

## PROTOKOL TIL DEN EUROPÆISKE OVERENSKOMST

### om udveksling af reagenser til blodtypebestemmelse

#### GENERELLE BESTEMMELSER

#### 1. Specificeret

Et reagens til blodtypebestemmelse skal reagere med alle afprøvede blodprøver, som indeholder det antigen, der svarer til det antistof eller andet stof, der er anført på etiketten.

Når et reagens benyttes med den af producenten anbefalede fremgangsmåde, må ingen af følgende faktorer eller fænomener optræde:

- hæmolytiske egenskaber,
- antistoffer eller andre stoffer, bortset fra de på etiketten anførte,
- bakterieprodukter, der kan forårsage falsk positive eller falsk negative reaktioner,
- pseudo-agglutination under »pengerulledannelse«,
- hæmningszonefænomener.

#### 2. Reagensernes styrke

Titeren bestemmes ved at fremstille successive halverende fortyndinger af det reagens, der skal

undersøges, i et passende medium. Til hver fortynding sættes et lige så stort volumen af en opslæmning af røde blodlegemer. Titeren er den reciprokke værdi af det tal, der repræsenterer den højeste serumfortynding, hvori der forekommer reaktion. Fortyndingen udregnes uden at medtage blodlegemeopslæmningens volumen i det totale volumen.

For anti-A, anti-B og andre reagenser til brug på objektglas udtrykkes aviditeten ved den tid, der kræves til agglutination på et objektglas.

#### 3. Internationale standarder og internationale enheder

Verdenssundhedsorganisationen har for anti-A, anti-B og inkomplette anti-D blodtypereagenser fastlagt internationale standarder og er i færd med at etablere sådanne for blodtypereagenser inden for andre systemer. Et internationalt standardpræparat indeholder pr. definition et vist antal internationale enheder pr. mg eller ml, og denne definition er uafhængig af den titer, der bestemmes i forhold til et givet præparat af røde blodlegemer<sup>(1)</sup>.

(1) Styrken af reagenser til blodtypebestemmelse inden for de fleste systemer udtrykkes som den agglutinationstiter i en fortyndingsrække, som bestemmes i forhold til en opslæmning af røde blodlegemer. Titeren angiver reagensets fortynding i den sidste blanding i rækken, som giver agglutination, der er synlig i mikroskop.

Styrken af blodtypereagenser, af hvilke der findes internationale standardpræparater (i øjeblikket anti-A og anti-B samt inkomplet anti-D), kan udtrykkes i internationale enheder (Jf. Bull. Wld. Hlth. Org. 1954, 10, 937, 941—1950, 3, 301) efter titrering af det ukendte reagens i sammenligning med den internationale standard eller en national standard.

De internationale standardpræparater af sera til blodtypebestemmelse foreligger som ampuller med tørret humant serum. Efter rekonstitution til et volumen på 1 ml indeholder anti-A og anti-B sera pr. definition 256 internationale enheder pr. ml. De kan fås gratis fra WHO's internationale laboratorium for biologiske standarder, Statens Seruminstitut, København.

Nedenstående tabel viser et eksempel på sammenlignende titrering af det internationale standard anti-A serum (S) og et »ukendt« anti-A reagens (U) mod røde blodlegemer af type A<sub>1</sub> og A<sub>2</sub>B.

	Serum S	Reagens U	Serum S	Reagens U
A <sub>1</sub> -blodlegemer	1 : 512	1 : 128	256	64
A <sub>2</sub> B-blodlegemer	1 : 32	1 : 16	256	128
	titer (bestemt)	titer (bestemt)	enheder (pr. definition)	enheder (ved sammenligning)

#### 4. Stabilitet og udløbsdato

Ethvert reagens bør under de af producenten anbefalede opbevaringsforhold bevare den nødvendige aktivitet i mindst et år.

Udløbsdatoen for et flydende reagens skal angives på etiketten og må ikke være senere end et år fra datoen for den sidste tilfredsstillende styrkekontrol. Udløbsdatoen kan udskydes yderligere et år ved en gentagen styrkekontrol.

Udløbsdatoen for et reagens i tør form skal fremgå af etiketten, skal være i overensstemmelse med resultater af stabilitetsundersøgelser og skal være godkendt af de nationale kontrolmyndigheder.

