

Số: /QĐ-BYT

Hà Nội, ngày tháng năm 2025

QUYẾT ĐỊNH

Về việc ban hành tài liệu chuyên môn
“Hướng dẫn quy trình kỹ thuật về tạo máu và lympho - Tập 1.1”

BỘ TRƯỞNG BỘ Y TẾ

Căn cứ Luật Khám bệnh, chữa bệnh năm 2023;

Căn cứ Nghị định số 42/2025/NĐ-CP ngày 27/02/2025 của Chính phủ quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và cơ cấu tổ chức của Bộ Y tế;

Căn cứ Thông tư số 23/2024/TT-BYT ngày 18/10/2024 của Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành danh mục kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh;

Căn cứ Biên bản họp ngày 13/3/2024; 24/4/2024; 12/6/2025 của Hội đồng chuyên môn nghiệm thu quy trình kỹ thuật chương Tạo máu và lympho (hệ nội) và công văn số 1608/HHTM ngày 10/11/2025 của Viện Huyết học – Truyền máu Trung ương gửi dự thảo quy trình kỹ thuật chương Tạo máu và lympho;

Theo đề nghị của Cục trưởng Cục Quản lý Khám, chữa bệnh.

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Ban hành kèm theo Quyết định này Tài liệu chuyên môn “Hướng dẫn quy trình kỹ thuật về tạo máu và lympho - Tập 1.1”, gồm 45 quy trình kỹ thuật.

Điều 2. Tài liệu chuyên môn “Hướng dẫn quy trình kỹ thuật về tạo máu và lympho - Tập 1.1” được áp dụng tại các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

Điều 3. Quyết định này có hiệu lực kể từ ngày ký, ban hành và thay thế một phần các quy trình thuộc Quyết định số 2017/QĐ-BYT ngày 09/06/2014 và Quyết định số 3336/QĐ-BYT ngày 20/7/2017 của Bộ trưởng Bộ Y tế về việc ban hành tài liệu “Hướng dẫn quy trình kỹ thuật Huyết học - Truyền máu - Miễn dịch - Di truyền - Sinh học phân tử” (chi tiết tại phụ lục kèm theo).

Điều 4. Các ông, bà: Chánh Văn phòng Bộ, Cục trưởng Cục Quản lý Khám, chữa bệnh, Cục trưởng, Vụ trưởng các Cục, Vụ thuộc Bộ Y tế; Giám đốc các bệnh viện trực thuộc Bộ Y tế; Giám đốc Sở Y tế các tỉnh, thành phố trực thuộc trung ương; Thủ trưởng Y tế các ngành và các cơ quan, đơn vị liên quan chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này./.

Nơi nhận:

- Như Điều 4;
- Bộ trưởng (để báo cáo);
- Các Thứ trưởng;
- BHXHVN - Bộ Tài chính;
- Cổng thông tin điện tử Bộ Y tế;
- Website Cục QLKCB;
- Tổng hội Y học Việt Nam và các hội y khoa;
- Lưu: VT, KCB.

KT. BỘ TRƯỞNG
THỨ TRƯỞNG**Trần Văn Thuận**

ngocth.v.kcb_Truong Le Van Ngoc_26/11/2025 12:09:01



HƯỚNG DẪN QUY TRÌNH KỸ THUẬT VỀ TẠO MÁU VÀ LYMPHO – TẬP 1.1

*(Ban hành kèm theo Quyết định số /QĐ-BYT ngày tháng năm 2025
của Bộ trưởng Bộ Y tế)*

Chỉ đạo biên soạn, thẩm định	
GS.TS. Trần Văn Thuấn	Thứ trưởng Bộ Y tế
TS. Hà Anh Đức	Cục trưởng Cục Quản lý Khám, chữa bệnh (QLKCB)
Chủ biên	
PGS.TS. Nguyễn Hà Thanh	Viện trưởng Viện Huyết học – Truyền máu Trung ương
TS. Nguyễn Trọng Khoa	Phó Cục trưởng Cục QLKCB
Tham gia biên soạn, thẩm định	
GS.TS. Phạm Quang Vinh	Nguyên Chủ nhiệm Bộ môn Huyết học – Truyền máu Trường Đại học Y Hà Nội
TS. Vương Ánh Dương	Phó Cục trưởng Cục QLKCB
TS. Vũ Đức Bình	Phó Viện trưởng Viện Huyết học – Truyền máu Trung ương
PGS.TS. Nguyễn Tuấn Tùng	Phó Giám đốc Bệnh viện Bạch Mai
TS. Nguyễn Tường Sơn	Vụ trưởng Vụ Kế hoạch – Tài chính
ThS. Trần Thị Trang	Vụ trưởng Vụ Bảo hiểm Y tế
BSCCKII. Nguyễn Văn Chi	Phó Cục trưởng Cục Bà mẹ và Trẻ em
TS. Trần Thanh Tùng	Trưởng khoa Huyết học Bệnh viện Chợ Rẫy
TS. Nguyễn Bá Khanh	Giám đốc Ngân hàng Tế bào gốc Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương
BSCCKII. Võ Thị Thanh Bình	Trưởng khoa Ghép tế bào gốc Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương
TS. Nguyễn Hữu Chiến	Trưởng phòng Kế hoạch tổng hợp Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương
PGS.TS. Nguyễn Thị Minh Phương	Viện trưởng Viện Ung thư Bệnh viện Trung ương Quân đội 108
BSCCKII. Tôn Thất Minh Trí	Trưởng khoa Huyết học lâm sàng Bệnh viện Đa khoa Trung ương Huế
TS. Huỳnh Văn Mẫn	Trưởng khoa Ghép tế bào gốc Bệnh viện Truyền máu Huyết học Thành phố Hồ Chí Minh
TS. Trần Thị Huyền Trang	Phó giám đốc Trung tâm Nghiên cứu ứng dụng Tế bào gốc Bệnh viện Trung ương Quân Đội 108
BSCCKII. Vũ Văn Trường	Phó Giám đốc Trung tâm Huyết học – Truyền máu Bệnh viện Bạch Mai
TS. Hàn Việt Trung	Phó Giám đốc Trung tâm Huyết học – Truyền máu Bệnh viện Bạch Mai
TS. Bùi Quang Biểu	Phó Viện trưởng Viện Ung thư Bệnh viện Trung ương Quân đội 108
BSCCKII. Võ Thế Hiếu	Phó Trưởng khoa Huyết học lâm sàng Bệnh viện Đa khoa Trung ương Huế

ThS. Trương Lê Vân Ngọc	Trưởng phòng Nghiệp vụ Cục QLKCB
ThS. Nguyễn Thị Thanh Hà	Trưởng phòng Chế độ bảo hiểm y tế Ban thực hiện chính sách bảo hiểm y tế, Bảo hiểm Xã hội Việt Nam
BSCCKII. Cao Đức Phương	Chuyên viên chính Phòng Quản lý hành nghề khám, chữa bệnh Cục QLKCB
ThS. Hoàng Thị Thu Hương	Chuyên viên Vụ Pháp chế
ThS. Dương Thị Hải Ngọc	Chuyên viên chính Cục Bà mẹ và Trẻ em
ThS. Phạm Minh Hùng	Chuyên viên Vụ Bảo hiểm Y tế
ThS. Nguyễn Thị Hương	Chuyên viên Vụ Kế hoạch – Tài chính
ThS. Đoàn Văn Chính	Phó trưởng phòng Kế hoạch tổng hợp Viện Huyết học – Truyền máu Trung ương
BSCCKII. Nguyễn Lan Phương	Phó trưởng khoa Bệnh máu tổng hợp Viện Huyết học Truyền máu Trung ương
BSCCKII. Nguyễn Thị Thảo	Phó trưởng khoa bệnh máu lạnh tính Viện Huyết học Truyền máu Trung ương
ThS. Nguyễn Quốc Nhật	Phó trưởng khoa điều trị hoá chất Viện Huyết học Truyền máu Trung ương
BSCCKII. Lưu Thị Thu Hương	Phó trưởng khoa Tế bào - Tổ chức học Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương
ThS. Võ Thị Thúy Quỳnh	Trung tâm Y học Hạt nhân và Ung bướu Bệnh viện Bạch Mai
ThS. Trương Thị Hiền	Khoa Tế bào - Tổ chức học Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương
Thư ký	
BSCCKII. Cao Đức Phương	Chuyên viên chính Phòng Quản lý hành nghề khám, chữa bệnh Cục QLKCB
ThS. Lê Xuân Thịnh	Kỹ thuật y trưởng Ngân hàng Tế bào gốc Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương
ThS. Đỗ Thị Huyền Trang	Cục QLKCB

MỤC LỤC

LỜI NÓI ĐẦU	8
NGUYÊN TẮC XÂY DỰNG, BAN HÀNH VÀ ÁP DỤNG HƯỚNG DẪN QUY TRÌNH KỸ THUẬT TRONG KHÁM BỆNH, CHỮA BỆNH.....	10
PHỤ LỤC.....	12
DANH MỤC KỸ THUẬT CHƯƠNG TẠO MÁU VÀ LYMPHO – TẬP 1.1	12
PHỤ LỤC QUY TRÌNH KỸ THUẬT BAN HÀNH THEO QUYẾT ĐỊNH SỐ 2017/QĐ-BYT NGÀY 09/6/2014 CỦA BỘ TRƯỞNG BỘ Y TẾ ĐƯỢC THAY THẾ BẰNG CÁC QUY TRÌNH TẠI TÀI LIỆU NÀY	17
DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT	19
1. NGHIỆM PHÁP DÂY THẮT	20
2. CHỌC HÚT TỦY XƯƠNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP THỦ CÔNG	23
3. CHỌC HÚT TỦY XƯƠNG BẰNG MÁY	27
4. SINH THIẾT TỦY XƯƠNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP THỦ CÔNG.....	31
5. SINH THIẾT TỦY XƯƠNG BẰNG MÁY	35
6. TRUYỀN MÁU VÀ CHẾ PHẨM MÁU	39
7. RÚT MÁU ĐỂ ĐIỀU TRỊ	44
8. GẠM TIỂU CẦU ĐỂ ĐIỀU TRỊ	47
9. GẠM BẠCH CẦU ĐỂ ĐIỀU TRỊ	51
10. TRAO ĐỔI HUYẾT TƯƠNG ĐIỀU TRỊ.....	55
11. ĐÁNH GIÁ TẠO CỤM TẾ BÀO ĐỂ CHẨN ĐOÁN BỆNH LÝ CƠ QUAN TẠO MÁU	59
12. ĐÁNH GIÁ TẠO CỤM TẾ BÀO GỐC TẠO MÁU BẰNG NUÔI CẤY	65
13. XÁC ĐỊNH TỶ LỆ TẾ BÀO SỐNG BẰNG MÁY TỰ ĐỘNG.....	69
14. XÁC ĐỊNH TỶ LỆ TẾ BÀO SỐNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP THỦ CÔNG .	76
15. HUY ĐỘNG TẾ BÀO GỐC TỪ MÁU NGOẠI VI CỦA NGƯỜI HIẾN PHÙ HỢP HLA HOÀN TOÀN/ KHÔNG HOÀN TOÀN	80
16. HUY ĐỘNG TẾ BÀO GỐC TỰ THÂN TỪ MÁU NGOẠI VI.....	84
17. GẠM TÁCH TẾ BÀO GỐC MÁU NGOẠI VI TRÊN	88
HỆ THỐNG TỰ ĐỘNG	88
18. GẠM TÁCH TẾ BÀO ĐƠN NHÂN MÁU NGOẠI VI TRÊN	94
HỆ THỐNG TỰ ĐỘNG	94

19. GẠY TÁCH BẠCH CẦU LYMPHO TỪ NGƯỜI HIẾN TRÊN	100
HỆ THỐNG TỰ ĐỘNG ĐỂ ĐIỀU TRỊ	100
20. THU THẬP DỊCH TUỖ XƯƠNG ĐỂ PHÂN LẬP TẾ BÀO GỐC	106
21. THU THẬP MÔ MỠ ĐỂ PHÂN LẬP TẾ BÀO GỐC	111
22. THU THẬP MÔ DÂY RÓN ĐỂ PHÂN LẬP TẾ BÀO GỐC	114
23. THU THẬP MÁU DÂY RÓN ĐỂ PHÂN LẬP TẾ BÀO GỐC	116
24. ĐIỀU CHẾ TẾ BÀO GỐC TẠO MÁU BẰNG PHƯƠNG PHÁP	119
THỦ CÔNG (Từ máu dây rốn)	119
25. PHÂN LẬP TẾ BÀO GỐC TẠO MÁU BẰNG PHƯƠNG PHÁP	123
THỦ CÔNG (áp dụng cho nhiều loại tế bào gốc khác nhau)	123
26. ĐIỀU CHẾ TẾ BÀO GỐC TẠO MÁU BẰNG PHƯƠNG PHÁP	128
BÁN TỰ ĐỘNG	128
27. ĐIỀU CHẾ TẾ BÀO GỐC TẠO MÁU TRÊN HỆ THỐNG TỰ ĐỘNG	132
28. ĐIỀU CHẾ ĐƠN VỊ TẾ BÀO TRỊ LIỆU THEO PHƯƠNG PHÁP	136
CHỌN DÒNG TẾ BÀO CÓ DẤU ẤN ĐẶC HIỆU	136
BẰNG CÔNG NGHỆ HẠT TỬ	136
29. ĐIỀU CHẾ ĐƠN VỊ TẾ BÀO TRỊ LIỆU THEO PHƯƠNG PHÁP	141
LOẠI BỎ TẾ BÀO CÓ DẤU ẤN ĐẶC HIỆU BẰNG CÔNG NGHỆ HẠT TỬ	141
30. LÀM GIÀU BẠCH CẦU ĐƠN NHÂN TRÊN HỆ THỐNG TỰ ĐỘNG	148
31. GIẢM THỂ TÍCH KHỐI TẾ BÀO GỐC MÁU NGOẠI VI	152
32. BẢO QUẢN TẾ BÀO GỐC ĐÔNG LẠNH Ở NHIỆT ĐỘ -80°C	155
34. BẢO QUẢN KHỐI TẾ BÀO GỐC ĐÔNG LẠNH	157
BẰNG BÌNH CHỨA NITƠ LỎNG	157
34. ĐÔNG LẠNH KHỐI TẾ BÀO GỐC TRÊN HỆ THỐNG HẠ NHIỆT ĐỘ THEO CHƯƠNG TRÌNH	159
35. ĐÔNG LẠNH KHỐI SẢN PHẨM TẾ BÀO TRỊ LIỆU	163
BẰNG HỆ THỐNG HẠ NHIỆT ĐỘ THEO CHƯƠNG TRÌNH	163
36. HẠ LẠNH CÓ KIỂM SOÁT TỐC ĐỘ VÀ LƯU TRỮ	166
KHỐI TẾ BÀO GỐC BẰNG HỆ THỐNG TỰ ĐỘNG	166
37. RÃ ĐÔNG KHỐI TẾ BÀO GỐC ĐÔNG LẠNH	169
BẰNG BÌNH CÁCH THỦY	169
38. RỬA KHỐI TẾ BÀO GỐC SAU BẢO QUẢN	171
BẰNG PHƯƠNG PHÁP THỦ CÔNG	171

39. RỬA KHỐI TẾ BÀO GỐC SAU BẢO QUẢN TRÊN HỆ THỐNG TỰ ĐỘNG	174
40. GHÉP TẾ BÀO GỐC TẠO MÁU TỰ THÂN	177
41. GHÉP TẾ BÀO GỐC TẠO MÁU ĐỒNG LOÀI.....	182
HÒA HỢP HOÀN TOÀN	182
42. GHÉP TẾ BÀO GỐC TẠO MÁU ĐỒNG LOÀI NỬA HÒA HỢP	187
43. GHÉP TẾ BÀO GỐC TẠO MÁU ĐỒNG LOÀI TỪ MÁU DÂY RÓN.....	192
44. GHÉP TẾ BÀO GỐC TẠO MÁU ĐỒNG LOÀI NỬA HÒA HỢP KẾT HỢP MÁU DÂY RÓN	197
45. TIÊM TẾ BÀO GỐC MÁU DÂY RÓN QUA ĐƯỜNG TĨNH MẠCH	202

LỜI NÓI ĐẦU

“Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật Huyết học - Truyền máu - Miễn dịch - Di truyền - Sinh học phân tử” đã được Bộ Y tế đã xây dựng và ban hành vào các năm 2012, 2014, 2017. Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật này làm căn cứ để các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh, người hành nghề khám bệnh, chữa bệnh và nhân viên y tế triển khai áp dụng và thực hiện các kỹ thuật khám bệnh, chữa bệnh về Huyết học.

Trong những năm gần đây, với sự phát triển về khoa học kỹ thuật trên thế giới và năng lực người thực hiện kỹ thuật, nhằm cập nhật, bổ sung những tiến bộ mới và tiếp tục chuẩn hóa quy trình thực hiện kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh, Bộ Y tế đã giao một số bệnh viện làm đầu mối xây dựng Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật tạo máu và lympho gồm Viện Huyết học và Truyền máu Trung ương, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108, Bệnh viện Bạch Mai,... trong đó Viện Huyết học truyền máu trung ương được giao làm đầu mối tổng hợp chung. Các Bệnh viện, Viện được giao đã huy động và phân công các giáo sư, phó giáo sư, tiến sĩ, bác sĩ chuyên khoa Huyết học biên soạn Hướng dẫn quy trình kỹ thuật; tổ chức họp hội đồng khoa học trong bệnh viện để nghiệm thu; thực hiện biên tập, hoàn thiện theo ý kiến của Hội đồng chuyên môn nghiệm thu do Bộ Y tế thành lập và chịu trách nhiệm về chuyên môn kỹ thuật quy định trong Hướng dẫn quy trình kỹ thuật. Hướng dẫn quy trình kỹ thuật được các thành viên biên soạn rà soát theo hướng dẫn hiện có, tham khảo các tài liệu trong nước, nước ngoài để cập nhật.

Bộ Y tế đã thành lập Hội đồng chuyên môn nghiệm thu Hướng dẫn quy trình kỹ thuật về Tạo máu và lympho với sự tham gia của một số Vụ, Cục chức năng của Bộ Y tế, các chuyên gia về huyết học trong cả nước. Các thành viên Hội đồng đã làm việc với tinh thần trách nhiệm, đóng góp về thời gian, trí tuệ, kinh nghiệm để góp ý, nghiệm thu Hướng dẫn quy trình kỹ thuật.

Để hoàn thành Tài liệu chuyên môn “Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật tạo máu và lympho – Tập 1.1” với sự tham gia của một số Vụ, Cục chức năng của Bộ Y tế, các thành viên chuyên môn là các phó giáo sư, tiến sĩ, Bác sĩ chuyên khoa hàng đầu về Huyết học. Các thành viên chuyên môn đã làm việc với tinh thần trách nhiệm, đóng góp về thời gian, trí tuệ, kinh nghiệm để góp ý, nghiệm thu Hướng dẫn quy trình kỹ thuật. “Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật về tạo máu và lympho - Tập 1.1” được xây dựng cho các kỹ thuật có trong Phụ lục số 02 đồng thời có tên (trùng hoặc tên khác nhưng bản chất kỹ thuật và quy trình kỹ thuật thực hiện giống nhau) trong Phụ lục số 01 (của Thông tư số 23/2024/TT-BYT ngày 18 tháng 10 năm 2024 của Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành danh mục kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh) với tổng số 45 quy trình kỹ thuật, thay thế một số quy trình kỹ thuật về tạo máu và lympho ban hành tại các Quyết định số 2017/QĐ-BYT ngày 09/06/2014 và Quyết định số 3336/QĐ-BYT ngày 20/7/2017

của Bộ trưởng Bộ Y tế về việc ban hành tài liệu “Hướng dẫn quy trình kỹ thuật Huyết học - Truyền máu - Miễn dịch - Di truyền - Sinh học phân tử” của Bộ trưởng Bộ Y tế.

Bộ Y tế xin trân trọng cảm ơn sự đóng góp tích cực và hiệu quả của các chuyên gia về Huyết học đặc biệt là tập thể lãnh đạo và nhóm thư ký biên soạn và nghiệm thu của Viện Huyết học và Truyền máu Trung ương.

Trong quá trình biên tập khó tránh được những sai sót, chúng tôi rất mong nhận được sự đóng góp ý kiến từ quý độc giả đồng nghiệp để Tài liệu chuyên môn ngày một hoàn thiện hơn. Mọi ý kiến góp ý xin gửi về Cục Quản lý Khám, chữa bệnh - Bộ Y tế, 138A phố Giảng Võ, phường Giảng Võ, Hà Nội.

Xin trân trọng cảm ơn!

GS.TS. Trần Văn Thuấn
THỨ TRƯỞNG BỘ Y TẾ

NGUYÊN TẮC XÂY DỰNG, BAN HÀNH VÀ ÁP DỤNG HƯỚNG DẪN QUY TRÌNH KỸ THUẬT TRONG KHÁM BỆNH, CHỮA BỆNH

1. Nguyên tắc xây dựng và ban hành Hướng dẫn quy trình kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh:

- a) Hướng dẫn quy trình kỹ thuật được xây dựng và ban hành theo từng chương, chuyên ngành bảo đảm đầy đủ các nội dung cơ bản về chỉ định, chống chỉ định, thận trọng, chuẩn bị đến các bước thực hiện kỹ thuật theo trình tự thực hiện từ khi bắt đầu đến khi kết thúc thực hiện kỹ thuật;
- b) Thời gian thực hiện kỹ thuật, nhân lực, thuốc, thiết bị y tế... (danh mục và số lượng) được quy định trong Hướng dẫn quy trình kỹ thuật căn cứ trên yêu cầu chuyên môn, tính phổ biến, thường quy thực hiện tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh. Trong thực tế triển khai, thời gian thực hiện kỹ thuật, nhân lực, thuốc, thiết bị y tế... (danh mục và số lượng) có thể thay đổi dựa trên cá thể người bệnh, tình trạng bệnh, diễn biến lâm sàng... và điều kiện thực tế hạ tầng, thiết bị, nhân lực của mỗi cơ sở khám bệnh, chữa bệnh;
- c) Ngoài địa điểm thực hiện kỹ thuật như phòng phẫu thuật (phòng mổ), phòng thực hiện kỹ thuật (phòng thủ thuật), phòng bệnh... được quy định trong mỗi Hướng dẫn quy trình kỹ thuật, kỹ thuật có thể được thực hiện ở các địa điểm khác theo nguyên tắc:
 - Kỹ thuật được quy định thực hiện ở phòng bệnh thì kỹ thuật đó được phép thực hiện tại phòng thủ thuật, phòng phẫu thuật; ngược lại kỹ thuật quy định thực hiện tại phòng phẫu thuật không được phép thực hiện tại phòng thủ thuật, phòng bệnh trừ trường hợp cấp cứu theo quy định pháp luật về khám bệnh, chữa bệnh;
 - Kỹ thuật được quy định thực hiện ở phòng thủ thuật thì kỹ thuật đó được phép thực hiện tại phòng phẫu thuật; không được phép thực hiện tại phòng bệnh trừ trường hợp cấp cứu theo quy định pháp luật về khám bệnh, chữa bệnh.

2. Nguyên tắc áp dụng Hướng dẫn quy trình kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh:

- a) Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh được phép áp dụng toàn bộ Hướng dẫn quy trình kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh do Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành và phải có văn bản do người đứng đầu cơ sở khám bệnh, chữa bệnh phê duyệt việc triển khai áp dụng toàn bộ Hướng dẫn quy trình kỹ thuật do Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành. Trường hợp cơ sở khám bệnh, chữa bệnh xây dựng và ban hành Hướng dẫn quy trình kỹ thuật áp dụng tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thì việc xây dựng, ban hành Hướng dẫn quy trình kỹ thuật phải tuân thủ theo nguyên tắc quy định tại khoản 1 Điều này, căn cứ trên Hướng dẫn quy trình kỹ thuật tương ứng do Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành và là căn cứ để cơ sở khám bệnh, chữa bệnh triển khai, áp dụng. Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh xây dựng và ban hành Hướng dẫn quy trình kỹ thuật áp dụng tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh chịu hoàn toàn trách nhiệm về việc xây dựng, ban hành và áp dụng.
- b) Tài liệu chuyên môn Hướng dẫn quy trình kỹ thuật ban hành kèm theo Quyết định này được áp dụng cho các kỹ thuật quy định tại Phụ lục số 02 Thông tư số 23/2024/TT-BYT ban hành Danh mục kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh có cùng tên hoặc có tên khác so với tên kỹ thuật tại Phụ lục số 01 Thông tư số 23/2024/TT-

BYT nhưng bản chất và quy trình kỹ thuật thực hiện giống nhau.

- c) Quy trình kỹ thuật của kỹ thuật có tên trong cột số 3 được áp dụng đối với các kỹ thuật có tên trong cột số 5 của Phụ lục về Danh mục kỹ thuật được ban hành kèm theo Quyết định này.
- d) Người thực hiện các kỹ thuật khám bệnh, chữa bệnh là người hành nghề có phạm vi hành nghề phù hợp với kỹ thuật thực hiện theo quy định của Luật Khám bệnh, chữa bệnh mà không bị giới hạn bởi các chức danh nghề nghiệp được liệt kê trong từng quy trình kỹ thuật. Đồng thời các chức danh nghề nghiệp được quy định trong từng quy trình kỹ thuật cũng chỉ được thực hiện khi có phạm vi hành nghề theo quy định của Luật Khám bệnh, chữa bệnh.
- đ) Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh chỉ được thực hiện kỹ thuật khám bệnh, chữa bệnh sau khi được cấp có thẩm quyền phê duyệt, cho phép và sử dụng thuốc, thiết bị y tế được cấp phép theo quy định hiện hành.
- e) Trong quá trình triển khai áp dụng Hướng dẫn quy trình kỹ thuật, nếu có các bất cập hoặc nhu cầu cần sửa đổi, bổ sung, cập nhật..., các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh chủ động cập nhật và ban hành Hướng dẫn quy trình kỹ thuật áp dụng tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh, đồng thời báo cáo, đề xuất Bộ Y tế (Cục Quản lý Khám, chữa bệnh) để xem xét ban hành áp dụng trong cả nước.

PHỤ LỤC
DANH MỤC KỸ THUẬT CHƯƠNG TẠO MÁU VÀ LYMPHO – TẬP 1.1

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2024/TT-BYT (cột 3)	Mã liên kết (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2024/TT-BYT (cột 5)
1928	55	Bảo quản khối tế bào gốc đông lạnh bằng bình chứa Nitơ lỏng	22.533	Bảo quản khối tế bào gốc đông lạnh bằng bình chứa Nitơ lỏng
1929	56	Bảo quản khối tế bào gốc đông lạnh ở nhiệt độ âm 80°C	22.546; 22.547	Lưu trữ đông lạnh máu dây rốn; Lưu trữ đông lạnh tế bào gốc máu ngoại vi, tủy xương
1930	57	Chọc hút tủy xương bằng máy	22.128	Thủ thuật chọc hút tủy làm tủy đồ (sử dụng máy khoan cầm tay)
1931	58	Chọc hút tủy xương bằng phương pháp thủ công	22.126	Thủ thuật chọc hút tủy làm tủy đồ (chưa bao gồm kim chọc tủy một lần)
1933	60	Đánh giá tạo cụm tế bào để chẩn đoán bệnh lý cơ quan tạo máu	22.531	Nuôi cấy cụm tế bào gốc (colony forming culture)
1934	61	Đánh giá tạo cụm tế bào gốc tạo máu bằng nuôi cấy	22.531	Nuôi cấy cụm tế bào gốc (colony forming culture)
1935	62	Đông lạnh khối tế bào gốc bằng hệ thống hạ nhiệt độ theo chương trình	22.532	Đông lạnh khối tế bào gốc bằng hệ thống hạ nhiệt độ
1936	63	Đông lạnh khối sản phẩm tế bào trị liệu trên hệ thống hạ nhiệt độ theo chương trình	22.545	Đông lạnh sản phẩm tế bào trị liệu trong túi đông lạnh
1937	64	Gạn tách bạch cầu để điều trị	22.503	Gạn bạch cầu điều trị
1938	65	Gạn tách tiểu cầu để điều trị	22.504	Gạn tiểu cầu điều trị
1939	66	Trao đổi huyết tương điều trị	22.506	Trao đổi huyết tương điều trị
1940	67	Gạn tách bạch cầu lympho từ người hiến trên hệ thống tự động để điều trị	22.663 Bổ sung mã	Điều chế khối bạch cầu gạn tách bằng máy tách tế bào tự động từ một người hiến máu

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2024/TT-BYT (cột 3)	Mã liên kết (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2024/TT-BYT (cột 5)
1941	68	Gạn tách tế bào đơn nhân máu ngoại vi trên hệ thống tự động	22.537	Thu gom tế bào đơn nhân máu ngoại vi bằng máy tự động
1942	69	Gạn tách tế bào gốc máu ngoại vi trên hệ thống tự động	22.520	Gạn tách tế bào gốc từ máu ngoại vi bằng máy tự động
1943	70	Nghiệm pháp dây thắt	21.13; 22.22	Nghiệm pháp dây thắt
1944	71	Điều chế tế bào gốc tạo máu trên hệ thống tự động	22.683	Xử lý tế bào gốc bằng máy tự động
1945	72	Rút máu để điều trị	22.499	Rút máu để điều trị
1946	73	Sinh thiết tủy xương bằng máy	22.132	Thủ thuật sinh thiết tủy xương (sử dụng máy khoan cầm tay)
1947	74	Sinh thiết tủy xương bằng phương pháp thủ công	22.130; 22.131	Thủ thuật sinh thiết tủy xương (chưa bao gồm kim sinh thiết một lần); Thủ thuật sinh thiết tủy xương (bao gồm kim sinh thiết nhiều lần)
1948	75	Thu thập dịch tủy xương để phân lập tế bào gốc	22.521; 22.530; 22.536	Thu thập dịch tủy xương để phân lập tế bào gốc; Thu thập và phân lập tế bào gốc từ dịch tủy xương bằng máy tự động; Thu hoạch dịch tủy xương
1949	76	Thu thập máu dây rốn để phân lập tế bào gốc	22.519	Thu thập máu dây rốn để phân lập tế bào gốc
1950	77	Thu thập mô dây rốn/ mô bánh nhau để phân lập tế bào gốc	BS_13.270 Bổ sung mã	Thu thập mô dây rốn
1951	78	Thu thập mô mỡ để phân lập tế bào gốc	22.563	Phân lập và biệt hóa các tế bào gốc trung mô hay mô đệm từ mô mỡ
1952	79	Tiêm tế bào gốc máu dây rốn qua đường tĩnh mạch	22.682	Truyền khối tế bào gốc tạo máu
1953	80	Truyền máu, chế phẩm máu	22.501	Truyền máu tại giường bệnh (người bệnh điều trị nội - ngoại trú)

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2024/TT-BYT (cột 3)	Mã liên kết (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2024/TT-BYT (cột 5)
1954	81	Xác định tỷ lệ tế bào sống bằng máy tự động	22.690	Đánh giá tỷ lệ sống của tế bào bằng kỹ thuật nhuộm tế bào dòng chảy
1955	82	Xác định tỷ lệ tế bào sống bằng phương pháp thủ công	22.689	Đánh giá tỷ lệ sống của tế bào bằng kỹ thuật nhuộm xanh trypan
1966	93	Ghép tế bào gốc tạo máu đồng loài nửa hòa hợp kết hợp máu dây rốn	22.514 Bổ sung mã	Ghép tế bào gốc tạo máu đồng loài
1967	94	Ghép tế bào gốc tạo máu đồng loài nửa hoà hợp	22.514 Bổ sung mã	Ghép tế bào gốc tạo máu đồng loài
1968	95	Ghép tế bào gốc tạo máu đồng loài hoà hợp hoàn toàn	22.514 Bổ sung mã	Ghép tế bào gốc tạo máu đồng loài
1969	96	Ghép tế bào gốc tạo máu đồng loài từ máu dây rốn	22.514 Bổ sung mã	Ghép tế bào gốc tạo máu đồng loài
1970	97	Ghép tế bào gốc tạo máu tự thân	22.513	Ghép tế bào gốc tạo máu tự thân
1971	98	Phân lập tế bào gốc tạo máu bằng phương pháp thủ công	22.539; 22.523; 22.524; 22.525; 22.526; 22.522	Phân lập tế bào gốc bằng phương pháp ly tâm có sử dụng HES; Phân lập tế bào gốc bằng ống Falcon 50 ml, không dùng hóa chất; Phân lập tế bào gốc bằng ống chuyên dụng; Phân lập tế bào gốc bằng phương pháp ly tâm có sử dụng Ficoll; Phân lập tế bào gốc bằng ly tâm túi dềo
1973	100	Giảm thể tích khối tế bào gốc máu ngoại vi	22.540	Giảm thể tích tế bào gốc máu ngoại vi để bảo quản lạnh
1974	101	Hạ nhiệt độ có kiểm soát tốc độ và lưu trữ khối tế bào gốc bằng hệ thống tự động	22.548	Hạ lạnh kiểm soát tốc độ, lưu trữ và lấy ra mẫu máu dây rốn đã giảm thể tích bằng hệ thống tự động
1978	105	Làm giàu bạch cầu đơn nhân trên hệ thống tự động	22.559	Làm giàu bạch cầu đơn nhân sử dụng hệ thống tách tế bào tự động

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2024/TT-BYT (cột 3)	Mã liên kết (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2024/TT-BYT (cột 5)
2003	130	Rửa khối tế bào gốc sau bảo quản bằng phương pháp thủ công	22.554; 22.685	Rửa mẫu tế bào gốc tạo máu đông lạnh để loại bỏ dimethyl sulfoxide (DMSO); Rửa sản phẩm tế bào gốc sau bảo quản bằng phương pháp thủ công
2004	131	Rửa khối tế bào gốc sau bảo quản trên hệ thống tự động	22.556; 22.686	Rửa sản phẩm tế bào trị liệu bằng máy tự động; Rửa sản phẩm tế bào gốc sau bảo quản bằng máy tự động
2007	134	Điều chế đơn vị tế bào trị liệu theo phương pháp chọn dòng tế bào có dấu ấn đặc hiệu bằng công nghệ hạt từ	22.557; 22.558; 22.688	Chọn lọc các tế bào CD34+ sử dụng hệ thống lựa chọn tế bào từ tính; Chọn lọc các tế bào CD34+ sử dụng hệ thống lựa chọn tế bào từ tính; Chọn lọc tế bào gốc sử dụng kỹ thuật từ tính
2008	135	Điều chế đơn vị tế bào trị liệu theo phương pháp loại bỏ dòng tế bào có dấu ấn đặc hiệu bằng công nghệ hạt từ	22.688	Chọn lọc tế bào gốc sử dụng kỹ thuật từ tính
2009	136	Điều chế tế bào gốc tạo máu bằng phương pháp thủ công	22.684; 22.694; 22.695; 22.696;	Xử lý tế bào gốc bằng phương pháp thủ công; Điều chế và lưu trữ tế bào gốc từ máu dây rốn; Điều chế và lưu trữ tế bào gốc từ tủy xương; Điều chế và lưu trữ tế bào gốc từ máu ngoại vi
2010	137	Rã đông khối tế bào gốc đông lạnh bằng bình cách thủy	22.534; 22.551;	Rã đông khối tế bào gốc đông lạnh bằng bình cách thủy; Rã đông mẫu tế bào gốc tạo máu: Phòng thí nghiệm và cạnh giường bệnh

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2024/TT-BYT (cột 3)	Mã liên kết (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2024/TT- BYT (cột 5)
2012	139	Huy động tế bào gốc từ máu ngoại vi của người hiện phù hợp HLA hoàn toàn/ không hoàn toàn	22.518; 22.513	Khám tuyển chọn người hiện tế bào gốc;
2013	140	Huy động tế bào gốc tự thân từ máu ngoại vi	22.518; 22.514	Khám tuyển chọn người hiện tế bào gốc;
2015	142	Điều chế tế bào gốc tạo máu bằng phương pháp bán tự động	22.684; 22.694; 22.695; 22.696;	Xử lý tế bào gốc bằng phương pháp thủ công; Điều chế và lưu trữ tế bào gốc từ máu dây rốn; Điều chế và lưu trữ tế bào gốc từ tủy xương; Điều chế và lưu trữ tế bào gốc từ máu ngoại vi

**PHỤ LỤC QUY TRÌNH KỸ THUẬT BAN HÀNH THEO QUYẾT ĐỊNH
SỐ 2017/QĐ-BYT NGÀY 09/6/2014 CỦA BỘ TRƯỞNG BỘ Y TẾ ĐƯỢC
THAY THẾ BẰNG CÁC QUY TRÌNH TẠI TÀI LIỆU NÀY**

	CHƯƠNG V. CÔNG NGHỆ TẾ BÀO GỐC	Trang
1.	Tuyển chọn người cho và huy động tế bào gốc	320
2.	Thu nhận máu dây rốn	325
3.	Thu nhận tế bào gốc từ máu ngoại vi sau huy động	328
4.	Thu nhận tế bào lympho từ người hiến	332
5.	Thu nhận tế bào gốc từ tủy xương	335
6.	Phân lập tế bào gốc bằng túi lấy máu	337
7.	Phân lập tế bào gốc từ máu dây rốn bằng phương pháp ly tâm có sử dụng HES	339
8.	Phân lập tế bào gốc bằng ống ly tâm 50ml, không sử dụng hóa chất	342
9.	Cô đặc và tinh sạch tế bào gốc bằng ống Res-Q60	345
10.	Phân lập tế bào gốc bằng phương pháp ly tâm phân lớp theo tỷ trọng sử dụng FICOLL	347
11.	Phân lập tế bào gốc bằng hệ thống tự động SEPAX	350
12.	Phân lập tế bào gốc máu dây rốn bằng hệ thống tự động AXP	353
13.	Phân lập tế bào gốc từ dịch hút tủy xương bằng máy COMTEC	356
14.	Phân lập tế bào gốc từ dịch hút tủy xương bằng máy HARVEST-TERUMO	358
15.	Bảo quản đông lạnh tế bào gốc tạo máu bằng bình nitơ lỏng	360
16.	Rã đông khối tế bào gốc đông lạnh	362
17.	Đánh giá tỷ lệ sống của tế bào bằng kỹ thuật nhuộm xanh Tryban	364
18.	Nuôi cấy cụm tế bào gốc tạo máu	366
19.	Vận chuyển tế bào gốc sau bảo quản	369
	CHƯƠNG VI. HUYẾT HỌC LÂM SÀNG	Trang
20.	Trao đổi huyết tương	374
21.	Gạn bạch cầu điều trị	378
22.	Gạn tiểu cầu điều trị	381
23.	Truyền hóa chất đường tĩnh mạch	384
24.	Truyền máu tại giường	387
25.	Rút máu	391
26.	Ghép tế bào gốc tạo máu tự thân	400
27.	Ghép tế bào gốc tạo máu đồng loại	401

	CHƯƠNG V. CÔNG NGHỆ TẾ BÀO GỐC	Trang
28.	Xử lý tế bào gốc bằng máy tự động	154
29.	Xử lý tế bào gốc bằng phương pháp thủ công	157
30.	Đông lạnh khối tế bào gốc bằng hệ thống hạ nhiệt độ	160
31.	Rửa sản phẩm tế bào gốc sau bảo quản bằng máy tự động	162
32.	Rửa sản phẩm tế bào gốc sau bảo quản bằng phương pháp thủ công	164
33.	Đánh giá tỷ lệ sống của tế bào bằng kỹ thuật nhuộm tế bào dòng chảy	166

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

Chữ viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
KHC	Red Blood Cell Concentrate	Khối hồng cầu
HTTĐL	Fresh Frozen Plasma (FFP)	Huyết tương tươi đông lạnh
DIC	Disseminated Intravascular Coagulation	Rối loạn đông máu
TTP	Thrombotic Thrombocytopenic Purpura	Ban xuất huyết giảm tiểu cầu tắc mạch
TPE	Therapeutic plasma exchange – TPE	Trao đổi huyết tương
MNC	Mononuclear Cell	Tế bào đơn nhân
MDR	Umbilical Cord Blood	Máu dây rốn
MNV	Peripheral Blood	Máu ngoại vi
DTX	Bone Marrow	Dịch tuỷ xương
TBG	Stem Cell	Tế bào gốc
MAC	Myeloablative Conditioning	Phác đồ điều kiện hóa diệt tủy hoàn toàn
RIC	Reduced-Intensity Conditioning	Phác đồ điều kiện hóa giảm cường độ liều
TNC	Total Nucleated Cell	Liều tế bào có nhân

1. NGHIỆM PHÁP DÂY THẮT

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đây là một trong những xét nghiệm để đánh giá giai đoạn cầm máu ban đầu.

