

Accordo europeo concernente lo scambio dei reagenti per la determinazione dei gruppi sanguigni

Conchiuso a Strasburgo il 14 maggio 1962
Approvato dall'Assemblea federale il 20 settembre 1965²
Strumento di ratifica depositato dalla Svizzera il 29 novembre 1965
Entrato in vigore per la Svizzera il 30 dicembre 1965
(Stato 28 ottobre 2003)

I Governi firmatari degli Stati membri del Consiglio d'Europa,
considerato che i reagenti per la determinazione dei gruppi sanguigni sono disponibili solo in qualità limitata;

considerato altamente desiderabile che, in uno spirito di solidarietà europea, i Paesi membri si prestino, occorrendo, reciproca assistenza nel rifornirsi di questi reagenti per la determinazione dei gruppi sanguigni;

considerato che questa mutua assistenza è possibile solamente se le proprietà e l'impiego di detti reagenti per la determinazione dei gruppi sanguigni sono sottoposti a regole stabilite in comune dai Paesi membri e se la loro importazione beneficia delle necessarie agevolazioni ed esenzioni;

hanno convenuto quanto segue:

Art. 1

Ai fini dell'applicazione del presente Accordo, i termini «reagenti per la determinazione dei gruppi sanguigni» si riferiscono a tutti i reagenti per la determinazione dei gruppi sanguigni e delle incompatibilità sanguigne d'origine umana, animale, vegetale o altra.

Ogni Parte Contraente potrà, al momento della firma del presente Accordo o del deposito dello strumento di ratificazione o d'approvazione o d'adesione, con una dichiarazione indirizzata al Segretario Generale del Consiglio d'Europa, limitare l'applicazione del presente Accordo ai reagenti per la determinazione dei gruppi sanguigni d'origine umana. Questa dichiarazione potrà essere ritirata, in ogni momento, con una notificazione indirizzata al Segretario Generale del Consiglio d'Europa.

RU 1966 839; FF 1965 I 381

- ¹ Il testo originale francese è pubblicato sotto lo stesso numero nell'ediz. franc. della presente Raccolta.
- ² RU 1966 795

Art. 2

Le Parti Contraenti s'impegnano, ove dispongano per sé di riserve sufficienti, a mettere i reagenti per la determinazione dei gruppi sanguigni a disposizione delle altre Parti che ne avessero urgente bisogno, senz'altro compenso che quello necessario a coprire i costi di raccolta, preparazione e trasporto, nonché dell'eventuale acquisto.

Art. 3

I reagenti per la determinazione dei gruppi sanguigni sono messi a disposizione delle altre Parti Contraenti all'espressa condizione che non siano impiegati per lucro, che siano utilizzati solamente a scopi medici e che siano esclusivamente inviati agli organi designati dai Governi interessati.

Art. 4

Le Parti Contraenti garantiscono il rispetto delle specificazioni che sono definite nel Protocollo al presente Accordo.

Esse si adegueranno inoltre alle regole cui hanno aderito in materia di normalizzazione internazionale, in questo campo.

Ogni invio di reagenti per la determinazione dei gruppi sanguigni sarà corredato di un certificato attestante ch'esso è stato preparato giusta le specificazioni del Protocollo. Il certificato sarà allestito secondo il modello recato nell'allegato del Protocollo.

Il Protocollo e i suoi allegati costituiscono un ordinamento amministrativo e potranno essere modificati o completati dai Governi delle Parti al presente Accordo.

Art. 5

Le Parti Contraenti prenderanno le misure necessarie per esentare da tutti i diritti d'importazione i reagenti per la determinazione dei gruppi sanguigni messi a loro disposizione dalle altre Parti.

Esse prenderanno anche le misure necessarie ad assicurare, per la via più breve la celere consegna di queste sostanze ai destinatari, di cui all'articolo 3 del presente Accordo.

Art. 6

Le Parti Contraenti si comunicheranno, per il tramite del Segretario Generale del Consiglio d'Europa, un elenco degli organi incaricati di stabilire il certificato previsto dall'articolo 4 del presente Accordo.

Esse comunicheranno anche un elenco degli organi autorizzati a distribuire i reagenti importati. Questi organi saranno, per quanto possibile, quelli già fissati in virtù

dell'articolo 6 dell'Accordo europeo concernente lo scambio di sostanze terapeutiche d'origine umana.³

Art. 7

Il presente Accordo è aperto alla firma dei Membri del Consiglio d'Europa, i quali possono parteciparvi mediante:

- a. la firma senza riserva di ratificazione o d'approvazione; oppure
- b. la firma con riserva di ratificazione o approvazione, seguita da ratificazione o approvazione.

Gli strumenti di ratificazione o d'approvazione saranno depositati presso il Segretario Generale del Consiglio d'Europa.

Art. 8

Il presente Accordo entrerà in vigore un mese dopo il giorno in cui tre Membri del Consiglio, giusta l'articolo 7, l'avranno firmato senza riserva di ratificazione o d'approvazione oppure l'avranno ratificato o approvato.