#### 5. Opbevaring

Blodtypereagenser kan opbevares enten i flydende eller i frysetørret tilstand. Frysetørrede reagenser opbevares i en atmosfære af inaktiv luftart eller under vakuum i den beholder, hvori de blev tørret, og denne skal være lukket på en sådan måde, at fugt holdes ude. Et tørret reagens må ikke miste mere end 0,5 % af sin vægt, når det kontrolleres ved yderligere tørring over phosphorpentoxid under et tryk på højst 0,02 mm kviksølv i 24 timer.

Reagenser tilberedes under aseptiske kauteler og skal være fri for bakteriel forurening. For at undgå bakterievækst kan den ansvarlige nationale myndighed beslutte, at der skal tilsættes et antiseptisk og/eller antibiotisk middel til reagenset (eller til et opløsningsmiddel, der leveres sammen med det tørrede reagens), forudsat at reagenset opfylder kravene om specificitet og styrke, også når det tilførte stof er til stede.

Blodtypesera hidrørende fra mennesker skal mindst indeholde 2,5 mg proteinnitrogen pr. ml flydende eller rekonstitueret serum.

Flydende og rekonstituerede reagenser bør være gennemsigtige og ikke indeholde hverken bundfald, gel eller synlige partikler.

#### 6. Farve

Blodtypereagenser til international udveksling bør så vidt muligt ikke være tilsat farve, i det mindste ikke før der på internationalt plan er opnået enighed om et ensartet system. Eventuelt tilsat farvestof må ikke interferere med den specifikke reaktion.

#### 7. Udlevering og volumen

Blodtypereagenser skal udleveres på en sådan måde og i sådanne volumina, at reagensmængden i en beholder er tilstrækkelig til, at der kan udføres

prøver såvel med positive og negative kontroller som med de ukendte blodlegemer. Indholdet i en beholder skal være så stort, at der om nødvendigt kan udføres styrkekontrol som beskrevet i denne protokol.

#### 8. Resultater og prøver

Fremstillingslaboratoriet skal opbevare skriftlige optegnelser over alle trin i produktion og kontrol af blodtypereagenser. Tilstrækkelige prøver af alle udsendte reagenser skal opbevares i laboratorier, indtil det med rimelighed kan formodes, at partiet ikke længere er i brug.

#### 9. Opdeling af reagenser

Reagenser til blodtypebestemmelse kan indeholde stoffer hidrørende fra mennesker, dyr eller planter (eller af mineralsk art), hvoraf nogle udgør den aktive del og andre er tilsætningsstoffer, der øger reagensets aktivitet eller forbedrer dets stabilitet.

Af tekniske årsager er disse reagenser opdelt i tre kategorier efter, hvorfra det aktive stof hidrører. Dette betyder ikke, at reagenser hidrørende fra mennesker udelukkende indeholder stoffer hidrørende fra mennesker, og heller ikke, at animalske eller vegetabiliske reagenser ikke kan indeholde stoffer hidrørende fra mennesker.

#### 10. Etiketter, beskrivelse og erklæringer

En etiket på engelsk og fransk med sort tryk på hvidt papir skal være påklæbet hver slutbeholder og indeholde følgende oplysninger:

1. Producentens navn og adresse.
2. Reagensets navn, således som dette er angivet i overskriften i den relevante specifikation.
3. Navnet på og mængden af antiseptiske og/eller antibiotiske midler, hvis sådanne findes, eller angivelse af, at disse ikke er til stede.
4. Volumen, eller hvis reagenset er frysetørret, mængden og sammensætningen af den væske, der skal tilsættes for at rekonstituere det.
5. Udløbsdato.
6. Partiets nummer.

Desuden skal denne etiket, etiketten på den karton, der indeholder flere slutbeholdere, eller den beskrivelse, der følger med beholderne, indeholde følgende oplysninger:

1. Producentens fulde navn og adresse.
2. Reagensets navn, således som dette er angivet i overskriften i den relevante specifikation.

3. Volumen eller, hvis reagenset er frysetørret, mængden og sammensætningen af den væske, der skal tilsættes for at rekonstituere det.
4. Datoen for den seneste styrkekontrol.
5. Udløbsdato, hvis en sådan findes.
6. Partiets nummer.
7. Fyldestgørende beskrivelse af den anvendelsesmetode, producenten anbefaler.
8. Opbevaringsforhold for uåbnede ampuller og de forholdsregler, der skal iagttages, efter at de er åbnet.

9. Nøjagtig sammensætning, herunder eventuelle antiseptiske og/eller antibiotiske midler.

10. Angivelse af om produktet indeholder materiale hidrørende fra mennesker eller ikke.

Enhver forsendelse skal ledsages af en erklæring, som foreskrevet i overenskomstens artikel 4 og i bilaget til denne protokol. Eksempel på etiket og beskrivelse er bilagt denne protokol.