1.2. Định nghĩa/nguyên lý

Đánh giá sức bền của mao mạch qua các nốt xuất huyết dưới da sau khi tăng áp lực của máu bằng cách tạo ra một sự ứ đọng tĩnh mạch.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Bác sĩ/ Kỹ thuật y/ Điều dưỡng: 01 người.

2.2. Vật tư

- Ghế ngồi dành cho người bệnh có chiều cao phù hợp, có tựa và tay vịn.
- Nơi thực hiện kỹ thuật cần có hộp chống sốc.
- Giường nằm để phòng trong trường hợp người bệnh bị sốc, choáng, ngất...
- Găng tay.
- Khẩu trang.
- Dung dịch khử khuẩn thiết bị máy đo huyết áp, tai nghe, băng quấn, đồng hồ bấm giờ và **bề** mặt bàn ghế nơi người bệnh ngồi.

2.3. Thiết bị, dụng cụ

- Huyết áp kế với băng quấn phù hợp lứa tuổi và kích cỡ cánh tay.
- Tai nghe (ống nghe).
- Đồng hồ bấm giờ.

2.4. Chuẩn bị người bệnh

- Người bệnh không được dùng chất kích thích (cà phê, hút thuốc, rượu bia...) trong 2 giờ trước thủ thuật.
- Người bệnh có thể ngồi hoặc nằm.
- Kiểm tra thông tin người bệnh với phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Để người bệnh ngồi nghỉ 5-10 phút trước khi tiến hành kỹ thuật.
- Giải thích cho người bệnh về việc thực hiện kỹ thuật xét nghiệm và phối hợp để thực hiện theo đúng yêu cầu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Nghiệm pháp dây thắt.
- Đủ thông tin theo quy định: số barcode, họ tên người bệnh, tuổi, giới tính, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 30-40 phút.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng xét nghiệm hoặc tại phòng bệnh.

3. AN TOÀN

- Nguyên tắc an toàn:

- + Luôn mặc áo công tác trong quá trình thực hiện công việc.
- + Rửa tay theo quy trình rửa tay thường quy.
- Ghế ngồi dành cho người bệnh có chiều cao phù hợp, có tựa và tay vịn.
- Người bệnh không tự đi lại được cần có người nhà đi kèm hỗ trợ hướng dẫn thực hiện xét nghiệm.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

- Bước 1: kiểm tra tình trạng xuất huyết trên tay người bệnh (nếu có, cần ghi rõ để phân biệt với nốt xuất huyết mới xuất hiện sau xét nghiệm).
- Bước 2: thực hiện quy trình đo huyết áp cho người bệnh.
- Bước 3: duy trì bằng quần huyết áp với mức áp lực ở trị số trung bình giữa huyết áp tối đa và huyết áp tối thiểu trong 5 phút.
- Bước 4: tháo nhanh bằng quần máy đo huyết áp để máu lưu thông bình thường và đọc kết quả sau 2 phút.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả bằng cách đếm các nốt xuất huyết mới ở vùng phía dưới dải quần đo huyết áp.
- Nhận định kết quả:
 - + Âm tính: không có nốt xuất huyết mới hoặc có ít hơn 10 nốt xuất huyết mới trên 1 inch² (quy đổi 1 inch² = 6,4516 cm²).
 - + Dương tính: có nhiều hơn 10 nốt xuất huyết mới trên 1 inch².
- Biện luận kết quả: dấu hiệu đây thất dương tính thể hiện tình trạng sức bền thành mạch kém, thường gặp trong các bệnh về thành mạch: sốt xuất huyết Dengue, thiếu vitamin C, viêm mao mạch, bệnh về số lượng và chất lượng tiểu cầu.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Báo cáo kết quả bằng bản điện tử và/hoặc bản cứng, điền đầy đủ thời gian, ký và ghi rõ họ tên người duyệt kết quả.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Người bệnh dùng chất kích thích (cà phê, hút thuốc, rượu bia) trước đó 2 giờ hoặc người bệnh không được nghỉ ngơi (5-10 phút) trước khi thực hiện kỹ thuật xét nghiệm dẫn đến kết quả đo huyết áp bị sai.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không duy trì áp lực ở trị số huyết áp trung bình, tạo áp lực quá cao hoặc quá thấp.
- Không đảm bảo thời gian tăng áp lực.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc kết quả ngay sau khi tháo máy đo huyết áp (không chờ đủ 2 phút).
- Nhận định sai số nốt xuất huyết do nhầm với hồng ban, nốt xuất huyết cũ, do không kiểm tra hoặc kiểm tra không kỹ.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

Máy đo huyết áp cần được kiểm chuẩn định kỳ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2014). Quyết định số 2017/QĐ-BYT ngày 09/06/2014 Ban hành tài liệu “Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành huyết học - truyền máu - miễn dịch - di truyền - sinh học phân tử”.
2. Bộ Y tế (2023). Quyết định số 2760/QĐ-BYT ngày 04/07/2023 Ban hành Hướng dẫn chẩn đoán, điều trị Sốt xuất huyết Dengue. Phụ lục 24. Lưu ý một số quy trình kỹ thuật trong chăm sóc sốt xuất huyết dengue.
3. Bộ Y tế (2010). Quyết định số 3192/QĐ-BYT ngày 31/08/2010 Ban hành hướng dẫn chẩn đoán và điều trị tăng huyết áp.
4. World Health Organization (1997). Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control, 2nd ed.
5. Centers for Disease Control and Prevention (2021). *Tourniquet Test*.

2. CHỌC HÚT TỦY XƯƠNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP THỦ CÔNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa

Chọc hút tủy xương bằng phương pháp thủ công là dùng kim chọc tủy, xuyên qua da, cơ, màng xương và vỏ xương vào khoang tủy sinh máu để lấy dịch tủy mà không dùng trang bị hỗ trợ khoan xương.

1.2. Mục đích kỹ thuật

Thủ thuật thực hiện nhằm lấy dịch tủy xương sinh máu để làm xét nghiệm và thu thập tế bào gốc phục vụ điều trị.

2. CHỈ ĐỊNH

- Lấy dịch tủy xương sinh máu để thực hiện một hay nhiều xét nghiệm mà bệnh phẩm là dịch hút tủy.

- Lấy dịch tủy xương thu thập tế bào gốc phục vụ điều trị.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Không tiến hành chọc tủy xương ức ở những người bệnh đa u tủy xương hay người bệnh có tổn thương tiêu xương khác vì nguy cơ thủng xương ức cao.

- Không tiến hành chọc tủy ở người bệnh đang chảy máu nặng hoặc có các bất thường đông máu nặng.

- Không chọc tủy vào vị trí đang nhiễm khuẩn.

4. THẬN TRỌNG

- Cần nhắc thực hiện thủ thuật ở người bệnh có rối loạn đông máu hoặc dùng các thuốc tăng nguy cơ chảy máu.

- Cần nhắc chọc tủy xương ức ở người bệnh dưới 12 tuổi.

- Phải giải thích các nguy cơ, biến chứng có thể xảy ra trong quá trình thực hiện thủ thuật.

- Khai thác tiền sử dị ứng và chuẩn bị các phương tiện cấp cứu phản vệ khi sử dụng thuốc tê.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sĩ: 01 người.

- Kỹ thuật y/Điều dưỡng: 02 người.

5.2. Thuốc

- Thuốc gây tê.

- Thuốc cấp cứu.

5.3. Vật tư

5.3.1. Sinh phẩm, hóa chất

- Cồn sát khuẩn.

- Dung dịch ngâm dụng cụ khử khuẩn.

- Dung dịch khử khuẩn.

5.3.2. Dụng cụ, vật tư

- Kim chọc tủy xương;
- Bơm tiêm, kim lấy máu;
- Ống nghiệm đựng bệnh phẩm, barcode;
- Băng, gạc cầm máu;
- Kẹp phẫu tích không máu;
- Săng vô trùng, ga trải giường;
- Khay đựng dụng cụ vô khuẩn;
- Hộp đựng săng - bông, trụ cầm kẹp, kéo, lọ bóp còn;
- Xe tiêm, giường thủ thuật;
- Đèn cực tím;
- Bộ dụng cụ cấp cứu được Bộ Y tế cấp phép lưu hành tại Việt Nam;
- Găng khám, găng tay, quần áo vô trùng, khẩu trang, quần áo bảo hộ.

5.4. Thiết bị

Máy tính, máy in.

5.5. Người bệnh

- Giải thích cho người bệnh/người nhà người bệnh các nguy cơ có thể xảy ra. Người bệnh/người nhà đồng ý và ký đồng ý thực hiện thủ thuật.
- Khai thác tiền sử dị ứng và chuẩn bị các phương tiện cấp cứu phản vệ khi sử dụng thuốc tê.

5.6. Hồ sơ bệnh án

- Trước khi thực hiện thủ thuật cần khai thác một số thông tin qua hồ sơ:
 - + Tình trạng dị ứng,
 - + Tình trạng chảy máu,
 - + Chẩn đoán sơ bộ.
- Sau khi tiến hành xong thủ thuật, bác sỹ tiến hành lập “Phiếu thực hiện thủ thuật” và lưu vào hồ sơ bệnh án.

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 45-60 phút.

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: phòng thủ thuật/ phòng bệnh.

5.9. Kiểm tra hồ sơ

- Kiểm tra, nhận dạng người bệnh.
- Mời vào phòng thủ thuật và kiểm tra định danh người bệnh.
- Giải thích, động viên, hướng dẫn người bệnh phối hợp thực hiện.
- Thực hiện theo bảng kiểm an toàn thủ thuật.
- Hướng dẫn người bệnh vào vị trí thủ thuật, theo tư thế:
 - + Nằm sấp hoặc nghiêng (nếu người bệnh không nằm sấp được) trên giường thủ thuật nếu chọc tủy tại gai chậu sau trên.
 - + Nằm ngửa trên giường thủ thuật nếu chọc hút ở các vị trí khác.

6. TIẾN HÀNH QUY TRÌNH KỸ THUẬT

6.1. Xác định vị trí chọc hút tủy xương

Vị trí chọc tủy có thể là:

- Gai chậu sau trên – Vị trí thường được chọn nhất

+ Cách 1: Sờ tay vào vùng gai chậu sau trên thấy điểm lõm khi người bệnh nằm sấp đó chính là điểm tiến hành chọc hút dịch tủy xương.

+ Cách 2: Kẻ đường thẳng nối hai Gai chậu trước trên, kẻ tiếp một đường nối giữa xương cụt với Gai chậu trước trên, làm thành một tam giác vuông xương cụt – chậu – cột sống. Điểm chọc hút tủy xương nằm chính giữa đường phân giác của tam giác kẻ từ góc vuông.

- Gai chậu trước trên: vuốt dọc bờ trên của mào chậu ra phía trước, thấy điểm lõm chính là điểm cần chọc.

- Có thể vị trí khác:

+ Xương ức: giữa xương ức, ngang khoang liên sườn 2 và 3.

+ Xương gót: mặt trong giữa xương gót.

+ Xương chày: phần trên, trong của đầu trên xương chày.

6.2. Sát trùng vị trí chọc hút tủy xương

Sát trùng vùng da xung quanh điểm mốc đã xác định theo hình xoay ốc từ điểm mốc ra xung quanh, bán kính 5cm.

6.3. Gây tê vị trí chọc hút tủy xương

- Trải sẵn vị trí chọc; lấy thuốc tê vào bơm tiêm, đưa kim qua da, bơm một lượng nhỏ thuốc tê để gây tê trong da và dưới da.

- Tiếp tục đưa kim qua cân, cơ và tiêm thuốc tê, xoay mặt vát của kim tiêm để thuốc thấm dần đều xung quanh.

- Tiếp tục đưa kim đến màng xương, bơm hết số thuốc còn lại.

- Rút bơm kim tiêm ra, chờ 2–3 phút cho thuốc tê đạt tác dụng.

6.4. Thao tác chọc hút dịch tủy xương

- Cầm kim chọc tủy bằng hai ngón tay cái và trỏ, lòng bàn tay tỳ lên đốc kim. Đưa kim qua da đúng vào điểm gây tê bằng cách xoay nhẹ nhàng nghiêng 45^0 so với mặt da.

- Đặt kim vuông góc với bề mặt da, đưa kim qua phần cơ, màng xương, bản xương cứng, khi có cảm giác đến tủy xương thì dừng lại.

- Rút thông nòng để vào khay vô trùng.

- Lắp bơm vào đốc kim, hút đủ thể tích dịch tủy xương cho vào ống nghiệm đựng bệnh phẩm.

- Rút kim chọc tủy và dùng băng gạc cầm máu cho người bệnh.

6.5. Kết thúc quy trình

- Đánh giá tình trạng người bệnh sau thực hiện kỹ thuật:

+ Toàn trạng ổn định.

+ Vị trí chọc cầm máu tốt.

- Người bệnh nghỉ ngơi và theo dõi trong 15 phút. Dặn người bệnh giữ vệ sinh cho vết chọc.

- Vệ sinh khu vực làm việc, thu gom phân loại đúng từng loại rác thải.

- Ngâm rửa dụng cụ chọc tủy và chuyển hấp sấy theo quy định.

- Lưu, hủy mẫu theo quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách tại các vị trí làm việc.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

Tai biến	Xử trí tai biến
Phản ứng thuốc tê: có thể xuất hiện sớm hoặc muộn	- Kiểm tra kỹ tình trạng dị ứng đặc biệt với thuốc tê. - Khi có tai biến xảy ra: thực hiện theo hướng dẫn xử trí phản vệ của Bộ Y tế.
Ngộ độc thuốc tê: Thường do dùng vượt quá liều tối đa cho phép, hay do nồng độ thuốc tê tăng cao đột ngột trong máu như tiêm thuốc vào mạch máu.	- Khi tai biến ngộ độc: thực hiện theo hướng dẫn xử trí ngộ độc thuốc tê – Thông tư số 51/2017/TT-BYT, Hội gây tê vùng và giảm đau Hoa kỳ (ARSA).
Gãy kim	- Yêu cầu người bệnh nằm im tại chỗ. - Bác sỹ giải thích tình trạng tai biến cho người nhà người bệnh. - Chuyển người bệnh đến cơ sở ngoại khoa để xử lý tiếp.

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

Tai biến	Xử trí tai biến
Chảy máu vị trí chọc	- Băng ép cố định cầm máu tại chỗ. - Dùng thuốc cầm máu (nếu cần).

7.3. Biến chứng muộn

Tai biến	Xử trí tai biến
Nhiễm trùng vị trí chọc tủy	- Dụng cụ và thao tác phải đảm bảo vô trùng. - Khi có tai biến xảy ra, vệ sinh, sát khuẩn vị trí chọc tủy hằng ngày và dùng kháng sinh phổ rộng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trương Công Duẩn, Trần Thị Hồng Thủy (2016), *Tủy đồ*, “Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và Truyền máu ứng dụng lâm sàng”, nhà xuất bản Y học, 34 -37.
2. Đỗ Trung Phấn (2014), *Bài giảng Huyết học - Truyền máu sau Đại học*, Nhà xuất bản Y học.
3. B.J.Bain, D. M. Clark and B. S. Wilkins, *Bone Marrow Pathology*, Fourth Edition, chapter 1, 2010
4. Rindy LJ, Chambers AR. *Bone Marrow Aspiration and Biopsy*. 2023 May 29. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan. PMID: 32644658.
5. Bộ Y tế (2017), *Thông tư hướng dẫn phòng, chẩn đoán và xử trí phản vệ*, số 51/2017/TT-BYT.
6. Trung tâm DI và ADR quốc gia (2018), *Hướng dẫn xử trí ngộ độc thuốc tê - Hội gây tê vùng và giảm đau Hoa kỳ (ARSA)*.

3. CHỌC HÚT TỦY XƯƠNG BẰNG MÁY

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa

Chọc hút tủy xương bằng máy là chọc hút tủy xương có sử dụng máy khoan đưa kim qua vỏ xương đến khoang tủy sinh máu để hút dịch tủy.

1.2. Mục đích xét nghiệm

- Thủ thuật thực hiện nhằm lấy dịch tủy xương sinh máu để làm xét nghiệm hoặc thu thập tế bào gốc phục vụ điều trị.
- Thủ thuật sử dụng máy nhằm chuẩn hóa việc khoan qua vỏ xương để lấy dịch tủy xương được nhẹ nhàng, an toàn, giảm đau cho người bệnh.

2. CHỈ ĐỊNH

- Lấy dịch tủy xương sinh máu để thực hiện một hay nhiều xét nghiệm mà bệnh phẩm là dịch hút tủy.
- Lấy dịch tủy xương thu thập tế bào gốc phục vụ điều trị.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Không tiến hành chọc tủy xương ức ở những người bệnh đa u tủy xương hay người bệnh có tổn thương tiêu xương khác vì nguy cơ thủng xương ức cao.
- Không tiến hành chọc tủy ở người bệnh đang chảy máu nặng hoặc có các bất thường đông máu nặng.
- Không chọc tủy vào vị trí đang nhiễm khuẩn.

4. THẬN TRỌNG

- Cần nhắc thực hiện thủ thuật ở người bệnh có rối loạn đông máu hoặc dùng các thuốc tăng nguy cơ chảy máu.
- Cần nhắc chọc tủy xương ức ở người bệnh dưới 12 tuổi.
- Phải giải thích các nguy cơ, biến chứng có thể xảy ra trong quá trình thực hiện thủ thuật
- Khai thác tiền sử dị ứng và chuẩn bị các phương tiện cấp cứu phản vệ khi sử dụng thuốc tê.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sĩ: 01 người;
- Kỹ thuật y/ Điều dưỡng: 02 người.

5.2. Thuốc

- Thuốc gây tê;
- Thuốc cấp cứu.

5.3. Hóa chất, vật tư

5.3.1. Sinh phẩm, hóa chất

- Cồn sát khuẩn;
- Dung dịch ngâm dụng cụ khử khuẩn;
- Dung dịch khử khuẩn.

5.3.2. Dụng cụ, vật tư

- Bộ kim, khay thủ thuật chọc hút tủy xương;
- Bơm tiêm, kim lấy máu;
- Ống nghiệm đựng bệnh phẩm, barcode;
- Băng, gạc cầm máu;
- Kẹp phẫu tích không máu;
- Săng vô trùng, ga trải giường;
- Khay đựng dụng cụ vô khuẩn;
- Hộp đựng săng - bông, trụ cầm kẹp, kéo, lọ bóp cồn;
- Xe tiêm, giường thủ thuật;
- Đèn cực tím;
- Bộ dụng cụ cấp cứu;
- Găng khám, găng tay, quần áo vô trùng, khẩu trang, quần áo bảo hộ.

5.4. Thiết bị

- Máy tính, máy in.
- Máy khoan xương cầm tay.

5.5. Người bệnh

- Giải thích cho người bệnh/người nhà người bệnh các nguy cơ có thể xảy ra. Người bệnh/người nhà đồng ý và ký xác nhận thỏa thuận thực hiện thủ thuật.
- Khai thác tiền sử dị ứng và chuẩn bị các phương tiện cấp cứu phản vệ khi sử dụng thuốc tê.

5.6. Hồ sơ bệnh án

- Trước thủ thuật, bác sĩ cần khai thác thông tin qua hồ sơ bệnh án như:
 - + Tình trạng dị ứng.
 - + Tình trạng chảy máu.
 - + Chẩn đoán sơ bộ.
- Sau khi tiến hành xong thủ thuật, bác sĩ tiến hành lập “Phiếu thực hiện thủ thuật” và lưu vào hồ sơ bệnh án.

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 45-60 phút.

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thủ thuật/ phòng bệnh.

5.9. Kiểm tra hồ sơ

- Kiểm tra, nhận dạng người bệnh.
- Mời vào phòng thủ thuật và kiểm tra định danh người bệnh.
- Giải thích, động viên, hướng dẫn người bệnh phối hợp thực hiện.
- Thực hiện theo bảng kiểm an toàn thủ thuật.
- Hướng dẫn người bệnh vào vị trí thủ thuật, theo tư thế:
 - + Nằm sấp hoặc nghiêng (nếu người bệnh không nằm sấp được) trên giường thủ thuật nếu sinh thiết tại gai chậu sau trên.
 - + Nằm ngửa trên giường thủ thuật nếu sinh thiết ở các vị trí khác.

6. TIẾN HÀNH QUY TRÌNH KỸ THUẬT

6.1. Xác định vị trí chọc hút tủy xương

Vị trí chọc tủy có thể là:

- Gai chậu sau trên - Vị trí thường được chọn nhất
- + Cách 1: Sờ tay vào vùng gai chậu sau trên thấy điểm lõm khi người bệnh nằm sấp đó chính là điểm tiến hành chọc hút dịch tủy xương.
- + Cách 2: Kẻ đường thẳng nối hai gai chậu trước trên, kẻ tiếp một đường nối giữa xương cụt với gai chậu trước trên, làm thành một tam giác vuông xương cụt – chậu – cột sống. Điểm chọc hút tủy xương nằm chính giữa đường phân giác của tam giác kẻ từ góc vuông.
- Gai chậu trước trên: vuốt dọc bờ trên của mào chậu ra phía trước, thấy điểm lõm chính là điểm cần chọc.
- Có thể vị trí khác:
 - + Xương ức: giữa xương ức, ngang khoang liên sườn 2 và 3.
 - + Xương gót: mặt trong giữa xương gót.
 - + Xương chày: phần trên, trong của đầu trên xương chày.

6.2. Sát trùng vị trí chọc hút tủy xương

Sát trùng 2 lần (cồn iod và cồn 70°) vùng da xung quanh điểm mốc đã xác định theo hình xoay ốc từ điểm mốc ra xung quanh, bán kính 5cm.

6.3. Gây tê vị trí chọc hút tủy xương

- Trải sẵn vị trí chọc; lấy thuốc tê vào bơm tiêm, đưa kim qua da, bơm một lượng nhỏ thuốc tê để gây tê trong da và dưới da.
- Tiếp tục đưa kim qua cân, cơ và tiêm thuốc tê, xoay mặt vát của kim tiêm để thuốc thấm dần đều xung quanh.
- Tiếp tục đưa kim đến màng xương, bơm hết số thuốc còn lại.
- Rút bơm kim tiêm ra, chờ 2–3 phút cho thuốc tê đạt tác dụng.

6.4. Thao tác chọc hút dịch tủy xương

- Đưa kim chọc tủy nhẹ nhàng nghiêng góc 45° qua da, cơ đến màng xương.
- Lắp máy khoan vào đốc kim, khoan qua màng xương và bản xương cứng, khi có cảm giác đến tủy xương thì dừng lại, tháo máy khoan ra khỏi đốc kim.
- Rút thông nòng để vào khay vô trùng.
- Lắp bơm vào đốc kim, hút đủ thể tích dịch tủy xương cho vào ống nghiệm đựng bệnh phẩm.
- Rút kim chọc tủy và dùng băng gạc cầm máu cho người bệnh.

6.5. Kết thúc quy trình

- Đánh giá tình trạng người bệnh sau thực hiện kỹ thuật:
 - + Toàn trạng ổn định.
 - + Vị trí chọc cầm máu tốt.
- Người bệnh ngồi nghỉ ngơi và theo dõi trong 15 phút. Dẫn dò người bệnh giữ vệ sinh cho vết chọc.
- Vệ sinh khu vực, thu gom rác, xử lý dụng cụ theo quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách tại các vị trí làm việc.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

Tai biến	Xử trí tai biến
Phản ứng thuốc tê: có thể xuất hiện sớm hoặc muộn	- Kiểm tra kỹ tình trạng dị ứng đặc biệt với thuốc tê. - Khi có tai biến: thực hiện theo hướng dẫn xử trí phản vệ của Bộ Y tế.
Ngộ độc thuốc tê: thường do dùng vượt quá liều tối đa cho phép, hay do nồng độ thuốc tê tăng cao đột ngột trong máu như tiêm thuốc vào mạch máu.	- Khi tai biến ngộ độc: thực hiện theo hướng dẫn xử trí ngộ độc thuốc tê - Thông tư số 51/2017/TT-BYT, Hội gây tê vùng và giảm đau Hoa kỳ (ARSA).
Gãy kim	- Yêu cầu người bệnh nằm im tại chỗ. - Giải thích tình trạng tai biến cho người nhà người bệnh. - Chuyển người bệnh đến cơ sở ngoại khoa để xử lý.

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

Tai biến	Xử trí tai biến
Chảy máu vị trí chọc	- Băng ép cố định cầm máu tại chỗ. - Dùng thuốc cầm máu (nếu cần).

7.3. Biến chứng muộn

Tai biến	Xử trí tai biến
Nhiễm trùng vị trí chọc tủy	- Dụng cụ và thao tác phải đảm bảo vô trùng. - Khi có tai biến xảy ra, vệ sinh, sát khuẩn vị trí chọc tủy hằng ngày và dùng kháng sinh phổ rộng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hướng dẫn sử dụng máy khoan cầm tay.
- Trương Công Duân, Trần Thị Hồng Thủy (2016), *Tủy đồ*, “Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và Truyền máu ứng dụng lâm sàng”, nhà xuất bản Y học, 34 -37.
- Đỗ Trung Phấn (2014), *Bài giảng Huyết học - Truyền máu sau Đại học*, Nhà xuất bản Y học.
- B.J.Bain, D. M. Clark and B. S. Wilkins, *Bone Marrow Pathology*, Fourth Edition, chapter 1, 2010
- Rindy LJ, Chambers AR. *Bone Marrow Aspiration and Biopsy*. 2023 May 29. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan. PMID: 32644658.
- Bộ Y tế (2017), *Thông tư hướng dẫn phòng, chẩn đoán và xử trí phản vệ*, số 51/2017/TT-BYT.
- Trung tâm DI và ADR quốc gia (2018), *Hướng dẫn xử trí ngộ độc thuốc tê - Hội gây tê vùng và giảm đau Hoa kỳ (ARSA)*.

4. SINH THIẾT TỦY XƯƠNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP THỦ CÔNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa

Sinh thiết tủy xương bằng phương pháp thủ công là dùng kim sinh thiết tủy, xuyên qua da, cơ, màng xương và vỏ xương vào khoang tủy rồi cắt lấy một mẫu mô tủy sinh máu mà không dùng trang bị hỗ trợ khoan xương.

1.2. Mục đích kỹ thuật

Thủ thuật nhằm lấy mảnh mô tủy xương sinh máu phục vụ xét nghiệm.

2. CHỈ ĐỊNH

Lấy mô tủy xương sinh máu để thực hiện một hay nhiều xét nghiệm mà bệnh phẩm là mảnh mô tủy.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Người bệnh đang chảy máu nặng hoặc có các bất thường đông máu nặng.
- Sinh thiết vào vị trí đang nhiễm khuẩn.

4. THẬN TRỌNG

- Người bệnh có rối loạn đông máu hoặc đang sử dụng thuốc làm tăng nguy cơ chảy máu như: Aspirin, heparin...
- Người bệnh có các bệnh lý nội khoa nặng khác kèm theo như: Suy tim, suy hô hấp, hôn mê...
- Phải giải thích các nguy cơ, biến chứng có thể xảy ra trong quá trình thực hiện thủ thuật.
- Khai thác tiền sử dị ứng và chuẩn bị các phương tiện cấp cứu phản vệ khi sử dụng thuốc tê.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sĩ: 01 người;
- Kỹ thuật y/ Điều dưỡng: 03 người.

5.2. Thuốc

- Thuốc gây tê;
- Thuốc cấp cứu.

5.3. Vật tư

5.3.1. Sinh phẩm, hóa chất

- Cồn sát khuẩn;
- Dung dịch cố định mảnh sinh thiết;
- Dung dịch ngâm dụng cụ khử khuẩn;
- Dung dịch khử khuẩn.

5.3.2. Dụng cụ, vật tư

- Kim sinh thiết;
- Bơm tiêm, kim lấy máu;

- Băng, gạc cầm máu, gạc chèn (mèche); barcode;
- Cassette; Lam kính;
- Cốc đong có mõ;
- Kẹp phẫu tích không máu;
- Săng vô trùng, ga trải giường;
- Khay quả đậu, khay chữ nhật;
- Hộp đựng săng - bông, trụ cầm kẹp, kéo, lọ bóp còn;
- Lọ đựng bệnh phẩm sinh thiết;
- Xe tiêm, giường thủ thuật;
- Đèn cực tím;
- Bộ dụng cụ cấp cứu;
- Găng khám, găng tay, quần áo vô trùng, khẩu trang, quần áo bảo hộ.

5.4. Thiết bị

Máy tính, máy in.

5.5. Người bệnh

- Giải thích cho người bệnh/người nhà người bệnh các nguy cơ có thể xảy ra. Người bệnh/người nhà đồng ý và ký xác nhận thỏa thuận thực hiện thủ thuật.
- Khai thác tiền sử dị ứng và chuẩn bị các phương tiện cấp cứu phản vệ khi sử dụng thuốc tê.

5.6. Hồ sơ bệnh án

- Trước khi thực hiện, cần nắm một số thông tin qua hồ sơ:
 - + Tình trạng dị ứng, chảy máu.
 - + Chẩn đoán sơ bộ.
- Sau khi tiến hành xong thủ thuật, bác sỹ tiến hành lập “Phiếu thực hiện thủ thuật” và lưu vào hồ sơ bệnh án.

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 90-120 phút.

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thủ thuật/ phòng bệnh.

5.9. Kiểm tra hồ sơ

- Kiểm tra, nhận dạng người bệnh.
- Mời vào phòng thủ thuật và kiểm tra định danh người bệnh.
- Giải thích, động viên, hướng dẫn người bệnh phối hợp thực hiện.
- Thực hiện theo bảng kiểm an toàn thủ thuật.
- Hướng dẫn người bệnh vào vị trí thủ thuật, theo tư thế.
- Tư thế người bệnh: nằm sấp trên giường thủ thuật.

6. TIẾN HÀNH QUY TRÌNH KỸ THUẬT

6.1. Xác định vị trí sinh thiết tủy xương - Gai chậu sau trên:

Cách 1: Sờ tay vào điểm lõm vùng gai chậu sau trên khi người bệnh nằm sấp sẽ thấy một điểm gồ lên đó chính là điểm tiến hành thủ thuật sinh thiết tủy xương.

Cách 2: Kẻ đường thẳng nối hai gai chậu trước trên, kẻ tiếp một đường nối giữa xương cụt với gai chậu trước trên, làm thành một tam giác vuông

xương cụt – chậu – cột sống. Điểm sinh thiết tủy xương nằm chính giữa đường phân giác của tam giác kẻ từ góc vuông.

6.2. Sát trùng vị trí sinh thiết tủy xương

Sát trùng vùng da xung quanh điểm mốc đã xác định theo hình xoay ốc từ điểm mốc ra xung quanh bán kính 5cm.

6.3. Gây tê vị trí sinh thiết tủy xương

- Trải sẵn vị trí chọc; lấy thuốc tê vào bơm tiêm, đưa kim qua da, bơm một lượng nhỏ thuốc tê để gây tê trong da và dưới da; tiếp tục đưa kim qua cân, cơ và tiêm thuốc tê, xoay mặt vát của kim tiêm để thuốc thấm dần đều xung quanh.

- Tiếp tục đưa kim đến màng xương, bơm hết số thuốc còn lại.

- Rút bơm kim tiêm ra, chờ 2–3 phút cho thuốc tê đạt tác dụng tối đa.

6.4. Thao tác sinh thiết tủy xương

- Dùng tay đưa kim đi nhẹ nhàng nghiêng góc 45° qua da, dựng kim thẳng đứng khoan nhẹ nhàng qua lớp cơ, màng xương và bản xương cứng.

- Rút nòng kim, dùng nắp đậy kín lên đốc kim, tay phải tiếp tục khoan xoay nhẹ nhàng thêm 1,5 - 2cm.

- Lắc nhẹ rồi rút kim, lấy mảnh sinh thiết, cho vào lọ dung dịch cố định.

- Dùng băng gạc cầm máu cho người bệnh.

6.5. Kết thúc quy trình

- Đánh giá tình trạng người bệnh sau thực hiện kỹ thuật:

+ Toàn trạng ổn định.

+ Vị trí chọc cầm máu tốt.

- Người bệnh ngồi nghỉ ngơi và theo dõi trong 15 phút. Dẫn dò người bệnh giữ vệ sinh cho vết chọc.

- Vệ sinh khu vực làm việc, thu gom phân loại đúng từng loại rác thải.

- Ngâm rửa dụng cụ chọc tủy và chuyển hấp sấy theo quy định.

- Lưu, hủy mẫu theo quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách tại các vị trí làm việc.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

Tai biến	Xử trí tai biến
Phản ứng thuốc tê: có thể xuất hiện sớm hoặc muộn	- Kiểm tra kỹ tình trạng dị ứng đặc biệt với thuốc tê. - Khi có tai biến xảy ra: thực hiện theo hướng dẫn xử trí phản vệ của Bộ Y tế.
Ngộ độc thuốc tê: thường do dùng vượt quá liều tối đa cho phép, hay do nồng độ thuốc tê tăng cao đột ngột trong máu như tiêm thuốc vào mạch máu.	- Khi tai biến ngộ độc: thực hiện theo hướng dẫn xử trí ngộ độc thuốc tê – Thông tư số 51/2017/TT-BYT, Hội gây tê vùng và giảm đau Hoa kỳ (ARSA).

Tai biến	Xử trí tai biến
Gãy kim	- Yêu cầu người bệnh nằm im tại chỗ. - Bác sỹ giải thích tình trạng tai biến cho người nhà người bệnh. - Chuyển người bệnh đến cơ sở ngoại khoa để xử lý.

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

Tai biến	Xử trí tai biến
Chảy máu vị trí chọc	- Băng ép cố định cầm máu tại chỗ. - Dùng thuốc cầm máu (nếu cần).

7.3. Biến chứng muộn

Tai biến	Xử trí tai biến
Nhiễm trùng vị trí chọc tủy	- Dụng cụ và thao tác phải đảm bảo vô trùng. - Khi có tai biến xảy ra, vệ sinh, sát khuẩn vị trí chọc tủy hằng ngày và dùng kháng sinh phổ rộng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trương Công Duẩn, Trần Thị Hồng Thủy (2016), *Sinh thiết tủy xương*, “Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và Truyền máu ứng dụng lâm sàng” , nhà xuất bản Y học, 44- 49.
2. Đỗ Trung Phấn (2014), *Bài giảng Huyết học - Truyền máu sau Đại học*, Nhà xuất bản Y học.
3. B.J.Bain, D. M. Clark and B. S. Wilkins, *Bone Marrow Pathology*, Fourth Edition, chapter 1, 2010
4. Rindy LJ, Chambers AR. *Bone Marrow Aspiration and Biopsy*. 2023 May 29. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan. PMID: 32644658.
5. Bộ Y tế (2017), *Thông tư hướng dẫn phòng, chẩn đoán và xử trí phản vệ*, số 51/2017/TT-BYT.
6. Trung tâm DI và ADR quốc gia (2018), *Hướng dẫn xử trí ngộ độc thuốc tê - Hội gây tê vùng và giảm đau Hoa kỳ (ARSA)*.

5. SINH THIẾT TỦY XƯƠNG BẰNG MÁY

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa

Sinh thiết tủy xương bằng máy là sinh thiết tủy có sử dụng thiết bị khoan để khoan đưa kim qua màng xương và vỏ xương vào khoang tủy, cắt lấy một mẫu mô tủy sinh máu.

1.2. Mục đích kỹ thuật

- Thủ thuật nhằm lấy mảnh mô tủy xương sinh máu phục vụ xét nghiệm.
- Sử dụng máy khoan giúp khoan qua xương chính xác, nhẹ nhàng, giảm đau cho người bệnh.

2. CHỈ ĐỊNH

Lấy mô tủy xương sinh máu để thực hiện một hay nhiều xét nghiệm.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Người bệnh đang chảy máu nặng hoặc có các bất thường đông máu nặng.
- Sinh thiết vào vị trí đang nhiễm khuẩn.

4. THẬN TRỌNG

- Người bệnh có rối loạn đông máu hoặc đang sử dụng thuốc làm tăng nguy cơ chảy máu như: Aspirin, heparin...
- Người bệnh có các bệnh lý nội khoa nặng khác kèm theo như: Suy tim, suy hô hấp, hôn mê...
- Phải giải thích các nguy cơ, biến chứng có thể xảy ra trong quá trình thực hiện thủ thuật.
- Khai thác tiền sử dị ứng và chuẩn bị các phương tiện cấp cứu phản vệ khi sử dụng thuốc tê.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sĩ: 01 người;
- Kỹ thuật y/ Điều dưỡng: 03 người.

5.2. Thuốc

- Thuốc gây tê;
- Thuốc cấp cứu.

5.3. Vật tư

5.3.1. Sinh phẩm, hóa chất

- Cồn sát khuẩn;
- Dung dịch cố định mảnh sinh thiết;
- Dung dịch ngâm dụng cụ khử khuẩn;
- Dung dịch khử khuẩn.

5.3.2. Dụng cụ, vật tư

- Bộ kim, khay thủ thuật sinh thiết tủy xương;

- Bơm tiêm, kim lấy máu;
- Băng, gạc cầm máu, barcode;
- Cassette;
- Lam kính;
- Cốc đong cỡ nhỏ;
- Kẹp phẫu tích không máu;
- Săng vô trùng, ga trải giường;
- Khay đựng dụng cụ vô khuẩn;
- Hộp đựng săng - bông, trụ cầm kẹp , kéo, lọ bóp côn;
- Lọ đựng bệnh phẩm sinh thiết;
- Xe tiêm, giường thủ thuật;
- Đèn cực tím;
- Bộ dụng cụ cấp cứu;
- Găng khám, găng tay, quần áo vô trùng, khẩu trang, quần áo bảo hộ.

5.4. Thiết bị

- Máy tính, máy in.
- Máy khoan xương cầm tay.

5.5. Người bệnh

- Giải thích cho người bệnh/người nhà người bệnh các nguy cơ có thể xảy ra. Người bệnh/người nhà ký xác nhận đồng ý thực hiện thủ thuật.
- Khai thác tiền sử dị ứng và chuẩn bị các phương tiện cấp cứu phản vệ khi sử dụng thuốc tê.

5.6. Hồ sơ bệnh án

- Trước khi thực hiện, cần khai thác một số thông tin qua hồ sơ:
 - + Tình trạng dị ứng.
 - + Tình trạng chảy máu.
 - + Chẩn đoán sơ bộ.
- Sau khi tiến hành xong thủ thuật, bác sỹ tiến hành lập “Phiếu thực hiện thủ thuật” và lưu vào hồ sơ bệnh án.

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 90-120 phút.

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thủ thuật/ phòng bệnh.

5.9. Kiểm tra hồ sơ

- Kiểm tra, nhận dạng người bệnh.
- Mời vào phòng thủ thuật và kiểm tra định danh người bệnh.
- Giải thích, động viên, hướng dẫn người bệnh phối hợp thực hiện.
- Thực hiện theo bảng kiểm an toàn thủ thuật.
- Hướng dẫn người bệnh vào vị trí thủ thuật, theo tư thế.
- Tư thế người bệnh: nằm sấp trên giường thủ thuật.

6. TIẾN HÀNH QUY TRÌNH KỸ THUẬT

6.1. Xác định vị trí sinh thiết tủy xương - Gai chậu sau trên

Cách 1: Sờ tay vào điểm lõm vùng gai chậu sau trên khi người bệnh nằm sấp sẽ thấy một điểm gồ lên đó chính là điểm tiến hành thủ thuật sinh thiết tủy xương.

Cách 2: Kẻ đường thẳng nối hai gai chậu trước trên, kẻ tiếp một đường nối giữa xương cụt với gai chậu trước trên, làm thành một tam giác vuông xương cụt – chậu – cột sống. Điểm sinh thiết tủy xương nằm chính giữa đường phân giác của tam giác kẻ từ góc vuông.

6.2. Sát trùng vị trí sinh thiết tủy xương

Sát trùng vùng da xung quanh điểm mốc đã xác định theo hình xoay ốc từ điểm mốc ra xung quanh bán kính 5cm.