Per i Membri che firmeranno ulteriormente senza riserva di ratificazione o d'approvazione oppure che lo ratificheranno o l'approveranno, l'Accordo entrerà in vigore un mese dopo la data della firma o del deposito dello strumento di ratificazione o d'approvazione.

Art. 9

Entrato in vigore il presente Accordo, il Comitato dei Ministri del Consiglio d'Europa potrà invitare ad aderirvi ogni Stato non membro del Consiglio. L'adesione avrà effetto un mese dopo la data del deposito dello strumento d'adesione presso il Segretario Generale del Consiglio d'Europa.

Art. 10

Il Segretario Generale del Consiglio d'Europa notificherà ai Membri del Consiglio e agli Stati aderenti:

- a. la data dell'entrata in vigore del presente Accordo e i nomi dei Membri che l'hanno firmato senza riserva di ratificazione o d'approvazione oppure che l'hanno ratificato o approvato;
- b. il deposito di ogni strumento d'adesione effettuato in applicazione dei disposti dell'articolo 9;
- c. le dichiarazioni e notifiche ricevute in applicazione dei disposti del capoverso 2 dell'articolo 1;

³ RS 0.812.161

- d. le notifiche ricevute in applicazione dei disposti dell'articolo 11, con la data della loro entrata in vigore;
- e. gli emendamenti apportati al Protocollo e al suo allegato, giusta il capoverso 4 dell'articolo 4.

Art. 11

Il presente Accordo rimarrà in vigore senza limitazione di durata. Ogni Parte Contraente potrà, per sé, cessare d'applicarlo, dandone preavviso di un anno al Segretario Generale del Consiglio d'Europa.

In fede di che, i sottoscritti, debitamente autorizzati dai loro rispettivi Governi, hanno firmato il presente Accordo.

Fatto a Strasburgo, il 14 maggio 1962, in francese ed inglese, i due testi facendo parimente fede, in un solo esemplare da depositare negli archivi del Consiglio d'Europa. Il Segretario Generale ne comunicherà copie certificate conformi a ciascuno dei Governi firmatari e aderenti.

(Seguono le firme)

Protocollo dell'accordo

Disposizioni Generali

1. Specificità

Un reagente per la determinazione dei gruppi sanguigni deve agglutinare tutti i campioni di sangue esaminato che contengano l'agglutinogeno omologo all'anticorpo o alle altre sostanze agglutinanti menzionate sull'etichetta.

Quando un reagente è usato secondo la tecnica raccomandata dal produttore, nessuno dei fattori o fenomeni seguenti deve manifestarsi:

- a. proprietà emolitiche;
- b. anticorpi o sostanze agglutinanti diverse da quelle menzionate sulla etichetta;
- c. prodotti batterici suscettivi di causare false reazioni negative o positive;
- d. pseudo-agglutinazione per formazione di rouleaux;
- e. fenomeno di prozona.

2. Potenza

Il titolo si misura facendo delle diluizioni per successivi sdoppiamenti del reagente in studio, in ambiente appropriato. Per ogni diluizione si deve aggiungere, in uguale volume, una sospensione di globuli rossi. Il titolo è costituito dal reciproco della cifra che rappresenta la maggiore diluizione nella quale si può osservare una agglutinazione visibile al microscopio, la diluizione essendo calcolata includendo nel volume totale il volume della sospensione globulare.

Nel caso dell'anti-A, dell'anti-B e degli altri reagenti destinati ad essere utilizzati su lastre, l'avidità si esprime mediante il tempo necessario alla agglutinazione su lastra.

3. Campioni internazionali e Unità internazionali

L'Organizzazione Mondiale della Sanità ha stabilito i campioni internazionali per i reagenti di gruppi sanguigni anti-A e anti-B e sta studiando quelli per i reagenti di gruppi di diverse specificità. Un preparato campione internazionale contiene, per definizione, un certo numero di Unità internazionali per mg. o ml, e questa definizione è indipendente dai titoli osservati su globuli rossi particolari*.

* La potenza dei reagenti per la determinazione del gruppo della maggior parte delle specificità è espressa dal titolo dell'agglutinazione osservata, in una serie di diluizioni, su una sospensione di globuli rossi. Il titolo indica la diluizione del reagente utilizzato nell'ultima miscela che ha dato luogo ad un'agglutinazione (visibile al microscopio).

La potenza dei reagenti per i quali esistono dei campioni internazionali (attualmente anti-A e anti-B), può essere espressa in Unità internazionali * in base alla titolazione del reagente ignoto paragonato al preparato campione internazionale oppure ad un sottocampione nazionale.

I campioni internazionali di sieri per determinazione del gruppo sanguigno sono distribuiti in provette contenenti siero umano essiccato. Portato ad un volume di 1 ml., il siero contiene *per definizione* 256 U. I. per ml. Le provette sono fornite gratuitamente dal Laboratorio Internazionale di campioni biologici dell'O.M.S., Statens Serum-institut, Copenhagen.