### SÆRLIGE BESTEMMELSER

#### A. SERA TIL BLODTYPEBESTEMMELSE HIDRØRENDE FRA MENNESKER

##### a) SERA TIL AB0-TYPEBESTEMMELSE HIDRØRENDE FRA MENNESKER

###### i) Anti-A serum til blodtypebestemmelse (humant)

Anti-A serum fremstilles af blod fra udvalgte type B-personer, som eventuelt kan være immuniseret med røde blodlegemer af type A eller med stoffer, der er specifikke for type A. Anti-A serum agglutinerer humane røde blodlegemer, der indeholder A-antigen, dvs. blodlegemer fra blod af type A og AB, herunder undertype A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>1</sub>B og A<sub>2</sub>B, men agglutinerer ikke humane røde blodlegemer, der ikke indeholder A-antigen, dvs. blodlegemer fra blod af type 0 og B.

###### Styrke

###### Titring

Et anti-A serum skal titreres særskilt mod opslæmninger af A<sub>1</sub>-, A<sub>2</sub>- og A<sub>2</sub>B-blodlegemer parallelt med enten det rekonstituerede men ufortyndede internationale standardpræparat af anti-A serum til blodtypebestemmelse eller et tilsvarende referencepræparat. Serumets styrke må i ingen tilfælde være mindre end 64 internationale enheder pr. ml.

###### Bestemmelse af aviditet

Når anti-A serum blandes på et objektglas med et lige så stort volumen af en opslæmning indeholdende A<sub>1</sub>-, A<sub>2</sub>- og A<sub>2</sub>B-blodlegemer i en volumenfraktion på 0,05 til 0,1, skal der i hver opslæmning iagttages begyndende agglutination inden for et tidsrum, der ikke er mere end to gange det tilsvarende tidsrum ved udførelse af samme prøve med det rekonstituerede men ufortyndede internationale standardpræparat af anti-A serum til blodtypebestemmelse eller med en referencestandard med tilsvarende aviditet.

###### ii) Anti-B serum til blodtypebestemmelse (humant)

Anti-B serum fremstilles af blod fra udvalgte type A-personer, som eventuelt kan være immuniseret med røde blodlegemer af type B eller med stoffer, der er specifikke for type B. Anti-B serum agglutinerer humane røde blodlegemer, der indeholder B-antigen, dvs. blodlegemer fra blod af type B og AB, men agglutinerer ikke humane røde blodlegemer, der ikke indeholder B-antigen, dvs. blodlegemer fra blod af type 0 og A.

###### Styrke

###### Titring

Et anti-B serum skal titreres mod en opslæmning af type B-blodlegemer parallelt med enten det rekonstituerede, men ufortyndede internationale standardpræparat af anti-B serum til blodtypebestemmelse eller et tilsvarende referencepræparat. Serumets styrke må ikke være mindre end 64 internationale enheder pr. ml.

###### Bestemmelse af aviditet

Når anti-B serum blandes på et objektglas med et lige så stort volumen af en opslæmning indeholdende B-blodlegemer i en volumenfraktion på 0,05 til 0,1, skal der iagttages begyndende agglutination inden for et tidsrum, der ikke er mere end to gange det tilsvarende tidsrum ved udførelse af samme prøve med det rekonstituerede men ufortyndede internationale standardpræparat af anti-B serum til blodtypebestemmelse eller med en referencestandard med tilsvarende aviditet.

###### iii) Anti-A + anti-B (type 0) serum til blodtypebestemmelse (humant)

Anti-A + anti-B (type 0) serum fremstilles af blod fra udvalgte type 0 personer, som eventuelt kan

være immuniseret med røde blodlegemer af type A og type B eller med stoffer, der er specifikke for type A og type B. Anti-A + anti-B (type 0) serum agglutinerer humane røde blodlegemer, der indeholder A- eller B-agglutinogener eller begge, dvs. blodlegemer af type A, herunder undertype A<sub>1</sub> og A<sub>2</sub>, type B og type AB, herunder undertype A<sub>1</sub>B og A<sub>2</sub>B, men agglutinerer ikke humane røde blodlegemer, der hverken indeholder A- eller B-agglutinogener, dvs. blodlegemer af type 0. Det agglutinerer humane røde blodlegemer, der indeholder A<sub>x</sub>- (A<sub>y</sub>- eller A<sub>0</sub>) antigen (som i regelen ikke agglutineres af anti-A serum fra type B-donorere).

