

CAMERA DEI DEPUTATI

N. 1363

DISEGNO DI LEGGE

PRESENTATO DAL MINISTRO DEGLI AFFARI ESTERI
(SARAGAT)

DI CONCERTO COL MINISTRO DELLE FINANZE
(TREMELLONI)

COL MINISTRO DEL COMMERCIO CON L'ESTERO
(MATTARELLA)

COL MINISTRO DELLA SANITÀ
(MANCINI)

E COL MINISTRO DEL BILANCIO
(GIOLITTI)

Ratifica ed esecuzione dell'Accordo europeo relativo allo scambio dei reattivi per la determinazione dei gruppi sanguigni, con Protocollo ed annessi, firmato a Strasburgo il 14 maggio 1962

Seduta del 12 maggio 1964

ONOREVOLI COLLEGHI! — Il 14 maggio 1962, in occasione della 30ª sessione del Comitato dei Ministri del Consiglio d'Europa, è stato firmato a Strasburgo, con riserva di ratifica, l'Accordo europeo relativo allo scambio dei reattivi per la determinazione dei gruppi sanguigni, dai rappresentanti dei Governi del Belgio, Francia, Grecia, Italia, Lussemburgo, Norvegia, Svezia e Turchia.

Al fine di rendere esecutivo in Italia l'Accordo in questione è stato predisposto lo schema di disegno di legge che deve essere sottoposto al Parlamento per la necessaria autorizzazione alla ratifica.

L'Atto suddetto rappresenta il necessario complemento di un Accordo già adottato dal Consiglio d'Europa nel 1958 e concer-

nente lo « scambio delle sostanze terapeutiche di origine umana » (European Treaty Series, No 26). In virtù di tale Accordo venne convenuta tra i Paesi facenti parte del Consiglio d'Europa, la messa in comune del sangue per trasfusione e dei diversi derivati sanguigni ad uso terapeutico, onde far fronte a situazioni di emergenza od all'improvviso bisogno di sangue di gruppo raro. Non vi è bisogno di sottolineare come la collaborazione europea in un settore a carattere così spiccatamente umanitario quale quello trasfusionale corrisponda in pieno ai principi istitutivi del Consiglio d'Europa.

Con il presente Accordo si è voluto estendere la collaborazione al settore dei « sieri-test », vale a dire di quei reattivi, ge-

neralmente di origine umana, ma anche di origine animale e vegetale, che vengono impiegati per la determinazione dei gruppi sanguigni. Questa estensione si è resa necessaria a seguito del programma di collaborazione in materia trasfusionale, istituito a seguito del precedente Accordo. Tale programma comprende: la collaborazione sul piano scientifico e pratico tra i diversi Istituti designati allo scopo dai Governi dei Paesi aderenti; la riunione di gruppi esperti per lo studio di determinati problemi; la formazione del personale. Con questa collaborazione si tende a portare i servizi trasfusionali dei vari Paesi ad un livello uniforme sia sul piano organizzativo che su quello tecnico.

L'Accordo europeo relativo allo scambio dei reattivi per la determinazione dei gruppi sanguigni si compone dell'Accordo propriamente detto, in 11 articoli, e di un Protocollo. Premesse le considerazioni che hanno presieduto all'adozione dell'Accordo,

l'articolo 1 definisce le sostanze che saranno oggetto dello scambio;

l'articolo 2 stabilisce l'impegno che le Parti Contraenti prendono per aiutarsi scambievolmente, mettendo a disposizione, nel caso di una necessità urgente che si verifichi in questo settore in uno dei Paesi aderenti, le sostanze richieste;

l'articolo 3 stabilisce il principio che il materiale così inviato debba essere impiegato soltanto per scopi medici e non a scopo di lucro;

l'articolo 4 prevede che le sostanze oggetto dello scambio debbano essere accompagnate da un certificato e corrispondere ai requisiti fissati nel Protocollo allegato;

l'articolo 5 stabilisce che le Parti Contraenti prendano tutte le misure necessarie per l'esenzione dai diritti di dogana del materiale che verrà scambiato in applicazione dell'Accordo;

l'articolo 6 prevede infine la designazione degli organismi nazionali abilitati a ricevere e a distribuire le sostanze oggetto dell'Accordo.

Infine gli articoli dal 7° all'11° stabiliscono la procedura per l'adesione all'Accordo e le disposizioni per la durata e l'entrata in vigore di esso.

