres lors de sa 318e réunion (28-30 avril 1980).

ANNEXE I AU PROTOCOLE
ANNEX I TO THE PROTOCOL

CONSEIL DE L'EUROPE
COUNCIL OF EUROPE

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

European Agreement on the exchange of therapeutic substances of human origin

Certificat

(article 4)

Certificate

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

..... 19..

(lieu) (date)
(place)

Nombre de colis
Number of
packages

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

Désignation
Marked

préparé sous la responsabilité de
prepared under the responsibility of

.....
.....

organisme visé à l'article 6 de l'Accord, est conforme aux spécifications
one of the bodies referred to in Article 6 of the Agreement, is in conformity

N° des lots
Batch No.

du Protocole à l'Accord et qu'il peut être délivré immédiatement
with the specifications of the Protocole to the Agreement and can be delivered

au destinataire (nom et lieu).....
immediately to the consignee (name and place).....

.....
.....

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

ANNEXE 2 AU PROTOCOLE
ANNEX 2 TO THE PROTOCOL

CONSEIL DE L'EUROPE
COUNCIL OF EUROPE

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

European Agreement on the exchange of therapeutic substances of human origin

1. Nom et adresse du producteur :
Name and address of the producer :
2. Sang Humain Total
Whole Human Blood
3. Numéro de référence :
Reference number :
4. Groupe sanguin :
Blood group :
5. Groupe Rh :
Rh-group :
6. ml) solution anticoagulante
) anti-coagulant solution
..... g glucose/l
..... mole (citrate disodique/l
(disodium citrate/l
..... ml (de sang
(blood
7. Titre d'iso-hémolysines) (déterminé
Iso-haemolysin titre) (determined
(non déterminé
(not determined
8. Date de prélèvement :
Date of collection :
Date de péremption :
Date of expiry :

- | |
|--|
| <ol style="list-style-type: none">9. Conserver de 4° à 6° C.
Store at 4°C to 6°C.10. Ne pas utiliser en cas de signe visible quelconque d'altération.
Not to be used if there is any visible evidence of deterioration. |
|--|

ANNEXE 2bis
ANNEX 2bis

CONSEIL DE L'EUROPE
COUNCIL OF EUROPE

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

European Agreement on the exchange of therapeutic substances of human origin

1. Nom et adresse du producteur :
Name and address of the producer :
2. Concentré de globules rouges humains
Human red cell concentrate
3. Numéro de référence :
Reference number :
4. Groupe sanguin :
Blood group :
5. Groupe Rh :
Rh-group :
6. ... ml préparé à partir de ... ml de sang
... ml prepared from ... ml of blood
7. Volume et composition de l'anti-coagulant utilisé :
Volume and composition of anti-coagulant used :
8. Date de prélèvement :
Date of collection :

Date de préparation :
Date of preparation :

Date de péremption :
Date of expiry :
9. Conserver de 2° à 6° C.
Store at 2°C to 6°C.
- 10 Soluté artificiel ajouté) volume :
. Artificial aqueous solution added) composition :

ANNEXE 3
ANNEX 3

CONSEIL DE L'EUROPE
COUNCIL OF EUROPE

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

European Agreement on the exchange of therapeutic substances of human origin

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

ANNEXE 4
ANNEX 4

CONSEIL DE L'EUROPE
COUNCIL OF EUROPE

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

European Agreement on the exchange of therapeutic substances of human origin

1. Nom et adresse du producteur :
Name and address of the producer :
 2. Albumine Humaine Desséchée
Dried Human Albumin
 3. Numéro du lot :
Batch number :
 4. Albumine) nature , g/l (en solution reconstituée
Albumin) (in reconstituted solution

Sodium mmol/g (d'albumine
(albumin
 5. Date de préparation :
Date of preparation :

Date de péremption :
Date of expiry :
 6. Reconstituer avec ml d'eau distillée, stérile et apyrogène.
Reconstituted with ml sterile, pyrogen-free, distilled water.
7. Protéger de la lumière et conserver à une température inférieure à 20°C.
Store, protected from light, below 20°C.
 8. A injecter immédiatement après reconstitution.
To be used immediately after reconstitution.