#### Styrke

#### Titring

Et anti-A + anti-B (type 0) serum skal titreres særskilt mod opslæmninger af A<sub>1</sub>- og A<sub>2</sub>-blodlegemer parallelt med enten det rekonstituerede, men ufortyndede internationale standardpræparat af anti-A serum til blodtypebestemmelse eller et tilsvarende standardpræparat. Det skal ligeledes titreres mod en opslæmning af type B-blodlegemer parallelt med enten det rekonstituerede, men ufortyndede internationale standardpræparat af anti-B serum til blodtypebestemmelse eller et tilsvarende standardpræparat.

Serumets styrke må i ingen tilfælde være mindre end 64 internationale enheder pr. ml.

Anti-A + anti-B (type 0) serum til blodtypebestemmelse skal i ufortyndet stand desuden give klart synlig agglutination af blodlegemer af type A<sub>x</sub> (A<sub>y</sub> eller A<sub>0</sub>).

#### Bestemmelse af aviditet

Når anti-A + anti-B (type 0) serum blandes på et objektglas med et lige så stort volumen af opslæmninger indeholdende A<sub>1</sub>- og A<sub>2</sub>-blodlegemer i en volumenfraktion på 0,05 til 0,1, skal der iagttages begyndende agglutination inden for et tidsrum, der ikke er mere end to gange det tilsvarende tidsrum ved udførelse af samme prøve med det rekonstituerede men ufortyndede internationale standardpræparat af anti-A serum til blodtypebestemmelse eller med en referencestandard med tilsvarende aviditet. Når anti-A + anti-B (type 0) serum blandes på et objektglas med et lige så stort volumen af en opslæmning indeholdende B-blodlegemer i en volumenfraktion på 0,05 til 0,1, skal der iagttages begyndende agglutination inden for et tidsrum, der ikke er mere end to gange det tilsvarende tidsrum ved udførelse af samme prøve med det rekonstituerede men ufortyndede internationale standardpræparat af anti-B serum til blodtypebestemmelse eller et referencepræparat med tilsvarende aviditet. Når anti-A + anti-B (type 0) serum blandes på et objektglas med et lige så

stort volumen af en opslæmning indeholdende A<sub>x</sub>- (A<sub>y</sub>- eller A<sub>0</sub>) blodlegemer i en volumenfraktion på 0,05 til 0,1, skal der iagttages begyndende agglutination inden for højst fem minutter ved en temperatur på 18 til 25 °C.

#### b) SERA TIL RH-TYPEBESTEMMELSE HIDRØRENDE FRA MENNESKER

Anti-Rh sera til blodtypebestemmelse kan uanset deres specificitet tilhøre én af to former, der adskiller sig ved de betingelser, hvorunder der opnås agglutination af dertil svarende blodlegemer. Visse sera, der sædvanligvis betegnes som »komplette«, agglutinerer blodlegemer, der er opslæmnet i saltvandsopløsning. Med andre, der sædvanligvis betegnes »inkomplette«, finder agglutination kun sted, når der er visse kolloider såsom bovintalbumin til stede, eller ved anvendelse af andre særlige teknikker. Seraene bør anvendes som foreskrevet af fremstillingslaboratoriet.

Nogle »inkomplette« sera kan også agglutinere dertil svarende røde blodlegemer, der er opslæmnet i deres eget serum eller plasma på objektglas.

Nedenstående krav til styrken af sera til Rh-typebestemmelse må muligvis revideres, når der bliver internationale standardpræparater til rådighed.

#### i) anti-D (anti-Rh<sub>0</sub>) serum til blodtypebestemmelse (humant)

Anti-D serum fremstilles af blod fra én eller flere personer, der er immuniseret med Rh-systemets D-antigen. Det reagerer med humane røde blodlegemer, der indeholder D-antigener, men ikke med humane røde blodlegemer, der ikke indeholder D-antigener.

#### Styrke

#### Titring

»Komplette« anti-D sera skal have en titer på mindst 32 mod CcDee-blodlegemer i en opløsning indeholdende 9 g natriumchlorid pr. l.

Et »inkomplet« anti-D serum skal titreres mod CcDee-blodlegemer parallelt med enten det rekonstituerede, men ufortyndede internationale standardpræparat af inkomplet anti-D (anti Rh<sub>0</sub>) serum eller et tilsvarende referencepræparat. Dets styrke skal være mindst 32 internationale enheder. Udover at reagere med alle røde blodlegemer, der indeholder D-antigenet, bør serumet så vidt muligt reagere med blodlegemer, der indeholder D<sup>u</sup>-antigenet.