La tavola seguente mostra un esempio di titolazione comparativa del siero campione internazionale anti-A (S) e di un reagente anti-A «incognito» (U) con globuli rossi A, e globuli rossi A, B.

	Siero S	Reattivo U	Siero S	Reattivo U
Globuli A ₁	1 : 512	1 : 128	256	64
Globuli A ₂ B	1 : 32	1 : 16	256	128
	titoli (osservati)	titoli (osservati)	Unità (giusta definizione)	Unità (giusta comparazione)

* Cfr. Bull. Wld. Hith. Org (O.M.S.) 1954, 10,937, 941.
Cfr. Bull. Wld. Hith. Org (O.M.S.) 1050, 3, 301.

4. Stabilità e data di scadenza

Conservato nelle condizioni raccomandate dal fabbricante, ogni reagente dovrà conservare le qualità richieste per almeno un anno.

Per i reagenti allo stato liquido, la data di scadenza indicata sulla etichetta non deve essere superiore ad un anno dall'ultimo soddisfacente controllo d'attività. La scadenza può essere prorogata a periodi annuali in seguito ad ulteriori controlli.

Per quel che riguarda i reagenti allo stato secco, la data di scadenza indicata sull'etichetta dipenderà dal risultato delle prove di stabilità e dovrà essere approvata dalle autorità nazionali di controllo.

5. Conservazione

I reagenti possono essere conservati allo stato liquido o secco. Quelli seccati dovranno essere tenuti in atmosfera di gas inerte o sotto vuoto, in un recipiente di vetro chiuso in modo da escludere ogni traccia d'umidità. Un reagente secco non deve perdere più dello 0,5% del suo peso quando è messo alla prova dell'essiccazione secondaria in presenza di anidride fosforica ad una pressione non superiore di 0,02 mm. di mercurio, per 24 ore.

I reagenti dovranno essere preparati con ogni precauzione d'asepsi e non devono essere contaminati da batteri. Per evitare la moltiplicazione dei batteri, l'autorità nazionale competente può decidere di aggiungere al reagente (o ad ogni solvente fornito con i reagenti secchi) un antisettico (e) (o) un antibiotico, purché, in presenza della sostanza aggiunta, il reagente continui a rispondere alle regole di specificità e di potenza.

I sieri d'origine umana per determinazione del gruppo sanguigno devono contenere almeno 2,5 mg. d'azoto proteico per ogni ml di siero liquido o ricostituito.

I reagenti, sia liquidi sia ricostituiti, devono essere trasparenti e non devono contenere né sedimenti, né gel, né particelle visibili.

6. Colorazione

È preferibile che i reagenti destinati ad uno scambio internazionale non siano colorati artificialmente, almeno fino a quando un accordo internazionale non ne abbia stabilito un sistema uniforme. I coloranti aggiunti non devono aver effetto sulle proprietà agglutinanti.

7. Distribuzione e quantità

I reagenti devono essere distribuiti in modo tale ed in tali quantità che il reagente contenuto in un recipiente sia sufficiente per la prova con globuli negativi e positivi, oltre che per la prova con globuli ignoti. La quantità contenuta in ogni recipiente deve essere tale che, occorrendo, si possa procedere alle prove di potenza descritte nel presente Protocollo.

8. Registri e campioni

Il laboratorio produttore dovrà inscrivere sui suoi registri tutte le fasi della produzione e del controllo dei reagenti. Di tutti i reagenti distribuiti, il laboratorio conserverà adeguati campioni fino a quando la partita non sia verosimilmente più in uso.

9. Classificazione dei reagenti

I reagenti utilizzabili per la determinazione dei gruppi sanguigni possono contenere sostanze di origine umana, animale, vegetale (o minerale). Alcune costituiscono il principio attivo; altre gli adiuvanti necessari per rinforzare l'attività o mantenere la stabilità.

Per ragioni tecniche, questi reagenti sono raggruppati in tre categorie secondo l'origine del loro costituente attivo. Ciò non significa che i reagenti d'origine umana contengano *esclusivamente* prodotti di origine umana né che i reagenti animali o vegetali *escludano* sostanze di origine umana.

10. Etichettatura, nota e certificato

Un'etichetta in inglese ed in francese, stampata nero su bianco, sarà fissata su ogni recipiente definitivo e porterà le seguenti indicazioni:

1. Nome e indirizzo dello stabilimento produttore;
2. Nome del reagente come appare dal titolo delle specificità corrispondenti;
3. Nome e quantità dell'antisettico (e) (o) – eventualmente – dell'antibiotico, o indicazione della sua assenza;
4. Volume o, se il reagente è secco, volume e composizione del liquido necessario alla ricostituzione;
5. Data di scadenza;
6. Numero della partita.