ANNEXE 4 (suite 1)
ANNEX 4 (continued 1)

CONSEIL DE L'EUROPE
COUNCIL OF EUROPE

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

European Agreement on the exchange of therapeutic substances of human origin

1. Nom et adresse du producteur :
Name and address of the producer :
2. Solution d'Albumine Humaine) ml
Human Albumin Solution)
3. Numéro du lot :
Batch number :
4. Albumine) g/l
Albumin)
Stabilisateur) nature....., g/l
Stabilizer)
5. Date de préparation :
Date of preparation :
Date de péremption :
Date of expiry :

- | |
|--|
| <ol style="list-style-type: none">6. Protéger de la lumière et conserver de 4° à 6°C.
Store, protected from light, at 4° to 6°C7. A injecter seulement si le liquide est clair et sans dépôt.
Not to be used unless clear and free from deposits. |
|--|

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

CONSEIL DE L'EUROPE
COUNCIL OF EUROPE

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

European Agreement on the exchange of therapeutic substances of human origin

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

- | |
|--|
| <ol style="list-style-type: none">6. Protéger de la lumière et conserver de 4° à 6°C.
Store, protected from light, at 4° to 6°C7. A injecter seulement si le liquide est clair et sans dépôt.
Not to be used unless clear and free from deposits. |
|--|

ANNEXE 5
ANNEX 5

CONSEIL DE L'EUROPE
COUNCIL OF EUROPE

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

European Agreement on the exchange of therapeutic substances of human origin

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

- | |
|---|
| <ol style="list-style-type: none">6. Protéger de la lumière et conserver de 4° à 6°C.
Store, protected from light, at 4° to 6°C7. Ne pas injecter par voie intraveineuse.
Not for intravenous injection. |
|---|

ANNEXE 6
ANNEX 6

CONSEIL DE L'EUROPE
COUNCIL OF EUROPE

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

European Agreement on the exchange of therapeutic substances of human origin

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

ANNEXE 7
ANNEX 7

CONSEIL DE L'EUROPE
COUNCIL OF EUROPE

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

European Agreement on the exchange of therapeutic substances of human origin

1. Nom et adresse du producteur :
Name and address of the producer :
2. Facteur VIII de coagulation humain congelé
Facteur VIII de coagulation humain desséché ou :
Frozen human coagulation factor VIII
Dried human coagulation factor VIII or :
Méthode de préparation)
Method of preparation)
3. Numéro du lot :
Batch number :
4. Quantité minimale de facteur VIII, quantité de protéines totales, nature et quantité de toute substance ajoutée
Minimum quantity of factor VIII, quantity of total proteins, nature and quantity of any added substance
5. Nature et volume du solvant)
Nature and volume of solvent)
6. Nombre de donneurs par lot)
Number of donors per batch)
7. Titre des hémagglutinines non supérieur à 1 : 32
Groupe sanguin ABO ou
Haemagglutinin titer not greater than 1 : 32
ABO blood group or
8. Date de préparation :
Date of preparation :
9. Date de péremption :
Date of expiry :
10. Protéger de la lumière et conserver congelé à une température inférieure à -30°C ou desséché à une température inférieure à 5°C.
Store, protected from light and frozen at a temperature below -30°C or in the dry state at a temperature below 5°C.
11. Après reconstitution du produit, injecter immédiatement par voie intraveineuse ou au plus tard après 3 heures de conservation à 20°C.
After reconstitution of the product, inject intravenously, immediately or at the latest after 3 hours of storage at 20° C.

ANNEXE 8
ANNEX 8

CONSEIL DE L'EUROPE
COUNCIL OF EUROPE

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

European Agreement on the exchange of therapeutic substances of human origin

1. Nom et adresse du producteur :
Name and address of the producer :
 2. Facteur IX de coagulation humain desséché :
Autres facteurs de coagulation présents :

Dried human coagulation factor IX :
Other blood coagulation factors present :

Méthode de préparation)
Method of preparation)
 3. Numéro du lot :
Batch number :
 4. Quantité minimale de facteur IX, quantité de protéines totales, nature et quantité de toute substance ajoutée
Minimum quantity of factor IX, quantity of total proteins, nature and quantity of any added substance
 5. Nature et volume du solvant)
Nature and volume of solvent)
 6. Nombre de donneurs par lot)
Number of donors per batch)
 7. Date de préparation :
Date of preparation :
 8. Date de péremption :
Date of expiry :
- | |
|---|
| <ol style="list-style-type: none">9. Protéger de la lumière et conserver à une température inférieure à 5°C.
Store, protected from light, at a temperature below 5°C.10. Après reconstitution du produit, injecter immédiatement par voie intraveineuse.
After reconstitution of the product, inject immediately by the intravenous route. |
|---|