#### Bestemmelse af aviditet

Med anti-D sera, der skal anvendes til slide-teknikken efter Diamond og Abelson, bør agglu-

ination være synlig inden for 30 sekunder og afsluttet inden for 120 sekunder, når de på et objektglas blandes med et lige så stort volumen af en 40 til 50 % opløsning af CcDee-blodlegemer ved ca. 40 °C.

**ii) Anti-C (anti-Rh') serum til blodtypebestemmelse (humant)**

Anti-D serum fremstilles af blod fra én eller flere personer, der er immuniseret med Rh-systemets C-agglutinogen. Det agglutinerer opløsninger af humane røde blodlegemer, der indeholder C-antigenet, men ikke med humane røde blodlegemer, som ikke indeholder C-antigenet. I denne forbindelse betragtes C-antigenet som omfattende C<sup>w</sup>-antigenet.

De fleste diagnostiske anti-C sera indeholder »komplet« anti-C sammen med »inkomplet« anti-D. Disse sera er derfor kun specifikke for C-antigenet, når de blodlegemer, der skal undersøges, er opløst i en opløsning indeholdende 9 g natriumchlorid pr. l.

*Styrke*

*Titring*

Anti-C sera (»komplet« eller »inkomplet«) bør have en titer på mindst 8 mod Ccddee-blodlegemer.

*Bestemmelse af aviditet*

Med anti-C sera, der skal anvendes til slide-teknikken efter Diamond og Abelson (og som ikke må indeholde nogen form for anti-D), bør agglutination være synlig inden for 30 sekunder og afsluttet inden for 120 sekunder, når de på et objektglas blandes med et lige så stort volumen af en opløsning af Ccddee-blodlegemer i en volumenfraktion på 0,4 til 0,5 ved ca. 40 °C.

**iii) Anti-E (anti-rh'') serum til blodtypebestemmelse (humant)**

Anti-E serum fremstilles af blod fra én eller flere personer, der er immuniseret med Rh-systemets

E-antigen. Det reagerer med humane røde blodlegemer, der indeholder E-antigenet.

*Styrke*

*Titring*

Anti-E sera (»komplette« eller »inkomplette«) bør have en titer på mindst 8 mod cddEe-blodlegemer.

*Bestemmelse af aviditet*

Med anti-E sera, der skal anvendes til slide-teknikken efter Diamond og Abelson (og som ikke må indeholde nogen form for anti-D), bør agglutination være synlig inden for 30 sekunder og afsluttet inden for 120 sekunder, når de på et objektglas blandes med et tilsvarende volumen af en opløsning af cddEe-blodlegemer i en volumenfraktion på 0,4 til 0,5 ved ca. 40 °C.

**iv) Anti-D + C (anti-Rh<sub>0</sub>rh') serum til blodtypebestemmelse (humant)**

**Anti-D + E (anti-Rh<sub>0</sub>rh'') serum til blodtypebestemmelse (humant)**

Sera med anti-D + C specificitet og anti-D + E specificitet kan fremstilles direkte af blod fra immuniserede personer eller ved at blande anti-D serum med anti-C eller anti-E serum. I et givet serum skal begge antistoffer samtidig være aktive under de af producenten angivne reaktionsbetingelser. Hvert serum skal reagere med alle typer røde blodlegemer, som ville reagere med et af de indgående antistoffer, og må ikke reagere med røde blodlegemer, som, når det drejer sig om anti-D + C, hverken indeholder C- eller D-antigenet, eller som, når det drejer sig om anti-D + E, hverken indeholder D- eller E-antigenet. Titeren må ikke være mindre end den for de indgående antistoffer fastsatte, men når der er tale om anti-D + C (som er en hyppig kombination i immuniserede personers serum), er det ønskeligt, at anti-C titeren ikke er under 32, og for anti-D + E's vedkommende er det ønskeligt, at anti-E titeren ikke er under 8. Hvis et serum skal anvendes til slide-teknikken efter Diamond og Abelson, bør agglutinationstiderne for alle reagerende typer røde blodlegemer ikke være mindre end de for de indgående antistoffer fastsatte.