Inoltre questa etichetta o quella del collo che contiene più recipienti definitivi, o la nota che accompagna i recipienti, porterà le seguenti indicazioni:

1. Nome ed indirizzo dello stabilimento produttore;
2. Nome del reagente come appare dal titolo delle specificità corrispondenti;
3. Volume o, se il reagente è secco, volume e composizione del liquido necessario alla ricostituzione;
4. Data dell'ultimo controllo dell'attività;
5. Data di scadenza (occorrendo);
6. Numero della partita;
7. Descrizione adeguata del modo d'uso raccomandato dal produttore;
8. Condizioni d'immagazzinaggio delle fiale non ancora aperte e precauzioni da prendere dopo l'apertura;
9. Esatta composizione, compreso (eventualmente) l'antisettico (e) (o) l'antibiotico;
10. Indicazione della presenza o dell'assenza di prodotti d'origine umana.

Ogni invio dovrà essere corredato, secondo le disposizioni dell'articolo 4 dell'Accordo e dell'allegato del presente Protocollo, d'un certificato. Esempi di etichetta e di nota sono annessi al presente Protocollo.

Disposizioni particolari

A. Reagenti d'origine umana per la determinazione dei gruppi sanguigni

a. Sieri d'origine umana per gruppi sanguigni A.B.O.

(i) Siero anti-A per determinazione del gruppo sanguigno (umano)

Il siero anti-A deriva dal sangue delle persone di gruppo D selezionate, immunizzate o no con globuli rossi del gruppo A o con delle sostanze specifiche del gruppo A. Il siero anti-A agglutina i globuli rossi umani che contengono gli agglutinogeni A, cioè quelli dei gruppi A e AB, compresi i sottogruppi A¹, A², A¹B e A²B e non agglutina i globuli rossi umani privi degli agglutinogeni A, cioè quelli dei gruppi 0 e B.

Potenza:

Titolazione

Un siero anti-A deve essere titolato, separatamente su sospensioni di globuli A¹, A² e A²B, in parallelo col campione internazionale ricostituito, ma non diluito, del siero anti-A oppure con un equivalente preparato di riferimento. La potenza del siero non deve, in nessun caso, essere inferiore a 64 Unità internazionali per ml.

Determinazione dell'avidità

Dopo aver mescolato su lastra del siero anti-A con un volume uguale di una sospensione al 5%–10% di globuli A¹, A², e A²B, l'agglutinazione di ogni sospensione deve apparire prima del doppio del tempo necessario per ottenere, nelle stesse condizioni, l'agglutinazione col campione internazionale anti-A, ricostituito ma non diluito, o con altro preparato-campione della stessa avidità.

(ii) Siero anti-B per determinazione del gruppo sanguigno (umano)

Il siero anti-B deriva dal sangue delle persone di gruppo A selezionate, immunizzate o no con globuli rossi di gruppo B o con sostanze specifiche di gruppo B. Il siero anti-B agglutina i globuli rossi umani contenenti gli agglutinogeni B, cioè quelli dei gruppi B e AB, e non agglutina i globuli rossi umani privi dell'agglutinogeno B, cioè quelli dei gruppi 0 e A.

Potenza:

Titolazione

Un siero anti-B deve essere titolato, su sospensioni di globuli B, in parallelo col campione internazionale ricostituito, ma non diluito, del siero anti-B oppure con un equivalente preparato di riferimento. La potenza del siero non deve essere inferiore a 64 Unità internazionali per ml.

Determinazione dell'avidità

Dopo aver mescolato, su lastra, del siero anti-B con un volume uguale di una sospensione al 5%–10% di globuli B, l'agglutinazione deve apparire prima del doppio del tempo necessario per ottenere, nelle stesse condizioni, l'agglutinazione col campione internazionale anti-B, ricostituito ma non diluito, o con altro preparato-campione della stessa avidità.

(iii) Siero anti-A più anti-B (gruppo 0) per determinazione del gruppo sanguigno (umano)

Il siero anti-A più anti-B (gruppo 0) proviene dal sangue di persone del gruppo 0 selezionate, immunizzate o no con globuli rossi A e B o con sostanze specifiche dei gruppi A e B. Il siero anti-A più anti-B (gruppo 0) agglutina i globuli rossi umani contenenti gli agglutinogeni A o B, o gli agglutinogeni A e B, cioè quelli del gruppo A, compresi quelli dei sottogruppi A_1 e A_2 quelli del gruppo B e quelli del gruppo AB, compresi i sottogruppi A_1B e A_2B , e non agglutina i globuli rossi umani privi degli agglutinogeni A o B, cioè quelli del gruppo 0. Esso agglutina i globuli rossi umani contenenti l'agglutinogeno A_x (che non sono, generalmente, agglutinati dal siero anti-A proveniente dal sangue dei donatori di gruppo B).

Potenza:

Titolazione

Un siero anti-A più anti-B (gruppo 0) deve essere titolato, separatamente su sospensioni di globuli A_1 , A_2 , e A_2B , in parallelo col campione internazionale di siero per gruppo sanguigno anti-A ricostituito, ma non diluito, oppure con un equivalente preparato di riferimento. Esso deve essere titolato ugualmente in una sospensione di globuli B parallelamente al campione internazionale di siero anti-B ricostituito, ma non diluito, oppure ad un equivalente preparato di riferimento.