6.3. Gây tê vị trí sinh thiết tủy xương

- Trải sẵn vị trí chọc; lấy thuốc tê vào bơm tiêm, đưa kim qua da, bơm một lượng nhỏ thuốc tê để gây tê trong da và dưới da; tiếp tục đưa kim qua cân, cơ và tiêm thuốc tê, xoay mặt vát của kim tiêm để thuốc thấm dần đều xung quanh.

- Tiếp tục đưa kim đến màng xương, bơm hết số thuốc còn lại.

- Rút bơm kim tiêm ra, chờ 2–3 phút cho thuốc tê đạt tác dụng tối đa.

6.4. Thao tác sinh thiết tủy xương

- Dùng tay đưa kim sinh thiết chọc nhẹ nhàng nghiêng góc 45° qua da, sau đó theo phương vuông góc với mặt da qua cân cơ đến màng xương.

- Lắp máy khoan vào đốc kim khoan, khoan qua màng xương và bản xương cứng, khi có cảm giác đến tủy xương thì dừng lại, tháo máy khoan ra khỏi đốc kim.

- Lắp lại máy khoan vào đốc kim, khoan tiếp xuống dưới 2 – 2.5 cm; lắc nhẹ rồi rút kim ra, lấy mảnh sinh thiết và đưa vào lọ đựng dung dịch cố định.

- Dùng băng gạc cầm máu cho người bệnh.

6.5. Kết thúc quy trình

- Đánh giá tình trạng người bệnh sau thực hiện kỹ thuật:

+ Toàn trạng ổn định.

+ Vị trí chọc cầm máu tốt.

- Người bệnh ngồi nghỉ ngơi và theo dõi trong 15 phút. Dẫn dò người bệnh giữ vệ sinh cho vết chọc.

- Vệ sinh khu vực làm việc, thu gom phân loại đúng từng loại rác thải.

- Ngâm rửa dụng cụ và chuyển hấp sấy theo quy định.

- Lưu, hủy mẫu theo quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách tại các vị trí làm việc.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

Tai biến	Xử trí tai biến
Phản ứng thuốc tê; có thể xuất hiện sớm hoặc muộn	- Kiểm tra kỹ tình trạng dị ứng đặc biệt với thuốc tê.
Ngộ độc thuốc tê: Thường do dùng vượt quá liều tối đa cho phép, hay do nồng độ thuốc tê tăng cao đột ngột trong máu như tiêm thuốc vào mạch máu.	- Khi có tai biến xảy ra: thực hiện theo hướng dẫn xử trí phản vệ của Bộ Y tế. - Khi tai biến ngộ độc: thực hiện theo hướng dẫn xử trí ngộ độc thuốc tê – Thông tư số 51/2017/TT-BYT, Hội gây tê vùng và giảm đau Hoa kỳ (ARSA).
Gãy kim	- Yêu cầu người bệnh nằm im tại chỗ. - Bác sỹ giải thích tình trạng tai biến cho người nhà người bệnh. - Chuyển người bệnh đến cơ sở ngoại khoa để xử lý

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

Tai biến	Xử trí tai biến
Chảy máu vị trí chọc	- Băng ép cố định cầm máu tại chỗ. - Dùng thuốc cầm máu (nếu cần).

7.3. Biến chứng muộn

Tai biến	Xử trí tai biến
Nhiễm trùng vị trí chọc tủy	- Dụng cụ và thao tác phải đảm bảo vô trùng. - Khi có tai biến xảy ra, vệ sinh, sát khuẩn vị trí chọc tủy hằng ngày và dùng kháng sinh phổ rộng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hướng dẫn sử dụng máy khoan cầm tay
2. Trương Công Duẩn, Trần Thị Hồng Thủy (2016), *Sinh thiết tủy xương*, “Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và Truyền máu ứng dụng lâm sàng”, nhà xuất bản Y học, 44- 49.
3. Đỗ Trung Phấn (2014), *Bài giảng Huyết học - Truyền máu sau Đại học*, Nhà xuất bản Y học.
4. B.J.Bain, D. M. Clark and B. S. Wilkins, *Bone Marrow Pathology*, Fourth Edition, chapter 1, 2010
5. Rindy LJ, Chambers AR. *Bone Marrow Aspiration and Biopsy*. 2023 May 29. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan. PMID: 32644658.
6. Bộ Y tế (2017), *Thông tư hướng dẫn phòng, chẩn đoán và xử trí phản vệ*, số 51/2017/TT-BYT.
7. Trung tâm DI và ADR quốc gia (2018), *Hướng dẫn xử trí ngộ độc thuốc tê - Hội gây tê vùng và giảm đau Hoa kỳ (ARSA)*.

6. TRUYỀN MÁU VÀ CHẾ PHẨM MÁU

1. ĐẠI CƯƠNG

Truyền máu tại giường bệnh là bước cuối của quy trình truyền máu lâm sàng, trực tiếp đưa máu, chế phẩm vào tĩnh mạch người nhận do đó đòi hỏi an toàn cao và theo dõi cẩn trọng.

Mục đích: đưa máu, chế phẩm vào tĩnh mạch người bệnh để chữa bệnh.

2. CHỈ ĐỊNH

2.1. Máu toàn phần:

- Mất nhiều máu kèm theo giảm thể tích tuần hoàn.
- Truyền thay máu.
- Người bệnh cần truyền hồng cầu mà không có sẵn khối hồng cầu đậm đặc.

2.2. Khối hồng cầu:

Người bệnh thiếu máu; mất máu.

2.3. Khối tiểu cầu:

- Giảm số lượng tiểu cầu, giảm chức năng tiểu cầu.
- Truyền cùng chế phẩm khác trong mất nhiều máu.

2.4. Huyết tương đông lạnh (HTĐL)

- Mất huyết tương.
- Truyền cùng với KHC trong mất máu khối lượng lớn (ưu tiên HTTĐL).
- Thay huyết tương (nhất là bệnh xuất huyết giảm tiểu cầu huyết khối).
- Thiếu các thành phần protein huyết tương mà không có chế phẩm đặc hiệu.

2.5. Huyết tương tươi đông lạnh (HHTĐL)

- Huyết tương tươi đông lạnh sử dụng như HTĐL, ngoài ra thêm chỉ định:
- Thiếu yếu tố đông máu do bệnh, do thuốc.

2.6. Tủa lạnh

- Thiếu hụt di truyền hoặc mắc phải yếu tố VIII (bệnh Hemophilia A), yếu tố vWF (bệnh von Willebrand), yếu tố XIII, fibrinogen.
- Các rối loạn đông máu có giảm nặng fibrinogen và các yếu tố đông máu khác gặp trong đông máu rải rác nội mạch, tiêu sợi huyết tiên phát hoặc thứ phát.

2.7. Khối bạch cầu

- Bạch cầu hạt trung tính giảm nặng ($< 0,5 \text{ G/l}$) bẩm sinh hoặc mắc phải.
- Có tình trạng nhiễm trùng nặng liên quan rõ với việc giảm bạch cầu hạt.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH:

Không có chống chỉ định.

4. CHUẨN BỊ

4.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 01 người;
- Điều dưỡng: 01 người.

4.2. Vật tư, thuốc, sinh phẩm:

Các y dụng cụ thực hiện truyền máu trên 01 xe tiêm truyền gồm:

- Khay tiêm vô khuẩn;
- Trụ cắm kẹp, kẹp, kéo, kim luồn (nếu cần);
- Hộp bông khô, hộp bông cồn 70 độ;
- Bơm tiêm 5ml;
- Găng tay, dây garo, băng dính, bút dạ, bút viết;
- Phiếu truyền máu;
- Dây truyền máu;
- Khay đựng các túi máu;
- Phiến giấy định nhóm tại giường;
- Hộp chống sốc: đầy đủ thuốc và phác đồ chống sốc; nhiệt kế, huyết áp;
- Huyết thanh mẫu, que thủy tinh;
- Dụng cụ phân loại rác thải trên xe tiêm theo quy định.

4.3. Máu, chế phẩm máu

a/ Máu và chế phẩm sau khi lĩnh, cần truyền ngay; trường hợp chưa thể truyền cần bảo quản theo yêu cầu và đảm bảo thời gian truyền hết theo quy định

- Khối hồng cầu và máu toàn phần: bảo quản ở 2°C đến 6°C.
- Khối tiểu cầu, khối bạch cầu phải đặt trong hộp cách nhiệt chuyên dụng 20°C đến 24°C;
- Huyết tương đông lạnh, tủa lạnh: 2°C đến 6°C.

(lưu ý thời gian từ khi kết thúc tan đông huyết tương và từ khi bắt đầu tan đông tủa lạnh; từ khi đưa khối hồng cầu, máu toàn phần, khối tiểu cầu ra khỏi điều kiện bảo quản đến khi kết thúc truyền không quá 06 giờ).

b/ Kiểm tra đơn vị máu, đối chiếu trước khi truyền

- Kiểm tra đơn vị máu, chế phẩm: còn hạn sử dụng, nguyên vẹn, không biến đổi màu sắc, không có cục đông, vẩn, tủa, nổi váng trên bề mặt.

Nếu có bất cứ dấu hiệu bất thường nào thì không được truyền và phải thông báo ngay cho nơi cấp máu.

- Đối chiếu thông tin trên đơn vị máu với hồ sơ người bệnh (phiếu truyền máu).

- Sắp xếp các đơn vị máu, chế phẩm theo kế hoạch thực hiện truyền máu, nếu truyền nhiều người bệnh phải để riêng chế phẩm của từng người.

4.4. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 90-120 phút tùy thuộc đơn vị truyền.

4.5. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: phòng bệnh.

4.6. Hồ sơ: có chỉ định cụ thể loại chế phẩm, số lượng, nhóm máu, tốc độ truyền; thứ tự truyền nếu có nhiều loại chế phẩm; các lưu ý khác (nếu có).

4.7. Người bệnh:

- Thông báo người bệnh thời gian chuẩn bị truyền máu.
- Hướng dẫn người bệnh tiểu tiện trước khi truyền.
- Đo nhiệt độ, huyết áp cho người bệnh.
- Khai thác lịch sử truyền máu (nhóm máu), tiền sử dị ứng.

5. QUY TRÌNH KỸ THUẬT

5.1. Di chuyển đến giường bệnh:

- Điều dưỡng mang trang phục đúng quy định, đeo găng tay.
- Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay.
- Di chuyển xe tiêm ra buồng bệnh đến bên giường bệnh.

5.2. Nhận diện, đối chiếu, kiểm tra tại giường

- Nhận diện: Hỏi để người bệnh trả lời: tên, họ, ngày sinh, thông tin khác.
- Nếu người bệnh hôn mê, hỏi người nhà người bệnh hoặc nhân viên khác.
- Kiểm tra mạch, huyết áp, nhiệt độ người bệnh.
- Hướng dẫn người bệnh để phổi hợp và phát hiện bất thường.
- Đặt người bệnh nằm thoải mái. Chọn vị trí chọc kim truyền.
- Đối chiếu thông tin (trên túi máu - người bệnh - hồ sơ (phiếu truyền máu)).
- Đối chiếu chi tiết nhãn hoà hợp dán trên túi máu với hồ sơ người bệnh:
 - + *Họ tên người bệnh;*
 - + *Giường bệnh, phòng bệnh hoặc phòng mổ;*
 - + *Nhóm máu của người bệnh; của đơn vị máu;*
- Kiểm tra ngày hết hạn của túi máu.

5.3. Định nhóm tại giường

- Ghi tên, năm sinh, số giường người bệnh; mã số đơn vị máu lên vị trí tương ứng trên phiếu xét nghiệm nhóm máu, nhỏ huyết thanh mẫu.
- Lấy mẫu máu của túi máu: trộn đều túi máu, thiết lập đường truyền bằng cách chọc kim dây truyền vào van túi máu, treo túi máu lên cột, bỏ khí trong dây và nhỏ 1 giọt vào vị trí “người cho” trên phiếu định nhóm, khóa dây truyền.
(nếu truyền liên tiếp nhiều đơn vị thì từ đơn vị thứ hai có thể lấy mẫu chế phẩm ở đoạn dây “pilot” của túi máu nhưng phải đọc, đối chiếu mã số của đoạn dây đó với “đoạn dây gốc”).
- Lấy máu người bệnh: garo bên trên, rồi sát trùng vị trí truyền, dùng bơm tiêm lắp kim truyền máu chọc tĩnh mạch, rút khoảng 0,5 ml máu.
- Rút bơm tiêm, lắp đầu dây truyền vào đốc kim, tháo garo, cố định đầu kim, dây bằng băng dính; nhỏ 1 giọt máu vào vị trí “người bệnh” trên phiếu định nhóm.
- Tiến hành định nhóm người bệnh (dùng que thủy tinh hay đáy ống nghiệm lấy máu và trộn huyết thanh mẫu).
- Định nhóm mẫu máu của đơn vị máu (với truyền máu toàn phần, khối hồng cầu, khối bạch cầu); trường hợp truyền huyết tương, khối tiểu cầu, tủa lạnh thì trộn 1 giọt chế phẩm với 1 giọt máu người bệnh.
- Lắc đều phiếu định nhóm, đọc, ghi kết quả, quyết định truyền (bác sĩ).

5.4. Bắt đầu truyền và theo dõi:

- Khi kết quả định nhóm tại giường phù hợp: mở khóa dây truyền máu; điều chỉnh tốc độ 15-20 giọt/ phút (hay theo chỉ định nếu có); thông báo để người bệnh phối hợp theo dõi.

- Theo dõi toàn trạng người bệnh, kiểm tra mạch, huyết áp, nhiệt độ sau 15 phút; ghi hồ sơ; nếu không thay đổi tiếp tục truyền với tốc độ theo chỉ định.

- Tiếp tục theo dõi người bệnh, ít nhất cứ khoảng 1 giờ kiểm tra mạch, huyết áp.

5.5. Phát hiện và xử trí tai biến

Theo dõi người bệnh, tốc độ truyền trong suốt quá trình, nếu có bất thường cần dừng ngay bằng tạm khóa đường truyền, báo bác sĩ và xử lý theo mức độ.

5.6. Kết thúc truyền máu

Khi hết máu, chế phẩm: rút kim truyền, băng cầm máu, kiểm tra toàn trạng, mạch, huyết áp, ghi hồ sơ, dặn người bệnh các biểu hiện cần tiếp tục theo dõi và thông báo nếu có bất thường.

6. AN TOÀN NGƯỜI BỆNH

Truyền máu, chế phẩm luôn tiềm ẩn nguy cơ nên phải hết sức chú ý.

6.1. Trước truyền:

- Khai thác phát hiện các nguy cơ tai biến.

- Tuân thủ các quy định về nhận diện, định danh người bệnh, mẫu máu, đơn vị máu tránh nhầm lẫn (nhầm người bệnh, mẫu máu, máu và chế phẩm).

6.2. Trong truyền:

- Nhiều tình huống bất thường nên luôn phải theo dõi, kiểm tra: tình trạng người bệnh, tốc độ truyền; phải ghi nhận, thông báo.

- Luôn chuẩn bị sẵn phương tiện, phác đồ xử trí tai biến.

6.2. Sau truyền:

- Báo cáo kết quả truyền máu.

- Theo dõi sớm và lâu dài để kịp phát hiện sự cố do truyền máu.

7. Theo dõi

7.1. Cần ghi lại tình trạng người bệnh ở từng giai đoạn trong truyền máu:

- Trước khi bắt đầu truyền máu;
- 15 phút sau khi bắt đầu truyền máu;
- Ít nhất mỗi giờ trong quá trình truyền máu;
- Khi truyền máu xong;
- 4 giờ sau khi truyền máu xong.

Ghi lại toàn trạng, các chỉ số sinh tồn của người bệnh tại mỗi giai đoạn trên.

7.2. Ghi chép lại vào phiếu truyền máu:

- Thời gian bắt đầu truyền máu;
- Thời gian hoàn tất truyền máu;

- Thể tích và số lượng tất cả các chế phẩm máu được truyền vào;
- Tất cả các phản ứng phụ có hại xảy ra.

8. NHỮNG TAI BIẾN VÀ XỬ TRÍ

8.1. Phát hiện, xử trí tai biến trong và ngay sau truyền máu:

- Khi xuất hiện các triệu chứng bất thường ở người bệnh, phải ngừng truyền ngay và báo cáo bác sĩ điều trị để xử trí. Khi cần thiết phải mời bác sĩ hoặc người phụ trách của cơ sở cung cấp máu để phối hợp xử trí.

- Trường hợp người bệnh có phản ứng nặng hoặc tử vong có liên quan đến truyền máu thì cơ sở cung cấp máu phải báo cáo ngay với lãnh đạo bệnh viện và cơ sở cung cấp máu để phối hợp tìm nguyên nhân và đề xuất ý kiến giải quyết; lập báo cáo tác dụng không mong muốn liên quan đến truyền máu, bàn giao cho cơ sở cung cấp máu các túi máu, chế phẩm máu, dây truyền máu và các loại thuốc tiêm, dịch truyền khác sử dụng cho người bệnh vào thời điểm xảy ra tác dụng không mong muốn. Thời gian lưu giữ các bệnh phẩm trên và các mẫu máu có liên quan ít nhất là 14 ngày kể từ lúc xảy ra tác dụng không mong muốn.

- Cơ sở cung cấp máu xét nghiệm các mẫu bệnh phẩm để tìm nguyên nhân và lập phiếu xét nghiệm tác dụng không mong muốn liên quan đến truyền máu.

8.2. Phát hiện và xử trí tác dụng không mong muốn chậm sau truyền máu:

Cơ sở điều trị sử dụng máu cần phối hợp với cơ sở cung cấp máu để xác định nguyên nhân tác dụng không mong muốn xảy ra chậm và áp dụng các biện pháp theo dõi và điều trị tích cực theo quy định của Bộ Y tế.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2011) - Sử dụng máu trong lâm sàng - WHO 2021.
2. Bộ Y tế (2013), Thông tư hướng dẫn hoạt động truyền máu số 26/2013/TT-BYT- Hướng dẫn hoạt động truyền máu.
3. Điều dưỡng cơ bản - Nhà xuất bản y học Hà Nội 2007.
4. Kỹ thuật điều dưỡng - Nhà xuất bản y học Hà Nội năm 2006.
5. Hướng dẫn quy trình kỹ thuật bệnh viện - Nhà xuất bản y học Hà Nội năm 2005
6. Viện Huyết học - Truyền máu TW. (2021). Quy trình ISO phiên bản QT.LS.14.05- quy trình kỹ thuật truyền máu và chế phẩm máu.
7. Hướng dẫn sử dụng truyền khối bạch cầu hạt của hiệp hội y tế vương quốc Anh (NHS) năm 2021.
8. Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương (2023), Hướng dẫn chỉ định, sử dụng máu và các chế phẩm máu.

7. RÚT MÁU ĐỂ ĐIỀU TRỊ

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa

Là thủ thuật đưa kim vào mạch máu lấy bỏ đi một lượng máu cần thiết.

1.2. Nguyên lý

Máu trong tĩnh mạch dưới áp lực sẽ chảy vào túi máu khi đưa kim vào tĩnh mạch, sử dụng túi lấy máu có dung tích biết trước để lấy lượng máu theo yêu cầu.

1.3. Mục đích của kỹ thuật

Rút máu nhằm loại bỏ hồng cầu trong máu giúp điều trị (đa hồng cầu, ứ sắt...).

2. CHỈ ĐỊNH

- Đa hồng cầu có hematocrit $> 0,45(1/1)$ ở nam và $> 0,42(1/1)$ ở nữ.
- Quá tải sắt.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định tuyệt đối.

4. THẬN TRỌNG

Người bệnh suy hô hấp, bệnh lý tim mạch, phụ nữ có thai.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sĩ có phạm vi hành nghề phù hợp: 01 người;
- Điều dưỡng: 01 người.

5.2. Thuốc:

- Cơ số thuốc cấp cứu theo quy định.
- Dịch truyền tĩnh mạch.

5.3. Vật tư

- Túi dero lấy máu.
- Phiếu theo dõi thủ thuật thực hiện.
- Dụng cụ để lấy tĩnh mạch ngoại vi: bông, cồn, dây garo, băng dính cố định, găng tay, mũ, khẩu trang bảo hộ....
- Băng đo huyết áp, ống nghe.

5.4. Thiết bị

Giường bệnh, giường lấy máu.

5.5. Người bệnh

- Được giải thích về mục đích, các biến chứng có thể xảy ra trong và sau thủ thuật; được hướng dẫn phối hợp và ký chấp nhận làm thủ thuật.
- Xét nghiệm tế bào máu và các xét nghiệm khác (tùy trường hợp).

5.6. Hồ sơ bệnh án

Có đầy đủ thông tin người bệnh, chẩn đoán và chỉ định rút máu.

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 45-60 phút.

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Tại phòng bệnh, phòng khám.

6. TIẾN HÀNH QUY TRÌNH KỸ THUẬT

6.1. Bước 1: Hướng dẫn người bệnh vào vị trí, tư thế thủ thuật: nằm ngửa, đầu thấp, thoải mái, xác định vị trí chọc kim rút máu.

6.2. Bước 2: Thực hiện rút máu theo các bước sau.

- Kiểm tra túi máu, ghi thông tin người bệnh trên túi, ghi rõ máu hủy, làm một nút thắt mỏng cách kim khoảng 10cm, đảm bảo khi rút máu vẫn chảy được qua nút thắt.

- Ga ro trên vị trí rút máu 7-10 cm, sát trùng vị trí chọc kim.
- Chọc tĩnh mạch cho máu chảy vào túi máu.
- Không tháo dây ga ro để máu chảy vào túi, hướng dẫn người bệnh nắm mở tay nhẹ nhàng để máu chảy nhanh và đều hơn, đến khi đủ lượng máu cần rút.

6.3. Kết thúc rút máu

- Thắt chặt nút thắt đã làm, tháo bỏ ga ro, rút kim, băng cầm máu vị trí chọc.
- Chuyển túi máu hủy theo qui chế rác thải y tế.
- Theo dõi sát người bệnh trong quá trình rút máu và sau rút máu 15 phút.
- Ghi chép tình trạng trước, sau rút máu, toàn thân, mạch nhiệt độ, huyết áp.
- Ghi sổ thủ thuật theo quy định.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Ngất xỉu, hạ huyết áp. Xử lý nằm đầu thấp, thở sâu, rút máu tốc độ chậm lại, trợ tim, trường hợp nặng ngừng tim, ngừng hô hấp (rất hiếm) tiến hành hồi sức nhân tạo ngay.

- Buồn nôn và nôn: sẽ hết dần.
- Co giật hay co cứng cơ: sẽ hết dần.

7.2. Biến chứng muộn

- Nhiễm trùng: Đề dự phòng cần tiến hành thủ thuật trong phòng vô trùng tốt và nếu có nhiễm trùng phải sử dụng kháng sinh theo quy định.

8. CÁC XÉT NGHIỆM MÁU THEO DÕI NGƯỜI BỆNH

8.1. Xét nghiệm trước và ngay sau khi tiến hành thủ thuật

Tổng phân tích tế bào máu: trong khoảng thời gian 24h trước thủ thuật.

8.2. Xét nghiệm theo dõi

Sau khi kết thúc thủ thuật 24h: Tổng phân tích tế bào máu.

9. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Người bệnh thấy dễ chịu.
- Máu rút đủ số lượng theo chỉ định, thủ thuật an toàn.

10. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

10.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Sai người bệnh: Đối chiếu, định danh đúng.

10.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật.

Máu không chảy hay ngắt quãng do vị trí tĩnh mạch lấy máu không phù hợp: Chọn tĩnh mạch lớn, thường là ở khuỷu tay, ga rô đúng cách.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Trung Phần, “Tế bào gốc và bệnh lý tế bào gốc tạo máu, chẩn đoán, phân loại điều trị”, NXB y học, 2008, Tr 291-298.
2. Bài giảng Huyết học – Truyền máu sau đại học “Các bệnh tăng sinh tủy mạn ác tính”, NXB y học, 2006, Tr 138-142.

8. GẠY TIỂU CẦU ĐỂ ĐIỀU TRỊ

1. NGUYÊN LÝ

Hệ thống máy gạn tách hoạt động với nguyên lý li tâm phân lớp theo tỉ trọng: Máu toàn phần của người bệnh được trộn với dung dịch chống đông khi vào máy, hệ thống phân tách máu thành 2 lớp: lớp thứ nhất gồm hồng cầu và bạch cầu, lớp thứ 2 gồm huyết tương giàu tiểu cầu. Hồng cầu và bạch cầu sẽ trả về người bệnh qua dây thoát của hồng cầu. Huyết tương giàu tiểu cầu sẽ được phân tách lần 2. Tiểu cầu đậm đặc sẽ qua khe thu nhận tiểu cầu và theo dây về túi thu nhận. Phần huyết tương còn lại sẽ quay trở về người bệnh theo dây huyết tương.

2. CHỈ ĐỊNH

- Điều trị loại bỏ tiểu cầu khi số lượng tiểu cầu cao (≥ 1000 G/l).
- Loại bỏ tiểu cầu khi tiểu cầu cao kèm theo triệu chứng tắc mạch.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định tuyệt đối.

4. THẬN TRỌNG

- Thận trọng trong trường hợp người bệnh có triệu chứng xuất huyết, người bệnh thiếu máu nặng.
- Người bệnh có rối loạn đông máu (DIC).
- Các tình trạng cấp cứu khác.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sĩ có phạm vi hành nghề phù hợp: 01 người;
- Điều dưỡng: 02 người.

5.2. Thuốc

- Dung dịch chống đông máu ACD - A, túi dung dịch chống đông máu đi cùng bộ kit gạn.
- 1.000 ml – 2.000 ml dung dịch nước muối sinh lý 0,9% để tráng bộ kit trong chương trình gạn tiểu cầu và sử dụng khi cần.
- Hộp chống sốc.
- Calci clorid 10%, glucose 5%.
- Chế phẩm máu: khối hồng cầu trong trường hợp có chỉ định tráng máu.

5.3. Vật tư

- Bộ kit gạn tiểu cầu dùng 1 lần.
- Bộ dụng cụ theo dõi người bệnh: ống nghe, bộ đo huyết áp, máy mornitor.
- Bộ dụng cụ lấy máu tĩnh mạch vô trùng.
- Các vật dụng khác sử dụng trong cả quá trình gạn: quả bóp, dây ga rô, ...

5.4. Thiết bị

- Hệ thống máy lọc máu tự động.
- Bộ mâm ly tâm tiểu cầu.

- Bộ sơ đồ lắp dây dẫn gạn tiểu cầu điều trị kèm theo máy.
- Bộ kit gạn tiểu cầu dùng 1 lần.

5.5. Người bệnh

Giải thích cho người bệnh/ người nhà về thủ thuật: mục đích, quy trình, biến chứng, nguy cơ có thể xảy ra, tiên lượng...

5.6. Hồ sơ bệnh án

- Thông tin người bệnh.
- Chẩn đoán.
- Chỉ định gạn tiểu cầu.

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 150-210 phút.

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng gạn tách khoa lâm sàng/ phòng bệnh (trong trường hợp đặc biệt).

5.9. Kiểm tra hồ sơ

a) Kiểm tra người bệnh: Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng chỉ định...

b) Đặt tư thế người bệnh phù hợp.

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Bước 1: Kiểm tra, đối chiếu

- Kiểm tra chỉ định, cam kết của người bệnh, loại kit gạn...
- Kiểm tra toàn trạng, dấu hiệu sinh tồn người bệnh.

6.2. Bước 2: Đưa người bệnh vào vị trí thủ thuật

Đề người bệnh nằm ngửa, thỏa mái, xác định vị trí lấy ven.

6.3. Bước 3: thực hiện theo quy trình hướng dẫn của hệ thống gồm:

- Chuẩn bị dụng cụ chọc tĩnh mạch;
- Lắp đặt bộ kit tách theo quy trình lắp đặt của máy;
- Tráng dây bộ kit tách tiểu cầu;
- Nhập các thông số theo yêu cầu của chương trình gạn tiểu cầu;
- Kết nối tĩnh mạch người bệnh với bộ kit gạn tiểu cầu;
- Vận hành theo quy trình của máy gạn tiểu cầu, điều chỉnh các thông số kỹ thuật phù hợp với tình trạng bệnh và sức khỏe của người bệnh.

6.4. Bước 4:

- Theo dõi và xử trí lỗi trong quá trình gạn tiểu cầu theo hướng dẫn.
- Theo dõi sản phẩm gạn tách để điều chỉnh các thông số kỹ thuật.
- Theo dõi toàn trạng người bệnh, phát hiện và xử trí kịp thời các sự cố, tai biến, biến chứng của người bệnh.

6.5. Bước 5

- Kết thúc chương trình theo đúng quy trình kỹ thuật của máy;
- Lấy mẫu máu làm xét nghiệm sau khi gạn tiểu cầu, tổng phân tích tế bào máu, các xét nghiệm khác: sinh hóa và đông máu (nếu cần).

6.6. Bước 6: Kết thúc quy trình

- Đánh giá tình trạng người bệnh sau thực hiện kỹ thuật.

- Hoàn thiện ghi chép hồ sơ bệnh án, lưu hồ sơ.
- Bàn giao người bệnh cho bộ phận tiếp theo.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Hạ huyết áp:
 - + Biểu hiện: huyết áp tối đa dưới 90mmHg, hoặc giảm trên 30 mmHg ở người có tăng huyết áp.
 - + Xử trí: Tạm dừng gạn tách, đặt người bệnh nằm đầu thấp, đặt 2 đường truyền dịch tĩnh mạch ngoại vi, truyền dịch NaCl 0,9% hoặc dung dịch cao phân tử, nếu không nâng được huyết áp thì cần sử dụng thuốc vận mạch.
 - Các phản ứng cấp tính do dị ứng chất chống đông: Tùy theo các mức độ biểu hiện trên lâm sàng như mẩn ngứa, sốt, shock... xử trí thuốc theo phác đồ tiêu chuẩn trong “Hướng dẫn xử trí phản vệ của Bộ Y tế”.
 - Hạ calci máu cấp: tê đầu môi, đầu chi, run, co quắp chân tay, vã mồ hôi.
- Xử trí: giảm tốc độ gạn tách, lấy máu mạch xét nghiệm kiểm tra; calci clorid 10% x 1 ống, tiêm tĩnh mạch chậm hoặc pha glucose 5%, truyền tĩnh mạch, có thể lặp lại sau 1 giờ nếu còn triệu chứng.

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Có thể xuất huyết, vỡ tĩnh mạch tại vị trí chọc, xử trí: chườm lạnh ngay.
- Nhiễm trùng: để dự phòng cần tiến hành thủ thuật trong điều kiện vô trùng tốt và nếu có nhiễm trùng phải sử dụng kháng sinh theo quy định.

8. CÁC XÉT NGHIỆM MÁU THEO DÕI NGƯỜI BỆNH

8.1. Xét nghiệm trước và ngay sau khi tiến hành thủ thuật

Xét nghiệm Tổng phân tích tế bào máu, sinh hóa máu (điện giải đồ, calci toàn phần, calci ion...) đông máu trong khoảng 24 giờ trước thủ thuật; ngay sau khi thủ thuật.

8.2. Xét nghiệm theo dõi

Sau khi kết thúc thủ thuật 8h và 24h, tiến hành xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu; xét nghiệm đông máu cơ bản và sinh hóa máu khi cần thiết.

9. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

9.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Định danh sai người bệnh, đặt sai chương trình, sai kit: cần kiểm tra, đổi chiếu người bệnh; thực hiện đúng thao tác chạy máy, kiểm tra bộ kit.

9.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Máy hoạt động gián đoạn do chọn tĩnh mạch không phù hợp: kiểm tra kim, ga ro, lựa chọn thông số kỹ thuật phù hợp với từng tình trạng của người bệnh.

9.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Quên không trả máu về cho người bệnh: thực hiện trả máu ngay.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Vũ Văn Đình, “Hồi sức toàn tập”, Nhà xuất bản y học, 2021, Tr 610-625.
2. Cobespectra apheresis system operators manual.
3. Comtec apheresis system operators manual.
4. Apheresis, 2019

ngoctlv.kcb_Truong Le Van Ngoc_26/11/2022_12:39:00

9. GẠN BẠCH CẦU ĐỂ ĐIỀU TRỊ

1. ĐẠI CƯƠNG

Gạn bạch cầu là một trong những phương pháp điều trị tình trạng tăng bạch cầu, giúp giảm nhanh gánh nặng tế bào bạch cầu nội mạch, cải thiện tưới máu mô, dự phòng và điều trị hội chứng ứ trệ, dự phòng hội chứng ly giải khối u. Mỗi lần gạn bạch cầu có thể làm giảm khoảng 30-60% số lượng bạch cầu lưu hành [1].

Hệ thống máy tách và thu nhận bạch cầu dựa theo nguyên lý ly tâm phân lớp tỉ trọng: máu toàn phần của người bệnh được trộn với dung dịch chống đông tại vị trí máu vào máy; hệ thống ly tâm phân tách máu thành 3 lớp: lớp hồng cầu ở phía ngoài cùng, lớp buffy coat chứa bạch cầu ở giữa và lớp huyết tương giàu tiểu cầu ở trong cùng của buồng ly tâm. Hệ thống sẽ thu nhận bạch cầu từ buồng ly tâm qua dây thu nhận bạch cầu, trong khi đó huyết tương giàu tiểu cầu sẽ theo dây huyết tương để trộn với hồng cầu trả về người bệnh.

2. CHỈ ĐỊNH

Điều trị giảm tế bào lơ xê mi trong các trường hợp:

- Lơ xê mi có số lượng bạch cầu ≥ 100 G/l.
- Tăng bạch cầu kèm theo triệu chứng của hội chứng ứ trệ bạch cầu.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Không có chống chỉ định tuyệt đối.

4. THẬN TRỌNG

- Bệnh bạch cầu cấp thể tiền tủy bào (AML FAB M3) [3].
- Thận trọng trong trường hợp người bệnh có giảm tiểu cầu kèm theo triệu chứng xuất huyết, người bệnh thiếu máu nặng.
- Người bệnh có rối loạn đông máu (DIC).
- Các tình trạng cấp cứu khác.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện:

- Bác sĩ có phạm vi hành nghề phù hợp: 01;
- Điều dưỡng: 02.

5.2. Thuốc

- 1000 ml dung dịch muối sinh lý vô trùng NaCl 0,9% để môi bộ kit.
- Dịch thay thế: nước muối sinh lý vô trùng 0.9%, Albumin 5%, chế phẩm máu (dùng trong trường hợp người bệnh thiếu máu nặng hoặc có nguy cơ trụy mạch, sốc giảm thể tích trong quá trình làm thủ thuật).

5.3. Vật tư

- Dung dịch chống đông máu ACD - A túi thể tích 750ml.
- Bộ dụng cụ lấy máu tĩnh mạch và lấy máu xét nghiệm vô trùng.
- Băng quấn đo huyết áp.
- Bộ kit gạn bạch cầu dùng 1 lần.

5.4. Thiết bị

- Hệ thống máy gạn tế bào tự động.
- Giường thủ thuật hay ghế gạn chuyên dùng.
- Bộ mâm ly tâm một chu trình của máy.
- Bộ sơ đồ lắp dây dẫn gạn bạch cầu điều trị kèm theo máy.

5.5. Người bệnh

Người bệnh/ người nhà được giải thích về mục đích, quy trình để phối hợp; được giải thích nguy cơ có thể xảy ra, tiên lượng và kí đồng ý thực hiện thủ thuật.

5.6. Hồ sơ bệnh án

- Kiểm tra: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng chỉ định
- Lập phiếu thủ thuật.
- Kiểm tra dấu hiệu sinh tồn theo bảng kiểm an toàn của thủ thuật,

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 150-210 phút.

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng gạn tách khoa lâm sàng/ phòng bệnh (trong trường hợp đặc biệt).

6. TIẾN HÀNH QUY TRÌNH KỸ THUẬT [3], [4]

Bước 1: Đưa người bệnh vào vị trí, để tư thế nằm ngửa.

Bước 2: Chuẩn bị dụng cụ đặt đường truyền tĩnh mạch.

Bước 3: Lắp mâm ly tâm, lắp đặt bộ kit gạn theo quy trình lắp đặt của máy.

Bước 4: Lựa chọn quy trình gạn bạch cầu.

Bước 5: Mời bộ kit gạn bạch cầu (tráng dây).

Bước 6: Nhập các thông số theo yêu cầu của chương trình gạn bạch cầu.

Bước 7: Chọc kim, kết nối tĩnh mạch người bệnh với bộ kit gạn bạch cầu.

Bước 8: Vận hành theo quy trình của máy gạn bạch cầu.

Bước 9: Theo dõi người bệnh, theo dõi quá trình chạy máy gạn và xử trí lỗi trong quá trình gạn bạch cầu theo hướng dẫn của từng lỗi.

Bước 10: Kết thúc quy trình:

- Đánh giá tình trạng người bệnh sau thực hiện kỹ thuật gạn.
- Hoàn thiện ghi chép hồ sơ bệnh án, hoàn thiện phiếu thủ thuật, lưu hồ sơ.
- Lấy mẫu máu làm xét nghiệm sau khi gạn bạch cầu: tổng phân tích tế bào máu, sinh hóa và đông máu.
- Bàn giao người bệnh cho bộ phận tiếp theo.

7. THEO DÕI VÀ QUẢN LÝ NGƯỜI BỆNH

7.1. Theo dõi lâm sàng trước, trong và sau khi tiến hành thủ thuật

- Người bệnh: Một bữa ăn nhẹ hoặc một ít đồ uống có thể được khuyến khích trước khi tiến hành thủ thuật gạn bạch cầu.
- Cần đánh giá lâm sàng người bệnh sau gạn và theo dõi:
 - + Các dấu hiệu sinh tồn, đặc biệt đối với người bệnh có triệu chứng hoặc phải truyền máu thay thế.

+ Theo dõi các thông số kỹ thuật của máy gạn tách như tốc độ dòng chảy, cân bằng dịch, thời gian, và xử trí các vấn đề phát sinh trong quá trình gạn.

+ Các thủ tục gạn bạch cầu trước và sau khi gạn cần phải được ghi lại trong hồ sơ bệnh án.

7.2. Theo dõi xét nghiệm

7.2.1. Xét nghiệm trước và ngay sau khi tiến hành thủ thuật

- Trong khoảng thời gian 24h trước khi thủ thuật: Tổng phân tích tế bào máu, sinh hóa máu (điện giải đồ), đông máu cơ bản.

- Ngay sau khi kết thúc thủ thuật: tổng phân tích tế bào máu, đông máu cơ bản, sinh hóa máu.

7.2.2. Xét nghiệm theo dõi

- Sau thủ thuật tại thời điểm 8h và 24h: xét nghiệm tế bào máu, đông máu cơ bản và sinh hóa máu để đánh giá thay đổi và hiệu quả của thủ thuật.

8. NHỮNG SAI SÓT, BIẾN CHỨNG VÀ XỬ TRÍ

8.1. Những sai sót trong quá trình gạn bạch cầu [3], [4]

8.1.1. Áp lực dòng máu vào quá thấp:

- Kiểm tra xem dây garo có thắt đúng không: thắt lại dây garo cho đúng.

- Kim lấy máu bị lệch khỏi tĩnh mạch: chỉnh lại hoặc lấy lại tĩnh mạch.

8.1.2. Áp lực dòng máu trả về quá cao:

- Kiểm tra dây máu trả về có bị gấp hoặc xoắn không: chỉnh lại dây.

- Đường máu về bị lệch kim: chỉnh lại; nếu không được, lấy lại tĩnh mạch khác.

8.2. Những biến chứng thường gặp trong quá trình gạn bạch cầu [5]

8.2.1. *Phản ứng tại chỗ*: Thường là tụ máu do thoát mạch từ tĩnh mạch, do đặt kim không đúng gây đau, xung huyết và sưng tấy. Viêm tĩnh mạch cục bộ và viêm tĩnh mạch huyết khối rất hiếm gặp.