## B. REAGENSER, DER IKKE HIDRØRER FRA MENNESKER

## a) SERA HIDRØRENDE FRA DYR

## i) Anti-A serum til blodtypebestemmelse (animalsk)

Anti-A serum fremstilles af blod fra dyr, som eventuelt kan være immuniseret med røde blodlegemer af type A eller med stoffer, der er specifikke for type A. Anti-A serum agglutinerer humane røde blodlegemer, der indeholder A-antigen, dvs. blodlegemer fra blod af type A og AB, herunder undertype A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>1</sub>B og A<sub>2</sub>B, men agglutinerer ikke humane røde blodlegemer, der ikke indeholder A-antigen, dvs. blodlegemer fra blod af type 0 og B.

*Styrke*

## Titration

Et anti-A serum skal titreres særskilt mod opløsninger af A<sub>1</sub>-, A<sub>2</sub>- og A<sub>2</sub>B-blodlegemer parallelt med enten det rekonstituerede men ufortyndede internationale standardpræparat af anti-A serum til blodtypebestemmelse eller et tilsvarende referencepræparat<sup>(1)</sup>. Serumets styrke må i intet tilfælde være mindre end 64 internationale enheder pr. ml.

## Bestemmelse af aviditet

Når anti-A serum blandes på et objektglas med et lige så stort volumen af en opløsning indeholdende A<sub>1</sub>-, A<sub>2</sub>- og A<sub>2</sub>B-blodlegemer i en volumenfraktion på 0,05 til 0,1, skal der i hver opløsning iagttages begyndende agglutination inden for et tidsrum, der ikke er mere end to gange det tilsvarende tidsrum ved udførelse af samme prøve med det rekonstituerede men ufortyndede internationale standardpræparat af anti-A serum til blodtypebestemmelse eller med en referencestandard med tilsvarende aviditet.

## ii) Anti-B serum til blodtypebestemmelse (animalsk)

Anti-B serum fremstilles af blod fra dyr, som eventuelt kan være immuniseret med røde blodlegemer af typer B eller med stoffer, der er specifikke for type B. Anti-B serum agglutinerer humane røde blodlegemer, der indeholder B-antigen, dvs. blodlegemer fra blod af type B og AB, men agglutinerer ikke humane røde blodlegemer, der ikke indeholder B-antigen, dvs. blodlegemer fra blod af type 0 og A.

*Styrke*

## Titration

Et anti-B serum skal titreres mod en opløsning af type B-blodlegemer parallelt med enten det rekonstituerede men ufortyndede internationale standardpræparat af anti-B serum til blodtypebestemmelse eller et tilsvarende referencepræparat<sup>(1)</sup>. Serumets styrke må ikke være mindre end 64 internationale enheder pr. ml.

## Bestemmelse af aviditet

Når anti-B serum blandes på et objektglas med et lige så stort volumen af en opløsning indeholdende B-blodlegemer i en volumenfraktion på 0,05 til 0,1, skal der iagttages begyndende agglutination inden for et tidsrum, der ikke er mere end to gange det tilsvarende tidsrum ved udførelse af samme prøve med det rekonstituerede men ufortyndede internationale standardpræparat af anti-B serum til blodtypebestemmelse eller med en referencestandard med tilsvarende aviditet.

iii) Anti-humanglobulin-serum (animalsk)<sup>(2)</sup>

Anti-humanglobulin-serum til anvendelse inden for blodtypeserologi skal indeholde agglutinerende antistoffer mod IgG-globulin og agglutinerende antistoffer mod komplementfaktorer. Det fremstilles af blod fra dyr, der er immuniseret ved injektion af serumprotein fra mennesker. Det skal agglutinere alle humane røde blodlegemer, som er sensibiliseret med humant IgG og/eller humane komplementfaktorer. Under de af producenterne foreskrevne betingelser agglutinerer de ikke ikke-sensibiliserede humane røde blodlegemer, uanset hvilken type de måtte tilhøre.

## Specificitet

Specificiteten af et anti-humanglobulin-serum til anvendelse inden for blodtypeserologi skal kontrolleres med humane røde blodlegemer, der er sensibiliseret med en række forskellige antistoffer, dvs. røde blodlegemer, der er sensibiliseret med humane inkomplette anti-D, anti-K og anti-Fy<sup>a</sup> antistoffer, røde blodlegemer, der er sensibiliseret med komplementbindende inkomplette anti-Le<sup>a</sup> antistoffer under tilstedeværelse af frisk menneskeserum, og røde blodlegemer, der er sensibiliseret med såkaldte »incomplete

<sup>(1)</sup> Det internationale standardpræparat hidrører fra mennesker; anvendes der et tilsvarende referencepræparat, kan dette hidrøre fra mennesker eller være af anden oprindelse.