ANNEXE 9
ANNEX 9

CONSEIL DE L'EUROPE
COUNCIL OF EUROPE

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

European Agreement on the exchange of therapeutic substances of human origin

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

2. Eau distillée, stérile et apyrogène
Sterile, pyrogen-free distilled water

Pour la reconstitution du Plasma Humain Desséché
de l'Albumine Humaine Desséchée
du Fibrinogène Humain Desséché
ou des Facteurs VIII et IX humains de coagulation desséchés

For the reconstitution of Dried Human Plasma
Dried Human Albumin
Dried Human Fibrinogen
or Dried Human coagulation Factors VIII and IX

3. Quantité)
Quantity) ml

ANNEXE 10
ANNEX 10

CONSEIL DE L'EUROPE
COUNCIL OF EUROPE

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

European Agreement on the exchange of therapeutic substances of human origin

1. Nom et adresse du producteur)
Name and address of the producer)
2. Dispositif à injection
Giving-set

Dispositif pour l'administration du Sang Humain Total, du Plasma Humain Desséché Reconstitué, de l'Albumine Humaine, des Solutions Stables de Protéines Plasmatiques Humaines, du Fibrinogène Humain ou du Facteur VIII de coagulation humain congelé ou desséché ou du Facteur IX de coagulation humain desséché.

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

ANNEXE 11

CONSEIL DE L'EUROPE

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

**INNOCUITE DES APPAREILLAGES DE TRANSFUSION SANGUINE
EN MATIERE PLASTIQUE**

I. Essais chimiques

Les essais sont à effectuer sur les appareillages de transfusion sanguine en matière plastique. Ces appareillages se composent de deux catégories principales d'éléments :

1. des récipients en matière plastique destinés à la collecte, à la séparation et à la conservation du sang et des produits sanguins;
2. un équipement en matière plastique pour le prélèvement et l'administration du sang.

Le matériel sera soumis aux essais après avoir été stérilisé selon la méthode qui sera employée pour la stérilisation définitive de l'appareillage. Ce matériel comprendra :

1. la matière plastique employée pour fabriquer les récipients,
2. les tuyaux se trouvant dans les récipients,
3. l'équipement de prélèvement et d'administration du sang.

Les récipients doivent être soumis aux essais avant leur remplissage avec la solution anticoagulante. Cependant, si les essais sont effectués sur des récipients qui ont été remplis avec la solution anticoagulante, les essais-limités sur la solution anticoagulante elle-même, prescrits au chapitre III, doivent être pris en considération lors de l'évaluation des résultats des essais auxquels le récipient a été soumis.

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

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

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

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

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

La longueur (L) en cm des tuyaux est calculée comme suit :

$$L = \frac{1250}{3,14 (D_1 + D_2)}$$

D₁ = diamètre intérieur en cm

D₂ = diamètre extérieur en cm.

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

b) Les morceaux de pellicule ou de tuyau au matière plastique doivent être introduits dans un récipient de verre borosilicaté avec 250 ml d'eau distillée apyrogène provenant d'un alambic efficace muni de surfaces de condensation et de tubes de captage en verre^(*). L'ouverture du récipient est recouverte d'un becher renversé et le récipient est ensuite réchauffé dans la vapeur saturée à 110°C pendant 30 minutes (dans l'autoclave) et rapidement refroidi à la température de la pièce, puis le volume est porté à 250 ml par addition d'eau distillé apyrogène. Il n'est pas nécessaire de tenir compte d'une éventuelle légère adhérence entre les échantillons de matière plastique.

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

Une solution témoin correspondante est préparée sans les matières plastiques.

B. Essais sur l'extrait

1. Matières oxydables

A 20 ml de l'extrait contenus dans une fiole Erlenmeyer de verre borosilicaté, ajoutez 20 ml de solution de 2 millimoles de permanganate de potassium par litre et 1,0 ml d'acide sulfurique de 1 mole par litre, et faites bouillir le mélange pendant 3 minutes. Refroidissez la solution rapidement et ajoutez 100 mg d'iodure de potassium et 5 gouttes de solution d'amidon. Titrez par une solution de 10 millimoles de thiosulfate de sodium par litre en effectuant un titrage parallèle avec la solution témoin. La différence entre la quantité de thiosulfate utilisée dans les deux titrages ne dépasse pas 2,00 ml d'une solution de 10 millimoles thiosulfate de sodium par litre.