Segue inoltre il Protocollo nel quale vengono stabiliti i requisiti minimi e le caratteristiche delle sostanze oggetto dell'Accordo, e predisposti gli esemplari delle etichette da applicare agli involucri e dei certificati da unire ad ogni invio.

L'Accordo, come già il precedente sulla messa in comune del sangue e derivati, è stato elaborato e proposto dal Comitato di esperti in materia di sanità pubblica del Consiglio d'Europa.

Da quanto esposto, si può concludere che l'entrata in vigore dell'Accordo potrà apportare dei reali benefici ai Paesi facenti parte del Consiglio d'Europa, venendo a completare l'attività di collaborazione e di armonizzazione, già intrapresa sotto l'egida del Consiglio stesso nel campo trasfusionale.

DISEGNO DI LEGGE

ART. 1.

Il Presidente della Repubblica è autorizzato a ratificare l'Accordo europeo relativo allo scambio dei reattivi per la determinazione dei gruppi sanguigni, con Protocollo ed Annessi, firmato a Strasburgo il 14 maggio 1962.

ART. 2.

Piena ed intera esecuzione è data all'Accordo di cui all'articolo precedente con Protocollo ed Annessi, a decorrere dalla sua entrata in vigore in conformità all'articolo 8 dell'Accordo stesso.

ACCORD EUROPEEN RELATIF A L'ECHANGE DES REACTIFS POUR LA DETERMINATION DES GROUPES SANGUINS

Les Gouvernements signataires des Etats membres du Conseil de l'Europe,
Considérant que les réactifs pour la détermination des groupes sanguins ne sont disponibles qu'en quantité limitée;

Estimant qu'il est hautement souhaitable que, dans un esprit de solidarité européenne, les pays membres se prêtent une assistance mutuelle en vue de la fourniture de ces réactifs pour la détermination des groupes sanguins, si la nécessité s'en fait sentir;

Considérant que cette assistance mutuelle n'est possible que si les propriétés et l'emploi de ces réactifs pour la détermination des groupes sanguins sont soumis à des règles établies en commun par les pays membres et si l'importation de ces réactifs bénéficie des facilités et exemptions nécessaires,

Sont convenus de ce qui suit:

ARTICLE 1er.

Aux fins d'application du présent Accord, les termes « réactifs pour la détermination des groupes sanguins » désignent tous réactifs pour la détermination des groupes sanguins et la détection des incompatibilités sanguines d'origine humaine, animale, végétale ou autre.

Toute Partie Contractante pourra, au moment de la signature du présent Accord ou du dépôt de son instrument de ratification ou d'approbation ou d'adhésion, par déclaration adressée au Secrétaire Général du Conseil de l'Europe, limiter l'application du présent Accord aux réactifs pour la détermination des groupes sanguins d'origine humaine. Cette déclaration pourra être retirée, à tout moment, par notification adressée au Secrétaire Général du Conseil de l'Europe.

ARTICLE 2.

Les Parties Contractantes s'engagent, pour autant qu'elles disposent de réserves suffisantes pour leurs propres besoins, à mettre les réactifs pour la détermination des groupes sanguins à la disposition des autres Parties qui en ont un besoin urgent, sans autre rémunération que celle nécessaire au remboursement des frais de collecte, de préparation et de transport de ces substances ainsi que, s'il y a lieu, des frais d'achat de celles-ci.

ARTICLE 3.

Les réactifs pour la détermination des groupes sanguins sont mis à la disposition des autres Parties Contractantes sous les conditions qu'ils ne donneront lieu à aucun bénéfice, qu'ils seront utilisés uniquement à des fins médicales et qu'ils ne seront remis qu'à des organismes désignés par les gouvernements intéressés.

ARTICLE 4.

Les Parties Contractantes garantissent le respect des dispositions telles qu'elles sont définies dans le Protocole au présent Accord.

Elles se conformeront en outre aux règles auxquelles elles ont adhéré en matière de standardisation internationale dans ce domaine.

Tout envoi de réactifs pour la détermination des groupes sanguins sera accompagné d'un certificat attestant qu'il a été préparé en conformité avec les spécifications du Protocole. Le certificat sera établi selon le modèle figurant à l'annexe au Protocole.

Le Protocole et son annexe ont le caractère d'un arrangement administratif et pourront être modifiés ou complétés par les gouvernements des Parties au présent Accord.

ARTICLE 5.

Les Parties Contractantes prendront toutes mesures nécessaires en vue d'exempter de tous droits d'importation les réactifs pour la détermination des groupes sanguins mis à leur disposition par les autres Parties.

