



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

Strasbourg, 14.V.1962

Protocole à l'Accord *

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 globale.

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.

(*) Texte révisé approuvé par les Gouvernements des Parties Contractantes à l'Accord. (Procès-verbal du 7 avril 1978 du Secrétaire Général du Conseil de l'Europe).

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 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 particuliers¹.

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 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.

(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 (U) 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.D.) 1954, 10, 937, 941 – 1950, 3, 301

Les sérums d'origine humaine pour groupage sanguin doivent contenir au moins 2,5 mg d'azote protéinique pr 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 destiné 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 des réactifs

Les réactifs utilisables pour la détermination des groupes sanguins peuvent renfermer des substances d'origine humaine, animale, végétale (ou minérale) les unes 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 à 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. 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. REACTIFS D'ORIGINE HUMAINE POUR DETERMINATION 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

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 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 de globules A₁, A₂ et A₂B d'une fraction de volume à 0,05 – 0,1, 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.

PUISSANCE

Titration

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, de sérum anti-B avec un volume égal d'une suspension de globules B d'une fraction de volume à 0,05 – 0,1, 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 A_o) (qui ne sont pas, généralement, agglutinés par le sérum anti-A provenant du sang de donneurs du groupe B).

PUISSANCE

Titration

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 A_o).

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 de globules A₁ et A₂ d'une fraction de volume à 0,05 - 0,1, 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. Après mélange, sur une lame, de sérum anti-A plus anti-B (groupe O) avec un volume égal d'une suspension de globules B d'une fraction de volume à 0,05 - 0,1, 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 de globules A_x (A_y ou A_o) d'une fraction de volume à 0,05 - 0,1, 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-Rho) 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

Titration

Les sérums anti-D "complets" ne doivent pas avoir un titre inférieur à 32 sur les globules CcDee en suspension en milieu salin (de 9 grammes NaCl par litre).

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 de globules CcDee d'une fraction de volume à 0,4 - 0,5, 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 groupage 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 9 grammes NaCl par litre.

PUISSANCE

Titration

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

Determination of avidity

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 globules Ccdee d'une fraction de volume à 0,4 - 0,5, 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 groupage 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.

PUISSANCE

Titration

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 globules ccddEe d'une fraction de volume à 0,4 - 0,5, 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-Rh_orh') pour groupage sanguin (humain)*

Sérum anti-D plus E (Anti-Rh_orh") pour groupage sanguin (humain)

Des sérums de spécificité anti-D plus C ou anti-D plus E peuvent être obtenus 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. REACTIFS 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 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 de globules A₁, A₂ et A₂B d'une fraction de volume à 0,05 – 0,1, 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 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 séparément sur une suspension de globules B parallèlement à la préparation-étalon internationale reconstituée mais non diluée du 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 avec un volume égal d'une suspension de globules B d'une fraction de volume à 0,05 – 0,1, 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-globulines humaines (animal)*²

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 auquel ils appartiennent.

(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.

(2) Coombs, R.R.A., Mourant, A.E. and Race, R.R. (1965), *Lancet*, ii, 15
Coombs, R.R.A., Mourant, A.E. and Race, R.R. (1945), *Brit. J. exp. Path.*, 26, 255

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 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

Titration

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-Lea 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.

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

Titration

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, du réactif anti-A avec un volume égal d'une suspension de globules A₁, A₂ et A₂B d'une fraction de volume à 0,05 – 0,1, 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.

(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.

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

Titration

Un réactif anti-B doit être titré séparément 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, en aucun cas, être inférieure à 64 unités internationales par ml.

Détermination de l'avidité

Après mélange, sur lame, du réactif anti-B avec un volume égal d'une suspension de globules B d'une fraction de volume à 0,05 – 0,1, 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-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.