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

2. Chlorure

L'extrait satisfait à un essai-limite approprié pour l'ammoniaque correspondant à un maximum de 11,2 µmoles de chlorure par litre.

3. Ammoniaque

L'extrait satisfait à un essai-limite approprié pour l'ammoniaque correspondant à un maximum de 120 µmole de NH₃ par litre.

4. Acide phosphorique – phosphate

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

Essai-limite des phosphates

Faites évaporer 25 ml de l'extrait presque à sec dans une fiole Kjeldahl, refroidissez le résidu, ajouter 2 gouttes d'acide sulfurique et 1 ml d'acide nitrique, chauffez le mélange jusqu'à dégagement de vapeurs blanches et refroidissez. Ajoutez une goutte d'acide perchlorique et chauffez doucement pendant une demi-heure. Refroidissez le résidu et ajoutez de l'eau pour obtenir 25 ml. Transvasez 10 ml de la solution dans une fiole de titrage de 25 ml, ajoutez 8 ml de solution de molybdate d'ammonium – acide sulfurique et 2 ml d'une solution d'une concentration de 100 grammes d'acide ascorbique par litre récemment préparée. Chauffez au bain-marie à 50°C pendant 30 minutes, refroidissez le mélange à 25 ml. La coloration verte ou bleue de la solution n'est pas plus intense que celle obtenue en traitant 25 ml de la solution témoin de la même façon.

5. Réaction

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

6. Résidu à l'évaporation

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

7. Limpidité et couleur

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

8. Saveur et odeur

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

9. Eléments spéciaux

L'extrait satisfait aux essais-limite appropriés pour

i) l'un quelconque des éléments suivant : arsenic, chrome, cuivre, plomb, silicium, argent et étain, correspondant à 1,0 µg/g

ii) le cadmium correspondant à 0,1 µg/g

10. Résidu à l'incinération

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

11. Métaux lourds

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

II. Analyses biologiques

1. La recherche d'un excès de toxicité sera effectué lors de l'analyse initiale des formulations des matières plastiques destinées à la fabrication des flacons et des dispositifs de prélèvement et d'injection, à l'aide de l'extrait A, et pour chaque nouveau lot de matières de la formulation approuvée, à l'aide de l'extrait B, selon la procédure prescrite dans la pharmacopée nationale ou toute autre méthode approuvée par l'autorité nationale chargée du contrôle (la composition des extraits A et B est indiquée dans la note ci-dessous).

2. Le contrôle d'apyrogénéité sera effectué lors de l'analyse initiale des formulations des matières plastiques destinées à la fabrication des flacons et des dispositifs de prélèvement et d'injection, à l'aide de l'extrait A, et pour chaque nouveau lot de matières de la formulation approuvée, à l'aide de l'extrait C, et lors du contrôle courant des flacons et des dispositifs de prélèvement et d'injection, à l'aide de l'extrait C, selon la procédure prescrite dans la pharmacopée nationale ou toute autre méthode approuvée par l'autorité nationale chargée du contrôle.

L'incidence des contrôles d'apyrogénéité, à l'aide de l'extrait C, sera déterminée par l'autorité nationale chargée du contrôle.

(La composition des extraits A et C est indiquée dans la note ci-dessous).

3. L'analyse des effets hémolytiques dans un système tamponné sera effectuée lors de l'analyse initiale des formulations des matières plastiques destinées à la fabrication des récipients et de l'équipement pour le prélèvement et l'administration du sang et portera sur chaque nouveau lot de matière répondant aux formulations approuvées, à l'aide de l'extrait exposé sous I.A ci-dessus. (Pour la méthode et les limites acceptables, voir appendice à la présente annexe.)

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

Note

Extrait A : ajouter à l'extrait décrit sous I.A ci-dessus du chlorure de sodium apyrogène jusqu'à obtention finale d'une concentration de 9 grammes de chlorure de sodium par litre.

Extrait B :

Appareil de transfusion : remplir un appareil de transfusion, aussi complètement que possible, d'une solution stérile et apyrogène de 9 grammes de chlorure de sodium par litre, en fixer les extrémités et immerger complètement l'appareil ainsi rempli pendant une heure dans de l'eau maintenue à 85°C. Recueillir le contenu de l'appareil.

Récipient en matière plastique : si le récipient est rempli d'une solution anticoagulante, il convient de le vider et de le rincer deux fois avec 250 ml d'eau distillée stérile et apyrogène à une température de 20°C. Remplir le récipient de 100 ml de solution stérile et apyrogène de 9,0 grammes de chlorure de sodium par litre, le boucher soigneusement et l'immerger pendant une heure en position horizontale dans de l'eau maintenue à 85°C. Recueillir le contenu du récipient.