La potenza del siero non deve, in nessun caso, essere inferiore a 64 Unità Internazionali per ml.

Il siero anti-A più anti-B (gruppo 0) non diluito deve ugualmente generare un'agglutinazione, facilmente distinguibile, dei globuli di gruppo A_x .

Determinazione dell'avidità

Dopo aver mescolato, su lastra, del siero anti-A più anti-B (gruppo 0), con un volume uguale di una sospensione al 5%–10% di globuli A_1 , A_2 , e A_2B , l'agglutinazione in ogni sospensione deve apparire prima del doppio del tempo necessario per ottenere, nelle stesse condizioni, l'agglutinazione col campione internazionale anti-A, ricostituito ma non diluito, oppure con altro preparato-campione della stessa avidità. Dopo aver mescolato, su lastra, del siero anti-A più anti-B (gruppo 0) con un volume uguale di una sospensione al 5%–10% di globuli B, l'agglutinazione deve apparire prima del doppio del tempo necessario per ottenere, nelle stesse condizioni, l'agglutinazione col campione internazionale anti-B, ricostituito ma non diluito, oppure con altro preparato-campione della stessa avidità. Quando il siero anti-A più anti-B (gruppo 0) è mescolato, su lastra, con un volume

uguale di una sospensione al 5%–10% di globuli Ax, l'agglutinazione deve comparire in meno di 5 minuti ad una temperatura compresa fra i 18° e i 25 °C.

b. Sieri d'origine umana per gruppo sanguigno Rh

I sieri per gruppo sanguigno Rh, qualunque sia la loro specificità, possono essere di due varietà differenti a seconda delle condizioni nelle quali essi agglutinano i globuli omologhi. Alcuni sieri, detti «completi», agglutinano i globuli in ambiente salino. Altri, detti «incompleti», agglutinano solamente in presenza di certi colloidali come l'albumina bovina, oppure per mezzo di altre tecniche appropriate. I sieri devono essere utilizzati nelle condizioni specificate dal laboratorio che li prepara.

La maggior parte dei sieri «incompleti» agglutinano anche su lastra i globuli rossi omologhi in sospensione con il loro siero proprio o plasma.

Le condizioni seguenti relative alla potenza dei sieri per gruppo Rh potranno essere rivedute quando saranno disponibili i campioni internazionali.

(i) Siero anti-D (anti-Rh₀) per determinazione del gruppo sanguigno (umano)

Il siero anti-D proviene dal sangue d'una o più persone immunizzate attraverso l'agglutinogeno D del sistema Rh. Esso agglutina le sospensioni di globuli rossi umani contenenti l'agglutinogeno D, ma non quelle dei globuli rossi umani privi dell'agglutinogeno D.

Potenza:

Titolazione

I sieri anti-D «completi» non devono avere un titolo inferiore a 32 fra i globuli CcDee (R₁r) in sospensione salina (Na Cl al 0,9%).

I sieri anti-D «incompleti» non devono avere un titolo inferiore a 128 fra i globuli CcDee (R₁r), nelle condizioni specificate dal laboratorio che li prepara. Oltre all'agglutinazione di tutti i globuli che contengono l'antigene D, essi dovranno, il più presto possibile, agglutinare tutti i globuli che contengono l'antigene D^u.

Determinazione dell'avidità

I sieri anti-D, destinati ad essere utilizzati su lastra, dovrebbero produrre un'agglutinazione in meno di 30 secondi, e l'agglutinazione dovrebbe essere completa in meno di 120 secondi, quando siano mescolati, su lastra, con un volume uguale di una sospensione al 40%-50% di globuli CcDee (R₁r) a circa 40 °C.

(ii) Siero anti-C (anti-Rh') per determinazione del gruppo sanguigno (umano)

Il siero anti-C deriva dal sangue d'una o più persone immunizzate dall'agglutinogeno C del sistema Rh. Esso agglutina le sospensioni di globuli rossi umani che contengono l'agglutinogeno C, ma non mai quelle di globuli rossi umani privi dell'agglutinogeno C. L'agglutinogeno C è concepito come includente l'agglutinogeno C^w.

La maggior parte dei sieri anti-C per diagnosi contengono un anticorpo anti-C «completo» ed anche un anticorpo anti-D «incompleto». Questi sieri non sono dunque specifici per l'agglutinogeno C tranne quando i globuli rossi sotto prova sono in sospensione in una soluzione di NaCl al 0,9%.

Potenza:

Titolazione

I sieri anti-C non dovranno avere un titolo inferiore a 8 nei globuli Ccddee (r'r).