Elles prendront également toutes mesures nécessaires pour assurer, par la voie la plus directe, la livraison rapide de ces substances aux destinataires visés à l'article 3 du présent Accord.

ARTICLE 6.

Les Parties Contractantes se communiqueront, par l'entremise du Secrétaire Général du Conseil de l'Europe, une liste des organismes habilités à établir le certificat prévu à l'article 4 du présent Accord.

Elles communiqueront également une liste des organismes habilités pour la distribution des réactifs pour la détermination des groupes sanguins importés. Ces organismes seront, dans toute la mesure du possible, ceux qui sont visés par l'article 6 de l'Accord européen relatif à l'échange de substances thérapeutiques d'origine humaine.

ARTICLE 7.

Le présent Accord est ouvert à la signature des Membres du Conseil de l'Europe qui peuvent y devenir Parties par:

- (a) la signature sans réserve de ratification ou d'approbation, ou
- (b) la signature sous réserve de ratification ou d'approbation suivie de ratification ou d'approbation.

Les instruments de ratification ou d'approbation seront déposés près le Secrétaire Général du Conseil de l'Europe.

ARTICLE 8.

Le présent Accord entrera en vigueur un mois après la date à laquelle trois Membres du Conseil, conformément aux dispositions de l'article 7, auront signé l'Accord sans réserve de ratification ou d'approbation ou l'auront ratifié ou approuvé.

Pour tout Membre qui le signera ultérieurement sans réserve de ratification ou d'approbation ou le ratifiera ou l'approuvera, l'Accord entrera en vigueur un mois après la date de la signature ou du dépôt de l'instrument de ratification ou d'approbation.

ARTICLE 9.

Après l'entrée en vigueur du présent Accord, le Comité des Ministres du Conseil de l'Europe pourra inviter tout Etat non membre du Conseil à adhérer au présent Accord. L'adhésion prendra effet un mois après la date du dépôt de l'instrument d'adhésion auprès du Secrétaire Général du Conseil de l'Europe.

ARTICLE 10.

Le Secrétaire Général du Conseil de l'Europe notifiera aux Membres du Conseil et aux Etats adhérents:

- (a) la date de l'entrée en vigueur du présent Accord et les noms des Membres l'ayant signé sans réserve de ratification ou d'approbation ou l'ayant ratifié ou approuvé;
- (b) le dépôt de tout instrument d'adhésion effectué en application des dispositions de l'article 9;
- (c) toute déclaration et notification reçues en application des dispositions du deuxième alinéa de l'article 1er;
- (d) toute notification reçue en application des dispositions de l'article 11 et la date à laquelle celle-ci prendra effet;
- (e) tout amendement apporté au Protocole et à son annexe aux termes du quatrième alinéa de l'article 4.

ARTICLE 11.

Le présent Accord demeurera en vigueur sans limitation de durée.

Toute Partie Contractante pourra mettre fin, en ce qui la concerne, à l'application du présent Accord en donnant un préavis d'un an à cet effet au Secrétaire Général du Conseil de l'Europe.

EN FOI DE QUOI, les soussignés, dûment autorisés à cet effet par leurs Gouvernements respectifs, ont signé le présent Accord.

FAIT à Strasbourg, le 14 mai 1962, en français et en anglais, les deux textes faisant également foi, en un seul exemplaire qui sera déposé dans les archives du Conseil de l'Europe. Le Secrétaire Général en communiquera copie certifiée conforme à chacun des Gouvernements signataires et adhérents.

Pour le Gouvernement de la République d'Autriche:

Pour le Gouvernement du Royaume de Belgique:
sous réserve de ratification ou d'approbation:
P. H. SPAAK

Pour le Gouvernement de la République de Chypre:

Pour le Gouvernement du Royaume de Danemark:

Pour le Gouvernement de la République française:

Au moment de la signature, le Gouvernement de la République française déclare, conformément à l'article 1er, limiter l'application de l'Accord aux réactifs pour la détermination des groupes sanguins d'origine humaine.

sous réserve de ratification ou d'approbation:
G. GORSE

Pour le Gouvernement de la République Fédérale d'Allemagne:
sous réserve de ratification ou d'approbation:

Pour le Gouvernement du Royaume de Grèce:
sous réserve de ratification ou d'approbation:
N. CAMBALOURIS

Pour le Gouvernement de la République islandaise:

Pour le Gouvernement d'Irlande:

Pour le Gouvernement de la République italienne:
sous réserve de ratification ou d'approbation:
ATTILIO PICCIONI