Extrait C :

Appareil de transfusion : passer 40 ml de solution de chlorure de sodium stérile et apyrogène d'une concentration de 9,0 grammes par litre, à température ambiante, à travers 10 appareils de transfusion au moins, à raison de 10 ml environ par minute et recueillir l'effluent. Analyser la solution ainsi obtenue.

Récipient en matière plastique : vider le récipient : passer 100 ml de solution stérile et apyrogène de 9,0 grammes chlorure de sodium par litre à température ambiante, à travers les tuyaux de captage de quatre récipients en matière plastique au moins, laisser reposer dans les récipients pendant 10 minutes et recueillir l'effluent par évacuation à travers les tuyaux de transfert.

Récipient en matière plastique contenant un anticoagulant (Voir paragraphe III).

APPENDICE

ANALYSE BIOLOGIQUE : LIMITES ET METHODES

A. Analyse concernant la recherche d'un excès de toxicité

(Voir II, 1 de l'annexe ci-dessus) : limite prescrite dans la pharmacopée nationale.

B. Analyse concernant le contrôle d'apyrogénéité

(Voir II, 2 de l'annexe ci-dessus) : limite prescrite dans la pharmacopée nationale.

C. Analyse des effets hémolytiques dans un système tamponné

(Voir II, 3 de l'annexe ci-dessus) :

a) Limite :

Une solution de 5,0 grammes de chlorure de sodium par litre ne doit pas donner de valeur d'hémolyse supérieure à 10% et la valeur d'hémolyse d'une solution salée de 4,0 grammes de chlorure de sodium par litre ne doit pas différer de plus de 10% de la valeur obtenue avec la solution-témoin correspondante.

b) Méthode :

A partir de la solution tampon-mère pour hémolyse, on prépare trois solutions : 30 ml de la solution-mère et 10ml d'eau (solution \underline{a}_0), 30 ml de la solution-mère et 20 ml d'eau (solution \underline{b}_0) et 15 ml de la solution-mère et 85 ml d'eau (solution \underline{c}_0).

Dans trois tubes à centrifugation (1, 2 et 3), on ajoute 1,40 ml d'extrait. Dans le tube 1, on ajoute 0,10 ml de solution \underline{a}_0 , dans le tube 2, 0,10 ml de solution \underline{b}_0 et dans le tube 3, 0,10 ml de solution \underline{c}_0 ; on obtient donc des solutions salées correspondant à une concentration de 5,0 (tube 1), de 4,0 (tube 2) et de 1,0 gramme de chlorure de sodium par litre (tube 3), en ce qui concerne l'action osmotique de l'électrolyte on ajoute dans chaque tube 20 μ l de sang humain épariné, frais et bien homogénéisé. Les tubes sont placés dans un bain-marie à 30°C (\pm 1°C) pendant 40 minutes.

Puis on prépare trois solution contenant 3,0 ml de solutions contenant 3,0 ml de \underline{a}_0 et 12,0 ml d'eau (solution \underline{a}_1); 4,0 ml de \underline{b}_0 et 11,0 ml d'eau (solution \underline{b}_1) et 4,75 ml de \underline{b}_0 et 10,25 ml d'eau (solution \underline{c}_1).

Dans le tube 1, on met 1,50 ml de \underline{a}_1 , dans le tube 2, 1,50 ml de \underline{b}_1 et dans le tube 3, 1,50 ml de \underline{c}_1 . Les tubes sont alors centrifugés 5 minutes entre 2.000 et 2.500 t.p.m. dans une centrifugeuse "swing-out". En même temps, des solutions-témoins dans lesquelles l'extrait est remplacé par de l'eau sont préparées pour chaque concentration.

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

$$E = \frac{E_{\text{exp}} \times 100}{E} \quad \text{ou} \quad \frac{E_{\text{exp}}}{E} \times 100$$

où E 100 % = extinction pour une solution d'une concentration de 1,0 gramme chlorure de sodium par litre
 E_{exp} = extinction pour respectivement des solutions d'une concentration de 4,0 grammes et de 5,0 grammes chlorure de sodium par litre

Solution tampon-mère pour mesurer le taux d'hémolyse

90,0 g de chlorure de sodium, 13,7 g de phosphate disodique anhydre et 1,90 g de phosphate monosodique anhydre sont dissous dans de l'eau distillée, dont on ajuste le volume à 1000,0 ml.