Determinazione dell'avidità

I sieri anti-C, destinati ad essere utilizzati su lastra (e che non devono contenere alcuna forma d'anti-D), dovrebbero, quando siano mescolati su lastra con un volume uguale di una sospensione al 40%–50% di globuli Ccddee (r'r) a circa 40 °C, produrre un'agglutinazione visibile in meno di trenta secondi, e l'agglutinazione dovrebbe essere completa in meno di 120 secondi.

(iii) Siero anti-E (anti-rh⁺) per determinazione del gruppo sanguigno (umano)

Il siero anti-E deriva dal sangue di una o più persone immunizzate dall'agglutinogeno E del sistema Rh. Esso agglutina le sospensioni di globuli rossi umani contenenti l'agglutinogeno E, ma non quelle di globuli rossi umani privi dell'agglutinogeno E.

Potenza:

Titolazione

I sieri anti-E («completi» o «incompleti») non dovranno avere un titolo inferiore a 8 nei globuli ccddEe (r⁺⁺r).

Determinazione dell'avidità

I sieri anti-E, destinati ad essere utilizzati su lastra (e che non devono contenere alcuna forma d'anti-D), dovrebbero, quando siano mescolati su lastra con un volume uguale di una sospensione al 40%–50% di globuli ccddEe (r'r) a circa 40 °C, produrre un'agglutinazione visibile in meno di 30 secondi, e l'agglutinazione dovrebbe essere completa in meno di 120 secondi.

(iv) Siero anti-D più C (anti-Rh₀rh⁺) per determinazione del gruppo sanguigno (umano)

Siero anti-D più E (anti-Rh₀ rh⁺) per determinazione del gruppo sanguigno (umano)

Dei sieri di specificità anti-D più C oppure anti-D più E possono essere ottenuti direttamente dal sangue delle persone immunizzate oppure possono essere preparati mescolando un siero anti-D con un siero anti-C oppure anti-E. Nel siero del donatore i due anticorpi dovranno essere contemporaneamente attivi nelle condizioni di reazione specificata dal produttore. Ogni siero deve reagire con tutti i tipi di globuli rossi che reagirebbero con uno o l'altro degli anticorpi che li compongono, e non

dovranno reagire con i globuli rossi che non possiedono l'agglutinogeno C o l'agglutinogeno D. I titoli non dovranno essere inferiori a quelli che sono richiesti dagli anticorpi che li compongono, ma nel caso dell'anti-D più C (combinazione frequente nel siero delle persone immunizzate), è preferibile che il titolo dell'anti-C non sia inferiore a 32. Se un siero è destinato ad essere utilizzato su lastra, i tempi d'agglutinazione per ogni tipo di globuli rossi che reagiscono non dovranno essere inferiori a quelli che sono richiesti per ogni costituente.

B. Reagenti d'origine non umana

a. Sieri d'origine animale

(i) Reagente anti-A per determinazione del gruppo sanguigno (animale)

Il siero anti-A deriva dal sangue di animali immunizzati o no con globuli rossi di gruppo A o con sostanze specifiche di gruppo A. Il siero anti-A agglutina i globuli rossi umani che contengono gli agglutinogeni A, cioè quelli dei gruppi A e AB, compresi i sottogruppi A_1 , A_2 , A_1B e A_1B , e non agglutina i globuli rossi umani privi degli agglutinogeni A, cioè quelli dei gruppi O e B.

Potenza:

Titolazione

Un siero anti-A deve essere titolato, separatamente su sospensioni di globuli A_1 , A_2 e A_2B , in parallelo col campione internazionale ricostituito, ma non diluito, di siero anti-A, oppure con un equivalente preparato di riferimento⁴. La potenza del siero non deve, in nessun caso, essere inferiore a 64 Unità internazionali per ml.

Determinazione dell'avidità

Dopo aver mescolato, su lastra, del siero anti-A con un volume uguale di una sospensione al 5%–10% di globuli A_1 , A_2 e A_2B , l'agglutinazione di ogni sospensione deve apparire prima del doppio del tempo necessario per ottenere, nelle stesse condizioni, l'agglutinazione col campione internazionale anti-A, ricostituito ma non diluito, oppure con altro preparato-campione della stessa avidità.

(ii) Siero anti-B per determinazione del gruppo sanguigno (animale)

Il siero anti-B deriva dal sangue di animali immunizzati o no da globuli rossi di gruppo B o da sostanze specifiche del gruppo B. Il siero anti-B agglutina i globuli rossi umani contenenti l'agglutinogeno B, cioè quelli dei gruppi A e AB, e non agglutina i globuli rossi umani privi dell'agglutinogeno B, cioè quelli del gruppo O e A.

⁴ Il «campione internazionale» è di origine umana; il campione equivalente che si impiegherà, se occorre, potrà essere d'origine umana o d'origine animale.

Potenza:

Titolazione

Un siero anti-B deve essere titolato su una sospensione di globuli B, in parallelo col campione internazionale, ricostituito ma non diluito, di siero anti-B oppure con un equivalente preparato di riferimento⁵. La potenza del siero non deve mai essere inferiore a 64 Unità internazionali per ml.