8.2.1. *Phản ứng toàn thân*:

a) *Phản ứng cường phế vị*: có thể do đau khi tiêm tĩnh mạch, hoặc do lo lắng và căng thẳng; thể hiện là xanh xao, đổ mồ hôi, chóng mặt, buồn nôn, hạ huyết áp, nhịp tim chậm và ngất.

b) *Hạ canxi máu do Citrate*: Citrate dùng để chống đông hoặc trong chế phẩm máu thay thế có thể hạ canxi máu. Biểu hiện lâm sàng như ngứa ran, dị cảm da, cơn tetani. Hạ canxi máu nặng có thể làm tăng nguy cơ rối loạn nhịp tim; có thể được dự phòng bằng bổ sung canxi đường uống hoặc tiêm tĩnh mạch. Khi người bệnh có triệu chứng lâm sàng, khuyến cáo tiêm tĩnh mạch chậm 10ml Canxi clorua 10% hoặc Canxi gluconate 10% trong 15 phút; có thể tiêm lại lần 2 nếu thủ thuật kéo dài > 1 giờ.

c) *Nhiễm trùng*: Có thể do ba nguyên nhân chính: (1) giảm globulin miễn dịch sau điều trị khi dịch thay thế chủ yếu là albumin; (2) do sự lây truyền virus từ các chế phẩm máu thay thế; (3) nguyên nhân được xem là phổ biến nhất là những liên quan đến việc tiếp cận mạch máu, quy trình lấy máu không đảm bảo vô khuẩn. Theo dõi dấu hiệu lâm sàng trong vòng 24h sau tiến hành thủ thuật.

- d) *Hạ huyết áp*: Nhiều lý do, bao gồm giai đoạn cường phế vị, bù dịch chậm hoặc không đủ, bù dịch giảm áp lực keo, sốc phản vệ, hội chứng TRALI, rối loạn nhịp tim, xuất huyết và trụy tim mạch. Việc sử dụng các dịch thay thế giảm áp lực keo cũng có thể làm tăng nguy cơ xảy ra các biến cố hạ huyết áp (ví dụ như Albumin 5%). Việc theo dõi lâm sàng trong quá trình tiến hành thủ thuật rất quan trọng phát hiện sớm và xử trí kịp thời các biến chứng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Padmanabhan A., Connelly-Smith L., Aqui N., et al. (2019). Guidelines on the Use of Therapeutic Apheresis in Clinical Practice – Evidence-Based Approach from the Writing Committee of the American Society for Apheresis: The Eighth Special Issue. *J Clin Apheresis*, **34**(3), 171–354.
2. Weinstein R. (2021). Therapeutic Apheresis: Indications, Efficacy, and Complications. *Williams Hematology*. 10, McGraw-Hill Education, New York, NY.
3. TERUMOBTC (2018). Spectra Optia Apheresis System operators manual. .
4. Fresenius HemoCare (2017). Technical Manual for COM.TEC. .
5. Kaplan A. (2012). Complications of Apheresis. *Semin Dial*, **25**(2), 152–158.

10. TRAO ĐỔI HUYẾT TƯƠNG ĐIỀU TRỊ

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa

Trao đổi huyết tương hay còn gọi là thay thế huyết tương (Therapeutic plasma exchange – TPE) là phương pháp tách và loại bỏ một thể tích lớn huyết tương của người bệnh và bù lại bằng dịch thay thế phù hợp (dung dịch albumin hoặc huyết tương đông lạnh hoặc huyết tương tươi đông lạnh).

1.2. Nguyên lý

Ly tâm và tách bỏ huyết tương từ máu của người bệnh, đồng thời truyền trả các thành phần hữu hình của máu cùng với huyết tương người hiến hoặc các dung dịch điện giải thay thế.

1.3. Mục đích của kỹ thuật

Loại bỏ các chất gây bệnh hoặc chất có trọng lượng phân tử lớn ($> 30 - 50.000$ Dal) hoặc liên kết với protein huyết tương mà không thể loại bỏ bằng phương pháp lọc máu: Globulin miễn dịch, paraprotein, lipoprotein, cytokin...

2. CHỈ ĐỊNH

2.1. Bệnh lý thần kinh

- Bệnh nhược cơ nặng;
- Bệnh viêm mạn tính đa dây thần kinh mất myelin;
- Hội chứng Guillain-Barré.

2.2. Bệnh về thận

- Hội chứng Goodpasture;
- Viêm cầu thận ác tính.

2.3. Bệnh về máu

- Hội chứng tăng độ quánh máu: đa u tủy xương, Waldenstrom.
- Thiếu máu tan máu tự miễn;
- Ban xuất huyết giảm tiểu cầu tắc mạch (TTP);
- Ban xuất huyết giảm tiểu cầu sau truyền máu;
- Thiếu máu tan máu ở trẻ sơ sinh do bất đồng nhóm máu mẹ - con.
- Hemophillia có chất ức chế đông máu.

2.4. Bệnh chuyển hoá hay ngộ độc, suy gan nặng

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Không có chống chỉ định tuyệt đối.
- Trường hợp thiếu máu, giảm tiểu cầu (cần bổ sung máu và tiểu cầu trong quá trình trao đổi huyết tương).

4. THẬN TRỌNG

Người bệnh suy hô hấp, suy tuần hoàn và nhiễm trùng nặng.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sĩ có phạm vi hành nghề phù hợp: 01 người;

- Điều dưỡng: 01 người;
- Kỹ sư phụ trách máy trao đổi huyết tương (hỗ trợ): 01 người.

5.2. Thuốc

- Cơ sở thuốc cấp cứu theo quy định.
- Thuốc phòng hạ Calci máu: calciclorid 10%, dung dịch glucose 5% 250ml.
- Thuốc chống dị ứng, chống sốc: Dimedrol 10mg, Methylprednisolon 40mg, dexamethasone 4mg
- NaCl 9 ‰: 3 lít (6 chai x 500ml); 2-4 ống CaCl₂ 0,5 g để bổ sung Calci trong quá trình trao đổi huyết tương,
- Dung dịch chống đông.
- Dung dịch thay thế theo chỉ định của bác sĩ: Huyết tương đông lạnh, huyết tương tươi đông lạnh, hoặc albumin.
- Khối hồng cầu, tiểu cầu (nếu người bệnh có thiếu máu hay giảm tiểu cầu).

5.3. Vật tư

- Vật tư tiêu hao tùy từng máy sử dụng và quy định của hãng sản xuất.
- Phiếu theo dõi thủ thuật thực hiện.
- Dụng cụ để lấy tĩnh mạch ngoại vi: bông, cồn, dây garo, băng dính cố định, găng tay, mũ, khẩu trang bảo hộ...
- Băng đo huyết áp, ống nghe.
- Nếu dùng đường tĩnh mạch trung tâm: bộ dụng cụ đã tiệt trùng để đặt catheter, theo quy trình tiêu chuẩn.

5.4. Thiết bị

- Một máy trao đổi huyết tương.

5.5. Người bệnh hoặc người nhà người bệnh

- Được giải thích kỹ về mục đích, các biến chứng có thể xảy ra trong và sau thủ thuật, và phải ký vào giấy cam kết chấp nhận làm thủ thuật điều trị.
- Được xét nghiệm máu tế bào máu, các xét nghiệm Viêm gan virus B, C, HIV; xét nghiệm khác nếu cần (tùy theo từng bệnh).

5.6. Hồ sơ bệnh án

- Có đầy đủ thông tin người bệnh: họ tên, ngày tháng năm sinh, địa chỉ, thông tin người liên lạc, số giường, số phòng.
- Chẩn đoán bệnh, chỉ định thuốc, số lượng dịch thay thế.

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 150-210 phút (tùy lượng dịch thay thế được sử dụng).

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng gan tách khoa lâm sàng/ phòng bệnh (trong trường hợp đặc biệt).

5.9. Kiểm tra hồ sơ

- Kiểm tra người bệnh: Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện kỹ thuật...
- Thực hiện bảng kiểm an toàn phẫu thuật, thủ thuật.
- Đặt tư thế người bệnh.

6. TIẾN HÀNH QUY TRÌNH KỸ THUẬT

Bước 1: Tính toán cụ thể số lượng dịch thay thế, thường thể tích dịch thay thế sẽ bằng hoặc gấp 1.5 – 2 lần thể tích huyết tương người bệnh.

Bước 2: Chuẩn bị máy thực hiện, chọn chương trình, kết thực hiện trao đổi.

Bước 3: Lắp kit vào máy; nhập thông tin, đưa người bệnh vào vị trí thủ thuật.

Bước 4: Kết nối người bệnh với máy: lấy tĩnh mạch vị trí thuận lợi.

Bước 5: Lập đường truyền tĩnh mạch song song để cấp cứu khi cần thiết.

Bước 6: Bắt đầu quá trình trao đổi huyết tương.

Bước 7: Kết thúc quy trình

- Đánh giá tình trạng người bệnh sau thực hiện kỹ thuật.
- Hoàn thiện hồ sơ bệnh án, lưu hồ sơ.
- Bàn giao người bệnh cho bộ phận tiếp theo.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Hạ huyết áp:

+ Biểu hiện: huyết áp tối đa dưới 90mmHg hoặc giảm trên 30 mmHg ở người có tăng huyết áp.

+ Xử trí: tạm dừng gạn tách, đặt người bệnh nằm đầu thấp, đặt 2 đường truyền dịch tĩnh mạch ngoại vi, truyền dịch NaCl 0,9% hoặc dung dịch cao phân tử, nếu không nâng được huyết áp thì cần sử dụng thuốc vận mạch.

- Các phản ứng cấp tính do dị ứng chất chống đông: tùy theo các mức độ biểu hiện trên lâm sàng như mẩn ngứa, sốt, shock... xử trí thuốc theo phác đồ tiêu chuẩn trong “Hướng dẫn xử trí phản vệ” của Bộ Y tế.

- Hạ calci máu cấp: tê đầu môi, đầu chi, run, co quắp chân tay, vã mồ hôi. Xử trí: giảm tốc độ gạn tách, lấy máu mạch xét nghiệm kiểm tra; calci clorid 10% x 1 ống, tiêm tĩnh mạch chậm hoặc pha glucose 5%, truyền tĩnh mạch, có thể lặp lại sau 1 giờ nếu còn triệu chứng.

- Các phản ứng không mong muốn cấp tính khi truyền các chế phẩm máu thay thế: tùy theo các mức độ biểu hiện trên lâm sàng mà xử trí.

- Chảy máu: thường gặp khi người bệnh có số lượng tiểu cầu thấp hay các rối loạn đông máu, xử trí truyền tiểu cầu hay các chế phẩm phù hợp.

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Hạ huyết áp: truyền dịch NaCl 0,9%, theo dõi dấu hiệu sinh tồn.

- Mệt mỏi: nghỉ ngơi tại chỗ, theo dõi các dấu hiệu sinh tồn.

7.3. Biến chứng muộn

Nhiễm trùng: để dự phòng cần tiến hành thủ thuật trong phòng vô trùng tốt và nếu có nhiễm trùng phải sử dụng kháng sinh theo quy định.

8. CÁC XÉT NGHIỆM MÁU THEO DÕI NGƯỜI BỆNH

8.1. Xét nghiệm trước và ngay sau khi tiến hành thủ thuật

Trong khoảng thời gian 24h trước thủ thuật và ngay sau thủ thuật: Tổng phân tích tế bào máu, đông máu cơ bản, sinh hóa máu.

8.2. Xét nghiệm theo dõi

Sau thủ thuật 8h và 24h: tổng phân tích tế bào máu, đông máu cơ bản và sinh hóa máu.

9. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

9.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Nhầm lẫn người bệnh, nhầm kit (loại kit, loại máy):

Đối chiếu các thông tin định danh người bệnh; kiểm tra kỹ loại kit, tránh nhầm với kit gạn tiểu cầu, bạch cầu và tương thích với loại máy.

- Sai chống đông: kiểm tra chống đông phù hợp với từng máy, hạn dùng.

- Lựa chọn sai chương trình trên máy: kiểm tra đúng chỉ định và lựa chọn chương trình trao đổi huyết tương (TPE).

- Sai số lượng và nhóm máu của đơn vị huyết tương sử dụng: kiểm tra lại chỉ định của bác sĩ, định nhóm đơn vị huyết tương trước trao đổi.

9.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật.

Vị trí chọc tĩnh mạch không thuận lợi, máy hoạt động gián đoạn: chọn vị trí chọc phù hợp, ga rô đúng kỹ thuật để tăng áp lực vị trí lấy máu ra.

9.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Quên không trả máu về cho người bệnh: trả lại máu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Guidelines on the Use of Therapeutic Apheresis in Clinical Practice – Evidence-Based Approach from the Writing Committee of the American Society for Apheresis: The Ninth Special Issue, Journal of Clinical Apheresis* 38: 77-278 (2023).

11. ĐÁNH GIÁ TẠO CỤM TẾ BÀO ĐỂ CHẨN ĐOÁN BỆNH LÝ CƠ QUAN TẠO MÁU

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá khả năng sinh sản, biệt hóa của tế bào gốc tạo máu từ dịch tủy xương hoặc máu ngoại vi của người bệnh, qua đó định hướng chẩn đoán bệnh.

1.2. Nguyên lý

Cấy tế bào vào môi trường có các yếu tố kích thích tăng trưởng trong khoảng thời gian thích hợp để quan sát sự tăng sinh và biệt hóa của chúng thành các loại cụm khác nhau, qua đó đánh giá được tiềm năng của mẫu tế bào đã cấy. Môi trường đầy đủ chất kích thích tăng trưởng để khảo sát khả năng tạo cụm ở điều kiện tối ưu, các môi trường giảm bớt chất kích thích tăng trưởng để khảo sát khả năng tạo cụm ở các điều kiện khác nhau.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sĩ/ kỹ thuật y đọc kết quả: tối thiểu 01 người.
- Kỹ thuật y thực hiện kỹ thuật: tối thiểu 02 người.

2.2. Vật tư, sinh phẩm

2.2.1. Vật tư:

- Bơm tiêm, kim lùn;
- Đĩa Petri nhỏ đường kính $d=35\text{mm}$;
- Đĩa Petri lớn đường kính $d=100\text{mm}$;
- Ống nghiệm vô trùng có nắp (thể tích 5ml);
- Ống nghiệm vô trùng 1,5ml;
- Các loại pipet, đầu côn tương ứng;
- Áo giấy liền quần, mũ, bao giày vô trùng, găng tay vô trùng.

2.2.2. Sinh phẩm:

- Môi trường nuôi cấy có chất nền là methylcellulose, kèm theo các chất dinh dưỡng và loại chất kích thích tăng trưởng phù hợp, gồm các loại sau:
 - + Môi trường có đầy đủ các chất kích thích tăng trưởng cho dòng bạch cầu, hồng cầu.
 - + Môi trường chỉ chứa chất kích thích tăng trưởng dòng hồng cầu.
 - + Môi trường không có chất kích thích tăng trưởng.
- + Môi trường được bảo quản ở nhiệt độ âm 25°C đến âm 15°C , trước khi sử dụng cần rã đông bằng cách để ở nhiệt độ $2-8^{\circ}\text{C}$ qua đêm hoặc để ở nhiệt độ phòng ($15-25^{\circ}\text{C}$) đến khi rã đông hết. (Chú ý: KHÔNG rã đông nhanh môi trường ở 37°C).
- Nước cất.
- Dung dịch NaCl 9‰ vô trùng.
- Cồn 70° ;

- Dung dịch Lysing 1X.

2.3. Thiết bị, dụng cụ

- Phòng nuôi cấy vô trùng;
- Tủ an toàn sinh học;
- Tủ nuôi cấy tế bào cài đặt ở điều kiện nhiệt độ 37°C, nồng độ CO₂ 5%;
- Bình cấp CO₂;
- Máy đếm tế bào;
- Kính hiển vi đảo ngược;
- Máy ly tâm;
- Máy lắc trộn.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại mẫu bệnh phẩm: máu ngoại vi (MNV); dịch tủy xương (DTX).
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
 - + Thành phần chống đông: Heparin;
 - + Mẫu phù hợp;
 - + Bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C, dưới 24 giờ trước khi xét nghiệm.

2.5. Hồ sơ

Yêu cầu phiếu chỉ định kỹ thuật có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật:

- Thời gian thực hiện nuôi cấy: trung bình 90 phút;
- Thời gian theo dõi quá trình nuôi cấy: trung bình 14 ngày;
- Thời gian đọc kết quả, trả kết quả: trung bình 30 phút.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật.

Phòng xét nghiệm nuôi cấy sạch đạt tiêu chuẩn an toàn sinh học.

3. AN TOÀN

- Mặc đồ bảo hộ vô trùng gồm quần áo bọc toàn thân, khẩu trang, găng tay, bao giày giấy trong tất cả quá trình tiếp xúc trực tiếp với mẫu, sinh phẩm.
- Thực hiện xét nghiệm trong phòng nuôi cấy vô trùng.
- Thao tác đúng quy trình, chính xác và đảm bảo vô khuẩn.
- Khu vực thao tác mẫu và các thiết bị sau khi xét nghiệm xong phải được khử trùng bằng dung dịch chuyên dụng.
- Các dụng cụ khi tiếp xúc với mẫu huyết thanh, máu và bệnh phẩm được ngâm trong dung dịch Javel (NaClO 5g/l) trong vòng 24 giờ.
- Ghi rõ ngày nhận, mở hóa chất.
- Hóa chất chưa sử dụng được sắp xếp gọn gàng, phân loại rõ ràng.
- Đọc kỹ nhãn mác hóa chất trước khi sử dụng.
- Hóa chất thải bỏ được đổ, để đúng nơi quy định.
- Theo dõi nhiệt độ, độ ẩm phòng nuôi cấy, nhiệt độ, nồng độ CO₂ tủ nuôi cấy hằng ngày.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Phá hồng cầu

- Ly tâm nhẹ ống chứa mẫu hoặc để lắng tối thiểu 1 giờ.
- Tính số lượng tế bào đơn nhân (MNC) trong mẫu dựa vào công thức máu của mẫu;
- Thực hiện phá vỡ hồng cầu bằng cách: thêm 2-3 ml dung dịch Lysing 1X vào ống nghiệm chứa mẫu, vortex, ủ trong 10 phút ở nhiệt độ phòng;
- Ly tâm 3000 vòng/phút trong 5 phút, thu cạn, đổ bỏ dịch thừa. Lặp lại bước Lysing này cho đến khi cạn dưới đáy và huyền dịch không còn màu đỏ;
- Rửa bằng cách bổ sung 2 ml dung dịch NaCl 9%, trộn đều, ly tâm và đổ bỏ dịch thừa thu cạn.
- Thêm 500 μ l NaCl 9% để tái huyền dịch lại.
- Đếm số lượng bạch cầu bằng máy đếm tế bào để làm cơ sở thực hiện các bước tiếp theo.

4.1.2. Pha loãng mẫu, trộn mẫu với môi trường

- Thể tích sau khi kết thúc bước phá hồng cầu: 500 μ l.
- Hút 40 μ l để đếm số lượng tế bào (còn lại 460 μ l), dựa trên số lượng tế bào đơn nhân đếm được trộn với môi trường, nhằm đạt được số lượng tế bào cần thiết.

Nguồn tế bào	Lượng tế bào trong 1 đĩa 35mm	Lượng tế bào trong 1 đĩa 35mm
	(Môi trường có đầy đủ các chất kích thích tăng trưởng cho dòng bạch cầu, hồng cầu)	(Môi trường chỉ chứa chất kích thích tăng trưởng dòng hồng cầu và môi trường không có chất kích thích tăng trưởng)
MNC dịch tủy xương	2×10^5 ($1 \times 10^5 - 5 \times 10^5$)	4×10^5 ($2 \times 10^5 - 10 \times 10^5$)
MNC máu ngoại vi	2×10^6 ($1 \times 10^6 - 2 \times 10^6$)	4×10^6 ($2 \times 10^6 - 4 \times 10^6$)

4.1.3. Cấy mẫu

- Chuẩn bị 3 đĩa petri lớn và 9 đĩa petri nhỏ. Đặt 3 đĩa nhỏ vào mỗi đĩa lớn. Trong đó 2 đĩa nhỏ ghi tên mẫu, đĩa cấy số 1 và 2.
- Nắp đĩa lớn ghi rõ tên mẫu, tên môi trường nuôi cấy, ngày cấy, người cấy, nồng độ tế bào cấy.
- Dùng bơm tiêm và kim luôn hút và cấy 1,1 ml mẫu/1 đĩa vào 2 đĩa cấy số 1 và 2, dàn đều mẫu, tránh tạo bọt, đập nắp.
- Thêm nước vô trùng đầy $\frac{2}{3}$ đĩa nhỏ còn lại, không đập nắp.
- Đập nắp đĩa lớn.

4.1.4. Nuôi cấy, theo dõi

- Chuyển đĩa vào tủ nuôi cấy.

- Bổ sung đủ nước vào khay ở đáy tủ (nếu cần).
- Thời gian nuôi cấy: 14 ngày.
- Theo dõi nhiệt độ, nồng độ CO₂ của tủ nuôi cấy hằng ngày.

4.1.5. Đọc kết quả nuôi cấy và trả kết quả

- Sau 14 ngày, lấy mẫu ra khỏi tủ nuôi cấy.
- Đọc lần lượt từng đĩa dưới kính hiển vi đảo ngược, tiến hành bởi 2 người đọc, kết quả cuối cùng là kết quả trung bình của 2 người đọc.
- Chụp ảnh một số cụm điển hình vào máy tính kết nối với kính hiển vi đảo ngược.
- Tính toán số lượng cụm có trong khối tế bào gốc.

4.2. Nhận định kết quả

- Xác định và phân biệt các loại cụm dưới kính hiển vi quang học đảo ngược:

- + BFU-E (Burst Forming Unit-erythrocyte): đơn vị tạo cụm hồng cầu lớn, mỗi cụm có ≥ 200 nguyên hồng cầu, đứng thành một hoặc nhiều đám, có màu hồng, các tế bào đứng sát nhau, ranh giới không rõ, vùng rìa của cụm thường gọn.

+ CFU-E (Colony Forming Unit- erythrocyte): đơn vị tạo cụm hồng cầu nhỏ, đặc điểm tương tự BFU-E nhưng kích thước nhỏ hơn, có bao gồm 8 đến 200 nguyên hồng cầu.

+ CFU-GM (Colony Forming Unit-Granulocyte/Macrophage): đơn vị tạo cụm bạch cầu, mỗi cụm bao gồm ≥ 40 bạch cầu, màu trắng đục, các tế bào đứng cạnh nhau ranh giới thường rõ, vùng rìa thường không đều.

+ CFU-Mix (Colony Forming Unit - Mixed): một cụm lớn, thường bao hàm cụm BFU-E và CFU-GM.

- Nhận định về số lượng cụm:

- + Nghèo cụm tế bào: < 10 cụm/đĩa 35 mm.
- + Mật độ cụm giảm: 10-49 cụm/đĩa 35 mm.
- + Mật độ cụm trung bình: 50-100 cụm/đĩa 35 mm.
- + Giàu cụm tế bào: > 100 cụm/đĩa 35 mm.

- Nhận định về chất lượng cụm:

+ Hồng cầu

* Bình thường: các cụm hồng cầu có màu đỏ đặc trưng của hemoglobin, chỉ xuất hiện ở môi trường có chất kích thích tăng trưởng hồng cầu.

* Bệnh lý: cụm hồng cầu còn hình dạng đặc trưng nhưng mất màu, nhạt màu hemoglobin, hoặc xuất hiện trong môi trường không có chất kích thích tăng trưởng EPO hoặc không mọc trong môi trường đã có đầy đủ chất tăng trưởng.

+ Bạch cầu:

* Bình thường: các cụm đứng tập trung, thành cụm điển hình, có thể xuất hiện ở cả môi trường đầy đủ hoặc không có các chất kích thích tăng trưởng.

* Bệnh lý: các tế bào đứng phân tán, không rõ thành cụm, không mọc.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.
- Xem xét và ký duyệt kết quả.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
Hành chính	Nhầm mẫu, nhầm tên	Đối chiếu thông tin mẫu và chỉ định	Sửa thông tin
Chất lượng mẫu	Mẫu lấy không đúng loại chống đông	Kiểm tra ống chứa mẫu	Lấy lại mẫu
Chất lượng mẫu	Mẫu sau rã đông không xử lý ngay	Đối chiếu thời gian rã đông mẫu	Lấy lại mẫu
Nhân viên xét nghiệm	Tính toán chia mẫu không đúng nồng độ	Kiểm tra công thức chia theo số liệu trong hồ sơ lưu	Tính toán lại

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
Thiết bị, dụng cụ	Không khử trùng đầy đủ khi mở tủ nuôi cấy gây nhiễm trùng các mẫu đang chứa trong tủ	Môi trường nuôi cấy có khuẩn lạc, không giữ được màu chỉ thị bình thường	+ Khử trùng lại tủ nuôi cấy + Cây lại
Thiết bị, dụng cụ	Bề mặt môi trường đĩa không giữ ổn định ở vị trí nằm ngang hoặc va chạm mạnh có thể gây vỡ môi trường, trôi các cụm tế bào	Tư thế tủ không nằm ngang mà nằm nghiêng Bề mặt môi trường trong các đĩa không cân bằng, bị lệch sang một bên, các cụm đứng không rõ	+ Điều chỉnh cân bằng tủ + Cây lại
Hóa chất, sinh phẩm	Môi trường nuôi cấy không đạt yêu cầu	Môi trường có màu sắc, tính chất bất thường	+ Thay môi trường + Cây lại
Thiết bị, dụng cụ	Không dùng đúng loại đĩa petri phù hợp	Nuôi cấy không mọc đúng mật độ mong muốn	+ Đổi loại đĩa + Cây lại
Nhân viên xét nghiệm	Thao tác không đảm bảo vô khuẩn	Môi trường nuôi cấy có khuẩn lạc, không giữ được màu chỉ thị bình thường	+ Đào tạo lại + Cây lại

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
Phân tích kết quả	Không đọc kết quả đúng thời gian quy định	Đối chiếu thời gian bắt đầu nuôi cấy	+ Để thêm thời gian nếu chưa đủ + Cấy mẫu lại nếu quá thời gian
Phân tích kết quả	Bỏ sót các quần thể ở các vị trí mặt cong sát rìa đĩa	Sai lệch kết quả đọc giữa 2 người $\geq 10\%$	Xin ý kiến người có trách nhiệm

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Sau 14 ngày nuôi cấy trên đĩa có cụm tế bào.
- Không bị nhiễm khuẩn.
- Hồ sơ xét nghiệm được lưu đầy đủ, rõ ràng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Emer Clarke (2009). Colony forming cell assays for determining potency of cellular therapy products. Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation, Bethesda, MD:AABB, chapter 48, p.573-580.
2. Bộ Y tế (2014). Nuôi cấy cụm tế bào gốc tạo máu. Hướng dẫn quy trình kỹ thuật khám bệnh, chữa bệnh chuyên ngành Huyết học – Truyền máu, Miễn dịch-Di truyền-Sinh học phân tử, trang 374-376.

12. ĐÁNH GIÁ TẠO CỤM TẾ BÀO GỐC TẠO MÁU BẰNG NUÔI CẤY

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá khả năng tạo cụm tế bào gốc tạo máu bằng phương pháp nuôi cấy tạo cụm tế bào.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Cấy tế bào gốc vào môi trường có các yếu tố kích thích tăng trưởng trong khoảng thời gian và các điều kiện nhiệt độ, CO₂ thích hợp để quan sát sự tăng sinh và biệt hóa của chúng thành các loại cụm khác nhau, qua đó đánh giá được tiềm năng của mẫu tế bào gốc đã cấy.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sĩ/ kỹ thuật y đọc kết quả: tối thiểu 01 người.
- Kỹ thuật y thực hiện kỹ thuật: tối thiểu 02 người.

2.2. Vật tư, sinh phẩm

- Vật tư:
 - + Bơm tiêm, kim lùn;
 - + Đĩa Petri đường kính d=35mm;
 - + Đĩa Petri đường kính d=100mm;
 - + Ống nghiệm vô trùng có nắp (thể tích 5ml);
 - + Microtube 1,5ml;
 - + Micropipette;
 - + Đầu côn cho Micropipet;
 - + Áo giấy liền quần, mũ, bao giày vô trùng;
 - + Găng tay vô trùng.
- Hóa chất:
 - + Môi trường methylcellulose có đầy đủ các yếu tố kích thích tăng trưởng cho dòng bạch cầu, hồng cầu;
 - + Môi trường bảo quản ở nhiệt độ âm 25°C đến âm 15°C, trước khi sử dụng cần rã đông bằng cách để ở nhiệt độ 2-8°C qua đêm hoặc để ở nhiệt độ phòng (15-25°C) đến khi rã đông hết. (Chú ý: KHÔNG rã đông nhanh môi trường ở 37°C);
 - + Nước cất;
 - + Dung dịch NaCl 9‰ vô trùng;
 - + Cồn 70°;
 - + Dung dịch lysing (NH₄Cl) 1X (cho trường hợp mẫu tươi cần phá hồng cầu).

2.3. Thiết bị, dụng cụ

- Phòng nuôi cấy vô trùng;
- Tủ an toàn sinh học;
- Tủ nuôi cấy tế bào cài đặt ở điều kiện nhiệt độ 37°C, nồng độ CO₂ 5%;

- Bình CO₂;
- Kính hiển vi đảo ngược;
- Máy vortex.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại mẫu bệnh phẩm: máu dây rốn (MDR); máu ngoại vi (MNV) sau gạn tách; dịch tủy xương (DTX) trước xử lý, sau xử lý hoặc sau bảo quản đông lạnh.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
 - + Mẫu MDR, MNV sau gạn tách, DTX có thành phần chống đông là Citrate/Heparin.
 - + Lượng mẫu tối thiểu cần dùng để cấy cùm là 1000 TB CD34/mẫu đối với MNV, DTX và 10×10^4 TBCN/mẫu đối với MDR.
 - + Nếu mẫu cấy là mẫu trước xử lý: cần sử dụng Lysing 1X để phá hồng cầu trước khi cấy cùm.
 - + Nếu mẫu cấy là mẫu đông lạnh: cần cấy ngay trong vòng 10 phút sau rã đông.

2.5. Hồ sơ

Yêu cầu phiếu chỉ định kỹ thuật có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật:

- Thời gian thực hiện nuôi cấy: trung bình 60 phút;
- Thời gian theo dõi quá trình nuôi cấy: 14 ngày;
- Thời gian đọc kết quả, trả kết quả: trung bình 30 phút.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng xét nghiệm nuôi cấy sạch đạt tiêu chuẩn an toàn sinh học.

3. AN TOÀN

- Mặc đồ bảo hộ vô trùng gồm quần áo bọc toàn thân, khẩu trang, găng tay, bao giày giấy trong tất cả quá trình tiếp xúc trực tiếp với mẫu, sinh phẩm.
- Thực hiện xét nghiệm trong phòng nuôi cấy vô trùng.
- Thao tác đúng quy trình, chính xác và đảm bảo vô khuẩn.
- Khu vực thao tác mẫu và các thiết bị sau khi xét nghiệm xong phải được khử trùng bằng dung dịch chuyên dụng.
- Các dụng cụ khi tiếp xúc với mẫu huyết thanh, máu và bệnh phẩm được ngâm trong dung dịch Javel (NaClO 5g/l) trong vòng 24 giờ.
- Ghi rõ ngày nhận, mở hóa chất.
- Hóa chất chưa sử dụng được sắp xếp gọn gàng, phân loại rõ ràng.
- Đọc kỹ nhãn mác hóa chất trước khi sử dụng.
- Hóa chất thải bỏ được đổ, để đúng nơi quy định.
- Theo dõi nhiệt độ, độ ẩm phòng nuôi cấy, nhiệt độ, nồng độ CO₂ tủ nuôi cấy hằng ngày.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Pha loãng mẫu

- Lấy thông tin số lượng bạch cầu ban đầu, số lượng tế bào CD34 của mẫu, thể tích trước xử lý và thể tích túi tế bào gốc lưu trữ (nếu có).
- Tính toán thể tích dung dịch pha loãng về nồng độ:
 - + 4×10^4 TBCN/đĩa với MDR đông lạnh;

- + 2×10^4 TBCN/đĩa với MDR tươi;
- + 250 TB CD34/đĩa với MNV đông lạnh;
- + 100 TB CD34/đĩa với MNV tươi.

- Rã đông nhanh đối với mẫu bảo quản đông lạnh, lấy lượng mẫu cần thiết pha với NaCl 9‰ vô trùng để đạt số tế bào theo tính toán trên cho mỗi đĩa cấy. (cần đạt nồng độ như tính toán trên trong 100 μ l).

4.1.2. Cấy mẫu

- Bổ sung 250 μ l mẫu đã pha loãng vào ống chứa 2,5 ml môi trường nuôi cấy đã rã đông, lắc đều bằng tay trong tối thiểu 30 giây, để ống theo phương thẳng đứng trong giá ít nhất 1 phút cho bọt nổi lên bề mặt môi trường.

- Chuẩn bị 1 đĩa Petri lớn và 3 đĩa nhỏ. Đặt 3 đĩa nhỏ vào đĩa lớn. Trong đó 2 đĩa nhỏ ghi tên mẫu, đĩa cấy số 1 và 2. Nắp đĩa lớn ghi rõ tên mẫu, ngày cấy, người cấy, nồng độ tế bào cấy.

- Dùng kim luôn hút và cấy 1,1 ml mẫu/1 đĩa vào 2 đĩa cấy số 1 và 2, dàn đều mẫu, tránh tạo bọt, đập nắp.

- Thêm nước vô trùng đầy $\frac{2}{3}$ đĩa nhỏ còn lại, không đập nắp.

- Đập nắp đĩa lớn.

4.1.3. Nuôi cấy, theo dõi

- Chuyển đĩa vào tủ nuôi cấy.

- Bổ sung đủ nước vào khay ở đáy tủ (nếu cần).

- Thời gian nuôi cấy: 14 ngày,

- Theo dõi nhiệt độ, nồng độ CO₂ của tủ nuôi cấy hằng ngày.

4.1.4. Đọc kết quả nuôi cấy và trả kết quả

- Sau 14 ngày, lấy mẫu ra khỏi tủ nuôi cấy.

- Đọc lần lượt từng đĩa dưới kính hiển vi đảo ngược, tiến hành bởi 2 người đọc, kết quả cuối cùng là kết quả trung bình của 2 người đọc.

- Chụp ảnh một số cụm điển hình vào máy tính kết nối với kính hiển vi đảo ngược.

- Tính toán số lượng cụm có trong khối tế bào gốc.

4.2. Nhận định kết quả

Xác định và phân biệt các loại cụm dưới kính hiển vi quang học đảo ngược:

- BFU-E (Burst Forming Unit-erythrocyte): cụm hồng cầu lớn, mỗi cụm có ≥ 200 nguyên hồng cầu, đứng thành một hoặc nhiều đám, có màu hồng, các tế bào đứng sát nhau, ranh giới không rõ, vùng rìa của cụm thường gọn.

- CFU-E (Colony Forming Unit- erythrocyte): cụm hồng cầu nhỏ, đặc điểm tương tự BFU-E nhưng kích thước nhỏ hơn, có bao gồm 8 đến 200 nguyên hồng cầu.

- CFU-GM (Colony Forming Unit-Granulocyte/Macrophage): cụm bạch cầu, mỗi cụm bao gồm ≥ 40 bạch cầu, màu trắng đục, các tế bào đứng cạnh nhau ranh giới thường rõ, vùng rìa thường không đều.

- CFU-Mix (Colony Forming Unit – Mixed): cụm hỗn hợp có tiềm năng tăng sinh thành hầu hết các dòng tế bào tạo máu, cấu tạo gồm một tập hợp cụm kích thước lớn, có cụm BFU-E ở vùng trung tâm và cụm CFU-GM mọc lan tỏa xung quanh.

- Tổng số cụm 2 người đọc không chênh lệch quá 10% thì đạt tiêu chuẩn.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

- Xem xét và ký duyệt kết quả.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
Hành chính	Nhầm mẫu, nhầm tên	Đối chiếu thông tin mẫu và chỉ định	Sửa thông tin
Chất lượng mẫu	Mẫu lấy không đúng loại chống đông	Kiểm tra ống chứa mẫu	Lấy lại mẫu
Chất lượng mẫu	Mẫu sau đã đông không xử lý ngay	Đối chiếu thời gian đã đông mẫu	Lấy lại mẫu
Nhân viên xét nghiệm	Tính toán chia mẫu không đúng nồng độ	Kiểm tra công thức chia theo số liệu trong hồ sơ lưu	Tính toán lại

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
Thiết bị, dụng cụ	Không khử trùng đầy đủ khi mở tủ nuôi cấy gây nhiễm trùng các mẫu đang chứa trong tủ	Môi trường nuôi cấy có khuẩn lạc, không giữ được màu chỉ thị bình thường	+ Khử trùng lại tủ nuôi cấy + Cấy lại
Thiết bị, dụng cụ	Bề mặt môi trường đĩa không giữ ổn định ở vị trí nằm ngang hoặc va chạm mạnh có thể gây vỡ môi trường, trôi các cụm tế bào	+ Tư thế tủ không nằm ngang mà nằm nghiêng + Bề mặt môi trường trong các đĩa không cân bằng, bị lệch sang một bên, các cụm đứng không rõ	+ Điều chỉnh cân bằng tủ + Cấy lại

Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
Hóa chất, sinh phẩm	Môi trường nuôi cấy không đạt yêu cầu	Môi trường có màu sắc, tính chất bất thường	+ Thay môi trường + Cây lại
Thiết bị, dụng cụ	Không dùng đúng loại đĩa petri phù hợp	Nuôi cấy không mọc đúng mật độ mong muốn	+ Đổi loại đĩa + Cây lại
Nhân viên xét nghiệm	Thao tác không đảm bảo vô khuẩn	Môi trường nuôi cấy có khuẩn lạc, không giữ được màu chỉ thị bình thường	+ Đào tạo lại + Cây lại

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
Phân tích kết quả	Không đọc kết quả đúng thời gian quy định	Đổi chiếu thời gian bắt đầu nuôi cấy	+ Để thêm thời gian nếu chưa đủ + Cây mẫu lại nếu quá thời gian
Phân tích kết quả	Bỏ sót các quần thể ở các vị trí mặt cong sát rìa đĩa	Sai lệch kết quả đọc giữa 2 người $\geq 10\%$	Xin ý kiến người có trách nhiệm

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Sau 14 ngày nuôi cấy trên đĩa có cụm tế bào;
- Không bị nhiễm khuẩn;
- Hồ sơ xét nghiệm được lưu đầy đủ, rõ ràng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Emer Clarke (2009). Colony forming cell assays for determining potency of cellular therapy products. Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation, Bethesda, MD:AABB, chapter 48, p.573-580.
2. Bộ Y tế (2014). Nuôi cấy cụm tế bào gốc tạo máu. Hướng dẫn quy trình kỹ thuật khám bệnh, chữa bệnh chuyên ngành Huyết học – Truyền máu, Miễn dịch-Di truyền-Sinh học phân tử, trang 374-376.

13. XÁC ĐỊNH TỶ LỆ TẾ BÀO SỐNG BẰNG MÁY TỰ ĐỘNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá tỷ lệ sống của tế bào có nhân trong mẫu xét nghiệm, qua đó đánh giá chất lượng mẫu và hiệu quả của các can thiệp liên quan.

1.2. Nguyên lý

Dựa trên nguyên lý tế bào sống có màng còn nguyên vẹn; khi nhuộm, thuốc nhuộm sẽ không thẩm thấu vào bên trong tế bào. Ngược lại, những tế bào bị tổn thương, màng tế bào không còn nguyên vẹn nên thuốc nhuộm sẽ thẩm thấu qua màng tế bào vào nguyên sinh chất.

Hệ thống máy tự động có thể sử dụng cảm biến để tự nhận diện tế bào bắt màu hay không sau nhuộm để phân biệt tế bào còn sống hay không sống dựa vào sự khác biệt về đặc điểm tín hiệu huỳnh quang hoặc màu nhuộm tương ứng.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện:

- Bác sĩ/ kỹ thuật y đọc kết quả: 01 người.
- Kỹ thuật y thực hiện kỹ thuật: 01 người.

2.2. Vật tư

2.2.1. Hóa chất, thuốc thử

- Thuốc thử với phương pháp nhuộm màng như Trypan Blue (dung dịch xanh trypan) 0,4%, AO/IP 1–5 $\mu\text{g/mL}$ (Acridine Orange/Propidium Iodide)...
- Thuốc thử với phương pháp Tế bào dòng chảy: kháng thể kháng CD45, 7-AAD, hạt đếm; dung dịch phá hồng cầu NH_4Cl Lysing:
 - + Cần kiểm tra, đánh giá chất lượng kit đếm trước khi sử dụng;
 - + Hạt đếm: trước khi sử dụng lắc đều nhẹ nhàng để trộn đều lọ đựng hạt đếm (hoặc sử dụng loại ống nghiệm có sẵn hạt đếm).
- Dung dịch pha loãng mẫu: sử dụng dung dịch đẳng trương như NaCl 9‰, Sheath hoặc PBS 1X.
- Hóa chất chuẩn máy.
- Hoá chất khử trùng.
- Dung dịch chạy máy hoặc dung dịch đệm.
- Dung dịch rửa máy.
- Nước cất.