D. Test de survie *in vivo* des globules rouges

(Voir II, 4 de l'annexe ci-dessus) :

a) Limite :

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

b) Méthodes proposées :

1. Méthode de ISO/TC/76/WGD/3, App.E.
2. Ashby Technique - Ashby W. The determination of the length of life of transfused blood corpuscles in man.
J. Exp. Med. 29 : 267-82. 1919.

Young, L.E., Platzer, R.F., and Rafferty, J.A. Differential agglutination of human erythrocytes.
J. Lab. Clin. Med. 32 : 489-501, 1947.
3. The Gibson-Scheitlin method - Gibson, J.G. and Scheitlin, W.A. A method employing radio-active chromium for assaying the viability of human erythrocytes returned to the circulation after refrigerated storage.
J. Lab. Clin. Med. 46 : 679-88, 1955.
4. The Strumia method - Strumia, M.M., Taulor, L., Sample A.B., Colwell, L.S. and Dugan, A. Uses and limitations of survival studies of erythrocytes tagged with Cr51.
Blood 10 : 429-40, 1955.
5. Cr⁵¹-I¹²⁵ technique - Burton, L.N., Gibson, J.G. and Walter, C.W. Simultaneous determination of the volume of red cells and plasma for survival studies of stored blood.
Transfusion 5 : 143-148, 1965.
6. Recommended Method for Radioisotope Red Cell Survival Studies Brit. J. Haemat, 21 : 241, 1971.

III. Prescriptions relatives à la solution anticoagulante contenue dans les récipients en matière plastique

Chaque récipient doit contenir la quantité de solution anticoagulante spécifiée sur l'étiquette pour le volume de sang à prélever ; la formulation de cette solution doit être celle qui est indiquée sur l'étiquette pour ledit volume de sang.

La solution anticoagulante et/ou les produits qui entrent dans sa préparation doivent satisfaire aux exigences de la pharmacopée nationale du pays intéressé.

La solution anticoagulante doit satisfaire aux exigences de la pharmacopée nationale du pays intéressé relatives aux limites pour les métaux lourds, à l'absence de matières solides, à l'innocuité et à l'apyrogénéité.

ANNEX 11

COUNCIL OF EUROPE

European Agreement on the exchange of therapeutic substances of human origin

FREEDOM FROM TOXICITY OF PLASTIC BLOOD TRANSFUSION EQUIPMENT

I. Chemical tests

The tests are intended to be applied to plastics blood transfusion equipment. This equipment consists of two main categories:

1. plastics containers for the collection, separation and storage of blood and blood products
2. plastics sets for taking and giving blood.

The tests shall be carried out on the materials after they have been sterilised by the method to be used in the final sterilisation of the equipment. These materials shall include :

1. the plastics used to make the containers,
2. the tubing used in the containers and
3. the blood-taking and giving sets.

The tests on containers shall be carried out before the containers are filled with anticoagulant solution. However, if the tests are carried out on containers which have been filled with anticoagulant solution, the limit tests in Section III on the anticoagulant solution itself shall be taken into account when evaluating the results of the tests on the container.

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

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

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

A. Preparation of extract and blank

- a) A total test as described below requires 1250 cm² plastics (total surface area, both sides, of a plastics sample in sheet form with surface area of 625 cm²). The sample – without any printing or label on it – should be cut into pieces of not more than 10 cm².

For tubing the length (L) in cm is calculated as follows

$$L = \frac{1250}{3,14 (D_1 + D_2)}$$

D₁ = inner diameter in cm

D₂ = outer diameter in cm.

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

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

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

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

B. Tests on the extract

1. Oxidisable matter

To 20 ml of the extract in an Erlenmeyer flask of borosilicate glass add 20 ml of 2 millimole potassium permanganate solution per litre and 1.0 ml of 1 mole sulphuric acid per litre and boil the mixture for 3 minutes. Cool the solution rapidly and add 0.1 g of potassium iodide and 5 drops of starch solution. Titrate with a solution containing 10 millimole sodium thiosulphate per litre. At the same time carry out a blank titration. The difference in the volume of thiosulphate used in the two titrations does not exceed 2.00 ml a solution containing 10 millimole sodium thiosulphate per litre.

2. Chloride

The extract complies with a suitable limit test for chloride equivalent to not more than 11,2 µmoles per litre.