Determinazione dell'avidità

Dopo aver mescolato, su lastra, del siero anti-B con un volume uguale di una sospensione al 5%–10% di globuli B, l'agglutinazione deve apparire prima del doppio del tempo necessario per ottenere, nelle stesse condizioni, l'agglutinazione col campione internazionale anti-B, ricostituito ma non diluito, oppure con altro preparato-campione della stessa avidità.

(iii) Siero anti-globuline umane (animale)⁶

Dato:

- da un lato l'attuale incerta conoscenza della natura delle proteine che intervengono in reazione con l'antiglobulina,
- dall'altro la composizione molto instabile dei sieri anti-globuline d'origine differente,

la specificità dei sieri anti-globuline non può essere definita attualmente se non attraverso le loro azioni sui globuli rossi umani rivestiti dei diversi anticorpi.

Definizione

Il siero anti-globuline umane proviene dal sangue di animali immunizzati da iniezione di proteine del siero umano. Il siero anti-globuline umane agglutina tutti i globuli rossi umani rivestiti di globuline umane, quando esse siano fissate attivamente attraverso una reazione antigene-anticorpo oppure passivamente in seguito al trattamento preliminare dei globuli rossi con acido tanico. Impiegato conformemente alle prescrizioni del fabbricante, esso non agglutina i globuli rossi umani non rivestiti, qualunque sia il gruppo sanguigno al quale appartengono.

Potenza:

Titolazione

Un siero antiglobuline umane deve, sia come è fornito sia dopo diluizione secondo le indicazioni prescritte sull'etichetta, agglutinare fortemente i globuli rossi rivestiti di anticorpo incompleto anti-D d'origine umana il cui titolo è uguale a 4 (o inferiore) quando venga ricercato con globuli rossi D positivi con il metodo «albumin repla-

⁵ Il «campione internazionale» è d'origine umana, il campione equivalente che si impiegherà, se occorre, potrà essere di origine umana oppure d'origine animale.

⁶ Coombs, R.R.A.; Mourant, A.E. e Race, R.R. (1945); *Lancet*, ii, 15
Coombs, R.R.A.; Mourant, A.E. e Race, *Brit.J.esp. Path.* 26, 255.

cement». Alla stessa diluizione, esso deve agglutinare i globuli rossi umani Kell-positivi rivestiti d'anticorpo anti-Kell debole selezionato a questo scopo.

Esso deve anche, alla stessa diluizione, oppure ad una differente diluizione (se è specificato sull'etichetta) agglutinare i globuli rossi rivestiti d'anticorpi incompleti quale l'anti-Le^a, per l'accertamento del quale è necessaria la presenza di siero umano fresco.

Esso non deve agglutinare, in nessuna di dette diluizioni, i globuli rossi umani non rivestiti.

Per l'uso clinico abituale, è preferibile che il rivestimento per tutti i tipi di anticorpi incompleti menzionati qui sopra sia rilevabile con una sola diluizione di siero anti-globuline umane.

b. Reagenti d'origine vegetale

(i) Reagenti anti-A per determinazione del gruppo sanguigno (vegetale)

Il reagente anti-A è estratto dai semi o da ogni parte di una pianta adatta a questo uso e sottoposto, in seguito, ad un processo di purificazione. Il reagente anti-A agglutina i globuli rossi umani che contengono gli agglutinogeni A cioè quelli dei gruppi A e AB, compresi i sottogruppi A₁, A₂ e A₁B e A₂B, e non agglutina i globuli rossi umani privi di agglutinogeni A, cioè quelli del gruppo o e B.

Potenza:

Titolazione

Un reagente anti-A deve essere titolato, separatamente in sospensioni di globuli A₁, A₂ e A₂B, in parallelo col campione internazionale ricostituito, ma non diluito, di siero anti-A, oppure con un equivalente preparato di riferimento⁷.

La potenza del reagente, in ogni caso, non deve essere inferiore a 64 Unità internazionali per ml.

Determinazione dell'avidità

Dopo aver mescolato, su lastra, un reagente anti-A con un volume uguale di una sospensione al 5%–10% di globuli A₁, A₂ e A₂B, l'agglutinazione di ogni sospensione deve apparire in meno del doppio del tempo necessario per ottenere, nelle stesse condizioni, l'agglutinazione col campione internazionale anti-A, ricostituito ma non diluito, o con altro preparato-campione della stessa avidità.

(ii) Reagente anti-B per determinazione del gruppo sanguigno (vegetale)

Il reagente anti-B è estratto dalle parti adeguate di una pianta adatta a quest'uso, ed è, se necessario, sottoposto poi a un processo di purificazione. Il reagente anti-B agglutina i globuli rossi umani contenenti l'agglutinogeno B, cioè quelli dei gruppi

⁷ Il «campione internazionale» è d'origine umana, il campione equivalente che si impiegherà, se occorre, potrà essere di origine umana oppure d'origine animale.