<sup>(2)</sup> Coombs, R. R. A.; Mourant, A. E. og Race, R. R. (1945), *Lancet*, iii, 5.  
Coombs, R. R. A.; Bourant, A. E. og Race, R. R. (1945), *Brit. J. exp. Path.*, 26, 255.

cold antibodies«, med taunerede røde blodlegemer, der er sensibiliseret med humant IgG, samt endelig med ti forskellige prøver af ikke-sensibiliseret humane røde blodlegemer med og uden A- og B-antigener.

#### *Styrke*

#### *Titration*

Et anti-humanglobulin-serum skal i den form, hvori det leveres, eller i den på etiketten anbefalede fortynding fremkalde stærk agglutination af humane røde blodlegemer, som er sensibiliseret med et humant inkomplet anti-D serum, hvis titer bestemt mod D-positive blodlegemer efter albumin replacement-metoden er på 4 (eller derunder). I samme fortynding skal det agglutinere K-positive humane røde blodlegemer, der er sensibiliseret med udvalgte svage anti-K antistoffer, og Fy<sup>a</sup>-positive røde blodlegemer, der er sensibiliseret med udvalgte svage anti-Fy<sup>a</sup> antistoffer.

Det skal desuden i samme eller en anden fortynding, som anført på etiketten, agglutinere humane røde blodlegemer, der er sensibiliseret med svage komplementbindende inkomplette anti-Le<sup>a</sup> antistoffer under tilstedeværelse af frisk serum.

Til klinisk brug er det ønskeligt, at sensibilisering med alle de ovenfor nævnte typer af inkomplette antistoffer kan påvises med en enkelt fortynding af anti-humanglobulin-serumet.

### b) BLODTYPEREAGENSER HIDRØRENDE FRA PLANTER

#### i) Anti-A reagens til blodtypebestemmelse (vegetabilsk)

Anti-A reagens fremstilles ved ekstraktion af en passende plantes frø eller andre plantedele, om nødvendigt efterfulgt af rensning. Anti-A reagens agglutinerer humane røde blodlegemer, der indeholder A-antigen, dvs. blodlegemer fra blod af type A og AB, herunder undertype A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>1</sub>B og A<sub>2</sub>B, men agglutinerer ikke humane røde blodlegemer, der ikke indeholder A-antigen, dvs. blodlegemer fra blod af typer 0 og B.

#### *Styrke*

#### *Titration*

Et anti-A reagens skal titreres særskilt mod opslæmninger af A<sub>1</sub>-, A<sub>2</sub>- og A<sub>2</sub>B-blodlegemer parallelt med enten det rekonstituerede men ufortyndede internationale standardpræparat af

anti-A serum til blodtypebestemmelse eller et tilsvarende referencepræparat <sup>(1)</sup>.

Reagensets styrke må i intet tilfælde være mindre end 64 internationale enheder pr. ml.

#### *Bestemmelse af aviditet*

Når anti-A reagens blandes på et objektglas med et lige så stort volumen af en opslæmning indeholdende A<sub>1</sub>-, A<sub>2</sub>- og A<sub>2</sub>B-blodlegemer i en volumenfraktion på 0,05 til 0,1, skal der i hver opslæmning iagttages begyndende agglutination inden for et tidsrum, der ikke er mere end to gange det tilsvarende tidsrum ved udførelse af samme prøve med det rekonstituerede men ufortyndede internationale standardpræparat af anti-A serum til blodtypebestemmelse eller med en referencestandard med tilsvarende aviditet.

#### ii) Anti-B reagens til blodtypebestemmelse (vegetabilsk)

Anti-B reagens fremstilles ved ekstraktion af en passende plantes egnede plantedel, om nødvendigt efterfulgt af rensning. Anti-B reagens agglutinerer humane røde blodlegemer, der indeholder B-antigen, dvs. blodlegemer fra blod af type B og AB, men agglutinerer ikke humane røde blodlegemer, der ikke indeholder B-antigen, dvs. blodlegemer fra blod af type 0 og A.

#### *Styrke*

#### *Titration*

Et anti-B reagens skal titreres med en opslæmning af type B-blodlegemer parallelt med enten det rekonstituerede men ufortyndede internationale standardpræparat af anti-B serum til blodtypebestemmelse eller et tilsvarende referencepræparat <sup>(1)</sup>.

Reagensets styrke må ikke være mindre end 64 internationale enheder pr. ml.