3. Ammonia

The extract complies with a suitable limit test for ammonia equivalent to not more than 120 µmole NH₃ per litre.

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

4. Phosphoric Acid – Phosphate

The extract complies with the limit test for phosphate.

Limit test for phosphate

Evaporate 25 ml of the extract almost to dryness in a Kjeldahl flask, cool the residue, add 2 drops sulphuric acid and 1 ml nitric acid, heat the mixture until white fumes appear, then cool. Add 1 drop of perchloric acid and heat gently for half an hour. Cool the residue and add water to 25 ml. Transfer 10 ml of the solution to a 25 ml titration flask, add 8 ml ammonium molybdate-sulphuric acid solution and 2 ml of freshly prepared solution of ascorbic acid, having a concentration of 100 g/l. Heat on a water bath at 50°C for thirty minutes, cool and dilute the mixture to 25 ml. The green or blue colour of the solution is not more intense than that obtained by treating 25 ml of the blank solution in the same manner.

5. Acidity or alkalinity

10 ml of the extract is not coloured red on the addition of 2 drops of phenolphthalein solution and requires not more than 0,4 ml solution containing 10 millimole sodium hydroxide per litre to produce a red colour. After removal of the colour by the addition of 0,08 ml solution containing 10 millimole hydrochloric acid per litre, the addition of 5 drops of methyl red solution produces a red or orange-red colour.

6. Residue on evaporation

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

7. Clarity and colour

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

8. Taste and smell

The extract compared with the blank is odourless and tasteless.

9. Special elements

The extract complies with suitable limit tests for

- i) any of the following elements : arsenic, chromium, copper, lead, silicon, silver and tin, equivalent to 1 µg/g
- ii) cadmium, equivalent to 0.1 µg/g

10. Residue on ignition

1,0 g of the plastics material when ignited to constant weight leaves not more than 1 mg of residue.

11. Heavy metals

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

II. Biological tests

1. A test for undue toxicity shall be carried out in the initial evaluation of plastics formulation intended for the fabrication of containers and taking and giving sets, using extract A, and on each new batch of materials of the approved formulations, using extract B, by the procedure specified in the national pharmacopoeia or some other method approved by the national control authority. (Extracts A and B are defined in the note below.)

2. A test for freedom from pyrogens shall be carried out in the initial evaluation of plastics formulation intended for the fabrication of containers and taking and giving sets, using extract A, and on each new batch of materials of the approved formulation, using extract C, and in the routine control of containers and taking and giving sets, using extract C, by the procedure specified in the national pharmacopoeia or some other method approved by the national control authority.

The incidence of pyrogen testing, using extract C, shall be decided by the national control authority.

(Extracts A and C are defined in the note below).

3. A test for haemolytic effects in buffered systems shall be performed in the initial evaluation of plastics formulations intended for the fabrication of containers and taking and giving sets and on each new batch of materials of the approved formulations using the extract described in paragraph I. A above. (For method and acceptable limit, see Appendix to the present Annex.)

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

Note

Extract A is prepared by adding to the extract described in I. A above pyrogen-free sodium chloride to a final concentration of 9 gram per litre.

Extract B :

Transfusion set : Fill a transfusion set as completely as possible with sterile pyrogen-free solution containing 9 gram sodium chloride per litre, clamp the ends securely and immerse the filled set completely for 1 hour in water maintained at 85°C. Collect the contents on the set.

Plastics Container : If the container is filled with anti-coagulant solution it should be emptied and rinsed twice with 250 ml portions of sterile pyrogen-free distilled water at a temperature of 20°C.

Extract C :

Transfusion set : Pass 40 ml portions of sterile pyrogen-free sodium chloride solution of a concentration of 9 gram per litre, at room temperature through not less than ten transfusion sets at a flow rate of approximately 10 ml per minute and pool the effluents. Test the solution obtained.

Plastic Container. Empty : Pass 100 ml portions of sterile pyrogen-free solution containing 9.0 gram sodium per litre, at room temperature through the collecting tubes of not less than four plastic containers, allow to remain in the containers for ten minutes and pool the effluent by discharging through the transfer tubes. Test the solution obtained.

Plastics Container with anticoagulant (See paragraph III).