B e AB, e non agglutina i globuli rossi umani privi dell'agglutinogeno B, cioè quelli dei gruppi o e A.

Potenza:

Titolazione

Un reagente anti-B deve essere titolato su una sospensione di globuli B, in parallelo col campione internazionale ricostituito, ma non diluito, di siero anti-B, o con un equivalente preparato di riferimento⁸. La potenza del reagente non deve, in nessun caso, essere inferiore a 64 Unità internazionali per ml.

Determinazione dell'avidità.

Dopo aver mescolato, su lastra, del reagente anti-B con un volume uguale di una sospensione al 5%-10% di globuli B, l'agglutinazione deve apparire in meno del doppio del tempo necessario per ottenere, nelle stesse condizioni, l'agglutinazione col campione internazionale anti-B, ricostituito ma non diluito, oppure con altro preparato-campione della stessa avidità.

⁸ Il «campione internazionale» è d'origine umana, il campione equivalente che si impiegherà, se occorre, potrà essere di origine umana oppure d'origine animale.

Allegati del Protocollo

Modello d'etichetta
(cfr. Protocollo, n. 10)

Conseil de l'Europe

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

<p>a. sérum liquide</p> <ol style="list-style-type: none">1. Laboratoire X, Amsterdam2. Sérum anti-A (humain)3. N₃NA 0,1%4. 5 ml5. 7 septembre 19656. N° 1234	<p>b. sérum desséché</p> <ol style="list-style-type: none">1. Laboratoire X, Amsterdam2. Sérum anti-B (animal)3. Mersalate 0,1%4. Reconstituer avec 5 ml d'eau distillée5. 31 décembre 19686. N° 4231
--	---

Modello di nota
(cfr. Protocollo, n. 10)

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'oeil nu.

Une petite goutte de sérum est déposée dans un tube à hémolyse (6 x 30mm) 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'oeil 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.

Modello di certificato
(cfr. art. 4 dell'Accordo e n. 10 del Protocollo)

Conseil de l'Europe

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

Certificat

(article 4)

A ne pas détacher de l'envoi

	_____ 19 ____ (lieu) (date)
Nombre de colis	Le soussigné déclare que l'envoi spécifié en marge préparé sous la responsabilité de _____
Désignation _____	_____
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)

Campo di applicazione dell'accordo il 19 settembre 2003

Stati partecipanti	Ratifica Adesione (A) Firmato senza riserva di ratificazione (F)		Entrata in vigore	
Belgio	18 ottobre	1967	19 novembre	1967
Cipro	23 settembre	1969	24 ottobre	1969
Comunità europea (CE/UE/CEE)	30 marzo	1987 F	1° aprile	1987
Danimarca	13 settembre	1962 F	14 ottobre	1962
Finlandia ^a	22 dicembre	1994	23 gennaio	1995
Francia *	5 febbraio	1964	21 gennaio	1964
Germania	1° dicembre	1987	2 gennaio	1988
Grecia	29 novembre	1988	30 dicembre	1988
Irlanda *	1° luglio	1970 F	2 agosto	1970
Italia	24 marzo	1966	25 aprile	1966
Liechtenstein	28 ottobre	1969 A	29 novembre	1969
Lussemburgo	23 gennaio	1968	24 febbraio	1968
Malta *	28 febbraio	1967	29 marzo	1967
Norvegia	14 maggio	1962 F	14 ottobre	1962
Paesi Bassi *	20 maggio	1965	21 giugno	1965
Antille olandesi	20 maggio	1965	21 giugno	1965
Aruba	24 dicembre	1985	1° gennaio	1986
Regno Unito *	8 dicembre	1964	9 gennaio	1965
Slovenia ^a	4 ottobre	2000	5 novembre	2000
Spagna	7 marzo	1975 A	8 aprile	1975
Svezia	14 maggio	1962 F	14 ottobre	1962
Svizzera	29 novembre	1965	30 dicembre	1965
Turchia	27 novembre	1964	28 dicembre	1964

* Riserve e dichiarazioni vedi qui appresso

^a Firma con riserva di ratifica.

Dichiarazioni**Francia**

All'atto della firma, il Governo francese dichiara, conformemente all'articolo 1, di limitare l'applicazione dell'accordo ai reagenti per la determinazione dei gruppi sanguigni umani.

Irlanda

All'atto della firma, l'Irlanda ha dichiarato, giusta l'articolo 1 dell'accordo, che l'applicazione di quest'ultimo è limitato ai reagenti per la determinazione dei gruppi sanguigni d'origine umana.

Malta

Stesse dichiarazioni della Francia.

Paesi Bassi

Il Governo olandese si riserva il diritto d'estendere l'applicazione dell'accordo, con protocollo ed allegati, al Surinam, non appena il Governo di detto Paese ne esprima il desiderio.

Regno Unito

La ratifica dell'accordo vale unicamente per il Regno Unito e non s'applica agli altri territori di cui il Governo del Regno Unito cura le relazioni internazionali.