Pour le Gouvernement du Grand Duché de Luxembourg:
sous réserve de ratification ou d'approbation:
PIERRE WURTH

Pour le Gouvernement du Royaume des Pays-Bas:

Pour le Gouvernement du Royaume de Norvège:
EINAR LÖCHEN

Pour le Gouvernement du Royaume de Suède:
GUNNAR LANGE

Pour le Gouvernement de la République turque:
sous réserve de ratification ou d'approbation:
ZEKI KUNERALP

Pour le Gouvernement du Royaume-Uni de Grande Bretagne et d'Irlande du Nord:

PROTOCOLE A L'ACCORD

DISPOSITIONS GENERALES

1. — SPECIFICITE.

Un réactif pour la détermination des groupes sanguins doit agglutiner tous les échantillons de sang examinés qui contiennent l'agglutinogène homologue de l'anticorps ou des autres substances agglutinantes 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 agglutinantes autres que ceux mentionnés sur l'étiquette;
- (c) produits bactériens susceptibles d'occasionner des fausses 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 agglutination microscopiquement visible, la dilution étant calculée en incluant 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 anti-B et 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).

(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 donné lieu à l'agglutination (visible au microscope).

La puissance des réactifs pour groupage sanguin, pour lesquels il existe des étalons internationaux (anti-A et anti-B, à l'heure actuelle), peut être exprimée en Unités internationales (*) sur la base d'un titrage du 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, le sérum contient par définition 256 U. I. par ml. Elles sont fournies gratuitement par le Laboratoire International des étalons biologiques de l'O. M. S., Statens 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.

Voir *Bull. Wld. Hlth. Org.* (O. M. S.) 1950, 3, 301.

4. — STABILITE ET DATE D'EXPIRATION.

Stocké dans les conditions recommandées par le fabricant chaque réactif devrait conserver les qualités requises pendant 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 obturé de telle façon que l'humidité soit exclue. Un réactif desséché ne doit pas perdre plus de 0,5 % de son poids lorsqu'il est testé par une dessiccation secondaire en présence d'anhydride phosphorique à une pression n'excédant pas 0,02 mm de mercure pendant 24 heures.

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 sédiment, 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 propriétés agglutinantes.

7. — DISTRIBUTION ET QUALITE.

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

8. — REGISTRES ET ECHANTILLONS.

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 REACTIFS.

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 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) 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 au présent Protocole. Des exemples d'étiquette et de notice sont joints au présent Protocole.

DISPOSITIONS PARTICULIERES

A. — REACTIFS D'ORIGINE HUMAINE
POUR DETERMINATION DES GROUPES SANGUINS

(a) SERUM 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 agglutinogènes 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 agglutinogènes 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 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-standard 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'agglutinogène B, c'est-à-dire ceux des groupes B et AB, et n'affecte pas les globules rouges humains dépourvus de l'agglutinogène 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-standard 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'agglutinogène A_x (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, A₂ et A₂B, 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.

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, 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. 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-standard 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 % des globules A_x, l'agglutination doit apparaître en moins de 5 minutes à une température comprise entre 18° et 25° C.

(b) SERUMS 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 elles agglutinent les globules homologues. Certains sérums, dits « complets », agglutinent les globules en milieu salin. D'autres, dits « incomplets », agglutinent seulement 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.

La plupart des 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-standard 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'agglutinogène D du système Rh. Il agglutine les suspensions de globules rouges humains contenant l'agglutinogène D, mais non celles de globules rouges humains dépourvus de l'agglutinogène D.

PUISSANCE:

Titrage.

Les sérums anti-D « complets » ne doivent pas avoir un titre inférieur à 32 sur des globules Cc Dee (R₁r) en suspension en milieu salin (Na Cl à 0,9 %).

Les sérums anti-D « incomplets » ne doivent pas avoir un titre inférieur à 128 sur les globules CcDee (R₁r) dans les conditions spécifiées par le laboratoire qui les prépare. En plus de l'agglutination de tous les globules contenant l'antigène D, ils devraient, autant que possible, agglutiner tous les globules contenant l'antigène D^U.

Détermination de l'avidité.

Les sérums anti-D destinés à être utilisés sur lame devraient, après mélange sur lame à un volume égal d'une suspension à 40 %-50 % de globules Cc Dee (R₁r) 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'agglutinogène C du système Rh. Il agglutine les suspensions de globules rouges humains contenant l'agglutinogène C, mais non celles de globules rouges humains dépourvus de l'agglutinogène C. L'agglutinogène C est conçu comme comprenant l'agglutinogène 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'agglutinogène C que si les globules rouges à tester sont en suspension dans une solution de Na Cl à 0,9 %.