2.2.2. Dụng cụ

- Bộ micropipet các loại;
- Đầu côn có màng lọc các loại;
- Ống nhựa chạy máy Tế bào dòng chảy;
- Ống nhựa chứa chất chống đông EDTA, citrate;
- Phiên đếm của máy đếm tế bào sống chết tự động;
- Phiến 96 giếng;
- Ống Falcon, ống thủy tinh, ống eppendorf;
- Găng tay, mũ, khẩu trang, túi đựng rác.

2.3. Thiết bị

- Hệ thống máy Tế bào dòng chảy hoặc máy đếm tế bào sống tự động;
- Máy vortex;
- Máy tính có kết nối với máy đọc barcode và phần mềm phân tích kết quả;
- Thiết bị bảo quản đông lạnh chuyên dụng;
- Bể ổn nhiệt.

2.4. Mẫu xét nghiệm

- Máu dây rốn, dịch tủy xương, máu ngoại vi trước xử lý, sau xử lý hoặc sau bảo quản đông lạnh;

- Chuẩn bị trước xét nghiệm:

+ Đối với mẫu bảo quản đông lạnh, cần tiến hành rã đông mẫu nhanh ở nhiệt độ 37°C trong bể ổn nhiệt và tiến hành xét nghiệm càng sớm càng tốt.

+ Xét nghiệm tế bào máu để xác định số lượng bạch cầu.

+ Pha loãng mẫu:

* Pha loãng/cô đặc mẫu về mức $5 \times 10^4 - 1 \times 10^7$ tế bào/ μ l là tối ưu.

* Đối với mẫu máu toàn phần hoặc mẫu chưa qua xử lý loại hồng cầu: dùng dung dịch NH_4Cl Lysing để pha loãng. Sau đó để mẫu đã pha loãng 10 phút trước khi nhuộm với dung dịch xanh trypan;

* Đối với mẫu đã xử lý loại bỏ bớt hồng cầu hoặc mẫu sau bảo quản đông lạnh: sử dụng dung dịch NaCl 9% để pha loãng.

2.5. Hồ sơ

Phiếu chỉ định đầy đủ thông tin theo quy định của đơn vị.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 50-60 phút.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

3.1. An toàn thực hành

- Mặc áo blouse khi làm việc;
- Đeo găng tay trong cả quá trình tiếp xúc trực tiếp với mẫu máu, hóa chất;
- Đi giày, dép kín mũi chân;
- Thao tác đúng quy trình, chính xác.

3.2. An toàn hóa chất

- Ghi rõ ngày nhận, mở hóa chất;
- Hóa chất chưa sử dụng được sắp xếp gọn gàng, phân loại rõ ràng;
- Đọc kỹ nhãn mác hóa chất trước khi sử dụng;
- Hóa chất thải bỏ được đổ, để đúng nơi quy định.

3.3. An toàn thiết bị và điện

- Tay và các bề mặt làm việc khô khi tiếp xúc thiết bị điện hay dây nối;
- Kiểm tra mọi dây dẫn phích và dây nối, thay thế nếu cần;
- Không tự ý cắt đóng cầu dao điện;
- Luôn có đường điện ưu tiên để an toàn cho các thiết bị.

3.4. Quy định về hiệu chuẩn

Các thiết bị được hiệu chuẩn theo quy định để đảm bảo quá trình vận hành cho xét nghiệm.

4. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện trên máy Tế bào dòng chảy

Bước 1: Ủ mẫu với kháng thể

- Thêm kháng thể vào ống nhựa chạy máy:
- + Thêm 20 μ l 7-AAD;
- + Thêm 20 μ l kháng thể kháng CD45.
- Hút 100 μ l mẫu đã pha loãng vào ống nhựa chạy máy nói trên, vortex đều.
- Ủ hỗn hợp trong 20 phút, điều kiện tối, nhiệt độ phòng (20-25°C).

Bước 2: Phá hồng cầu

- Chỉ áp dụng với mẫu còn nhiều hồng cầu, thường là mẫu chưa bảo quản đông lạnh.
- Thêm 2 ml dung dịch NH₄Cl Lysing vào hỗn hợp đã ủ ở ống nhựa chạy máy ở trên, trộn đều;
- Tiếp tục ủ trong 10 phút, điều kiện tối ở nhiệt độ phòng.

Bước 3: Trộn hạt đếm và chạy mẫu trên máy tế bào dòng chảy

- Mẫu đã phá hồng cầu: thêm 100 μ l hạt đếm tham chiếu vào ống nhựa chạy máy, trộn đều;
- Đặt ống vào đúng vị trí trong máy Flow cytometry;
- Chọn chương trình chạy phù hợp;
- Chạy máy.

4.2. Các bước thực hiện trên máy đếm tự động với cơ chế nhuộm màng

Bước 1: Nhuộm tế bào với dung dịch chất nhuộm

- Nhuộm mẫu đã pha loãng với dung dịch chất nhuộm (xanh Trypan, AO/IP...) theo tỉ lệ 1:1 về thể tích:
- + Nhỏ 10 μ l dung dịch chất nhuộm vào giếng của phiến 96 giếng. Hút 10 μ l mẫu đã pha loãng vào giếng;
- + Trộn đều bằng pipet 3 đến 5 lần, để trong vòng 1 phút để tế bào bắt màu chất nhuộm.

Bước 2: Đếm tế bào sống/chết trên hệ thống máy đếm tự động

- Cài đặt chương trình đếm, nhập nồng độ, thể tích huyền phù;
- Nhỏ 10-12 μ L mẫu vào buồng đếm của máy đếm tự động;
- Cho lam kính vào vị trí của máy, chạy máy.

4.3. Nhận định kết quả

- Tỉ lệ tế bào sống được ghi nhận trên hệ thống chạy máy;
- Với máy đếm Tế bào dòng chảy:
 - + Tế bào tạo máu là tế bào dương tính với CD45-FITC;
 - + Tế bào sống là tế bào âm tính với 7-AAD;
 - + Tế bào chết là tế bào dương tính với 7-AAD.

- Với máy đếm theo cơ chế nhuộm màng
 - + Tế bào sống không bắt màu chất nhuộm tương ứng.
 - + Tế bào chết có bắt màu chất nhuộm tương ứng.
- Kết quả được tính toán tự động và hiển thị trên máy đếm tự động.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Hành chính	Nhầm mẫu, nhầm tên	Đối chiếu thông tin mẫu và chỉ định	Sửa thông tin
2	Chất lượng mẫu	Để mẫu quá lâu sau rửa đông không phân tích, làm tỷ lệ tế bào chết tăng	Đối chiếu thời gian rửa đông và thời gian xét nghiệm	Lấy lại mẫu

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

❖ Máy tế bào dòng chảy

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Thiết bị, dụng cụ	Máy gặp sự cố như tắc kim, bất thường hệ thống dịch, đầu cảm nhận huỳnh quang không bắt tín hiệu	Hệ thống máy báo lỗi hoặc không hoạt động	Sửa chữa, bảo dưỡng máy
		Máy tính toán không đúng, chọn sai quần thể	Cửa sổ phân tích trên phần mềm không chọn đúng quần thể	Điều chỉnh phần mềm tính toán
		Pipet hút không đủ lượng mẫu, hóa chất cần thiết	Số lượng tế bào CD45+ chênh lệch nhiều so với số đếm bạch cầu	Hiệu chỉnh pipet
2	Hóa chất, sinh phẩm	Hóa chất sinh phẩm không bảo quản đúng nhiệt độ, ánh sáng làm hỏng màu huỳnh	Tín hiệu huỳnh quang yếu hoặc không có	Kiểm tra lại sinh phẩm, hóa chất, đổi mới

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
		quang		
3	Nhân viên xét nghiệm	Thực hiện kỹ thuật không đạt, trộn mẫu không tốt làm bạch cầu phân bố không đều trong ống, dẫn đến đếm sai kết quả	Số lượng tế bào CD45+ chênh lệch nhiều so với số đếm bạch cầu trên máy tự động	Đào tạo lại nhân viên

❖ **Máy đếm tự động**

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Thiết bị, dụng cụ	Chương trình cài đặt trên máy lỗi	Hệ thống máy báo lỗi hoặc kết quả tính toán đưa ra không hợp lý	Cài đặt lại chương trình
		Lỗi phân quang học	Phân quang học có thể bị bẩn hoặc hỏng	Liên hệ với kỹ sư để xử lý
		USB lỗi	USB không tương thích với máy đếm	Sử dụng USB 2.0
			USB có quá nhiều dữ liệu trong bộ nhớ USB	Xóa hoặc chuyển dữ liệu nếu cần
			Nhiều phiên bản phần mềm trên USB	Xóa các phiên bản phần mềm trước đó trước khi tải phần mềm mới
2	Hóa chất, sinh phẩm	Hóa chất không bảo quản đúng cách	Hệ thống máy báo lỗi hoặc kết quả tính toán đưa ra không hợp lý	Kiểm tra lại hóa chất, pha lại hóa chất nếu cần
3	Bản chất mẫu	Khi máy đếm có hiện tượng tế bào vón cục	Hình ảnh đã chụp của mẫu tế bào nhận thấy hiện tượng vón cục	Thực hiện lại xét nghiệm, dùng pipet trộn nhẹ nhàng để phá vỡ huyền phù tế bào trước khi đếm
3	Nhân viên xét nghiệm	Pha loãng mẫu không đúng tỷ lệ	Kết quả tính toán đưa ra không hợp lý	Thực hiện lại
		Nhập sai nhập nồng độ, thể tích	Kết quả tính toán đưa ra không hợp lý	Tính toán lại

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
		huyền phù		
		Nhỏ mẫu vào buồng đếm không đúng cách	Nhỏ mẫu vào buồng đếm không đúng vị trí hoặc không đúng thể tích yêu cầu của máy	Thực hiện lại

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Phân tích kết quả máy Flow cytometry	Tính toán công thức cuối cùng không đúng	Số lượng tế bào CD45 chênh lệch nhiều so với số đếm bạch cầu trên máy tự động	Xem xét lại công thức tính toán
2	Phân tích kết quả máy đếm tự động	Nhập nhầm kết quả	Tỷ lệ sống của tế bào có bất thường	Xem xét lại kết quả từ máy

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Kết quả được đánh giá đạt yêu cầu khi tín hiệu huỳnh quang không bị nhiễu, các quần thể tế bào phân tách rõ ràng.

- Kết quả nội kiểm đạt yêu cầu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Beckman Coulter (2021). Stem kit reagents.
2. Beckman Coulter (2016). Cytomics FC 500 With CXP Software.
3. Merck (2017). Microscopy Trypan Blue (C.I. 23850).
4. Olympus Instructions: Automated Cell Counter model R1.
5. Nicholas Greco and Lynn O'Donnell (2009). Assessment of Viability and Apoptosis in Cellular Therapy Products. *Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation*, Bethesda, MD:AABB, 2009, chapter 47, p.563-572.

14. XÁC ĐỊNH TỶ LỆ TẾ BÀO SỐNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP THỬ CÔNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định tỷ lệ sống của tế bào có nhân trong mẫu xét nghiệm, qua đó đánh giá chất lượng mẫu và hiệu quả của các can thiệp liên quan.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Dựa trên nguyên lý tế bào sống có màng còn nguyên vẹn; khi nhuộm, thuốc nhuộm sẽ không thẩm thấu vào trong tế bào. Ngược lại, những tế bào bị tổn thương, màng không còn nguyên vẹn nên thuốc nhuộm sẽ thẩm thấu qua màng tế bào vào nguyên sinh chất. Sau nhuộm, quan sát dưới kính hiển vi, dựa vào màu sắc tế bào để phân biệt tế bào còn sống hay không sống.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sĩ/ kỹ thuật y đọc kết quả: 01 người.
- Kỹ thuật y thực hiện kỹ thuật: 01 người.

2.2. Vật tư

2.2.1. Hóa chất, sinh phẩm

- Dung dịch NaCl 9‰;
- Dung dịch phá vỡ hồng cầu NH_4Cl Lysing;
- Nước cất;
- Thuốc thử với phương pháp nhuộm màng như Trypan Blue (dung dịch xanh trypan) 0,4%, AO/IP 1–5 $\mu\text{g/mL}$ (Acridine Orange/Propidium Iodide)...

2.2.2. Dụng cụ

- Buồng đếm hồng cầu, lamên;
- Phiến 96 giếng, ống eppendorf hoặc dụng cụ chứa phù hợp tương đương;
- Micropipette và đầu côn tương ứng;
- Pipet nhựa;
- Ống Falcon, ống thủy tinh, ống eppendorf;
- Găng tay, mũ, khẩu trang, túi đựng rác, giấy thấm.

2.3. Thiết bị

- Kính hiển vi quang học (có vật kính 10X, 40X);
- Bể ổn nhiệt để rã đông mẫu bảo quản đông lạnh.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Máu dây rốn, dịch tủy xương, máu ngoại vi trước xử lý, sau xử lý hoặc sau bảo quản đông lạnh;
- Chuẩn bị trước xét nghiệm:
 - + Đối với mẫu bảo quản đông lạnh, cần tiến hành rã đông mẫu nhanh ở nhiệt độ 37°C trong bể ổn nhiệt và tiến hành xét nghiệm càng sớm càng tốt.
 - + Xét nghiệm tế bào máu để xác định số lượng bạch cầu ban đầu.

- + Pha loãng mẫu:
- * Pha loãng sao cho mật độ tế bào bạch cầu về khoảng 2000 tế bào/ μl .
- * Đối với mẫu máu toàn phần hoặc mẫu chưa qua xử lý loại hồng cầu: dùng dung dịch NH_4Cl Lysing để pha loãng. Sau đó để mẫu đã pha loãng 10 phút trước khi nhuộm với dung dịch xanh trypan;
- * Đối với mẫu đã xử lý loại bỏ bớt hồng cầu hoặc mẫu sau bảo quản đông lạnh: sử dụng dung dịch NaCl 9‰ để pha loãng.

2.5. Hồ sơ

Phiếu chỉ định kỹ thuật có đầy đủ thông tin theo quy định của đơn vị.

2.8. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 50-60 phút.

2.9. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

3.1. An toàn thực hành

- Mặc áo blouse khi làm việc;
- Đeo găng tay trong cả quá trình tiếp xúc trực tiếp với mẫu máu, hóa chất;
- Đi giày, dép kín mũi chân;
- Thao tác đúng quy trình, chính xác.

3.2. An toàn hóa chất

- Ghi rõ ngày nhận, mở hóa chất;
- Hóa chất chưa sử dụng được sắp xếp gọn gàng, phân loại rõ ràng;
- Đọc kỹ nhãn mác hóa chất trước khi sử dụng;
- Hóa chất thải bỏ được đổ, để đúng nơi quy định.

3.3. An toàn thiết bị và điện

- Tay và các bề mặt làm việc khô khi tiếp xúc thiết bị điện hay dây nối;
- Kiểm tra mọi dây dẫn phích và dây nối, thay thế nếu cần;
- Không tự ý cắt đóng cầu dao điện;
- Luôn có đường điện ưu tiên để an toàn cho các thiết bị.

3.4. Quy định về hiệu chuẩn

Kính hiển vi được bảo dưỡng theo quy định để đảm bảo quá trình vận hành cho xét nghiệm.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Nhuộm tế bào với dung dịch xanh trypan

Nhuộm mẫu đã pha loãng với dung dịch xanh trypan 0.4% theo tỉ lệ 1:1 về thể tích:

- + Hút 20 μl dung dịch xanh trypan vào giếng của phiến 96 giếng. Thêm 20 μl mẫu đã pha loãng vào giếng;
- + Trộn đều bằng pipet 3 đến 5 lần, để trong vòng 1 phút.

4.1.2. Đếm tế bào sống/chết trên kính hiển vi

- Cho hỗn hợp mẫu đã nhuộm vào mép lamên để mao dẫn vào buồng đếm;

- Đếm tế bào:
- + Đếm trong vòng 3 đến 5 phút sau khi trộn với dung dịch xanh trypan;
- + Đọc kết quả ở vật kính 40X;
- + Đếm riêng các tế bào bị nhuộm chết (tế bào chết) và các tế bào không bị nhuộm màu (tế bào sống);
- + Đếm tối thiểu 200 tế bào/lần đọc/mẫu.
- Tính tỷ lệ tế bào sống theo hướng dẫn trong nhận định kết quả;
- Ghi lại kết quả đếm được vào hồ sơ;
- Thu dọn dụng cụ và vệ sinh kính, khu vực xét nghiệm.

4.2. Nhận định kết quả

- Cách nhận biết tế bào sống và tế bào chết qua kính hiển vi:
- + Tế bào sống: không hấp thụ màu chất nhuộm, nguyên sinh chất không bị nhuộm màu, hiển thị sáng.
- + Tế bào chết: Hấp thụ màu chất nhuộm, hiển thị màu xanh lam.
- Cách tính tỷ lệ tế bào sống:

$$\text{Tỷ lệ tế bào sống} = \frac{\text{Số tế bào sống}}{\text{Tổng số tế bào đếm được}} \times 100\%$$

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Hành chính	Nhầm mẫu, nhầm tên	Đối chiếu thông tin mẫu và chỉ định	Sửa thông tin và lấy lại mẫu
2	Chất lượng mẫu	Không đếm ngay sau rã đông mẫu	Đối chiếu thời gian rã đông mẫu	Lấy lại mẫu

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Thiết bị, dụng cụ	Vật kính, thị kính chưa được vệ sinh sạch	Kính hiển vi mờ, có vết bẩn	Lau sạch vật kính, thị kính
2	Hóa chất, sinh phẩm	Hóa chất không bảo quản đúng cách	Tế bào bắt màu bất thường	Kiểm tra lại hóa chất, pha lại hóa chất nếu cần
3	Nhân viên	Pha loãng mẫu	Trên 1 ô 1mm x	Thực hiện lại

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
	xét nghiệm	không đúng tỷ lệ	1mm có số lượng tế bào đếm được < 10 tế bào hoặc > 50 tế bào	

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Phân tích kết quả	Tính toán công thức không đúng	Tỷ lệ sống của tế bào có bất thường	Xem xét lại công thức tính toán

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Mật độ tế bào dàn đều, trung bình mỗi vi trường có khoảng 18 đến 20 tế bào.
- Tế bào sống và tế bào chết khác biệt màu rõ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Merck (2017). Microscopy Trypan Blue (C.I. 23850). p1-2.
2. Nicholas Greco and Lynn O'Donnell (2009). Assessment of Viability and Apoptosis in Cellular Therapy Products. *Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation*, Bethesda, MD:AABB, 2009, chapter 47, p.563-572.

15. HUY ĐỘNG TẾ BÀO GỐC TỪ MÁU NGOẠI VI CỦA NGƯỜI HIẾN PHÙ HỢP HLA HOÀN TOÀN/ KHÔNG HOÀN TOÀN

1. ĐẠI CƯƠNG

- Ghép tế bào gốc tạo máu đồng loài là truyền tế bào gốc cho người bệnh sau khi đã điều kiện hóa bằng phác đồ diệt tủy hoặc giảm cường độ liều. Nguồn tế bào gốc có thể từ tủy xương, máu ngoại vi hoặc máu dây rốn của người hiến phù hợp hoặc không phù hợp HLA hoàn toàn.

- Huy động tế bào gốc từ máu ngoại vi là sử dụng thuốc kích thích tăng trưởng bạch cầu để tăng số tế bào gốc ra máu nhằm gạn tách được nhiều tế bào.

- Tiêu chuẩn số lượng tế bào gốc tạo máu đủ để ghép dựa vào số lượng tế bào CD34+ nên đạt $\geq 2 \times 10^6/\text{kg}$ cân nặng người bệnh.

2. CHỈ ĐỊNH

Người hiến tế bào gốc tự nguyện, đủ sức khỏe và phù hợp HLA hoàn toàn/ không hoàn toàn với người bệnh thuộc các nhóm bệnh lý huyết học:

- Các bệnh huyết học ác tính: lơ xê mi cấp, lơ xê mi mạn, rối loạn sinh tủy, tăng sinh lympho, hội chứng thực bào, hội chứng tăng sinh tủy...

- Các bệnh huyết học khác: rối loạn tế bào gốc (suy tủy xương, thiếu máu Fanconi, đái huyết sắc tố kịch phát ban đêm), thalassemia, hội chứng thực bào máu...

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Người hiến không đủ điều kiện phù hợp về HLA.

- Người hiến dưới 4 tuổi và trên 60 tuổi.

- Người hiến là Phụ nữ có thai.

- Người hiến đang trong giai đoạn cấp tính hoặc không ổn định về các bệnh lý gan, thận, phổi và bệnh tim, nhiễm trùng.

4. THẬN TRỌNG

- Người hiến trong giai đoạn cho con bú.

- Người hiến có các bệnh lý mạn về gan, thận, phổi và bệnh tim mạch.

- Người hiến có cân nặng thấp ($< 25\text{kg}$).

- Người hiến dưới 18 tuổi: phải có sự đồng ý của bố, mẹ hoặc người giám hộ.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sĩ: 01 người;

- Điều dưỡng: 02 người.

5.2. Thuốc

- Thuốc kích thích sinh bạch cầu hạt như: G-CSF;

- Thuốc hỗ trợ xử lý tai biến tủy từng trường hợp;

- Lưu ý nếu người hiến đang điều trị thuốc chống đông cần ngưng thuốc trước quá trình gạn tách.

5.3. Vật tư

- Bơm tiêm 5ml; 10ml;

- Kim lấy máu, kim luôn;
- Bộ dụng cụ vô trùng: kéo, kẹp, bát kim loại, khay quả đậu, khay đựng dụng cụ, toan vô khuẩn;
- Bông, gạc vô trùng, băng dính;
- Găng tay vô trùng;
- Dây garo, bút dạ, bút viết;
- Chai cây máu;
- Gọng hoặc mask thở oxy, điện cực điện tâm đồ;
- Khí oxy.

5.4. Thiết bị

- Bộ đo huyết áp: huyết áp, ống nghe;
- Máy điện tâm đồ;
- Monitor theo dõi chỉ số sinh tồn.

5.5. Chuẩn bị người hiến tế bào gốc

- Người hiến đủ điều kiện huy động tế bào gốc được tư vấn và chuẩn bị các thông tin liên quan, bao gồm:

- + Thông tin cá nhân người hiến.
- + Khai thác tiền sử, bệnh sử, khám lâm sàng.
- + Xét nghiệm phân tích HLA độ phân giải cao phù hợp để ghép tế bào gốc.
- + Xét nghiệm kiểm tra trước hiến tế bào gốc: tổng phân tích tế bào máu, chức năng gan, thận, đường huyết, mỡ máu, điện giải đồ, nồng độ calci, magie huyết thanh, đông máu...
- + Xét nghiệm sàng lọc các virus gây bệnh như: HIV, HBV, HCV, EBV, CMV, giang mai,... (có giá trị trong vòng 3 tháng) trước gạn tách.
- + Chỉ định điện tâm đồ và chụp x-quang tim phổi (nếu cần thiết).
- + Nhóm máu hệ ABO, RhD và một số hệ nhóm máu khác.
- + Test Beta HCG đối với người hiến nữ.
- Người hiến và gia đình được bác sĩ giải thích về quá trình huy động tế bào gốc từ máu ngoại vi (lợi ích, nguy cơ, biến chứng...) và hoàn thành các văn bản cần thiết cho việc chuẩn bị và gạn tách tế bào gốc.

5.6. Hồ sơ bệnh án

Người hiến được làm hồ sơ vào viện điều trị nội trú, kiểm tra đảm bảo thỏa mãn các yêu cầu trên.

5.7. Thời gian thực hiện: trong khoảng thời gian 5 - 7 ngày.

5.8. Địa điểm thực hiện

Phòng bệnh có thiết bị theo dõi các dấu hiệu sinh tồn.

5.9. Kiểm tra hồ sơ và người hiến

- Kiểm tra đối chiếu hồ sơ người hiến.
- Kiểm tra đối chiếu xét nghiệm, giấy tờ.

6. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

Bước 1: Đánh giá trước thực hiện

Đánh giá toàn trạng người hiến trước thực hiện quá trình huy động tế bào gốc

Bước 2: Huy động tế bào gốc

- Sử dụng thuốc kích bạch cầu (G-CSF): tiêm dưới da G-CSF liều trung bình khoảng 10 μ g/kg cân nặng/ngày, chia hai lần, cách nhau 12 giờ. (***trường hợp cân nặng người hiến quá thấp so với người nhận có thể tăng liều nhưng tối đa không quá 16 μ g/kg cân nặng/ngày***).

- Sử dụng thuốc hỗ trợ (giảm đau, hạ áp,...) nếu cần trong một số trường hợp.

- Theo dõi: xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu hàng ngày; các xét nghiệm chức năng gan, thận, điện giải 3 ngày/lần hoặc tùy theo diễn biến lâm sàng.

Bước 3: Đếm CD34

- Đếm CD34 trong máu ngoại vi từ ngày thứ 3 kể từ khi bắt đầu huy động.

- Có thể gạn tách tế bào gốc máu ngoại vi từ ngày thứ 3 đến ngày thứ 5 kể từ khi bắt đầu huy động (khi số lượng tế bào CD34+ trong máu ngoại vi ≥ 20 tế bào/ μ l).

- Lưu ý: trường hợp người hiến có cân nặng thấp hơn quá nhiều so với người nhận hoặc số lượng CD34+ đếm được quá thấp cần cân nhắc để chủ động tăng liều thuốc kích bạch cầu.

Bước 4: Chuyển người hiến đến đơn vị gạn tách tế bào gốc

Chuyển người hiến đến đơn vị gạn tách tế bào gốc khi số lượng CD34+ đạt yêu cầu.

Bước 5: Theo dõi kết quả gạn tách tế bào gốc

- Kết quả đạt yêu cầu ($\geq 2 \times 10^6$ CD34/kg cân nặng người nhận; có thể sẽ có các yêu cầu riêng về liều tế bào gốc ở từng nhóm bệnh cụ thể):

Ngừng huy động và đánh giá, chuẩn bị cho người hiến ra viện

- Kết quả gạn tách chưa đạt yêu cầu:

+ Có thể kéo dài ngày kích bạch cầu/ tăng liều G-CSF từ 1-2 ngày, quay lại bước 3 và bước 4.

+ Hoặc cho người hiến ra viện và hẹn vào viện lần 2.

Bước 6: Đánh giá người hiến để ra viện

- Người hiến không sốt, không có triệu chứng nhiễm trùng và các bất thường khác.

- Các chỉ số xét nghiệm tế bào máu, sinh hóa máu trở về mức ổn định.

7. THEO DÕI VÀ XỬ LÝ TAI BIẾN

7.1. Theo dõi

- Theo dõi sát lâm sàng và xét nghiệm từ khi bắt đầu huy động tế bào gốc.

- Theo dõi các dấu hiệu sinh tồn trong quá trình gạn tách tế bào gốc.

7.2. Xử lý tai biến

Chủ yếu gặp tai biến khi thực hiện kỹ thuật:

- Tác dụng phụ ở người hiến khi sử dụng G-CSF: đau xương, đau đầu, tăng LDH, acid uric, tăng huyết áp, lách to...
Xử trí bằng giảm đau, hạ huyết áp...
- Tác dụng phụ ở người hiến trong quá trình gạn tách tế bào gốc: đau đầu, tê vùng môi, chuột rút, rét run.
Xử trí bằng truyền canxi, corticoid...
- Thường không gặp tai biến sau kỹ thuật hoặc biến chứng muộn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Natália Emerim Lemos, Mariela Granero Farias, Francyne Kubaski, Luciana Scotti, Tor Gunnar Hugo Onsten, Letícia de Almeida Brondani, Sandrine Comparsi Wagner, Leo Sekine (2018). Quantification of peripheral blood CD34+ cells prior to stem cell harvesting by leukapheresis: a single center experience. Hematol Transfus Cell Ther, 40(3), p.213-218.
2. Lefrere F, et al (2007). Evaluation of an algorithm based on peripheral blood hematopoietic progenitor cell and CD34+ cell concentrations to optimize peripheral blood progenitor cell collection by apheresis. Transfusion, 47, p1851-1857
3. Michael L.Linenberger (2009). Collection of cellular therapy products by apheresis. Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation, Bethesda, MD:AABB, 2009, chapter 23, p.251-277.
4. Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh lý huyết học (Ban hành kèm theo quyết định số 1832/QĐ-BYT ngày 01/07/2022)
5. Kai Hubel (2019). Mobilization and Collection of HSC, The EBMT Handbook, chapter 15, p.117-119
6. Volker Witt and Christina Peters (2019). Collection of HSC in Children. Hematopoietic stem cell transplantation and cellular therapies, The EBMT Handbook, chapter 16, p.123-126.

16. HUY ĐỘNG TẾ BÀO GỐC TỰ THÂN TỪ MÁU NGOẠI VI

1. ĐẠI CƯƠNG

- Ghép tế bào gốc tạo máu tự thân là sử dụng tế bào gốc của người bệnh điều trị cho chính người bệnh. Đây là phương pháp được xem như giúp thực hiện một đợt hóa trị liệu liều cao nhằm duy trì đáp ứng điều trị cho người bệnh.

- Huy động tế bào gốc tự thân từ máu ngoại vi là sử dụng hóa chất liều cao kết hợp với thuốc kích thích tăng trưởng bạch cầu hạt nhằm đưa tế bào gốc ra máu để gạn tách được nhiều tế bào gốc từ máu ngoại vi.

- Tiêu chuẩn số lượng tế bào gốc tạo máu đủ để ghép dựa vào số lượng tế bào CD34+ phải đạt $\geq 2 \times 10^6/\text{kg}$ cân nặng với người bệnh có kế hoạch ghép 1 lần và $\geq 4 \times 10^6/\text{kg}$ cân nặng với người bệnh có kế hoạch ghép 2 lần.

2. CHỈ ĐỊNH

Các bệnh ác tính về máu: Đa u tủy xương, U lympho, Lơ xê mi cấp....

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Người bệnh trên 70 tuổi;
- Phụ nữ có thai;
- Người bệnh có chống chỉ định ghép tế bào gốc tự thân.

4. THẬN TRỌNG

- Người bệnh có các bệnh lý mạn tính về gan, thận, phổi và bệnh tim mạch, nhiễm trùng;
- Người bệnh chưa đạt lui bệnh hoàn toàn.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sĩ: 01 người;
- Điều dưỡng: 02 người.

5.2. Thuốc

- Phác đồ huy động tế bào gốc tùy thuộc vào từng bệnh lý.
- Kích bạch cầu hạt G-CFS; Plerixafor.
- Thuốc điều trị nhiễm trùng: kháng sinh, kháng nấm, kháng virus.
- Thuốc hỗ trợ xử lý tai biến tùy từng trường hợp.

5.3. Vật tư

- Bơm tiêm 5ml; 10ml;
- Kim lấy máu, kim luôn;
- Dây truyền máu, dây truyền dịch;
- Bộ dụng cụ vô trùng: kéo, kẹp, 4 bát kim loại, khay quả đậu, khay đựng dụng cụ, toan vô khuẩn;
- Bông, gạc vô trùng, băng dính;
- Găng tay vô trùng;
- Dây garo, bút dạ, bút viết;
- Chai cấy máu;

- Gọng hoặc mask thở oxy, điện cực điện tâm đồ;
- Khí oxy.

5.4. Thiết bị

- Bộ đo huyết áp: huyết áp, ống nghe;
- Máy điện tâm đồ;
- Monitor theo dõi chỉ số sinh tồn.

5.5. Người bệnh

- Người bệnh đủ điều kiện để thực hiện huy động tế bào gốc.
- Người bệnh và gia đình được giải thích về quá trình huy động tế bào gốc (lợi ích, nguy cơ, biến chứng...).
- Người bệnh và gia đình đồng ý tiến hành huy động tế bào gốc và kí giấy cam kết sau khi được bác sĩ tư vấn giải thích đầy đủ.
- Người bệnh dưới 18 tuổi phải có sự đồng ý của người giám hộ hợp pháp.
- Lưu ý: ngưng một số thuốc trước khi huy động tế bào gốc do ảnh hưởng đến chất lượng huy động (Trimethoprim/Sulfamethoxazole,...), thuốc ảnh hưởng đến tính an toàn khi huy động tế bào gốc (thuốc chống đông,...).

5.6. Hồ sơ bệnh án

Người bệnh được làm hồ sơ vào viện điều trị nội trú, được làm các xét nghiệm theo yêu cầu trước huy động tế bào gốc bao gồm:

- + Thông tin cá nhân của người bệnh;
- + Khai thác bệnh sử, khám lâm sàng;
- + Thông tin về tình trạng lui bệnh trước huy động: CR hoặc PR;
- + Xét nghiệm kiểm tra trước huy động tế bào gốc: tổng phân tích tế bào máu, chức năng gan, thận, đường huyết, mỡ máu, điện giải đồ, nồng độ calci, magie huyết thanh, đông máu, nhóm máu;
- + Xét nghiệm sàng lọc các virus gây bệnh như HIV, HBV, HCV, EBV, CMV, giang mai,... (có giá trị trong vòng 3 tháng) trước gạn tách;
- + Chỉ định điện tâm đồ và chụp x-quang tim phổi.

5.7. Thời gian thực hiện: ước tính khoảng 1 tháng.

5.8. Địa điểm thực hiện

Buồng bệnh tại khoa lâm sàng thực hiện huy động tế bào gốc:

- + Hệ thống cung cấp oxy;
- + Hệ thống máy theo dõi các dấu hiệu sinh tồn.

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Bước 1: Đánh giá trước huy động

Đánh giá tình trạng lui bệnh theo tiêu chí cụ thể của từng nhóm bệnh.

Bước 2: Phác đồ huy động tế bào gốc

Tùy thuộc từng nhóm bệnh có thể lựa chọn các phác đồ huy động khác nhau:

- G-CSF đơn thuần: liều 10-16 $\mu\text{g/kg/ngày}$ chia 2-3 lần tùy từng trường hợp cách đều nhau, đếm số lượng bạch cầu hàng ngày và số lượng tế bào CD34+ từ ngày thứ 4.

- Phối hợp hoá chất và G-CSF (10-16 $\mu\text{g/kg/ngày}$ chia 2-3 lần cách đều nhau), đếm số lượng bạch cầu hàng ngày và số lượng tế bào CD34+ khi số lượng bạch cầu $\geq 10 \text{ G/L}$.

- Phối hợp G-CSF (10-16 $\mu\text{g/kg/ngày}$) + Plerixafor (0.24mg/kg/ngày).

Bước 3: Chăm sóc và theo dõi

+ Thăm khám lâm sàng hàng ngày.

+ Theo dõi xét nghiệm tổng phân tích máu hàng ngày, các xét nghiệm sinh hóa về chức năng gan, thận, điện giải đồ... 2 - 3 ngày/lần hoặc tùy theo diễn biến lâm sàng.

+ Chống nhiễm khuẩn, nhiễm nấm, virus CMV: sử dụng thuốc dự phòng và điều trị.

+ Truyền chế phẩm máu: truyền khối hồng cầu và khối tiểu cầu khi có chỉ định.

Bước 4: Đếm CD34

- Đối với trường hợp dùng G-CSF đơn thuần: đếm số lượng tế bào CD34 vào ngày thứ 4 sau kích bạch cầu. Khi số lượng tế bào CD34+ ở máu ngoại vi $\geq 10\text{-}20$ tế bào/ μL thì tiến hành gạn tế bào gốc máu ngoại vi. Thường đỉnh huy động đạt cao nhất sau huy động G-CSF đơn thuần là ngày thứ 4-5.

- Đối với trường hợp phối hợp hóa chất và G-CSF: đếm số lượng tế bào CD34 khi bạch cầu máu ngoại vi bắt đầu hồi phục. Số lượng CD34 ở máu ngoại vi $\geq 10\text{-}20$ tế bào/ μL đủ điều kiện để gạn tế bào gốc.

Bước 5: Thu thập (gạn tách) tế bào gốc

Chuyển người bệnh đến đơn vị thực hiện gạn tách tế bào gốc.

Bước 6: Đánh giá kết quả gạn

- Dừng kích bạch cầu nếu gạn tách đủ số lượng tế bào gốc theo yêu cầu.

- Gạn tách lần hai nếu số lượng tế bào gốc thu thập không đủ ($< 2 \times 10^6 \text{ TB/kg}$).

+ Có thể kéo dài thêm ngày kích bạch cầu/ tăng liều G-CSF, quay lại bước 4 và bước 5.

+ Hoặc huy động thêm lần 2 sau khi quay lại bước 4 và bước 5 không hiệu quả.

Bước 7: Đánh giá người bệnh để ra viện

- Người bệnh không sốt, không có triệu chứng nhiễm trùng.

- Không cần truyền tiểu cầu hay khối hồng cầu.

7. THEO DÕI VÀ XỬ LÝ TAI BIẾN

7.1. Theo dõi

Theo dõi diễn biến của các dấu hiệu sinh tồn trong quá trình huy động tế bào gốc (theo dõi sát từ khi bắt đầu kích tế bào gốc).

7.2. Xử lý tai biến

Trong quá trình huy động:

+ Do hóa chất: nguy cơ phản vệ, dị ứng, buồn nôn, nôn, nhiễm khuẩn....

Xử trí tùy từng trường hợp

+ Tác dụng phụ ở người bệnh khi sử dụng G-CSF: đau xương, đau đầu, tăng LDH, acid uric, tăng huyết áp, lách to,...

Xử trí bằng giảm đau, hạ huyết áp,...

- Trong quá trình gạn tách tế bào gốc: đau đầu, tê vùng môi, chuột rút, rét run,...

Xử trí bằng truyền canxi, corticoid,...

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Natália Emerim Lemos, Mariela Granero Farias, Francyne Kubaski, Luciana Scotti, Tor Gunnar Hugo Onsten, Letícia de Almeida Brondani, Sandrine Comparsi Wagner, Leo Sekine (2018). Quantification of peripheral blood CD34+ cells prior to stem cell harvesting by leukapheresis: a single center experience. Hematol Transfus Cell Ther, 40(3), p.213-218.

2. Lefrere F, et al (2007). Evaluation of an algorithm based on peripheral blood hematopoietic progenitor cell and CD34+ cell concentrations to optimize peripheral blood progenitor cell collection by apheresis. Transfusion, 47, p1851-1857

3. Michael L.Linenberger (2009). Collection of cellular therapy products by apheresis. Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation, Bethesda, MD:AABB, 2009, chapter 23, p.251-277.

4. Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh lý huyết học (Ban hành kèm theo quyết định số 1832/QĐ-BYT ngày 01/07/2022)

5. Kai Hubel (2019). Mobilization and Collection of HSC, The EBMT Handbook, chapter 15, p.117-119.

17. GẠT TÁCH TẾ BÀO GỐC MÁU NGOẠI VI TRÊN HỆ THỐNG TỰ ĐỘNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích

Nhằm thu được khối tế bào gốc từ máu ngoại vi huy động từ người hiến hoặc người bệnh để sử dụng trong điều trị ghép cho người bệnh.

1.2. Nguyên lý

Kỹ thuật sử dụng máy chuyên dụng để phân tách các thành phần máu, dựa trên nguyên lý ly tâm tỷ trọng. Các thành phần của máu có tỷ trọng, kích thước và độ nhớt khác nhau nên khi ly tâm sẽ phân tách thành các lớp khác nhau. Lớp bạch cầu giàu tế bào gốc được thu nhận và trả lại người cho các thành phần máu còn lại.

2. CHỈ ĐỊNH

- Người hiến đạt tiêu chuẩn về hiến tế bào gốc tạo máu;
- Người bệnh có chỉ định ghép tế bào gốc tạo máu tự thân để điều trị;
- Tình trạng lâm sàng và tĩnh mạch ổn định cho phép thực hiện thủ thuật;
- Người hiến/người bệnh đã được huy động tế bào gốc và được xét nghiệm đủ điều kiện thực hiện gạn tách;
- Trường hợp không lấy được tĩnh mạch thì sử dụng tĩnh mạch trung tâm hoặc buồng tiêm truyền (port).

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Tình trạng lâm sàng và tĩnh mạch không cho phép thực hiện thủ thuật.