APPENDIX

BIOLOGICAL TEST : LIMITS AND METHODS

A. Test for undue toxicity

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

B. Test for freedom from pyrogens

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

C. Test for haemolytic effects in buffered systems

(See Item II, 3 of Annex above) :

a) Limit:

A salt solution equivalent to a solution containing 5.0 gram NaCl per litre, in so far as electrolyte osmotic action is concerned, shall not produce a haemolysis value higher than 10% and a salt solution of 4.0 gram per litre shall not differ by more than 10 % in haemolysis value from that caused by the corresponding control solution.

b) Method:

From the primary buffer stock solution for haemolysis three solutions are prepared: 30 ml buffer stock solution and 10 ml water (solution \underline{a}_0), 30 ml buffer stock solution and 20 ml water (solution \underline{b}_0) and 15 ml buffer stock solution and 85 ml water (solution \underline{c}_0).

To each of three centrifuge tubes (1, 2 and 3), 1.40 ml extract are added. To tube 1 is added 0.10 ml \underline{a}_0 , to tube 2, 0.10 ml \underline{b}_0 and to tube 3, 0.10 ml \underline{c}_0 , thus obtaining salt solutions equivalent to solutions containing 5.0 (tube 1), 4.0 (tube 2) and 1.0 gram NaCl per litre (tube 3) insofar as electrolyte osmotic action is concerned. To each tube is added 20 μ l fresh, well mixed heparinised human blood. The tubes are put into a water bath at 30°C (\pm 1°C) for 40 minutes.

Then three solutions containing 3.0 ml \underline{a}_0 and 12.0 ml water (solution \underline{a}_1); 4.0 ml \underline{b}_0 and 11.0 ml water (solution \underline{b}_1), and 4.75 ml \underline{b}_0 and 10.25 ml water (solution \underline{c}_1) are prepared.

To the first tube is added 1,50 ml of a_1 , to the second 1,50 ml of b_1 and to the third 1,50 ml of c_1 . The tubes are centrifuged for 5 minutes at 2,000 to 2,500 rpm in a swing-out centrifuge. Concurrently, control solutions, in which the extract is replaced with water, are prepared for each of the concentrations.

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

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

100 %

where E
100 % = extinction for the solution containing an equivalent of 1.0 gram salt per litre
 E_{exp} = extinction for the solutions containing an equivalent of 4,0 and 5,0 gram salt per litre respectively

Buffer stock solution for haemolysis

90,0 g sodium chloride, 13,7 g anhydrous solution phosphate and 1,90 g anhydrous monosodium phosphate are dissolved in distilled water and made up to 1.000.0 ml.

D. Test for the *in vivo* survival of red cells

(See Item II, 4 of Annex above) :

a) Limit:

Of the erythrocytes on whole human blood with ACD anticoagulant, which has been stored for 21 days at 4-6°C, at least 70% shall have a post-transfusion survival time of 24 hours. This can be determined according to one of the methods proposed in b) below.

b) Suggested methods:

1. Method of ISO/TC/76/WGD/3, App.E.
2. Ashby Technique - Ashby W. The determination of the length of life of transfused blood corpuscles in man.
J. Exp. Med. 29 : 267-82. 1919.

Young, L.E., Platzer, R.F., and Rafferty, J.A. Differential agglutination of human erythrocytes.
J. Lab. Clin. Med. 32 : 489-501, 1947.
3. The Gibson-Scheitlin method - Gibson, J.G. and Scheitlin, W.A. A method employing radio-active chromium for assaying the viability of human erythrocytes returned to the circulation after refrigerated storage.
J. Lab. Clin. Med. 46 : 679-88, 1955.

4. The Strumia method - Strumia, M.M., Taulor, L., Sample A.B., Colwell, L.S. and Dugan, A. Uses and limitations of survival studies of erythrocytes tagged with Cr51.
Blood 10 : 429-40, 1955.
5. Cr⁵¹-I¹²⁵ technique - Burton, L.N., Gibson, J.G. and Walter, C.W. Simultaneous determination of the volume of red cells and plasma for survival studies of sored blood.
Transfusion 5 : 143-148, 1965.
6. Recommended Method for Radioisotope Red Cell Survival Studies Brit. J. Haemat, 21 : 241, 1971.

III. Requirements for anticoagulant solution in plastics containers

Each container shall contain the quantity and formulation of anticoagulant solution indicated on the label for the volume of blood to be collected.

The anticoagulant solution and/or the ingredients used in its preparation shall satisfy the requirements of the national pharmacopoeia of the country concerned.

The anticoagulant solution shall satisfy the requirements of the national pharmacopoeia of the country concerned with regard to limits for heavy metals, the absence of particulate matters, freedom from toxicity and pyrogenicity.