PUISSANCE:

Titrage.

Les sérums anti-C ne devraient pas avoir un titre inférieur à 8 sur des globules Ccddee (r'r).

Détermination de l'avidité.

Les sérums anti-C destinés à être utilisés sur lame (et qui ne doivent contenir aucune forme d'anti-D) devraient, après mélange sur une lame à un volume égal d'une suspension à 40 %-50 % de globules Ccddee (r'r) à environ 40° C, produire une agglutination visible avant 30 secondes, l'agglutination devant être complète avant 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'agglutinogène E du système Rh. Il agglutine les suspensions de globules rouges humains contenant l'agglutinogène E, mais non celles de globules rouges humains dépourvus de l'agglutinogène E.

PUISSANCE:

Titration.

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

Détermination de l'avidité.

Les sérums anti-E destinés à être utilisés sur lame (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 (r'r), 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 doivent pas réagir avec les globules rouges qui ne possèdent pas l'agglutinogène C ou l'agglutinogène D. 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. Si un sérum est destiné à être utilisé sur lame, 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.

B. — REACTIFS D'ORIGINE NON HUMAINE

(a) SERUMS 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 agglutinogènes 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 agglutinogènes 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 équivalente (1). 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'agglutinogène B, c'est-à-dire ceux des groupes A et AB, et n'agglutine pas les globules rouges humains dépourvus de l'agglutinogène B, c'est-à-dire ceux des groupes O et A.

(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.

PUISSANCE:

Titration.

Un sérum anti-B doit être titré sur une suspension de globules B parallèlement à la préparation internationale reconstituée mais non diluée de sérum pour groupage sanguin anti-B ou à une préparation équivalente de référence (1). 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.

(iii) *Sérum anti-globulines humaines (animal)* (2).

Etant donné

d'une part les incertitudes présentes sur la connaissance exacte de la nature des protéines intervenant dans la réaction à l'antiglobuline,

d'autre part la composition très variable des sérums anti-globulines d'origine différente:

le spécificité des sérums anti-globulines ne peut être définie à l'heure actuelle que par leur action sur des globules rouges humains revêtus de divers anticorps.

Définition.

Le sérum anti-globulines humaines provient du sang d'animaux immunisés par injection de protéines sériques humaines. Le sérum anti-globulines humaines agglutine tous les globules rouges humains revêtus de globulines humaines, qu'elles soient fixées activement par une réaction antigène-anticorps ou passivement à la suite du traitement préalable des globules rouges par l'acide tannique. 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.

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 revêtus d'un anticorps incomplet anti-D d'origine humaine dont le titre est égal à 4 (ou inférieur) lorsqu'il est recherché avec des globules rouges D positifs par la méthode « albumin replacement ». A la même dilution, il doit agglutiner les globules rouges humains Kell positifs revêtus d'un anticorps anti-Kell faible sélectionné 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 revêtus d'anticorps incomplets tel que l'anti-Le^a, pour la détection duquel la présence de sérum frais humain est nécessaire.

Il ne doit agglutiner, à aucune de ces dilutions, les globules rouges humains non revêtus.

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

(b) REACTIFS D'ORIGINE VEGETALE.

(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 agglutinogènes 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 agglutinogènes A, c'est-à-dire ceux des groupes O et B.

(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. et Race, R. R. (1945); *Lancet*, ii, 15.

Coombs, R. R. A.; Mourant, A. E. et Race, *Brit. J. exp. Path.* 26, 255.

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 référence (1).

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'agglutinogène B, c'est-à-dire ceux des groupes B et AB, et n'agglutine pas les globules rouges humains dépourvus de l'agglutinogène B, c'est-à-dire ceux des groupes O et A.

PUISSANCE:

Titration.

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 référence (1). La puissance du réactif ne doit pas 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 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.

(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.

ANNEXES AU PROTOCOLE

EXEMPLES D'ETIQUETTE

CONSEIL DE L'EUROPE

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

(a) SERUM LIQUIDE.

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.

(b) SERUM DESSECHE.

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.

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 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'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.

Nombre de colis	Le soussigné déclare que l'envoi spécifié en marge		
Désignation	préparé sous la responsabilité de		
N. des lots	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)		
	(cachet)	(signature)	(titre)