#### *Bestemmelse af aviditet*

Når anti-B reagens blandes på et objektglas med et lige så stort volumen af en opslæmning indeholdende B-blodlegemer i en volumenfraktion på 0,05 til 0,1, skal der iagttages begyndende agglutination inden for et tidsrum, der ikke er mere end to gange et tilsvarende tidsrum ved udførelse af samme prøve med det rekonstituerede men ufortyndede internationale standardpræparat af anti-B serum til blodtypebestemmelse eller med en referencestandard med tilsvarende aviditet.

<sup>(1)</sup> Det internationale standardpræparat hidrører fra mennesker; anvendes der et tilsvarende referencepræparat, kan dette hidrøre fra mennesker eller være af anden oprindelse.

**BILAG TIL PROTOKOLLEN****EKSEMPEL PÅ ETIKET****EUROPARÅDET****EUROPÆISK OVERENSKOMST OM UDVEKSLING AF REAGENSER  
TIL BLODTYPEBESTEMMELSE ...****a) Flydende serum**

1. Laboratorium, Amsterdam.
2. Anti-A serum (humant).
3. Natriumazid, 0,1%.
4. 5 ml.
5. 7. september 1965.
6. Nr. 1234.

**b) Tørret serum**

1. Laboratorium, Amsterdam.
2. Anti-B serum (animalsk).
3. Mersalat 0,1%.
4. Rekonstitueres med 5 ml destilleret vand.
5. 31. december 1968.
6. Nr. 4321.



**EKSEMPEL PÅ BESKRIVELSE****EUROPARÅDET****EUROPÆISK OVERENSKOMST OM UDVEKSLING AF REAGENSER  
TIL BLODTYPEBESTEMMELSE**

1. Det centrale Blodtransfusionslaboratorium, 1 Main Street, Metropolis, Westland.
2. Anti-E («anti-rh») serum (humant).
3. 10 ml.
4. Dato for seneste styrkekontrol: 30. maj 1961.
5. Udløbsdato: 30. maj 1962.
6. Nr. 5432.
7. De røde blodlegemer, der skal undersøges, vaskes en eller flere gange med en NaCl-opløsning med 9 g/l. En erythrocytopslæmning med en volumenfraktion på ca. 0,03 fremstilles ved at blande en volumendel eller dråbe pakkede røde blodlegemer med 30 volumendele eller dråber fysiologisk saltopløsning. Med lidt øvelse kan opslæmningens styrke bedømmes tilfredsstillende med det blotte øje.  
Med en Pasteur-pipette overføres en lille dråbe serum til et dværgreagensglas (6 mm × 30 mm), og der tilsættes en lige så stor dråbe af opslæmningen af røde blodlegemer (med lidt øvelse kan der opnås betydelige besparelser ved at tilsætte serumet og blodlegemeopslæmningen ved hjælp af pipetter, der er inddelt i 10 µl). Glassets indhold blandes og inkuberes ved 37 °C i to timer. Glassets indhold overføres dernæst varsomt til et objektglas og fordeles forsigtigt herpå. Medmindre agglutinationen tydeligt ses med det blotte øje, undersøges det under mikroskop, om og i hvilken grad der har fundet agglutination.
8. Opbevares ved -20 °C eller derunder. Hvis produktet ikke bruges op samme dag, tilsættes 0,1 ml af en opløsning indeholdende 100 g natriumazid pr. liter.
9. Humant anti-E («anti-rh») serum: 5 ml; opløsning indeholdende 300 g bovintalbumin pr. liter: 5 ml.
10. Dette produkt indeholder materiale hidrørende fra mennesker.



**BILAG TIL PROTOKOLLEN**

**EUROPARÅDET**

**EUROPÆISK OVERENSKOMST OM UDVEKSLING  
AF REAGENSER TIL BLODTYPEBESTEMMELSE**

**ERKLÆRING**

*(artikel 4)*

**SKAL MEDFØLGE FORSENDELSEN**

..... 19.....  
(sted) (dato)

**Antal pakker** — Undertegnede erklærer herved, at den i margenen angivne forsendelse

.....

**Mærket** for hvis fremstilling det ansvarlige laboratorium er .....

.....

.....

**Batch nr.** (et referencelaboratorium som nævnt i overenskomstens artikel 6), er i overensstemmelse med protokollen til overenkomsten og kan afleveres umiddelbart til modtageren

.....

..... (navn og adresse) .....

.....

.....  
(stempel) (underskrift) (stilling)