4. THẬN TRỌNG

- Tiền sử hạ canxi máu.
- Có thể gạn tách cho người hiến/người bệnh nhi khoa ≥ 4 tuổi, nhưng cần có sự cam kết đồng thuận của gia đình, hệ thống gạn tách đang vận hành đảm bảo tương thích với đối tượng nhi khoa.
- Trường hợp người hiến/người bệnh có cân nặng thấp (thường $< 25\text{kg}$ hoặc tùy theo từng thiết bị), dẫn đến thể tích máu lưu thông ngoài cơ thể ở trong thiết bị lớn hơn 10-15% thể tích máu cơ thể, cần sử dụng đơn vị máu an toàn để mồi (priming) làm đầy bộ kit trước khi gạn tách.
- Trường hợp người hiến hoặc người bệnh gạn tách có cân nặng thấp (thường $< 25\text{kg}$ hoặc tùy theo từng thiết bị), dẫn đến thể tích máu lưu thông ngoài cơ thể ở trong thiết bị lớn hơn 10-15% thể tích máu của đối tượng gạn tách, cần sử dụng đơn vị máu an toàn để mồi (priming) làm đầy bộ kit trước khi gạn tách.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sĩ: tối thiểu 01 người;
- Điều dưỡng/kỹ thuật y: tối thiểu 03 người.

5.2. Thuốc

- Natri Clorid 9‰;
- Calci Clorid 500mg/5ml;
- Đơn vị máu an toàn 250-350ml để mỗi máy (nếu cần);
- Thuốc cấp cứu chống sốc.

5.3. Vật tư

- Bộ thu nhận (kit) phù hợp;
- Chất chống đông ACD-A hoặc tương đương;
- Bơm tiêm các loại;
- Găng tay vô trùng;
- Bông cồn iod, cồn 70°;
- Dây garo, quả bóp, băng dính, panh, kéo;
- Kim luồn tĩnh mạch phù hợp;
- Dụng cụ theo dõi, chăm sóc người bệnh khi có sự cố: (bô, chậu).

5.4. Thiết bị

- Các thiết bị theo dõi dấu hiệu sinh tồn của người hiến/người bệnh trong quá trình gạn tách.

- Máy gạn tách thành phần máu tự động;
- Các bước chuẩn bị máy như sau:
 - + Chuẩn bị máy và kit tách.
 - * Bật công tắc nguồn và chờ máy khởi động;
 - * Lựa chọn chương trình gạn tách phù hợp;
 - * Kiểm tra hạn sử dụng và sự nguyên vẹn của bộ kit trước khi mở.
 - + Lắp đặt bộ thu nhận và chạy chương trình tráng máy.
 - * Lắp đặt bộ kit gạn tách theo hướng dẫn của máy.
 - * Kết nối kit với dung dịch chống đông và nước muối.
 - * Chạy chương trình tráng dung dịch chống đông và đuổi khí trong bộ kit.
 - + Mời máy với đơn vị hồng cầu đã chuẩn bị nếu có chỉ định.
 - + Nhập chỉ số của người hiến.
 - * Nhập các thông tin vào máy bao gồm các chỉ số của người hiến/người bệnh như chiều cao, cân nặng, chỉ số máu;
 - * Điều chỉnh các chỉ số đầu vào;
 - * Trước khi tiến hành chọc tĩnh mạch và kết nối kit với người hiến cần thực hiện đuổi khí phần dây hệ thống chưa test;
 - * Kết thúc chuẩn bị máy màn hình sẽ chuyển về “Start run”.

5.5. Người bệnh/người hiến

- Tiêu chuẩn tuyển chọn người hiến: áp dụng theo các văn bản hiện hành;
- Giải thích cho người hiến, người nhà về kỹ thuật trước khi thực hiện: mục đích, các bước tiến hành, biến chứng, nguy cơ có thể xảy ra, tiên lượng...

- Kiểm tra các thông tin người hiến, giải thích cho người hiến chuẩn bị trước gạn, phối hợp trong quá trình gạn và chế độ ăn uống nghỉ ngơi trong và sau gạn;

- Người hiến/người đại diện khai thông tin và ký xác nhận vào bản cam kết.

5.6. Hồ sơ bệnh án

- Hồ sơ bệnh án, các phiếu chỉ định, kết quả xét nghiệm;
- Cam kết gạn tách và lưu trữ tế bào gốc máu ngoại vi;
- Phiếu thủ thuật;
- Phiếu thu thập tế bào gốc máu ngoại vi.

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 330-360 phút.

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: phòng thủ thuật hoặc phòng gạn tách.

5.9. Kiểm tra hồ sơ

- Kiểm tra người hiến: tên, tuổi, cân nặng, huyết áp.
- Kết quả xét nghiệm theo tiêu chuẩn lựa chọn người hiến.

6. TIẾN HÀNH QUY TRÌNH KỸ THUẬT

6.1. Lấy đường truyền tĩnh mạch và kết nối kit với người hiến/người bệnh

Kỹ thuật y chọn tĩnh mạch tốt nhất trên mỗi tay, để đảm bảo áp lực đường ra và trường trả về. Trường hợp không chọn được tĩnh mạch ngoại vi thì chọn qua tĩnh mạch trung tâm.

- Xác định vị trí chọc tĩnh mạch;
- Sát khuẩn vị trí chọc bằng cồn iod từ trong ra ngoài theo hình xoáy ốc, sau đó sát khuẩn lại bằng cồn 70°;
- Dùng kim lùn 18G hoặc 20G chọc tĩnh mạch;
- Cố định đốc kim sau khi đã chọc được tĩnh mạch;
- Kết nối đường lấy máu ra và đường trả máu về với kim chọc tĩnh mạch;
- Mở khóa đường lấy máu ra và bấm nút khởi động để bắt đầu thực hiện quy trình gạn tách;
- Thực hiện các hướng dẫn xuất hiện trên màn hình: khóa van nước muối, mở kẹp đường trả máu về.

6.2. Thực hiện chương trình gạn tách

- Máy thực hiện gạn tách theo chương trình lựa chọn;
- Điều chỉnh các chỉ số để thu nhận sản phẩm tốt nhất: lượng máu vào, dòng huyết tương, lượng thu nhận, thể tích, số chu kỳ, thời gian xử lý...;
- Trong quá trình chạy theo dõi áp lực dòng chảy, ghi lại các diễn biến trong suốt quá trình;
- Xử lý các tình huống khi máy lỗi (nếu có):
 - + Lỗi thường gặp là áp lực dòng chảy đường ra thấp.
 - + Cách xử trí:
 - * Kiểm tra lại tĩnh mạch, dây ga rô;
 - * Hướng dẫn người hiến nắm quả bóp tay tạo áp lực;
 - * Nếu sau khi kiểm tra và hướng dẫn vẫn không hết lỗi trên thì giảm tốc độ dòng máu đường lấy ra máy xuống đến khi máy hết báo lỗi và tiếp tục theo dõi.
 - Tùy theo chỉ định yêu cầu để cài đặt chỉ số thể tích thu thập và thể tích lọc máu cho phù hợp. Thông thường thể tích máu xử lý không quá 3 lần thể tích

máu của người hiến/người bệnh (những trường hợp đặc biệt thì cân nhắc để đảm bảo đủ liều và không ảnh hưởng đến sức khỏe người hiến/người bệnh).

6.3. Kết thúc chương trình chạy máy

- Kết thúc chương trình chạy, khóa van đường ra máy, tiếp tục chạy để trả lượng máu còn lại trong bộ kit về cho người hiến;
- Ghi lại các kết quả gạn tách;
- Sau khi máy kết thúc trả máu cho người hiến/người bệnh, khóa tất cả các van, bấm dừng máy;
- Rút kim ra khỏi người hiến/người bệnh và băng ép vị trí chọc tĩnh mạch;
- In và dán tem thông tin lên túi máu theo mẫu.

6.4. Lấy mẫu kiểm tra chất lượng khối tế bào gốc thu nhận

- Lắc đều túi chế phẩm sau gạn tách.
- Lấy khoảng 2 ml sản phẩm vào túi lấy mẫu đi theo bộ kit;
- Sát khuẩn vị trí chọc kim bằng cồn 70°, dùng bơm tiêm hút 2 ml mẫu sản phẩm cho vào ống nghiệm để kiểm tra chất lượng khối tế bào gốc;

6.5. Bàn giao và hoàn thiện hồ sơ

- Hoàn thiện hồ sơ, điền đầy đủ thông vào phiếu theo dõi;
- Bàn giao túi máu cho nhóm xử lý;
- Vệ sinh máy và khu vực làm việc.
- Bàn giao người hiến/người bệnh cho đơn vị lâm sàng, có thể lấy máu kiểm tra lại kết quả xét nghiệm tại khoa lâm sàng nếu cần. Tiếp tục theo dõi đến khi các chỉ số lâm sàng, xét nghiệm ổn định có thể cho ra viện.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Theo dõi

- Theo dõi diễn biến các thông số của người hiến/người bệnh;
- Theo dõi diễn biến trong quá trình vận hành của máy;
- Theo dõi kết quả gạn tách tế bào máu;
- Ghi hồ sơ bệnh án/phiếu theo dõi theo mẫu.

7.2. Nguyên tắc xử trí

Mức độ	Biểu hiện	Nguyên tắc xử trí
Tai biến nhẹ	Tai biến thoáng qua hoặc khu trú, chỉ gây khó chịu mức độ nhẹ	Tiếp tục gạn tách, kết hợp với xử trí
Tai biến trung bình	Có thể có biểu hiện toàn thân như mệt mỏi, chóng mặt, ban toàn thân nhưng không đe dọa tính mạng	Tạm dừng gạn tách nếu cần, xử trí ổn định và tiếp tục gạn tách
Tai biến nặng	Có thể đe dọa tính mạng	Ngừng gạn tách, tập trung xử trí ổn định

7.3. Xử trí một số tai biến cụ thể

7.3.1. Phản ứng bất thường của người hiến/người bệnh

Các trường hợp phản ứng hầu hết do quá nhạy cảm, có yếu tố tâm lý: Sự chuẩn bị tư tưởng không tốt, sự lo lắng của đối tượng...

a/ Các biểu hiện phản ứng bất thường

- Nhẹ: có những biểu hiện xây xẩm nhưng không mất đi sự nhận biết;
- Vừa: có sự tăng nhanh của phản ứng nhẹ và dẫn đến sự mất nhận biết;
- Nặng: Có các biểu hiện trên kèm theo sự co giật (ít gặp).

b/ Xử trí các trường hợp phản ứng

- Không tiếp tục thực hiện gạn tách;
- Nhấc cao chân và hạ thấp đầu của người bệnh/người hiến máu;
- Nới lỏng hoặc cởi những áo quá chật, tạo không khí thoáng;
- Trường hợp đối tượng bị nôn: nằm nghiêng, có đồ chứa chất nôn;
- Kiểm tra biểu hiện ngoài và mạch thường xuyên;
- Nếu tình trạng tốt lên cho đối tượng uống nước mát, nghỉ ngơi đầy đủ;
- Đảm bảo đối tượng hồi phục hoàn toàn trước khi rời nơi thực hiện kỹ thuật;
- Trường hợp các cơn co giật kéo dài hơn 5 phút, đây là tình trạng cấp cứu, bác sĩ phải có mặt và xử trí chống co giật theo phác đồ.
- Ghi lại phản ứng vào bệnh án/hồ sơ hiến máu.

7.3.2. Hạ canxi huyết

- Trường hợp nhẹ:
 - + Biểu hiện: dị cảm môi, mặt.
 - + Xử trí: giảm tốc độ lấy máu ra và trả về của máy, có thể có thể bổ sung canxi nếu cần;
- Trường hợp nặng:
 - + Biểu hiện: co rút cơ nhiều, đau, khó thở...
 - + Xử trí: tạm ngừng chương trình và tiêm canxi tĩnh mạch chậm; khi người hiến hết triệu chứng có thể chạy tiếp.

7.3.3. Tai biến tại vị trí lấy tĩnh mạch

- Biểu hiện:
 - + Đau nhức vị trí lấy tĩnh mạch;
 - + Tĩnh mạch bị tắc, không lưu thông được máu;
 - + Phồng tĩnh mạch hoặc phần mềm xung quanh;
- Xử trí:
 - + Tạm dừng chương trình và dừng kết nối với tĩnh mạch bị tổn thương, có thể cho máy chạy tiếp bằng dung dịch muối để tránh đông dây;
 - + Thay đổi vị trí lấy tĩnh mạch khác, nên lấy ở chi khác;
 - + Băng, cố định, giảm đau vị trí tĩnh mạch tổn thương.

7.3.4. Các tai biến ít gặp khác

Có thể gặp các tai biến ít gặp khác như tăng/giảm huyết áp, dị ứng, sốt, xuất huyết giảm tiểu cầu..., cần xử trí theo chuyên khoa với từng trường hợp cụ thể.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2013), Thông tư hướng dẫn hoạt động truyền máu, số 26/2013/TT-BYT ngày 16/09/2013 về tiêu chuẩn lựa chọn người hiến máu và việc lấy máu, thành phần máu.
2. Terumo (2018). Spectra Optia® Apheresis System. *Operator's Manual*.
3. Areman EM, Loper K (2009). Collection of Cellular Therapy Products by Apheresis, Chapter 23, in *Cellular Therapy: Principles, Methods, and Regulations*, AABB, p 251-277.
4. Protocol của máy.
5. Volker Witt and Christina Peters (2019). Collection of HSC in Children. Hematopoietic stem cell transplantation and cellular therapies, The EBMT Handbook, chapter 16, p.123-126.
6. Mahvish Q Rahim, W Scott Goebel, John Delph, Esther Soundar (2023). Primed for change: The effect of a blood prime on peripheral blood stem cell collection and accuracy of a prediction tool in pediatric patients, J Clin Apher, 38(5):540-547.

18. GẠN TÁCH TẾ BÀO ĐƠN NHÂN MÁU NGOẠI VI TRÊN HỆ THỐNG TỰ ĐỘNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích

Nhằm thu được khối tế bào đơn nhân từ người hiến hoặc người bệnh để sử dụng trong điều trị hoặc xử lý trong các liệu pháp tế bào khác. Khối bạch cầu đơn nhân có tế bào lympho và tế bào mono, có thể ứng dụng trong nhiều tình huống khác nhau như truyền khối tế bào lympho, tạo khối tế bào CAR-T...

1.2. Nguyên lý

Kỹ thuật sử dụng máy chuyên dụng để phân tách các thành phần máu, dựa trên nguyên lý ly tâm tỷ trọng. Các thành phần của máu có tỷ trọng, kích thước và độ nhớt khác nhau nên khi ly tâm sẽ phân tách thành các lớp khác nhau; ta có thể thu nhận tế bào đơn nhân và truyền trả về người cho các thành phần còn lại.

2. CHỈ ĐỊNH

Người hiến/người bệnh đạt tiêu chuẩn về hiến thành phần máu gạn tách theo quy định, có tình trạng lâm sàng và tĩnh mạch cho phép thực hiện thủ thuật.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Tình trạng lâm sàng, xét nghiệm không cho phép thực hiện thủ thuật.

4. THẬN TRỌNG

- Tiền sử hạ canxi máu.
- Có thể gạn tách cho người hiến/người bệnh ≥ 4 tuổi, nhưng nếu dưới 18 tuổi, cần có đồng thuận của gia đình, hệ thống gạn tách đảm bảo tương thích.
- Đối với bệnh nhi hay người hiến là trẻ em có thể cần thiết phải gây mê và đặt đường truyền tĩnh mạch trung tâm để thực hiện thủ thuật, tùy theo điều kiện của cơ sở y tế tiến hành gạn tách và các chuyên khoa phối hợp.
- Trường hợp người hiến/người bệnh gạn tách có cân nặng thấp (thường $< 25\text{kg}$ hoặc tùy theo từng thiết bị), dẫn đến thể tích máu lưu thông ngoài cơ thể ở trong thiết bị lớn hơn 10-15% thể tích máu của đối tượng gạn tách, cần sử dụng đơn vị máu an toàn để môi (priming) làm đầy bộ kit trước khi gạn tách.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sĩ: tối thiểu 01 người;
- Điều dưỡng/kỹ thuật y: tối thiểu 03 người.

5.2. Thuốc

- Natri Clorid 9‰;
- Calci Clorid 500mg/5ml;
- Đơn vị khối hồng cầu 250-350ml (nếu cần).
- Thuốc cấp cứu chống sốc

5.3. Vật tư

- Bộ thu nhận (kit) phù hợp;

- Chất chống đông ACD-A hoặc tương đương;
- Bơm tiêm các loại;
- Găng tay vô trùng;
- Bông cotton iốt, cồn 70°;
- Dây garo, quả bóp, băng dính, panh, kéo;
- Kim luer tĩnh mạch phù hợp;
- Dụng cụ theo dõi, chăm sóc khi có sự cố (hộp tiêm, xô...).

5.4. Thiết bị

- Các thiết bị theo dõi dấu hiệu sinh tồn của người hiến/người bệnh trong quá trình gạn tách.

- Máy gạn tách thành phần máu tự động;
- Các bước chuẩn bị máy như sau:
 - + Chuẩn bị máy và kit tách
 - * Bật công tắc nguồn và chờ máy khởi động;
 - * Lựa chọn chương trình gạn tách phù hợp;
 - * Kiểm tra hạn sử dụng và sự nguyên vẹn của bộ kit trước khi mở.
 - + Lắp đặt bộ thu nhận và chạy chương trình tráng máy.
 - * Lắp đặt bộ kit gạn tách theo hướng dẫn của máy;
 - * Kết nối kit với dung dịch chống đông và nước muối;
 - * Chạy chương trình tráng dung dịch chống đông và đuổi khí trong bộ kit.
 - + Mời máy với đơn vị hồng cầu đã chuẩn bị nếu có chỉ định.
 - + Nhập chỉ số của người hiến.
 - * Nhập các thông tin vào máy bao gồm các chỉ số của người hiến/người bệnh như chiều cao, cân nặng, chỉ số máu;
 - * Điều chỉnh các chỉ số đầu vào;
 - * Trước khi tiến hành chọc tĩnh mạch và kết nối kit với người hiến cần thực hiện đuổi khí phần dây hệ thống chưa test;
 - * Kết thúc chuẩn bị máy màn hình sẽ chuyển về “Start run”.

5.5. Người hiến/người bệnh

- Tiêu chuẩn tuyển chọn người hiến: áp dụng theo các quy định hiện hành;
- Thầy thuốc giải thích cho người bệnh, người nhà về kỹ thuật trước khi thực hiện: mục đích, các bước tiến hành, biến chứng, nguy cơ có thể xảy ra, tiên lượng...
- Nhân viên thực hiện tiếp nhận, kiểm tra các thông tin người hiến, giải thích cho người hiến chuẩn bị trước gạn, phối hợp trong quá trình gạn và chế độ ăn uống nghỉ ngơi trong và sau gạn;
- Người hiến/người đại diện khai thông tin và ký xác nhận vào bản cam kết.

5.6. Hồ sơ bệnh án

- Hồ sơ bệnh án, các phiếu chỉ định, kết quả xét nghiệm;
- Cam kết gạn tách và lưu trữ tế bào đơn nhân máu ngoại vi;

- Phiếu thủ thuật;
- Phiếu thu thập.

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 330-360 phút.

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng thủ thuật hoặc phòng gạn tách.

5.9. Kiểm tra hồ sơ

- Kiểm tra người hiến/người bệnh: tên, tuổi, cân nặng, huyết áp.
- Kết quả xét nghiệm: tổng phân tích tế bào máu, xét nghiệm bệnh lây truyền và các kết quả xét nghiệm cận lâm sàng khác theo chỉ định của bác sĩ (nếu có).

6. TIẾN HÀNH QUY TRÌNH KỸ THUẬT

6.1. Lấy đường truyền tĩnh mạch và kết nối kit với người hiến/người bệnh

- Chọn tĩnh mạch tốt nhất trên mỗi tay, để đảm bảo áp lực đường ra và trường trả về. Trường hợp không chọn được tĩnh mạch ngoại vi thì chọn qua tĩnh mạch trung tâm.
- Xác định vị trí chọc kim; sát khuẩn bằng cồn iod từ trong ra ngoài theo hình xoáy ốc, sau đó sát khuẩn lại bằng cồn 70°;
- Dùng kim lùn 18G hoặc 20G chọc tĩnh mạch;
- Cố định đốc kim sau khi đã chọc được tĩnh mạch;
- Kết nối đường lấy máu ra và đường trả máu về với kim chọc tĩnh mạch;
- Mở khóa đường lấy máu ra và bấm nút “Start run” để bắt đầu thực hiện quy trình gạn tách;
- Thực hiện các hướng dẫn xuất hiện trên màn hình: khóa van nước muối, mở kẹp đường trả máu về.

6.2. Thực hiện chương trình gạn tách

- Máy thực hiện gạn tách theo chương trình lựa chọn;
- Điều chỉnh các chỉ số để thu nhận sản phẩm tốt nhất: lượng máu vào, dòng huyết tương, lượng thu nhận, thể tích, số chu kỳ, thời gian xử lý...;
- Trong quá trình chạy theo dõi áp lực dòng chảy, ghi lại các diễn biến trong suốt quá trình;
- Xử lý các tình huống khi máy lỗi (nếu có).
- + Lỗi thường gặp là áp lực dòng chảy đường ra thấp
- + Cách xử trí:
 - * Kiểm tra lại tĩnh mạch, dây ga rô;
 - * Hướng dẫn người hiến nắm quả bóp tay tạo áp lực;
 - * Nếu sau khi kiểm tra và hướng dẫn vẫn không hết lỗi trên thì giảm tốc độ dòng máu đường lấy ra máy xuống đến khi máy hết báo lỗi và tiếp tục theo dõi.
- Tùy theo yêu cầu để cài đặt chỉ số thể tích thu thập và thể tích lọc máu cho phù hợp. Thông thường thể tích máu xử lý 3 lần thể tích máu của người hiến/người bệnh (những trường hợp đặc biệt thì cân nhắc để đảm bảo đủ liều và không ảnh hưởng đến sức khỏe người hiến/người bệnh).

6.3. Kết thúc chương trình chạy máy

- Kết thúc chương trình chạy, khóa van đường ra máy, tiếp tục chạy để trả lượng máu còn lại trong bộ kit về cho người hiến;
- Ghi lại các kết quả gạn tách;
- Sau khi máy kết thúc trả máu cho người hiến/người bệnh, khóa tất cả các van, bấm dừng máy;
- Rút kim và băng ép vị trí chọc tĩnh mạch;
- In và dán tem thông tin lên túi máu theo mẫu.

6.4. Lấy mẫu kiểm tra chất lượng khối tế bào đơn nhân thu nhận

- Lắc đều túi chế phẩm máu gạn tách.
- Lấy khoảng 2 ml sản phẩm vào túi lấy mẫu đi theo bộ kit.
- Sát khuẩn vị trí chọc kim bằng cồn 70°, dùng bơm tiêm hút 2 ml mẫu sản phẩm cho vào ống nghiệm để kiểm tra chất lượng khối tế bào đơn nhân.

6.5. Bàn giao và hoàn thiện hồ sơ

- Hoàn thiện hồ sơ, điền đầy đủ thông vào phiếu theo dõi;
- Bàn giao túi máu cho nhóm xử lý;
- Vệ sinh máy và khu vực làm việc.
- Bàn giao người hiến/người bệnh cho đơn vị lâm sàng, có thể lấy máu kiểm tra lại kết quả xét nghiệm tại khoa lâm sàng nếu cần. Tiếp tục theo dõi đến khi các chỉ số lâm sàng, xét nghiệm ổn định có thể cho ra viện.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Theo dõi

- Theo dõi diễn biến các thông số của người hiến;
- Theo dõi diễn biến trong quá trình vận hành của máy;
- Theo dõi kết quả gạn tách tế bào máu;
- Ghi hồ sơ bệnh án/phiếu theo dõi theo mẫu.

7.2. Xử trí tai biến

Mức độ	Biểu hiện	Nguyên tắc xử trí
Tai biến nhẹ	Tai biến thoáng qua hoặc khu trú, chỉ gây khó chịu mức độ nhẹ	Tiếp tục gạn tách, kết hợp với xử trí
Tai biến trung bình	Có thể có biểu hiện toàn thân như mệt mỏi, chóng mặt, ban toàn thân nhưng không đe dọa tính mạng	Tạm dừng gạn tách nếu cần, xử trí ổn định và tiếp tục gạn tách
Tai biến nặng	Có thể đe dọa tính mạng	Ngừng gạn tách, tập trung xử trí ổn định

7.3. Xử trí một số tai biến cụ thể

7.3.1. Phản ứng bất thường của người hiến/người bệnh

Các trường hợp phản ứng hầu hết do quá nhạy cảm, có yếu tố tâm lý: sự chuẩn bị tư tưởng không tốt, sự lo lắng của đối tượng...

a/ Các biểu hiện phản ứng bất thường:

- Nhẹ: có những biểu hiện xây xẩm nhưng không mất đi sự nhận biết;
- Vừa: có sự tăng nhanh của phản ứng nhẹ và dẫn đến sự mất nhận biết;
- Nặng: có các biểu hiện trên kèm theo sự co giật (ít gặp).

b/ Xử trí các trường hợp phản ứng:

- Không tiếp tục thực hiện gạn tách;
- Nhấc cao chân và hạ thấp đầu của người bệnh/người hiến máu;
- Nói lỏng hoặc cởi những áo quá chặt, tạo không khí thoáng;
- Trường hợp đối tượng bị nôn: nằm nghiêng, có đồ chứa chất nôn;
- Kiểm tra biểu hiện ngoài và mạch thường xuyên;
- Nếu tình trạng tốt lên cho đối tượng uống nước mát, nghỉ ngơi đầy đủ;
- Đảm bảo đối tượng hồi phục hoàn toàn trước khi rời nơi thực hiện kỹ thuật;
- Trường hợp các cơn co giật kéo dài hơn 5 phút, đây là tình trạng cấp cứu, bác sĩ phải có mặt và xử trí chống co giật theo phác đồ.
- Ghi lại phản ứng vào bệnh án/hồ sơ hiến máu.

7.3.2. Hạ canxi huyết

- Trường hợp nhẹ:
 - + Biểu hiện: dị cảm môi, mặt.
 - + Xử trí: giảm tốc độ lấy máu ra và trả về của máy, có thể có thể bổ sung canxi nếu cần;
- Trường hợp nặng:
 - + Biểu hiện: co rút cơ nhiều, đau, khó thở...
 - + Xử trí: tạm dừng chương trình và tiêm canxi tĩnh mạch chậm; khi người hiến hết triệu chứng có thể chạy tiếp.

7.3.3. Tai biến tại vị trí lấy tĩnh mạch

- Biểu hiện:
 - + Đau nhức vị trí lấy tĩnh mạch;
 - + Tĩnh mạch bị tắc, không lưu thông được máu;
 - + Phồng tĩnh mạch hoặc phần mềm xung quanh.
- Xử trí:
 - + Tạm dừng chương trình và dùng kết nối với tĩnh mạch bị tổn thương, có thể cho máy chạy tiếp bằng dung dịch muối để tránh đông dây;
 - + Thay đổi vị trí lấy tĩnh mạch khác, nên lấy ở chi khác;
 - + Băng, cố định, giảm đau vị trí tĩnh mạch tổn thương.

7.3.4. Các tai biến ít gặp khác

Có thể gặp các tai biến ít gặp khác như tăng/giảm huyết áp, dị ứng, sốt, xuất huyết giảm tiểu cầu..., cần xử trí theo chuyên khoa với từng trường hợp cụ thể.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2013), Thông tư hướng dẫn hoạt động truyền máu, số 26/2013/TT-BYT ngày 16/09/2013 về tiêu chuẩn lựa chọn người hiến máu và việc lấy máu, thành phần máu.
2. Terumo (2018). Spectra Optia® Apheresis System. *Operator's Manual*.
3. Protocol của máy.
4. Volker Witt and Christina Peters (2019). Collection of HSC in Children. Hematopoietic stem cell transplantation and cellular therapies, The EBMT Handbook, chapter 16, p.123-126.
5. Mahvish Q Rahim, W Scott Goebel, John Delph, Esther Soundar (2023). Primed for change: The effect of a blood prime on peripheral blood stem cell collection and accuracy of a prediction tool in pediatric patients, J Clin Apher, 38(5):540-547.

19. GẠN TÁCH BẠCH CẦU LYMPHO TỪ NGƯỜI HIẾN TRÊN HỆ THỐNG TỰ ĐỘNG ĐỂ ĐIỀU TRỊ

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích

Nhằm thu được khối tế bào lympho từ người hiến để xử lý, chọn lọc, kích hoạt... rồi sử dụng điều trị người bệnh có chỉ định như tăng cường miễn dịch sau ghép, hỗ trợ mọc ghép hay phục vụ các mục đích trị liệu khác nhau (tăng cường miễn dịch chống virus, tạo tế bào CAR-T).

1.2. Nguyên lý

Kỹ thuật sử dụng máy chuyên dụng để phân tách các thành phần máu, dựa trên nguyên lý ly tâm tỷ trọng. Các thành phần của máu có tỷ trọng, kích thước và độ nhớt khác nhau nên khi ly tâm sẽ phân tách thành các lớp khác nhau, thu nhận tế bào bạch cầu lympho và truyền trả về người hiến các thành phần còn lại.

2. CHỈ ĐỊNH

- Người hiến khỏe mạnh, đủ tiêu chuẩn hiến thành phần máu theo quy định;
- Người đã hiến tế bào gốc và người nhận cần điều trị bổ sung tế bào lympho để tăng cường miễn dịch (theo tiêu chuẩn người hiến tế bào gốc máu ngoại vi gạn tách).
- Tình trạng lâm sàng và tĩnh mạch cho phép thực hiện thủ thuật.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Tình trạng lâm sàng và tĩnh mạch không cho phép thực hiện thủ thuật.
- Mẫn cảm với thành phần có trong dung dịch chống đông được sử dụng trong quá trình gạn tách.

4. THẬN TRỌNG

- Tiền sử hạ canxi máu.
- Có thể gạn tách cho người hiến ≥ 4 tuổi, nhưng cần có sự cam kết đồng thuận của gia đình, hệ thống gạn tách đang vận hành đảm bảo tương thích.
- Đối với người hiến là trẻ em có thể cần thiết phải gây mê và đặt đường truyền tĩnh mạch trung tâm để thực hiện thủ thuật, tùy theo điều kiện của cơ sở y tế tiến hành gạn tách và các chuyên khoa phối hợp.
- Trường hợp người hiến có cân nặng thấp (thường $< 25\text{kg}$ hoặc theo hướng dẫn của từng hệ thống gạn tách), dẫn đến thể tích máu lưu thông ngoài cơ thể ở trong thiết bị lớn hơn 10-15% thể tích máu của đối tượng gạn tách, cần sử dụng đơn vị máu an toàn để môi (priming) làm đầy bộ kit trước khi gạn tách.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sĩ: 01 người;
- Điều dưỡng/kỹ thuật y: 03 người;

5.2. Thuốc

- Natri Clorid 9‰;

- Calci Clorid 500mg/5ml;
- Đơn vị máu an toàn 250-350ml để mỗi máy (nếu cần).

5.3. Vật tư

- Bộ thu nhận (kit) phù hợp;
- Chất chống đông ACD-A hoặc tương đương;
- Bơm tiêm các loại;
- Găng tay vô trùng;
- Bông cotton iốt, cồn 70°;
- Dây garo, quả bóp, băng dính, panh, kéo;
- Kim luồn tĩnh mạch phù hợp.

5.4. Thiết bị

- Các thiết bị theo dõi người hiến trong quá trình gạn tách.
- Loại thiết bị: máy tách thành phần máu tự động.
- Các bước chuẩn bị máy như sau:

+ Chuẩn bị máy và kit tách

- Bật công tắc nguồn và chờ máy khởi động.
- Lựa chọn chương trình gạn tách phù hợp.
- Kiểm tra hạn sử dụng và sự nguyên vẹn của bộ kit trước khi mở.

+ Lắp đặt bộ thu nhận và chạy chương trình tráng máy

- Lắp đặt bộ kit gạn tách theo hướng dẫn của máy.
- Kết nối kit với dung dịch chống đông và nước muối.
- Chạy chương trình tráng dung dịch chống đông và đuổi khí trong bộ kit

+ Nhập chỉ số của người hiến

- Nhập các thông tin vào máy bao gồm các chỉ số của người hiến như chiều cao, cân nặng, chỉ số máu;
- Điều chỉnh các chỉ số đầu vào;
- Trước khi tiến hành chọc tĩnh mạch và kết nối kit với người hiến cần thực hiện đuổi khí phần dây hệ thống chưa test;
- Kết thúc chuẩn bị máy màn hình sẽ chuyển về “Start run”.

5.5. Người hiến

- Tiêu chuẩn tuyển chọn người hiến: áp dụng theo các văn bản hiện hành.
- Giải thích cho người hiến/ người nhà, người bệnh về mục đích, sự cần thiết và nguy cơ có thể xảy ra.
- Kiểm tra các thông tin người hiến, giải thích cho người hiến chuẩn bị trước gạn, phối hợp trong quá trình gạn và chế độ ăn uống nghỉ ngơi trong và sau gạn;
- Người hiến khai thông tin và ký xác nhận vào bản cam kết.

5.6. Hồ sơ bệnh án

- Hồ sơ bệnh án, các phiếu chỉ định, kết quả xét nghiệm, đảm bảo đối chiếu đúng các thông tin hành chính như họ tên, tuổi, mã bệnh án của người hiến.
- Cam kết gạn tách và lưu trữ bạch cầu lympho máu ngoại vi;

- Phiếu thủ thuật;
- Phiếu thu thập.

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 330-360 phút.

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: phòng thủ thuật hoặc phòng gạn tách.

5.9. Kiểm tra hồ sơ

- Kiểm tra người hiến: tên, tuổi, cân nặng, huyết áp.
- Kết quả xét nghiệm theo tiêu chuẩn lựa chọn người hiến.

6. TIẾN HÀNH QUY TRÌNH KỸ THUẬT

6.1. Lấy đường truyền tĩnh mạch và kết nối kit với người hiến

- Kỹ thuật y chọn tĩnh mạch tốt nhất trên mỗi tay, để đảm bảo áp lực đường ra và trường trả về. Trường hợp không chọn được tĩnh mạch ngoại vi thì chọn qua tĩnh mạch trung tâm.

- Xác định vị trí chọc tĩnh mạch;
- Sát khuẩn vị trí chọc bằng cồn iod từ trong ra ngoài theo hình xoáy ốc, sau đó sát khuẩn lại bằng cồn 70°;
- Dùng kim lùn 18G hoặc 20G chọc tĩnh mạch;
- Cố định đốc kim sau khi đã chọc được tĩnh mạch;
- Kết nối đường lấy máu ra và đường trả máu về với kim chọc tĩnh mạch;
- Mở khóa đường lấy máu ra và bấm nút khởi động để bắt đầu thực hiện

quy trình gạn tách;

- Thực hiện các hướng dẫn xuất hiện trên màn hình: khóa van nước muối, mở kẹp đường trả máu về.

6.2. Thực hiện chương trình gạn tách

- Máy thực hiện gạn tách theo chương trình lựa chọn;
- Điều chỉnh các chỉ số để thu nhận sản phẩm tốt nhất: lượng máu vào, dòng huyết tương, lượng thu nhận, thể tích, số chu kỳ, thời gian xử lý...
- Trong quá trình chạy theo dõi áp lực dòng chảy, ghi lại các diễn biến trong suốt quá trình;

- Xử lý các tình huống khi máy lỗi (nếu có):

+ Lỗi thường gặp là áp lực dòng chảy đường ra thấp.

+ Cách xử trí:

* Kiểm tra lại tĩnh mạch, dây ga rô;

* Hướng dẫn người hiến nắm quả bóp tay tạo áp lực;

* Nếu sau khi kiểm tra và hướng dẫn vẫn không hết lỗi trên thì giảm tốc độ dòng máu đường lấy ra máy xuống đến khi máy hết báo lỗi và tiếp tục theo dõi.

- Tùy theo chỉ định yêu cầu để cài đặt chỉ số thể tích thu thập và thể tích lọc máu cho phù hợp. Thông thường thể tích máu xử lý 3 lần thể tích máu của người hiến (những trường hợp đặc biệt thì cân nhắc để đảm bảo đủ liều và không ảnh hưởng đến sức khỏe người hiến).

6.3. Kết thúc chương trình chạy máy

- Kết thúc chương trình chạy, khóa van đường ra máy, tiếp tục chạy để trả lượng máu còn lại trong bộ kit về cho người hiến;
- Ghi lại các kết quả gạn tách;
- Sau khi máy kết thúc trả máu cho người hiến, khoá tất cả các van, bấm dừng máy;
- Rút kim và băng ép vị trí chọc tĩnh mạch;
- In và dán tem thông tin lên túi máu theo mẫu.

6.4. Lấy mẫu kiểm tra chất lượng khối bạch cầu lympho thu nhận

- Lắc đều túi chế phẩm máu gạn tách
- Lấy khoảng 2 ml sản phẩm vào túi lấy mẫu đi theo bộ kit;
- Sát khuẩn vị trí chọc kim bằng cồn 70°, dùng bơm tiêm hút 2 ml mẫu sản phẩm cho vào ống nghiệm để kiểm tra chất lượng khối bạch cầu lympho.

6.5. Bàn giao và hoàn thiện hồ sơ

- Hoàn thiện hồ sơ, điền đầy đủ thông vào phiếu theo dõi;
 - Bàn giao túi máu cho nhóm xử lý;
 - Vệ sinh máy và khu vực làm việc;
 - Bàn giao người hiến cho đơn vị lâm sàng, lấy máu kiểm tra lại nếu cần.
- Tiếp tục theo dõi đến khi các chỉ số lâm sàng, xét nghiệm ổn định.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Theo dõi

- Theo dõi diễn biến các thông số của người hiến;
- Theo dõi diễn biến trong quá trình vận hành của máy;
- Theo dõi kết quả gạn tách tế bào máu;
- Ghi hồ sơ bệnh án/phiếu theo dõi theo mẫu.

7.2. Nguyên tắc xử trí

<i>Mức độ</i>	<i>Biểu hiện</i>	<i>Nguyên tắc xử trí</i>
Tai biến nhẹ	Tai biến thoáng qua hoặc khu trú, chỉ gây khó chịu mức độ nhẹ	Tiếp tục gạn tách, kết hợp với xử trí
Tai biến trung bình	Có thể có biểu hiện toàn thân như mệt mỏi, chóng mặt, ban toàn thân nhưng không đe dọa tính mạng	Tạm dừng gạn tách nếu cần, xử trí ổn định và tiếp tục gạn tách
Tai biến nặng	Có thể đe dọa tính mạng	Ngừng gạn tách, tập trung xử trí ổn định

7.3. Xử trí một số tai biến cụ thể

7.3.1. Phản ứng bất thường của người hiến:

Các trường hợp phản ứng hầu hết do quá nhạy cảm, có yếu tố tâm lý: sự chuẩn bị tư tưởng không tốt, sự lo lắng của đối tượng...

a/ Các biểu hiện bất thường:

- Nhẹ: có những biểu hiện xây xẩm nhưng không mất đi sự nhận biết;
- Vừa: có sự tăng nhanh của phản ứng nhẹ và dẫn đến sự mất nhận biết;
- Nặng: có các biểu hiện trên kèm theo sự co giật (ít gặp).

b/ Xử trí các trường hợp phản ứng:

- Không tiếp tục thực hiện gạn tách;
- Nhấc cao chân và hạ thấp đầu của người hiến;
- Nói lỏng hoặc cởi những áo quá chật, tạo không khí thoáng;
- Trường hợp đối tượng bị nôn: nằm nghiêng, có đồ chứa chất nôn;
- Kiểm tra biểu hiện ngoài và mạch thường xuyên;
- Nếu tình trạng tốt lên cho đối tượng uống nước mát, nghỉ ngơi đầy đủ;
- Đảm bảo đối tượng hồi phục hoàn toàn trước khi rời nơi thực hiện kỹ thuật;
- Trường hợp các cơn co giật kéo dài hơn 5 phút, đây là tình trạng cấp cứu, bác sĩ phải có mặt và xử trí chống co giật theo phác đồ;
- Ghi lại phản ứng vào bệnh án/hồ sơ hiến máu.