EXEMPLES D'ETIQUETTE
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

<p><i>a. sérum liquide</i></p> <p>1. Laboratoire X, Amsterdam 2. Sérum anti-A (humain)</p> <p>3. N₃Na 0,1%</p> <p>4. 5 ml 5. 7 septembre 1965</p> <p>6. N° 1 2 3 4</p>	<p><i>a. fluid serum</i></p> <p>1. Laboratory, Amsterdam 2. Anti-A serum (human)</p> <p>3. Sodium Azide 0,1%</p> <p>4. 5 ml 5. 7th September, 1965</p> <p>6. N° 1 2 3 4</p>
<p><i>b. sérum desséché</i></p> <p>1. Laboratoire X, Amsterdam 2. Sérum anti-B (animal)</p> <p>3. Mersalate 0,1%</p> <p>4. Reconstituer avec 5 ml d'eau distillée 5. 31 décembre 1968</p> <p>6. N° 4321</p>	<p><i>b. dried serum</i></p> <p>1. Laboratory, Amsterdam 2. Anti-B serum (animal)</p> <p>3. Mersalate 0,1%</p> <p>4. To be reconstituted with 5 ml of distilled water 5. 31st December, 1968 6. N° 4321</p>

EXEMPLES DE NOTICE
EXAMPLES OF LEAFLETCONSEIL 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

1. Laboratoire central de transfusion sanguin, 1 Main Street, Metropolis, Westland	1. Central blood Transfusion Laboratory, 1 Main Street, Metropolis, Westland
2. Sérum anti-E (anti-rh") (humain)	2. Anti-E (anti-rh") serum (human)
3. 10 ml	3. 10 ml
4. Date du dernier contrôle d'activité : 30 mai 1961	4. Date of the last control test : 30 th May 1961
5. Date de péremption : 30 mai 1962	5. Expiry Date, 30 th May 1962
6. N° 5432	6. No. 5432
<p>7. Les globules rouges à examiner doivent être lavés une ou plusieurs fois avec une solution saline de 9 g/l. Une suspension de globules rouges d'une fraction de volume d'environ 0,03 est préparée ensuite en mélangeant un volume ou une goutte de culot globulaire avec 30 volumes ou gouttes de solution saline isotonique. Avec un peu d'habitude, la concentration d'une suspension peut être évaluée de façon satisfaisante à l'oeil nu.</p> <p>Une petite goutte de sérum est déposée dans un tube à hémolyse (6 mm x 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 10 ul). Le contenu du 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'oeil nu, la lame est examinée au microscope pour établir si l'agglutination s'est produite et déterminer son intensité.</p>	<p>7. The red blood cells to be tested are washed one or more times with a NaCl solution of 9 g/l. An erythrocyte suspension with a volume fraction of approximately 0.03 is prepared by mixing one volume or drop of packed red cells with 30 volumes or drops of isotonic NaCl-solution. With practice the strength of a suspension can be judged adequately by inspection.</p> <p>A small drop of serum is delivered into a precipitin tube (6 mm x 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 cell suspension from pipettes marked at a volume of 10 ul). 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.</p>
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 ₃ Na à concentration de 100 g/l.	8. Store at -20° C or below. If to be used after day of opening, add 0.1 ml of a solution containing 100 gram sodium azide per litre.
9. – sérum humain anti-E ("anti-rh"): 5 ml – Albumine bovine à 300 g/l : 5 ml	9. Human anti-E ("anti-rh") serum : 5 ml; solution containing 300 gram bovine albumin per litre : 5ml.
10. Ce réactif contient une substance d'origine humaine.	10. This product contains material of human origin.

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 DETACHER 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
Number of packages
..... The undersigned certifies that the shipment specified in the
..... margin.....

Désignation préparé sous la responsabilité de
Marked
..... prepared under the responsibility of
.....

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

N° des lots spécifications du Protocole à l'Accord et qu'il peut être
Batch No. is in conformity with the specifications of the Protocol to
.....
..... délivré immédiatement au destinataire (nom et lieu).....
.....
..... the Agreement and can be delivered immediately to the
.....
..... consignee (name and place)
.....

(cachet) (signature) (titre)

(stamp) (signature) (titre)