7.3.2. Hạ canxi huyết

- Trường hợp nhẹ:
 - + Biểu hiện: dị cảm môi, mặt.
 - + Xử trí: giảm tốc độ lấy máu ra và trả về của máy, có thể bổ sung canxi nếu cần;
- Trường hợp nặng:
 - + Biểu hiện: co rút cơ nhiều, đau, khó thở...
 - + Xử trí: tạm dừng chương trình và tiêm canxi tĩnh mạch chậm; khi người hiến hết triệu chứng có thể chạy tiếp.

7.3.3. Tai biến tại vị trí lấy tĩnh mạch

- Biểu hiện:
 - + Đau nhức vị trí lấy tĩnh mạch;
 - + Tĩnh mạch bị tắc, không lưu thông được máu;
 - + Phồng tĩnh mạch hoặc phần mềm xung quanh.
- Xử trí:
 - + Tạm dừng chương trình và dùng kết nối với tĩnh mạch bị tổn thương, có thể cho máy chạy tiếp bằng dung dịch muối để tránh đông dây;
 - + Thay đổi vị trí lấy tĩnh mạch khác, nên lấy ở chi khác;
 - + Băng, cố định, giảm đau vị trí tĩnh mạch tổn thương.

7.3.4. Các tai biến ít gặp khác

Có thể gặp các tai biến ít gặp khác như tăng/giảm huyết áp, dị ứng, sốt, xuất huyết giảm tiểu cầu..., cần xử trí theo chuyên khoa với từng trường hợp cụ thể.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2013), Thông tư hướng dẫn hoạt động truyền máu, số 26/2013/TT-BYT ngày 16/09/2013 về tiêu chuẩn lựa chọn người hiến máu và việc lấy máu, thành phần máu.
2. Terumo (2018). Spectra Optia® Apheresis System. *Operator's Manual*.
3. Protocol của máy.
4. Volker Witt and Christina Peters (2019). Collection of HSC in Children. Hematopoietic stem cell transplantation and cellular therapies, The EBMT Handbook, chapter 16, p.123-126.
5. Mahvish Q Rahim, W Scott Goebel, John Delph, Esther Soundar (2023). Primed for change: The effect of a blood prime on peripheral blood stem cell collection and accuracy of a prediction tool in pediatric patients, J Clin Apher, 38(5):540-547.

20. THU THẬP DỊCH TỦY XƯƠNG ĐỂ PHÂN LẬP TẾ BÀO GỐC

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa

- Thu thập dịch tủy xương để phân lập tế bào gốc là sử dụng kim chuyên dụng chọc xuyên qua xương đến khoang tủy, hút lấy dịch tủy xương có chứa nhiều tế bào gốc.

- Vị trí chọc thường ở gai chậu sau trên hoặc gai chậu trước; ngoài ra, có thể lấy ở xương ức, đầu trên xương chày (đối với trẻ em dưới 18 tháng tuổi)...

1.2. Nguyên lý

Tủy xương có chứa nhiều tế bào gốc tạo máu, tế bào trung mô, tế bào đầu dòng nội mạc, nguyên bào sợi... nên là nguồn tế bào gốc có thể lấy và phân lập.

1.3. Mục đích của kỹ thuật

Thu thập được tế bào gốc từ tủy xương nhằm bổ sung, thay thế cho những tế bào hư hại, giảm hoặc mất chức năng trong một số bệnh lý.

2. CHỈ ĐỊNH

- Người hiến tế bào gốc tủy xương: sau khi đã kiểm tra đầy đủ các thông số xét nghiệm máu cũng như các xét nghiệm khác.

- Người bệnh có chỉ định điều trị bằng phương pháp ghép tế bào gốc tủy xương tự thân.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Người có thể trạng yếu, mắc bệnh phối hợp nặng, dị ứng thuốc gây mê...
- Người có bệnh lý ác tính có di căn tủy xương.
- Người có bệnh lý về rối loạn đông máu.
- Người bệnh đang trong đợt viêm cấp.

4. THẬN TRỌNG

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sĩ: 02 người;
- Kỹ thuật y: 02 người;
- Điều dưỡng: 01 người.

5.2. Thuốc

- Dung dịch chống đông: Heparin;
- NaCl 0,9%;
- Dụng cụ và thuốc cho quá trình vô cảm người bệnh: thuốc tiền mê, thuốc gây tê tủy sống, thuốc gây mê.

5.3. Vật tư

- Cồn 70° và cồn iod;
- Săng lốt vô khuẩn;
- Găng tay vô khuẩn;
- Băng, gạc, bông vô khuẩn;

- Cốc vô trùng đựng cồn;
- Bơm tiêm 20ml, 50ml;
- Kim chọc hút tủy chuyên dụng (có lỗ ở bên);
- Dụng cụ chứa dịch tủy (túi chuyên dụng hoặc cốc inox hoặc ống Falcon).

5.4. Thiết bị

- Tủ lạnh 4°C;
- Giường nằm cho người bệnh;
- Thiết bị theo quy trình gây mê.

5.5. Người bệnh (người hiến)

Người bệnh (Người hiến) và gia đình: được giải thích đầy đủ về thủ thuật.

- Người hiến nhịn ăn trước 6 giờ.
- Người hiến được tiền mê và gây tê tại chỗ đối với người lớn lấy dịch tủy xương với thể tích nhỏ, gây mê toàn thân đối với trẻ em, gây mê hoặc gây tê tủy sống người lớn lấy dịch tủy xương với thể tích lớn.

5.6. Hồ sơ bệnh án

Ghi chép đầy đủ, chi tiết các lần thăm khám, hội chẩn, giải thích.

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 210-240 phút.

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng phẫu thuật.

5.9. Kiểm tra hồ sơ

Đánh giá tính chính xác của người hiến và các xét nghiệm: đúng người hiến, đúng chẩn đoán, đúng chỉ định.

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Chuẩn bị tư thế người hiến và vô cảm vùng chọc tủy

6.1.2. Trường hợp gây tê tại chỗ

- Để người hiến nằm sấp trên giường có nệm cứng.
- Xác định vị trí chọc tủy tại gai chậu sau trên hai bên: mốc để xác định vị trí chọc khi người hiến nằm sấp là ngang mức đốt sống thắt lưng thứ 5, phía dưới điểm cao nhất của mào chậu 1-2 cm, phía ngoài khớp cùng-chậu hai bên, cách đường giữa sau cột sống 5 - 6 cm.
- Sát trùng vùng chọc (2 lần) và phủ băng lỗ, sao cho vị trí chọc tủy ở giữa lỗ băng.
- Gây tê tại chỗ vùng chọc tủy.

6.1.2. Trường hợp gây tê tủy sống

- Đặt đường truyền tĩnh mạch để truyền dịch trước khi tiến hành gây tê để bù dịch do nhịn ăn và giãn mạch do gây tê.
- Tư thế gây tê tủy sống: người hiến nằm nghiêng cong lưng, hai đầu gối áp sát vào bụng cầm tì vào ngực.
- Xác định vị trí chọc kim: thường ở khe giữa 2 đốt sống từ L2-3 đến L4-5.
- Sát trùng tại vùng chọc kim 2 lần, sau đó lau khô và phủ khăn lỗ lên trên.
- Gây tê tại chỗ vùng chọc bằng thuốc tê.

- Chọc tủy sống:

+ Có hai đường chọc: đường chọc giữa và đường chọc bên. Vị trí chọc cách đường giữa 1,5 - 2cm, hướng kim vào đường giữa, lên trên, ra trước.

+ Dùng kim 18G dẫn đường, chọc sâu từ 1 - 2cm.

+ Dùng kim tủy sống luôn qua kim dẫn đường 3 - 5cm, vát kim hướng lên trên khi người bệnh nằm, rút nòng kim nếu thấy dịch não tủy chảy ra tức là kim đã ở trong khoang dưới nhện (kim càng bé thì dịch não tủy chảy ra càng chậm). Liều thuốc tê bơm vào tủy sống tùy theo liều lượng cho từng người hiến rồi rút kim băng kín lại. Tốc độ bơm thuốc 5-10 giây cho mỗi ml dung dịch thuốc tê (bupivacain dùng liều 0,2mg/kg, không quá 15mg. Muốn giảm liều lượng mà vẫn đủ để chọc tủy xương thường nên thêm 10µg fentanyl vào dung dịch thuốc tê bupivacain. Ở người bệnh lớn tuổi nên giảm liều). Khi dùng kim 25G chọc tủy sống thì không cần dùng kim dẫn đường.

6.1.3. Trường hợp gây mê: Theo quy trình gây mê tĩnh mạch.

6.2. Chọc kim vào khoang tủy

Kỹ thuật lấy dịch tủy xương: theo kỹ thuật của Hernigou:

- Dùng kim lấy tủy có nòng đường kính 2,4 mm, được tráng chống đông bằng Heparine (lượng Heparine pha: 50 đơn vị/ml dung dịch NaCl 0,9%).

- Sau khi đã xác định đúng vị trí chọc kim tại gai chậu sau trên hai bên, chọc thẳng kim vào theo hướng vuông góc.

- Sau khi chọc qua da (thông thường độ sâu của kim từ 2-6 cm tùy thuộc vào thể trạng người hiến và chiều dày của phần mềm, tổ chức dưới da), khoan kim qua phần vỏ để tới phần xốp của xương là khi cảm giác nhẹ tay, đó là khoang tủy. Cần kiểm soát độ sâu của kim để không chọc qua phần vỏ xương bên kia, tránh làm tổn thương các tạng trong tiểu khung. (khi đưa kim vào phải luôn luôn có nòng bên trong để tránh các mảnh xương nhỏ hoặc mô mềm kẹt vào nòng kim).

- Trong quá trình thực hiện kỹ thuật phải luôn chú ý tình trạng người bệnh và xử trí nếu cần.

6.3. Thu thập dịch tủy

- Hút và phân phối dịch tủy xương.

+ Khi tới phần xốp của xương chậu, nòng của kim lấy tủy được rút ra, lắp bơm tiêm 20 ml vào đốc kim để bắt đầu hút dịch tủy xương. Trong nhiều trường hợp, áp lực trong khoang tủy xương chậu khá lớn nên dịch tủy có thể tự hút vào bơm tiêm. Nếu không hút được dịch tủy có thể do chưa vào đúng khoang tủy hoặc phần xốp của xương chậu quá mỏng cần phải thay đổi hướng kim và hút lại.

+ Số lượng dịch tủy xương mỗi lần hút không quá 5 ml để giám độ pha loãng với máu ngoại vi.

+ Dịch tủy xương lấy ra, cho ngay vào các Falcon 50 ml đã tráng heparine để chống đông (Heparine pha: 50 đơn vị/ml dung dịch NaCl 0,9%) hoặc cho vào túi chuyên dùng. Trong quá trình đưa dịch tủy xương vào các ống luôn luôn lắc

đều các ống Falcon này để tránh đông. Các bơm tiêm sau mỗi lần hút đều được tráng lại Heparine 50 đơn vị/ml dung dịch NaCl 0,9%.

+ Sau mỗi lần hút, kim được rút ra hoặc đưa sâu vào thêm từ 0,5-1 cm và xoay 45° để có thể hút ở nhiều vị trí. Tại mỗi vị trí, hút 3-4 lần sau đó chuyển sang vị trí khác cách tối thiểu 2 cm để tránh hút nhiều máu làm pha loãng dịch tủy xương.

+ Sau khi lấy xong dịch tủy xương, băng ép vị trí chọc kim và cho người bệnh nằm ngửa để tránh chảy máu qua vị trí chọc.

- Thể tích dịch tủy xương lấy:

+ Tại mỗi vị trí chọc kim ở gai chậu sau trên, lấy khoảng 120-130 ml dịch tủy xương, số lần hút mỗi bên là 30-35 lần (mỗi lần hút dưới 5 ml).

+ Thể tích dịch tủy xương không vượt quá 20ml/kg. Bù khối hồng cầu, NaCl 0.9% để cân bằng huyết động.

- Kết thúc chọc hút dịch tủy: khi đạt yêu cầu hoặc có bất thường không cho phép thực hiện thủ thuật.

- Cầm máu vị trí chọc hút: ấn gạc lên vị trí chọc hút khoảng 10 phút, kiểm tra đến khi hết chảy máu thì đặt xốp cầm máu và băng ép vị trí chọc.

- Chuyển dịch tủy xương thu được cho bộ phận tiếp theo để xử lý.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

Thông thường thực hiện thủ thuật chọc tủy rất hiếm khi dẫn đến tai biến. Chỉ một số ít trường hợp có thể gặp tai biến như:

- Sốc dị ứng thuốc gây tê/gây mê: do cơ địa dị ứng của người bệnh. Thử test trước ở những trường hợp có chỉ định theo quy định.

- Nhiễm trùng nơi chọc: rất hiếm gặp do vị trí chọc tủy được sát khuẩn rộng bằng cồn iod 5%, sau đó bằng cồn 70° cồn. Tuy nhiên, nếu bóc băng vết chọc sớm (bóc băng vết chọc trong vòng 24 giờ), gần vị trí chọc đang có nhiễm trùng có thể gây nhiễm trùng vết chọc (nếu nước thấm vào băng vết chọc, thì nên bóc băng, sát khuẩn lại và băng lại vết chọc). Nếu tình trạng kéo dài và biến chứng thì có thể xử trí bằng cách: nạo viêm, làm sạch và điều trị kháng sinh.

- Chảy máu vị trí chọc tủy. Ít gặp, tuy nhiên nếu người bệnh có rối loạn đông cầm máu thì có thể chảy máu vị trí chọc. Xử trí khi đó thường là:

+ Dùng thuốc có khả năng làm tăng nguy cơ chảy máu trước 1 tuần.

+ Băng ép cầm máu tại chỗ.

+ Dùng thuốc cầm máu (nếu cần).

+ Truyền máu nếu xét nghiệm người bệnh có thiếu máu do hút một lượng lớn dịch tủy xương hoặc mất máu.

- Tai biến: tụ máu vùng lấy tủy. Xử trí: rạch lấy máu tụ, băng ép.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Thomas R. Spiter, MD. Bone Marrow collection. Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation, Bethesda, MD: AABB, 2009, chapter 22, p.236-250.
2. Meerim Park, Jong Jin Seo (2012). Role of HLA in Hematopoietic Stem Cell Transplantation. Bone Marrow Research Article, 1-7.
3. Passweg JR, Baldomero H, Bader P, Bonini C, Cesaro S, Dreger P, et al (2014). Hematopoietic stem cell transplantation in Europe 2014: more than 40000 transplants annually. Bone Marrow Transplant, 51:786–92
4. Tucci F, Frittoli M, Barzaghi F, Calbi V, Migliavacca M, Ferrua F, Fumagalli F, Lorioli L, Castagnaro L, Facchini M, Fossati C, Zancan S, Massariello P, Manfredini M, Consiglieri G, Canarutto D, Recupero S, Calzadini F, Casiraghi M, Darin S, Antonioli G, Miniero R, Fiori R, Silvani P, Zambelli M, Marktel S, Gattillo S, Milani R, Santoleri L, Ciceri F, Biffi A, Cicalese MP, Bernardo ME, Aiuti A. Bone marrow harvesting from paediatric patients undergoing haematopoietic stem cell gene therapy. Bone Marrow Transplant. 2019 Dec;54(12):1995-2003. doi: 10.1038/s41409-019-0573-6. Epub 2019 May 31. PMID: 31150018; PMCID: PMC6897559.

21. THU THẬP MÔ MỠ ĐỂ PHÂN LẬP TẾ BÀO GỐC

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa

Có thể lấy mô mỡ từ người hiến thông qua phẫu thuật hay thủ thuật như chọc hút dưới da. Quy trình này trình bày các bước tiến hành thủ thuật hút mỡ dưới da.

1.2. Nguyên lý

Mô mỡ là nguồn một trong những nguồn quan trọng để phân lập tế bào gốc trung mô (MSC), gọi là tế bào gốc có nguồn gốc từ mô mỡ (ADSC). Mô mỡ là mô liên kết lỏng, thường được tích tụ nhiều trong các túi mỡ ở một số vị trí như dưới da bụng vùng quanh rốn, hông, lưng, mông, đùi, cánh tay... Do đó đây cũng là những vị trí ưu tiên để thu thập mô mỡ bằng thủ thuật hút mỡ. Mỡ được chuyển thành dạng lỏng dưới tác động cơ học hoặc tác động hóa học của các enzyme và được hút ra qua một ống nhỏ.

1.3. Mục đích của kỹ thuật

Thu được khối mô mỡ phục vụ phân lập tế bào gốc.

2. CHỈ ĐỊNH

- Người hiến: người có đủ điều kiện hiến mô đã qua sàng lọc, kiểm tra sức khỏe đảm bảo đủ tiêu chuẩn hiến mô mỡ.

- Người hiến tự thân khi có chỉ định ghép tế bào gốc từ mô mỡ.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Bệnh toàn thân;
- Rối loạn huyết động;
- Tổn thương da vùng lấy mỡ.

4. THẬN TRỌNG

Thận trọng với bệnh nhân có chỉ số BMI < 18.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Nhân lực

- Bác sỹ: 01 người;
- Kỹ thuật y/ Điều dưỡng: 02 người.

5.2. Thuốc

- Adrenaline;
- NaCl 9‰;
- Lidocaine 1%;
- Thiết bị và thuốc cho quá trình vô cảm người bệnh.

5.3. Vật tư

- Săng lổ vô trùng;
- Găng tay vô khuẩn;
- Băng, gạc, bông vô khuẩn;
- Bông cồn 70° và cồn iod;

- Cồn sát trùng Isopropyl 70 - 90 độ;
- Kim hút mỡ, kim bơm nước muối 16G;
- Kim bơm nước muối;
- Bơm tiêm 10ml, bơm tiêm 20ml, bơm tiêm 50ml;
- Gạc vô trùng;
- Chỉ phẫu thuật;
- 5 đôi găng tay vô trùng;
- Túi chuyển máu vô khuẩn hoặc ống Fancol 50 vô trùng.

5.4. Thiết bị, dụng cụ

- Bộ dụng cụ hút mỡ;
- Kéo phẫu thuật, kẹp;
- khay phẫu thuật.

5.5. Người bệnh/người hiến

- Người hiến và gia đình: được giải thích đầy đủ về thủ thuật;
- Ký hồ sơ bệnh án;
- Người hiến nhịn ăn 6 giờ trước khi tiến hành thủ thuật.

5.6. Hồ sơ bệnh án

Ghi chép đầy đủ, chi tiết các lần thăm khám, hội chẩn, giải thích.

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 210-240 phút.

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: phòng phẫu thuật.

5.9. Kiểm tra hồ sơ

Đánh giá tính chính xác của người bệnh và các xét nghiệm: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng chỉ định.

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Tư thế

- Đưa người hiến vào phòng phẫu thuật đã được chuẩn bị sẵn để lấy mỡ.
- Đặt người hiến nằm ngửa (đối với lấy mỡ ở các khu vực phía trước vùng bụng, hông, đùi, bắp tay...), nằm sấp đối với khu vực phía sau như mông, lưng, đùi.
- Đánh dấu vị trí lấy mỡ.

6.2. Vô cảm

Gây tê tại chỗ/gây mê nội khí quản.

6.3. Tiến hành

Bước 1: chuẩn bị vị trí hút mỡ

- Sát trùng, trải sẵn bọc lộ vùng lấy mỡ.
- Đường rạch da nhỏ dài 0.3 - 0.5cm tại khu vực đã được chuẩn bị.

Bước 2: Thu thập mỡ

- Dùng canula chuyên dụng bơm dung dịch Tumescence vào tổ chức dưới da tại vùng hút mỡ.
- Kết nối đầu canula với bơm tiêm 50 ml áp lực âm hoặc máy hút mỡ chuyên dụng.
- Đưa canula vào hút.

- Thao tác nhẹ nhàng, hút đều giữa các vùng đã thiết kế.
- Lấy đủ lượng hỗn dịch mỡ cần thiết.
- Kiểm tra sau hút.
- Mỡ có thể được thu thập trong quá trình cắt lọc, tạo hình. Mỡ thu thập được đựng trong ống vô trùng đầy kín.

Bước 3: Kết thúc

- Khâu vết mổ.
- Băng ép sau hút, bỏ băng sau 24 giờ.

Bước 4: Kiểm tra sản phẩm sau thu thập

- Mỡ được hút ra đựng trong ống vô trùng bảo quản ở 2-8°C và chuyển tới phòng xử lý mô để tiến hành phân lập tế bào gốc trong vòng 24 giờ.
- Hoàn thiện hồ sơ thu thập, bàn giao mô mỡ.

Bước 5: Theo dõi người hiến sau hút mỡ

Sau hút mỡ, chuyển người hiến về phòng hậu phẫu để tiếp tục theo dõi.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

Theo dõi sát toàn trạng, vị trí hút mỡ nhằm phát hiện và xử trí các biến chứng có thể xảy ra như:

- Tai biến của gây tê/mê. Xử trí: hồi sức và theo dõi tại phòng hồi sức.
- Máu tụ. Xử trí: băng chun sau mổ, chọc hút dịch nếu có.
- Nhiễm trùng. Xử trí: thay băng, điều trị kháng sinh.
- Tắc mạch do mỡ, hút không đều. Xử trí: theo dõi, điều trị nội khoa, xử trí theo thương tổn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Yves-Gerard Illouz, Aris Sterodimas (2010). Isolation of Stem Cells from Human Adipose Tissue: Technique, Problems, and Pearls. Adipose Stem Cells and Regenerative Medicine.
2. Grambow, Felix, Rico Rutkowski, Fred Podmelle, Katrin Schmoeckel, Florian Siegerist, Grzegorz Domanski, Matthias W. Schuster, and Grazyna Domanska. 2020. "The Impact of Lidocaine on Adipose-Derived Stem Cells in Human Adipose Tissue Harvested by Liposuction and Used for Lipotransfer" International Journal of Molecular Sciences 21, no. 8: 2869. <https://doi.org/10.3390/ijms21082869>

22. THU THẬP MÔ DÂY RÓN ĐỂ PHÂN LẬP TẾ BÀO GỐC

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa

Quy trình thu thập mô dây rốn để phân lập tế bào gốc là trình tự các bước dùng dụng cụ vô trùng, lấy mẫu mô dây rốn có chứa nhiều tế bào gốc trung mô, nguyên bào sợi...

1.2. Nguyên lý

Mẫu mô dây rốn có chứa nhiều tế bào gốc trung mô, nguyên bào sợi.... là nguồn tế bào gốc tiềm năng cho phân lập.

1.3. Mục đích của kỹ thuật

Để lấy mô dây rốn phục vụ lưu trữ, phân lập tế bào gốc trung mô (MSC) phục vụ nghiên cứu và điều trị.

2. CHỈ ĐỊNH

- Người hiến mô dây rốn: sau khi được thăm khám, xét nghiệm đủ tiêu chuẩn.

- Sản phụ đăng kí lưu trữ mô dây rốn dịch vụ: đã có hợp đồng lưu trữ, có đầy đủ các kết quả xét nghiệm liên quan.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Người nhiễm các bệnh truyền nhiễm như HBV, HCV, HIV, giang mai ...

4. THẬN TRỌNG

Không có.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

Kỹ thuật y/Điều dưỡng: 02 người.

5.2. Thuốc

Môi trường vận chuyển mẫu (NaCl 0.9% - 1% kháng sinh).

5.3. Vật tư

- Cồn 70° và cồn iod;
- Găng tay vô khuẩn;
- Gạc vô trùng;
- Bông vô trùng;
- Cốc vô trùng đựng cồn;
- Panh, kéo vô trùng;
- Dụng cụ chứa mẫu mô dây rốn (ống Falcon có chứa sẵn 25-30ml môi trường vận chuyển).

5.4. Thiết bị

- Xe tiêm;
- Tủ lạnh 4°C.

5.5. Người bệnh

Sản phụ và gia đình: được giải thích đầy đủ về kỹ thuật.

5.6. Hồ sơ bệnh án

Ghi chép đầy đủ, chi tiết các lần thăm khám, hội chẩn, giải thích.

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 25-30 phút.

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: cơ sở sản khoa.

5.9. Kiểm tra hồ sơ

Đánh giá tính chính xác của người bệnh và các xét nghiệm: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng chỉ định.

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Sản phụ sau khi sinh em bé, bánh nhau được lấy ra khỏi tử cung đặt trong khay vô trùng.

- Sát trùng dọc dây rốn bằng cồn iod.

- Thu thập hoặc loại bỏ hết máu trong dây rốn và bánh nhau trước.

- Cắt mô dây rốn chuyên vào ống vận chuyển. Lấy 2 ống, mỗi ống 1 đoạn mô khoảng 3-5 cm.

- Kết thúc thu thập, vệ sinh khu vực thao tác, ghi thông tin mẫu, biểu mẫu thu thập – bàn giao.

- Chuyển mẫu mô dây rốn thu được cho bộ phận tiếp theo để xử lý.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

Thông thường thực hiện kỹ thuật thu thập mô dây rốn rất hiếm khi dẫn đến tai biến cho cả mẹ và bé, vì mẫu được thu thập sau khi bánh nhau được tách hoàn toàn khỏi mẹ và bé.

8. AN TOÀN

Mô dây rốn thường thu thập ngay sau khi sản phụ sinh em bé. Quy trình này không có rủi ro nào cho cả mẹ và bé.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Christine Mummery, Sir Ian Wilmut, Anja van de Stolpe, Bernard A.J. Roelen, Chapter 5 - Origins and Types of Stem Cells, Pages 87-107, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381535-4.10005-X>.

23. THU THẬP MÁU DÂY Rốn ĐỂ PHÂN LẬP TẾ BÀO GỐC

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích

Thu thập máu từ dây rốn ngay sau khi dây rốn được cắt rời khỏi cơ thể trẻ, nhằm lấy được tối đa thể tích, được chống đông và vô khuẩn để có thể tiếp tục xử lý và phân lập tế bào gốc.

1.2. Nguyên lý

Trong dây rốn, bánh rau còn tồn tại một thể tích máu nhất định của trẻ sơ sinh. Lượng máu này chứa tỷ lệ cao các loại tế bào gốc, đặc biệt là tế bào gốc tạo máu. Máu nằm tập trung ở các mạch máu chính của dây rốn. Quy trình dựa trên việc dùng các dụng cụ bao gồm kim lấy máu, túi đeo có thể thu được tối đa thể tích máu để chuyển về xử lý và phân lập tế bào gốc.

2. CHỈ ĐỊNH

Các trường hợp sản phụ có nhu cầu lưu giữ tế bào gốc máu dây rốn của con mình, hoặc hiến tặng cho các tổ chức, cơ quan có nhu cầu ứng dụng tế bào gốc đúng quy định của pháp luật.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Các trường hợp người mẹ/thai nhi được chẩn đoán mắc các bệnh về di truyền hay nhiễm trùng dẫn đến việc mẫu máu dây rốn không đủ điều kiện, chất lượng để lưu giữ (cụ thể tùy từng chuyên khoa và nhu cầu ứng dụng tế bào gốc).

- Tình trạng sản khoa của người mẹ không cho phép thu thập máu dây rốn (theo chỉ định của chuyên khoa sản).

- Sản phụ và gia đình không đồng ý thu thập máu dây rốn.

4. THẬN TRỌNG

- Người mẹ mắc các bệnh lý mạn tính, ác tính, từng điều trị các loại thuốc có nguy cơ gây đột biến.

- Mẹ sốt trên 38°C trong lúc chuyển dạ, chuyển dạ kéo dài.

- Nước ối có màu sắc, tính chất bất thường.

- Thai nhi được chẩn đoán hoặc nghi ngờ có bệnh lý bẩm sinh.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Nhân lực thực hiện

- Điều dưỡng/kỹ thuật y: 01 người.

- Trường hợp sinh đôi thì cần 02 Điều dưỡng/kỹ thuật y.

5.2. Phương tiện - hóa chất

5.2.1. Dụng cụ

- Gạc hấp vô trùng;

- Bộ kit và túi thu thập máu dây rốn;

- Quần áo vô trùng, mũ, khẩu trang;

- Xe thu thập mẫu (kìm vuốt, cân...)

- Cân khối lượng nhỏ từ 0-500 gram;

- Ống xét nghiệm có chất chống đông EDTA;
- Hộp vận chuyển túi máu dây rốn;
- Phiếu thu thập máu dây rốn;
- Thùng rác đựng vật sắc, nhọn;
- Xe đẩy y tế, khay đựng dụng cụ, giá treo và khay đựng bánh rau;
- Găng tay sạch;
- Các loại bút viết.

5.2.2. Hóa chất

- Cồn 70° và cồn iod (Povidine);
- Dung dịch rửa tay nhanh;
- Bình xịt sát khuẩn.

5.3. Chuẩn bị sản phụ hiến máu dây rốn

- Được tư vấn theo mẫu phiếu tư vấn về lưu trữ tế bào gốc máu dây rốn;
- Sản phụ điền thông tin và ký vào các mẫu biểu theo hướng dẫn;

5.4. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 330-360 phút.

5.5. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: các cơ sở sản khoa.

6. TIẾN HÀNH QUY TRÌNH KỸ THUẬT

Tùy theo diễn biến của cuộc đẻ và ý kiến của bác sĩ đỡ đẻ, tiến hành thu thập theo một trong hai phương pháp thu thập trước sổ rau hoặc sau sổ rau.

6.1. Thu thập máu dây rốn trước sổ rau

(Áp dụng trong trường hợp sản phụ đẻ thuận lợi, thu thập máu dây rốn ngay sau khi lấy thai, trước khi sổ rau);

- Kẹp và cắt dây rốn sau khi đẻ thường hoặc đẻ mổ;
- Sát trùng bề mặt dây rốn bằng Povidine (dây rốn phía bánh rau);
- Chọc kim của túi thu thập vào tĩnh mạch dây rốn thu thập toàn bộ máu dây rốn cho đến khi máu ngừng chảy, dây rốn xẹp lại và chuyển màu trắng (chú ý kẹp dây túi máu để tránh không khí vào túi máu);
- Lắc nhẹ nhàng túi thu thập máu để trộn đều dung dịch chống đông với máu dây rốn, tránh hình thành cục máu đông;
- Dùng kim vuốt để vuốt sạch máu trong đường dây của túi vào túi máu, hoặc thắt dây nhằm tránh máu tràn ngược vào trong dây và chảy ra ngoài;
- Lấy 5ml máu tĩnh mạch sản phụ cho vào ống nghiệm nắp xanh (nếu cần);
- Điền đầy đủ thông tin yêu cầu vào phiếu thu thập.

6.2. Thu thập máu dây rốn sau sổ rau

- Áp dụng khi quá trình đẻ không thuận lợi, cần kết thúc nhanh, khó thu thập trước sổ rau, hoặc cần lấy thêm lượng máu còn tồn dư trong dây rốn, bánh rau sau khi đã thu thập trước sổ rau.

- Chuẩn bị xe thu thập, bộ dụng cụ thu thập, để mâm một bên, khăn treo bánh rau một bên, gạc mùng để trên khăn treo và chia đôi: ½ gạc mùng được tẩm cồn 70° và ½ được tẩm Povidine;

- Sau khi sơ rau, bánh rau và dây rốn được đựng vào khay vô trùng và đưa ngay về xe thu thập;
- Đặt bánh rau vào khăn có lỗ đặc biệt, vô khuẩn và treo bánh rau lên một giá cao sao cho dây rốn thông xuống dưới;
- Sát trùng bề mặt dây rốn bằng gạc tẩm cồn và povidine;
- Chọc kim của túi thu thập vào tĩnh mạch dây rốn thu thập toàn bộ máu dây rốn cho đến khi máu ngừng chảy, dây rốn xẹp lại và chuyển màu trắng;
- Lắc nhẹ nhàng túi thu thập máu để trộn đều dung dịch chống đông với máu dây rốn, tránh hình thành cục máu đông;
- Dùng kim vuốt để vuốt sạch máu trong đường dây của túi vào túi máu, hoặc thắt dây nhằm tránh máu tràn ngược vào trong dây và chảy ra ngoài;
- Điền đầy đủ thông tin yêu cầu vào phiếu thu thập.

6.3. Kết thúc và đánh giá sau thu thập

Mẫu đạt yêu cầu khi:

- + Quá trình diễn ra an toàn, không nhiễm khuẩn;
- + Không có cục máu đông;
- + Túi thu thập đầy đủ nhãn, thông tin;
- + Không có rách, vỡ hoặc màu sắc bất thường.

7. THEO DÕI VÀ XỬ LÝ TAI BIẾN

- Tai biến thường liên quan đến kỹ thuật thu thập, ảnh hưởng đến chất lượng mẫu, không có tai biến liên quan đến người hiến.
- Biểu hiện:
 - + Máu chảy chậm, nguy cơ đông dây;
 - + Đâm kim xuyên qua dây rốn.
- Xử trí:
 - + Để kim, dây túi máu và túi máu tạo thành đường thẳng thuận lợi cho dòng chảy, không đâm kim vào động mạch rốn, vuốt nhẹ dây rốn từ bánh ra về vị trí kim lấy để tạo áp lực;
 - + Trường hợp đâm kim xuyên qua dây rốn cần nhanh chóng dùng kẹp, kẹp phía trên vị trí vừa đâm sau đó thao tác đâm kim lại chệch 1 góc 45 độ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ellen Arman, Kathy Ioper. AABB cellular therapy : principles, methods, and regulation 2nd edition, 2016.

24. ĐIỀU CHẾ TẾ BÀO GỐC TẠO MÁU BẰNG PHƯƠNG PHÁP THỦ CÔNG (Từ máu dây rốn)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Tạo ra khối tế bào gốc máu dây rốn chứa thành phần tế bào gốc tinh khiết, thể tích tối thiểu, giảm các thành phần thừa; đảm bảo vô khuẩn và giữ lại tối đa số lượng tế bào có nhân trong khối tế bào gốc.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Sử dụng dung dịch pha loãng và làm lắng hồng cầu liên kết với hồng cầu làm tăng tỷ trọng sau đó để hồng cầu tự lắng xuống dưới để lại lớp chứa nhiều tế bào có nhân bên trên.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Kỹ thuật y: 02 người.

2.2. Phương tiện

2.2.1. Dụng cụ:

- Bàn ép túi máu; máy hàn dây; kìm vuốt dây túi máu, cân điện tử;
- Bộ túi xử lý máu dây rốn;
- Hộp đựng bông tiệt trùng, kẹp, kẹp dây túi máu;
- Hộp bảo vệ kim loại (canister);
- Đồng hồ bấm giây;
- Ống đựng mẫu xét nghiệm;
- Tất cả các dụng cụ phải được hấp tiệt trùng.

2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Gạc, bông thấm vô trùng;
- Bông tắm cồn sát trùng 70°, cồn iod;
- Ống đựng mẫu xét nghiệm;
- Lưỡi dao hàn vô trùng;
- Kim lấy mẫu túi máu vô trùng;
- Bơm, kim tiêm.

2.2.3. Hoá chất

- Dung dịch lắng hồng cầu, dung dịch bảo quản đông lạnh và dung dịch nuôi dưỡng.
- Dung dịch khử khuẩn (cồn 70°....);
- Chai cấy vi trùng vi nấm;
- Hóa chất tiệt trùng bàn xét nghiệm, dụng cụ.
- Tất cả các môi trường hoá chất đều đã được tiệt trùng.

2.3. Thiết bị

- Tủ an toàn sinh học, tủ lạnh 4°C.
- Máy ly tâm lạnh, máy lắc túi máu, máy phân tích tế bào máu.

- Bơm tiêm điện.
- Cân điện tử.
- Máy hút chân không, hàn bao túi.
- Máy nối dây vô trùng.

2.4. Chuẩn bị mẫu

Khối tế bào gốc máu dây rốn sau thu thập.

2.5. Phiếu chỉ định

Ghi đầy đủ thông tin vào phiếu xử lý

2.6. Thời gian thực hiện: khoảng 270-300 phút.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Cơ sở có hệ thống phòng sạch và tủ an toàn sinh học.

3. AN TOÀN

3.1. An toàn thực hành

- Mặc áo, găng tay vô khuẩn khi làm việc;
- Đi giày, dép kín mũi chân;
- Thao tác đúng quy trình, chính xác.

3.2. An toàn hóa chất

- Ghi rõ ngày nhận, mở hóa chất;
- Hóa chất chưa sử dụng được sắp xếp gọn gàng, phân loại rõ ràng;
- Đọc kỹ nhãn mác hóa chất trước khi sử dụng;
- Hóa chất thải bỏ được đổ, để đúng nơi quy định.

3.3. An toàn thiết bị và điện

- Đảm bảo tay và các bề mặt khô trước khi tiếp xúc thiết bị điện hay dây nối.
- Kiểm tra mọi dây dẫn phích và dây nối dài, thay thế nếu cần.
- Không tự ý cắt đóng cầu dao điện.
- Luôn có đường điện ưu tiên để an toàn cho các thiết bị.

3.4. Quy định về hiệu chuẩn

Các thiết bị được hiệu chuẩn theo quy định để đảm bảo quá trình vận hành.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Chuẩn bị trước khi xử lý

- Người thực hiện: rửa tay hai lần; mặc quần áo bảo hộ theo quy định.
- Sát khuẩn bề mặt túi tế bào gốc trước khi chuyển vào phòng xử lý và trước khi chuyển túi vào tủ an toàn sinh học.
- Dán barcode, ghi thông tin vào phiếu và túi xử lý.

4.2. Thực hiện kỹ thuật

- Cầm kim lấy mẫu làm các xét nghiệm (virus và HLA...).
- Cân túi thu thập để tính thể tích trước xử lý và lượng dung dịch lắng hồng cầu sử dụng.
- Bơm dung dịch lắng hồng cầu vào túi mẫu và trộn đều từ 5 đến 10 phút.
- Kết nối túi mẫu với bộ túi xử lý và để tự lắng 50 phút.
- Ép lấy toàn bộ lớp huyết tương và lớp buffy-coat.

- Hàn tách túi hồng cầu và cân túi huyết tương chứa buffy-coat.
- Ly tâm túi huyết tương chứa buffy-coat để loại huyết tương.
- Hàn tách túi huyết tương và cân túi sản phẩm chứa buffy-coat.
- Lấy mẫu xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu, đếm CD34, cấy khuẩn.
- Chuẩn bị dung dịch bảo quản tế bào gốc đông lạnh và dung dịch nuôi dưỡng theo tỷ lệ 1:1 (nồng độ dung dịch bảo quản đông lạnh là 10%, nhiệt độ 2-4°C).
- Bơm dung dịch bảo quản vào túi sản phẩm trong vòng 15 phút.
- Kết thúc bơm lấy trong túi sản phẩm lưu 2 ống và mẫu cấy vi khuẩn.
- Chuyển sản phẩm tế bào gốc máu dây rốn sang túi lưu trữ và hàn tách các vị trí trên túi lưu giữ và trên dây.
- Cân túi sản phẩm.
- Đặt túi sản phẩm vào túi bảo vệ (overwrap) hàn kín và đặt vào hộp bảo vệ kim loại (canister).
- Chuyển túi sản phẩm và mẫu lưu kèm đi hạ nhiệt.
- Lắc đều túi hồng cầu, huyết tương lấy mẫu lưu và làm các xét nghiệm kiểm tra: điện di, nhóm máu và công thức máu...

4.3. Nhận định kết quả

- Đạt yêu cầu khi: tỷ lệ thu hồi tế bào có nhân $\geq 70\%$, đảm bảo vô khuẩn.
- Không đạt yêu cầu khi: thu hồi tế bào có nhân $< 70\%$, quy trình không đảm bảo vô khuẩn, rò rỉ, rách vỡ.

4.4. Kết thúc quy trình

- Điền đầy đủ các thông tin trên phiếu xử lý và tính hiệu suất xử lý;
- Gửi mẫu xét nghiệm (tùy theo mục đích ứng dụng): Công thức máu, nhóm máu, virus, điện di, CD34, HLA, cấy máu đến các phòng xét nghiệm;
- Bàn giao mẫu tế bào gốc cho bộ phận bảo quản.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Hành chính	Nhầm mẫu, nhầm tên	Đối chiếu thông tin mẫu và chỉ định	Sửa thông tin và lấy lại mẫu

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Thiết bị, dụng cụ	Thiết bị không đảm bảo yêu cầu	Các sản phẩm tạo ra không đạt chất lượng như yêu cầu	Sửa chữa, thay thế
2	Nhân viên thực hiện	Thực hiện không đúng quy trình	Mẫu điều chế không đúng cách, chất lượng mẫu sau bảo quản không đảm bảo	Đào tạo lại

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dazey, Bernard; Ducher, et al (2005). Cord blood processing by using a standard manual and automatic- closed system. Stem cells and Development, Vol 14 (1).
2. Lapierre V, Pellegrini N, et al (2007). Cord blood volume reduction using an automated system (Sepax) vs. a semi- automated system (Optipress II) and a manual method (hydroxyethyl starch sedimentation) for routine cord blood banking: a comparative study. Cytotherapy; 9(5):514
3. Dragoslav Domanovic. Placental/Umbilical cord blood collection & Processing. Blood Transfusion Centre Slovenia.
4. Melissa Croskell, Kathy Loper, David H.McKenna (2009). HES sedimentation for Manual Red Cell Removal, in Basic Cellular therapy manufacturing procedures, Method 26-2; Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation. Bethesda, MD: AABB, chapter 26, p.312-4.
5. Quy trình kỹ thuật của AABB (American Association of Blood Bank) và JCBN (the Japaneses Cord Blood Bank Network).

25. PHÂN LẬP TẾ BÀO GỐC TẠO MÁU BẰNG PHƯƠNG PHÁP THỦ CÔNG (áp dụng cho nhiều loại tế bào gốc khác nhau)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của quy trình

Tạo khối tế bào gốc tinh khiết, có thể tích tối thiểu, giảm bớt tối đa các thành phần thừa; đảm bảo vô khuẩn, không làm hư hại tế bào và thu hồi tối đa số lượng tế bào có nhân trong khối tế bào gốc.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Các thành phần trong dịch tủy xương, khối tế bào gốc từ máu ngoại vi, máu dây rốn có tỷ trọng và độ nhớt khác nhau. Dựa vào đặc tính này có thể sử dụng kỹ thuật thủ công với các thiết bị phù hợp phân lập các thành phần tế bào, loại bỏ các thành phần hồng cầu, tiểu cầu, huyết tương, xương vụn để thu được khối tế bào gốc tinh sạch nằm chủ yếu trong lớp bạch cầu (buffy-coat).

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Kỹ thuật y: 02 người.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ:

- Túi đeo lấy máu, bộ túi xử lý tế bào gốc;
- Pipet cơ, pipet điện;
- Bàn ép túi máu; kìm vuốt dây túi máu, cân điện tử;
- Hộp bảo vệ kim loại (canister);
- Tất cả các dụng cụ phải được hấp tiệt trùng.

2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Bộ lọc mảnh xương, mỡ,.. nếu thực hiện trên mẫu dịch tủy xương;
- Bộ túi xử lý;
- Gạc, bông thấm vô trùng;
- Bông tắm cồn sát trùng 70°, cồn iod;
- Ống đựng mẫu xét nghiệm ;
- Ống Falcon, ống RES-Q60;
- Lưỡi dao hàn vô trùng;
- Kim lấy mẫu túi máu vô trùng;
- Bơm, kim tiêm.

2.2.3. Hoá chất

- Dung dịch lắng hồng cầu, dung dịch bảo quản đông lạnh và dung dịch nuôi dưỡng;
- Dung dịch khử khuẩn (cồn 70°....);
- Chai cấy vi trùng vi nấm;
- Hóa chất tiệt trùng bàn xét nghiệm, dụng cụ;
- Tất cả các môi trường hoá chất đều đã được tiệt trùng;

- Dung dịch Ficoll;
- Máy hàn dây;
- Máy nối dây vô trùng.

2.3. Thiết bị

- Tủ an toàn sinh học vô trùng có đèn cồn, tủ lạnh 4°C;
- Máy ly tâm lạnh, máy lắc túi máu;
- Máy phân tích tế bào máu;
- Bơm tiêm điện;
- Cân điện tử;
- Máy hút chân không, hàn bao túi;
- Máy nối dây vô trùng.

2.4. Chuẩn bị mẫu

Khối tế bào gốc sau thu thập.

2.5. Phiếu chỉ định

Ghi đầy đủ thông tin vào phiếu xử lý

2.6. Thời gian thực hiện: khoảng 330-360 phút.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: cơ sở có hệ thống phòng sạch và tủ an toàn sinh học.

3. AN TOÀN

3.1. An toàn thực hành

- Ghi rõ ngày nhận, mở hóa chất;
- Sắp xếp hóa chất gọn gàng, phân loại rõ ràng;
- Đọc kỹ nhãn mác hóa chất trước khi sử dụng;
- Hóa chất thải bỏ được hủy, để đúng nơi quy định.

3.2. An toàn hóa chất

- Ghi rõ ngày nhận, mở hóa chất;
- Hóa chất chưa sử dụng được sắp xếp gọn gàng, phân loại rõ ràng;
- Đọc kỹ nhãn mác hóa chất trước khi sử dụng;
- Hóa chất thải bỏ được đổ, để đúng nơi quy định.

3.3. An toàn thiết bị và điện

- Đảm bảo tay và các bề mặt làm việc khô trước khi chạm vào thiết bị điện hay dây nối.
- Kiểm tra mọi dây dẫn phích và dây nối dài, tìm các dấu hiệu tróc lớp cách điện. Thay thế nếu cần.
- Không tự ý cắt đóng cầu dao điện.
- Luôn có đường điện ưu tiên để an toàn cho các thiết bị.

3.4. Quy định về hiệu chuẩn

Các thiết bị được hiệu chuẩn theo quy định để đảm bảo quá trình vận hành.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Chuẩn bị trước khi xử lý

- Người thực hiện: rửa tay hai lần; mặc quần áo bảo hộ theo quy định;
- Sát khuẩn bề mặt túi tế bào gốc trước khi chuyển vào phòng xử lý và trước khi chuyển túi vào tủ an toàn sinh học;
- Dán barcode, ghi thông tin vào phiếu và túi xử lý.

4.2. Thực hiện kỹ thuật

4.2.1. Các kỹ thuật có thể ứng dụng để phân lập tế bào gốc bằng phương pháp thủ công

- Phân lập tế bào gốc bằng túi lấy máu;
- Phân lập tế bào gốc bằng phương pháp ly tâm có sử dụng dung dịch lắng hồng cầu;
- Phân lập tế bào gốc bằng ống ly tâm 50 ml;
- Phân lập tế bào gốc bằng ống RES-Q60;
- Phân lập tế bào gốc bằng cách phân lớp sử dụng Ficoll.

4.2.2. Quy trình cụ thể

- Thời điểm thực hiện: càng sớm càng tốt, ngay khi mẫu được đưa đến labo;
- Người thực hiện: kỹ thuật đi găng tay, đội mũ, đeo khẩu trang;
- Thực hiện quy trình trong phòng xử lý tế bào gốc vô trùng.
- Khử trùng tay, găng tay bằng cồn ethanol 70°;
- Lấy 1ml mẫu xét nghiệm trước xử lý để xét nghiệm: Tổng phân tích tế bào máu, tế bào CD34, tỷ lệ tế bào sống chết;
- Nếu dùng dịch hút tủy xương:
 - + Lọc qua màng lọc 100 micromet để loại mảnh xương và xơ sợi;
 - + Pha loãng 2 lần bằng dung dịch NaCl 0,9%.
- * Phân lập thực hiện trên túi dẻo
 - Nếu phân lập có sử dụng dung dịch lắng hồng cầu;
 - + Thêm dung dịch lắng hồng cầu vào túi nguyên liệu.
 - + Trộn đều bằng tay hoặc dùng máy lắc.
 - Nếu không sử dụng dung dịch lắng hồng cầu: bơm dịch hút tủy xương sau lọc, máu dây rốn, khối tế bào gốc tách từ máu ngoại vi (150 - 300ml) vào túi lấy máu loại 4 túi;
 - Ly tâm lần 1, đảo ngược đầu túi.
 - Đẩy lớp hồng cầu sang túi phụ đến phần phân tách lớp huyết tương và hồng cầu.
 - Tách rời túi đựng khối hồng cầu.
 - Ly tâm lần 2.
 - Ép lớp huyết tương sang túi phụ đến cách lớp bạch cầu 4 cm.
 - Thu lấy lớp bạch cầu vào túi sản phẩm.
- * Phân lập thực hiện trên ống nhựa

- Tính số lượng ống Falcon 50 ml (mỗi ống xử lý được 30ml máu/dịch hút tủy xương) hoặc ống RES-Q60 cần dùng (mỗi ống xử lý 60ml).
- Pha loãng dịch xử lý đã chống đông với dung dịch đệm PBS theo tỷ lệ 6:1 (30 ml máu dây rốn/dịch hút tủy xương + 5 ml đệm PBS).
- Bổ sung các dung dịch để phân lớp nếu cần:
 - + Cho 15 ml Ficoll-Paque vào ống Falcon 50 ml. Nhẹ nhàng đặt 35 ml dịch đã pha loãng lên trên lớp Ficoll-Paque;
 - + Ly tâm với lực 445g trong 30 phút, ở nhiệt độ 20°C;
 - + Hút bỏ lớp huyết tương và hút lớp giàu bạch cầu chuyển sang ống Falcon 50ml mới.
- Nếu sử dụng ống RES-Q60: dùng bơm 20 ml chuyển dung dịch tế bào đầu vào tới vạch 60 của ống RES-Q60.
 - Tiến hành ly tâm, loại bỏ dịch nổi và giữ lại lớp cận tế bào.
 - Tái huyền dịch cận tế bào trong 15-20 ml dung dịch nước muối sinh lý.
 - Có thể dồn các dịch của nhiều ống vào 1 ống sau mỗi lần rửa và hút lớp bạch cầu, sau đó lại lặp lại bước ly tâm và rửa cho đến khi đạt độ tinh khiết cao nhất.
 - Lấy mẫu xét nghiệm sau xử lý 1ml để làm xét nghiệm: tổng phân tích tích tế bào máu, đếm tế bào CD34+, đánh giá tỷ lệ tế bào sống chết.
 - Kết thúc quy trình:
 - + Bàn giao sản phẩm và mẫu xét nghiệm;
 - + Hoàn thiện và lưu hồ sơ thực hiện.

4.3. Nhận định kết quả

- Đạt yêu cầu khi: tỷ lệ thu hồi tế bào có nhân $\geq 70\%$, đảm bảo vô khuẩn.
- Không đạt yêu cầu khi: thu hồi tế bào có nhân $< 70\%$, quy trình không đảm bảo vô khuẩn, rò rỉ, rách vỡ.

4.4. Kết thúc quy trình

- Điền đầy đủ các thông tin trên phiếu xử lý và tính hiệu suất xử lý;
- Gửi mẫu xét nghiệm (tùy theo mục đích ứng dụng): tế bào máu, nhóm máu, điện di, số lượng tế bào CD34, HLA, cấy máu đến các phòng xét nghiệm;
- Bàn giao mẫu tế bào gốc cho bộ phận bảo quản.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Hành chính	Nhầm mẫu, nhầm tên	Đối chiếu thông tin mẫu và chỉ định	Sửa thông tin và lấy lại mẫu

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Thiết bị, dụng cụ	Thiết bị không đảm bảo yêu cầu	Sản phẩm tạo ra không đạt chất lượng như yêu cầu	Sửa chữa, thay thế
2	Nhân viên thực hiện	Thực hiện không đúng quy trình	Mẫu điều chế không đúng cách, chất lượng mẫu sau bảo quản không đảm bảo	Đào tạo lại

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Melissa Croskell, Kathy Loper, and David H.McKenna (2009). Basic cellular therapy manufacturing procedures. Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation, Bethesda, MD: AABB, 2009, chapter 26, p.303-329.
2. Miltenyl Biotec Inc (2008). Isolation of mononuclear cells from human cord blood by density gradient centrifugation. www.miltenylbiotec.com.
3. Ivan Roitt (1998). Density gradient separation of lymphocyte on Ficoll isopaque. In Immunology 5th Edition by Ivan Roitt, Pub by Moskey, p.391.
4. Thermogenesis Corporation (2012). Bone marrow concentration for laboratory and point of care. *Res-Q 60 BMC system guideline*,.
5. Shinisuke Sakai, Hajime Mishima, Tomoo Ishii, et al. (2008). Concentration of bone marrow aspirate for osteogenic repair using simple centrifugal methods. *Acta Orthopaedica*; 79 (3): 445–448
6. Melissa Croskell, Kathy Loper, David H.McKenna (2009). HES sedimentation for Manual Red Cell Removal, in Basic Cellular therapy manufacturing procedures, Method 26-2; Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation. Bethesda, MD:AABB, 2009, chapter 26, p.312-314.
7. Quy trình kỹ thuật của AABB (American Association of Blood Bank) và JCBN (the Japaneses Cord Blood Bank Network).

26. ĐIỀU CHẾ TẾ BÀO GỐC TẠO MÁU BẰNG PHƯƠNG PHÁP BÁN TỰ ĐỘNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Tạo ra khối tế bào chứa thành phần tế bào gốc tinh khiết, thể tích tối thiểu, giảm các thành phần thừa với hỗ trợ hệ thống bán tự động để giảm tổn thương tế bào.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Sử dụng các hệ thống máy tách thành phần máu bán tự động dựa trên nguyên lý ly tâm phân lớp theo tỷ trọng và cảm biến màu sắc để thu nhận lớp tế bào có nhân.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Kỹ thuật y: 02 người.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ:

- Kim vuốt dây túi máu, cân điện tử;
- Bộ túi xử lý tế bào gốc: túi sơ cấp và các túi vệ tinh;
- Túi lưu trữ tế bào gốc và túi bảo vệ overwrap;
- Hộp bảo vệ kim loại (canister)
- Hộp đựng bông tiệt trùng, pank, kẹp dây túi máu;
- Đồng hồ bấm giây;
- Ống đựng mẫu xét nghiệm;
- Tất cả các dụng cụ phải được hấp tiệt trùng.

2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Gạc, bông thấm vô trùng;
- Bông tắm cồn sát trùng 70°, cồn iod;
- Ống đựng mẫu xét nghiệm;
- Lưỡi dao hàn vô trùng;
- Kim lấy mẫu túi máu vô trùng;
- Bơm, kim tiêm.

2.2.3. Hoá chất

- Dung dịch lỏng hồng cầu, dung dịch bảo quản đông lạnh và dung dịch nuôi dưỡng;
- Dung dịch khử khuẩn (cồn 70°....);
- Chai cấy vi trùng vi nấm;
- Hóa chất tiệt trùng bàn xét nghiệm, dụng cụ;
- Tất cả các môi trường hoá chất đều đã được tiệt trùng;

2.3. Thiết bị

- Máy phân tách thành phần máu bán tự động;
- Tủ an toàn sinh học, tủ lạnh 4°C;
- Máy ly tâm lạnh, máy lắc túi máu, máy phân tích tế bào máu;
- Bơm tiêm điện;
- Cân điện tử;
- Máy hút chân không, hàn bao túi;
- Máy hàn dây;
- Máy nối dây vô trùng.

2.4. Chuẩn bị mẫu

Khối tế bào gốc sau thu thập.

2.5. Phiếu chỉ định

Đầy đủ thông tin: mã mẫu, loại chế phẩm, họ tên người hiến, họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán...

2.6. Thời gian thực hiện: khoảng 120-150 phút.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Cơ sở có hệ thống phòng sạch và tủ an toàn sinh học.

3. AN TOÀN

3.1. An toàn thực hành

- Mặc áo, găng tay vô khuẩn khi làm việc;
- Đi giày, dép kín mũi chân;
- Thao tác đúng quy trình, chính xác.

3.2. An toàn hóa chất

- Ghi rõ ngày nhận, mở hóa chất;
- Hóa chất chưa sử dụng được sắp xếp gọn gàng, phân loại rõ ràng;
- Đọc kỹ nhãn mác hóa chất trước khi sử dụng;
- Hóa chất thải bỏ được đổ, để đúng nơi quy định.

3.3. An toàn thiết bị và điện

- Đảm bảo tay và các bề mặt khô khi tiếp xúc thiết bị điện hay dây nối.
- Kiểm tra mọi dây dẫn phích và dây nối dài, thay thế nếu cần.
- Không tự ý cắt đóng cầu dao điện.
- Luôn có đường điện ưu tiên để an toàn cho các thiết bị.

3.4. Quy định về hiệu chuẩn

Các thiết bị được hiệu chuẩn định kỳ theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Chuẩn bị trước khi xử lý

- Người thực hiện: rửa tay hai lần; mặc quần áo bảo hộ theo quy định;
- Sát khuẩn bề mặt túi tế bào gốc trước khi chuyển vào phòng xử lý và trước khi chuyển túi vào tủ an toàn sinh học;
- Dán barcode, ghi thông tin vào phiếu và túi xử lý.

4.2. Thực hiện kỹ thuật

- Lấy mẫu làm các xét nghiệm vi rút;
- Kết nối túi chứa tế bào gốc với túi sơ cấp trong bộ túi xử lý, chuyển toàn bộ tế bào gốc sang túi sơ cấp;
- Ly tâm bộ túi xử lý để phân tách các thành phần máu;
- Kết nối bộ túi sau ly tâm với máy phân tách bán tự động, đảm bảo các đường dây vào đúng vị trí của các van;
- Mở van ở túi sơ cấp và các túi vệ tinh;
- Bắt đầu vận hành máy, huyết tương và hồng cầu được chuyển sang các túi vệ tinh, trong túi sơ cấp còn lại lớp buffy-coat;
- Hàn tách túi huyết tương và túi hồng cầu;
- Chuyển lớp buffy-coat trong túi sơ cấp sang túi lưu trữ tế bào gốc;
- Lấy mẫu xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu, đếm CD34, cấy khuẩn;
- Chuẩn bị dung dịch bảo quản DMSO và Dextran theo tỷ lệ 1:1 (nồng độ DMSO là 10%, nhiệt độ 2-4°C);
- Bơm dung dịch bảo quản vào túi sản phẩm trong vòng 15 phút;
- Lắc đều túi hồng cầu, huyết tương lấy mẫu lưu và làm các xét nghiệm kiểm tra: điện di, nhóm máu và công thức máu...;
- Kết thúc bơm lấy trong túi sản phẩm lưu 2 tuýp và mẫu cấy vi khuẩn;
- Chuyển sản phẩm tế bào gốc sang túi lưu trữ và hàn tách các vị trí trên túi lưu giữ và trên dây;
- Cân túi sản phẩm;
- Đặt túi sản phẩm vào túi bảo vệ (overwrap) hàn kín và đặt vào hộp bảo vệ kim loại (canister);
- Chuyển túi sản phẩm và mẫu đi hạ nhiệt.

4.3. Nhận định kết quả

- Đạt yêu cầu khi: tỷ lệ thu hồi tế bào có nhân $\geq 70\%$, đảm bảo vô khuẩn.
- Không đạt yêu cầu khi: thu hồi tế bào có nhân $< 70\%$, quy trình không đảm bảo vô khuẩn, rò rỉ, rách vỡ.

4.4. Kết thúc quy trình

- Điền đầy đủ các thông tin trên phiếu xử lý và tính hiệu suất xử lý;
- Gửi mẫu xét nghiệm (tùy theo mục đích ứng dụng): Công thức máu, nhóm máu, virus, điện di, CD34, HLA, cấy máu đến các phòng xét nghiệm;
- Bàn giao mẫu tế bào gốc cho bộ phận bảo quản.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Hành chính	Nhầm mẫu, nhầm tên	Đối chiếu thông tin mẫu và chỉ định	Sửa thông tin và lấy lại mẫu

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Thiết bị, dụng cụ	Thiết bị không đảm bảo yêu cầu	Các sản phẩm tạo ra không đạt chất lượng như yêu cầu	Sửa chữa, thay thế
2	Nhân viên thực hiện	Thực hiện không đúng quy trình	Mẫu điều chế không đúng cách, chất lượng mẫu sau bảo quản không đảm bảo	Đào tạo lại

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dragoslav Domanovic. Placental/Umbilical cord blood collection & Processing. Blood Transfusion Centre Slovenia.
2. Johnson P. (2018). Evaluation of the MacoPress SMART Blood Component Separator for Volume Reduction of Cord Blood Units in a Multicenter Validation Study. Stem Cells Translational Medicine, 7(1), S17

27. ĐIỀU CHẾ TẾ BÀO GỐC TẠO MÁU TRÊN HỆ THỐNG TỰ ĐỘNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Tạo ra khối tế bào chứa thành phần tế bào gốc tinh khiết, thể tích tối thiểu, giảm các thành phần thừa; đảm bảo vô khuẩn và giữ lại tối đa số lượng tế bào có nhân trong khối tế bào gốc.

1.2. Nguyên lý

Dựa trên nguyên lý ly tâm tỷ trọng để phân tách các thành phần máu, thiết bị tự động sử dụng cảm biến để nhận định và tiến hành toàn bộ các bước ly tâm, phân tách thành phần máu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Nhân lực thực hiện

Bác sỹ/Dược sỹ/Kỹ thuật y/Điều dưỡng: tối thiểu 02 người.

2.2. Phương tiện

2.2.1. Thiết bị dụng cụ

- Tủ an toàn sinh học;
- Hệ thống máy xử lý tự động;
- Máy hàn dây túi máu, máy hàn bao túi;
- Bơm tiêm điện, cân điện tử, đồng hồ bấm giây;
- Tủ lạnh 4°C;
- Kẹp, cặp phẫu tích, kéo, hộp bông cotton;
- Máy hút chân không;
- Các dụng cụ hỗ trợ khác.

2.2.2. Vật tư

- Bộ kit tách chuyên dụng;
- Túi bao ngoài (Overwrap), hộp bảo vệ túi tế bào gốc;
- Bơm tiêm các loại, sàng, gạc vô khuẩn;
- Ống cryo 2 ml, ống Falcon 15ml;
- Găng tay vô khuẩn;
- Mũ giấy, ủng giấy, quần áo giấy vô trùng;
- Bút marker, bút viết, barcode;
- Phiếu xử lý, các phiếu chỉ định, ống xét nghiệm.

2.2.3. Hoá chất

- Dung dịch bảo quản tế bào gốc;
- Dung dịch dùng nuôi dưỡng tế bào gốc;
- Dung dịch phân tử lượng cao hỗ trợ hồng cầu lắng nhanh hơn (Hydroxyethyl starch);
- Nước muối sinh lý 9‰;
- Cồn 70°, dung dịch sát khuẩn tay nhanh;
- Chai cấy vi khuẩn.

2.3. Chuẩn bị thiết bị và bộ kit

- Bật thiết bị, chọn chương trình, kiểm tra các giá trị cài đặt;
- Trước khi mở bộ kit, kiểm tra các thông tin sau: tên bộ kit, hạn sử dụng, tem chỉ thị trên vỏ ngoài;
- Tính lượng dung dịch để lắng hồng cầu sử dụng theo quy định (nếu có). Hút và bơm dung dịch lắng hồng cầu vào túi mẫu trong tủ an toàn sinh học. Đặt túi thu thập lên máy lắc trong 5 phút.

2.4. Chuẩn bị mẫu

Dịch hút tủy xương, máu dây rốn, túi tế bào gốc từ máu ngoại vi.

2.5. Phiếu chỉ định

Ghi đầy đủ thông tin vào phiếu xử lý.

2.6. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: cơ sở có hệ thống phòng sạch và tủ an toàn sinh học.

2.7. Thời gian thực hiện: khoảng 120-150 phút.

3. AN TOÀN

3.1. An toàn thực hành

- Mặc áo, găng tay vô khuẩn khi làm việc;
- Đi giày, dép kín mũi chân;
- Thao tác đúng quy trình, chính xác.

3.2. An toàn hóa chất

- Ghi rõ ngày nhận, mở hóa chất;
- Hóa chất chưa sử dụng được sắp xếp gọn gàng, phân loại rõ ràng;
- Đọc kỹ nhãn mác hóa chất trước khi sử dụng;
- Hóa chất thải bỏ được đổ, để đúng nơi quy định.

3.3. An toàn thiết bị và điện

- Đảm bảo tay và các bề mặt khô trước khi tiếp xúc thiết bị điện hay dây nối.
- Kiểm tra mọi dây dẫn phích và dây nối dài; thay thế nếu cần.
- Không tự ý cắt đóng cầu dao điện.
- Luôn có đường điện ưu tiên để an toàn cho các thiết bị.

3.4. Quy định về hiệu chuẩn

Các thiết bị được hiệu chuẩn theo quy định để đảm bảo quá trình vận hành.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Chuẩn bị trước khi xử lý

- Người thực hiện: rửa tay hai lần; mặc quần áo bảo hộ theo quy định;
- Sát khuẩn bề mặt túi tế bào gốc trước khi chuyển vào phòng xử lý và trước khi chuyển túi vào tủ an toàn sinh học;
- Dán barcode, ghi thông tin vào phiếu và túi xử lý.

4.2. Thực hiện kỹ thuật

Bước 1: Tiến hành lắp kit và mẫu vào hệ thống máy

- Mở bộ kit và kết nối túi chứa mẫu với bộ kit;
- Tiến hành lắp kit vào hệ thống máy theo hướng dẫn (cụ thể tùy thuộc từng hệ thống máy và kit tương ứng);
- Mở máy và thực hiện các bước hướng dẫn của máy để hoàn thành quá trình lắp đặt, cài đặt các thông số và chương trình chạy máy.

Bước 2: Chạy máy và theo dõi

- Nhấn nút khởi động để máy vận hành theo chương trình cài đặt sẵn.
- Theo dõi quá trình vận hành của máy, xử trí nếu có bất thường (cụ thể tùy thuộc từng hệ thống máy và kit tương ứng).

Bước 3: Kết thúc chạy máy

- Kết thúc quá trình chạy tiến hành tháo kit khỏi máy hàn tách rời các túi, cân túi hồng cầu, túi huyết tương, túi chứa Buffy-coat (túi sản phẩm);
- Trộn đều túi sản phẩm lấy mẫu xét nghiệm;
- Chuẩn bị dung dịch bảo quản để tiến hành quy trình bơm dung dịch bảo quản và hạ lạnh mẫu trước khi bảo quản đông lạnh.

4.3. Nhận định kết quả

- Đạt yêu cầu khi: tỷ lệ thu hồi tế bào có nhân $\geq 70\%$, đảm bảo vô khuẩn.
- Không đạt yêu cầu khi: thu hồi tế bào có nhân $< 70\%$, quy trình không đảm bảo vô khuẩn, rò rỉ, rách vỡ.

4.4. Kết thúc quy trình

- Điền đầy đủ các thông tin trên phiếu xử lý và tính hiệu suất xử lý;
- Gửi mẫu xét nghiệm (tùy theo mục đích ứng dụng): Công thức máu, nhóm máu, virus, điện di, CD34, HLA, cấy máu đến các phòng xét nghiệm;
- Bàn giao mẫu tế bào gốc cho bộ phận bảo quản.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Hành chính	Nhầm mẫu, nhầm tên	Đôi chiếu thông tin mẫu và chỉ định	Sửa thông tin và lấy lại mẫu

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Thiết bị, dụng cụ	Thiết bị không đảm bảo yêu cầu	Các sản phẩm tạo ra không đạt chất lượng như yêu cầu	Sửa chữa, thay thế
2	Nhân viên thực hiện	Thực hiện không đúng quy trình	Mẫu điều chế không đúng cách, chất lượng mẫu sau bảo quản không đảm bảo	Đào tạo lại

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tài liệu hướng dẫn sử dụng của thiết bị;
2. Cellular Therapy: Principles, Methods and Regulations. Bethesda, MD: AABB, 2009, Chanel 27.

ngoctlv.kcb_Truong Le Van Ngoc_26/11/2025 12:09:11

28. ĐIỀU CHẾ ĐƠN VỊ TẾ BÀO TRỊ LIỆU THEO PHƯƠNG PHÁP CHỌN DÒNG TẾ BÀO CÓ DẤU ẤN ĐẶC HIỆU BẰNG CÔNG NGHỆ HẠT TỪ

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Chọn đúng loại tế bào có mang dấu ấn mong muốn và loại bỏ các tế bào khác nhằm tạo được đơn vị tế bào trị liệu đặc hiệu, tinh khiết.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Trên mỗi loại tế bào đều có những dấu ấn đặc hiệu phân biệt với các tế bào khác. Công nghệ chọn lọc sử dụng hạt từ gắn kháng thể đặc hiệu với từng dấu ấn này để gắn kết với các tế bào mong muốn, sau đó dùng nam châm vĩnh cửu để phân tách riêng các tế bào này khỏi những quần thể tế bào không cần thiết còn lại.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Kỹ thuật y: 03 người.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ:

- Pipet cơ, pipet điện;
- Bàn ép túi máu; kìm vuốt dây túi máu, cân điện tử;
- Tất cả các dụng cụ phải được hấp tiệt trùng.

2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Bộ kit chọn lọc tế bào bằng hạt từ;
- Bộ túi xử lý tế bào gốc;
- Gạc, bông thấm vô trùng;
- Bông tắm cồn sát trùng 70°, cồn iod;
- Ống đựng mẫu xét nghiệm;
- Lưỡi dao hàn vô trùng;
- Kim lấy mẫu túi máu vô trùng;
- Bơm, kim tiêm;
- Quần áo vô trùng, mũ, khẩu trang, găng tay.

2.2.3. Hoá chất

- Kháng thể CD34 gắn hạt từ (hoặc hóa chất chọn lọc marker tương ứng);
- Dung dịch đệm;
- Dung dịch khử khuẩn (cồn 70°....);
- Chai cấy vi trùng vi nấm;
- Hóa chất tiệt trùng bàn xét nghiệm, dụng cụ;
- Tất cả các môi trường hoá chất đều đã được tiệt trùng;
- Dung dịch Ficoll.

2.3. Thiết bị

- Máy chọn lọc tế bào bằng hạt từ cùng hóa chất và vật tư tiêu hao phù hợp;
- Máy ly tâm túi máu;
- Máy lắc túi máu;
- Máy nối dây vô trùng;
- Máy hàn dây túi máu;
- Phòng sạch và các thiết bị phù trợ khác;
- Bơm tiêm điện.

2.4. Chuẩn bị mẫu

Khởi tế bào sau thu thập hoặc sau bảo quản đông lạnh.

2.5. Phiếu chỉ định

Đầy đủ thông tin theo quy định: mã mẫu, loại chế phẩm, họ tên người hiến, họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán...

2.6. Thời gian thực hiện: khoảng 330-360 phút.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Cơ sở có hệ thống phòng sạch và tủ an toàn sinh học.

3. AN TOÀN

3.1. An toàn thực hành

- Mặc áo bảo hộ, tạp dề, đeo găng tay chuyên dụng khi tiếp xúc ni tơ lỏng;
- Đi giày, dép kín mũi chân;
- Thao tác đúng quy trình, chính xác.

3.2. An toàn hóa chất

- Đảm bảo các nguyên tắc an toàn khi làm việc với ni tơ lỏng;
- Ghi rõ ngày nhận, mở hóa chất;
- Hóa chất chưa sử dụng được sắp xếp gọn gàng, phân loại rõ ràng;
- Đọc kỹ nhãn mác hóa chất trước khi sử dụng;
- Hóa chất thải bỏ được đổ, để đúng nơi quy định.

3.3. An toàn thiết bị và điện

- Đảm bảo tay và các bề mặt khô trước khi tiếp xúc thiết bị điện hay dây nối.
- Kiểm tra mọi dây dẫn phích và dây nối dài, thay thế nếu cần.
- Không tự ý cắt đóng cầu dao điện.
- Luôn có đường điện ưu tiên để an toàn cho các thiết bị.

3.4. Quy định về hiệu chuẩn

Các thiết bị được hiệu chuẩn định kỳ theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Chuẩn bị trước khi xử lý

- Người thực hiện: rửa tay hai lần; mặc quần áo bảo hộ theo quy định.
- Sát khuẩn bề mặt túi máu trước khi chuyển vào phòng xử lý và trước khi chuyển túi vào tủ an toàn sinh học.
- Dán barcode, ghi thông tin vào phiếu và túi xử lý.

- Rã đông khối tế bào gốc theo quy trình nếu bảo quản đông lạnh.

4.2. Thực hiện kỹ thuật

4.2.1. Chuẩn bị tế bào và gắn hạt từ

- Chuẩn bị dụng cụ hóa chất gồm:
 - + Hóa chất kháng thể CD34 gắn hạt từ;
 - + Bộ kit chọn lọc tế bào bằng hạt từ;
 - + CliniMACS PBS/EDTA Buffer.
- Đánh dấu các loại túi của kit bao gồm: túi chứa tế bào gốc đầu vào, túi sản phẩm, túi chứa huyết tương, túi rửa 1, túi rửa 2;
- Phân tích khối tế bào gốc sau gạn để tính liều lượng hóa chất kháng thể CD34 gắn hạt từ:
 - + Liều lượng tối đa trong 1 ống kháng thể CD34 gắn hạt từ là: 0.6×10^9 tế bào CD34+ được gắn từ trên tổng số 60×10^9 tế bào bạch cầu.
 - + Trường hợp tổng số tế bào CD34+ trên 0.6×10^9 tế bào và bạch cầu trên 60×10^9 tế bào có thể sử dụng 2 ống kháng thể CD34 gắn hạt từ.
- Chuyển sản phẩm tế bào gốc sau gạn vào túi chứa tế bào gốc của bộ kit;
- Pha loãng sản phẩm tế bào gốc bằng dung dịch đệm: khối lượng đệm thêm vào = $2 \times$ khối lượng sản phẩm tế bào gốc;
- Ly tâm túi sản phẩm sau pha loãng: 200 vòng/phút, không phanh, 15 phút, nhiệt độ phòng ($19-25^\circ\text{C}$);
- Sau ly tâm giảm thể tích sản phẩm về 95g hoặc 190g bằng cách:

Trọng lượng dịch nổi bị loại bỏ = Trọng lượng sản phẩm sau khi pha loãng – Trọng lượng gắn từ (95g hoặc 190g).

- Gắn hạt từ cho tế bào: hút và bơm hóa chất kháng thể CD34 gắn hạt từ vào 95g (hoặc 190g) sản phẩm, sau đó ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng có lắc.
- Ly tâm lần 1:
 - + Thêm dung dịch đệm vào túi sản phẩm sau khi gắn từ (tối đa khoảng 275ml);
 - + Ly tâm 200 vòng/phút, không phanh, 15 phút, nhiệt độ phòng;
 - + Loại bỏ hết dịch nổi cách bề mặt lớp tế bào khoảng 1cm;
 - + Trộn đều sản phẩm sau khi loại dịch nổi.
- Ly tâm lần 2:
 - + Thêm dung dịch đệm vào túi sản phẩm sau khi gắn từ (tối đa khoảng 275ml);
 - + Ly tâm 200 vòng/phút, không phanh, 15 phút, nhiệt độ phòng;
 - + Loại bỏ hết dịch nổi cách bề mặt lớp tế bào khoảng 1cm;
 - + Trộn đều sản phẩm sau khi loại dịch nổi;
 - + Điều chỉnh thể tích mẫu về 150g.

4.2.2. Lựa chọn chương trình tách tế bào

- Bật máy chọn lọc tế bào bằng hạt từ;
- Lựa chọn chương trình tách tế bào CD34.

4.2.3. Lắp đặt bộ kit xử lý vào máy máy chọn lọc tế bào bằng hạt từ

Kỹ thuật y thực hiện lắp đặt bộ kit theo trình tự các bước như sau:

- Treo túi tế bào gốc và túi đuổi khí của bộ kit lên cộc treo của máy;
- Lắp cột tách tế bào CD34 vào đường ống dây và đặt vào vị trí van số 5, sau đó đưa đường ống dây qua lần lượt các vị trí van số 1,2,3,4, qua bơm, van số 7, 8 và cuối cùng là van số 6, 9, 10, 11;
- Kiểm tra lại trên đường ống dây, điểm nối của bộ kit và vị trí chân các van đảm bảo dây không bị gấp khúc và rò rỉ;
- Treo túi dung dịch đệm lên cộc treo của máy;
- Thực hiện quá trình tráng đường ống dây;
- Quá trình dịch lỏng đi qua các vị trí có cảm biến, kiểm tra cảm biến chất lỏng;
- Kiểm tra lần cuối trên đường ống và vị trí điểm nối đảm bảo không bị rò rỉ;
- Kết nối túi tế bào gốc với bộ kit.

4.2.4. Máy thực hiện tách tế bào CD34 theo chương trình cài đặt tự động

- Máy thực hiện tách tế bào CD34+ theo chương trình đã được cài đặt
- Quá trình chạy theo dõi đảm bảo dòng chảy lưu thông liên tục.

4.2.5. Kết thúc

- Kết thúc quá trình tách tự động tháo các túi và ghi lại các thông tin:
 - + Khối lượng túi mẫu ban đầu;
 - + Khối lượng túi thu thập sản phẩm;
 - + Code của quy trình (hệ thống tự sinh code riêng);
- Tháo bộ kit và tắt máy.

4.3. Nhận định kết quả

- Phân tích kết quả dựa vào các chỉ số xét nghiệm sau:
 - + Bạch cầu sau gạn tách, bạch cầu sau gạn hạt từ;
 - + Tỷ lệ sống của tế bào;
 - + Tổng số tế bào CD34+;
 - + Độ tinh sạch của tế bào CD34+.
- Tỷ lệ thu hồi tế bào CD34+ $\geq 50\%$.
- Độ tinh khiết $\geq 85\%$.

4.4. Kết thúc quy trình

- Điền đầy đủ các thông tin trên phiếu xử lý và tính hiệu suất xử lý;
- Gửi mẫu xét nghiệm (tùy theo mục đích ứng dụng): Công thức máu, nhóm máu, virus, số lượng tế bào CD34+, cấy máu đến các phòng xét nghiệm;
- Bàn giao mẫu tế bào gốc cho bộ phận bảo quản.

- Đối với các dấu ấn khác, quy trình tiến hành tương tự, chỉ thay loại kháng thể gắn hạt từ và chương trình chạy phù hợp.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Hành chính	Nhầm mẫu, nhầm tên	Đối chiếu thông tin mẫu và chỉ định	Sửa thông tin và lấy lại mẫu

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Thiết bị, dụng cụ	Thiết bị không đảm bảo yêu cầu	Các sản phẩm tạo ra không đạt chất lượng như yêu cầu	Sửa chữa, thay thế
2	Nhân viên thực hiện	Thực hiện không đúng quy trình	Mẫu điều chế không đúng cách, chất lượng mẫu sau bảo quản không đảm bảo	Đào tạo lại

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Safa Karandish (2009). Selecting CD34+ Cells Using the CliniMACS System. *Basic cellular therapy manufacturing procedures. Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation, Bethesda, MD: AABB, 2009*, chapter 32 (Method 32-2), p.406-409.

29. ĐIỀU CHẾ ĐƠN VỊ TẾ BÀO TRỊ LIỆU THEO PHƯƠNG PHÁP LOẠI BỎ TẾ BÀO CÓ DẤU ẤN ĐẶC HIỆU BẰNG CÔNG NGHỆ HẠT TỪ

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Loại bỏ loại tế bào không cần thiết, làm tinh sạch đơn vị tế bào trị liệu.

1.2. Mục đích

Trên mỗi loại tế bào đều có những dấu ấn đặc hiệu; sử dụng hạt từ gắn kháng thể đặc hiệu với từng dấu ấn để gắn kết với các tế bào muốn loại bỏ, sau đó dùng nam châm vĩnh cửu để tách riêng và loại bỏ các tế bào này

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Kỹ thuật y: 03 người.

2.2. Phương tiện

2.2.1. Dụng cụ:

- Pipet cơ, pipet điện.
- Bàn ép túi máu; kìm vuốt dây túi máu, cân điện tử.
- Tất cả các dụng cụ phải được hấp tiệt trùng.

2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Bộ kit chọn lọc tế bào bằng hạt từ;
- Bộ túi xử lý tế bào gốc;
- Gạc, bông thấm vô trùng;
- Bông tắm cồn sát trùng 70°, cồn iod;
- Ống đựng mẫu xét nghiệm;
- Lưỡi dao hàn vô trùng;
- Kim lấy mẫu túi máu vô trùng;
- Bơm, kim tiêm;
- Quần áo vô trùng, mũ, khẩu trang, găng tay.

2.2.3. Hoá chất

- Kháng thể CD3 hoặc CD19 (hoặc các kháng thể CD khác) gắn hạt từ;
- Túi dung dịch đệm;
- Dung dịch khử khuẩn (cồn 70°....);
- Chai cấy vi trùng vi nấm;
- Hóa chất tiệt trùng bàn xét nghiệm, dụng cụ;
- Tất cả các môi trường hoá chất đều đã được tiệt trùng;
- Dung dịch Ficoll.

2.3. Thiết bị

- Máy chọn lọc tế bào bằng hạt từ cùng hóa chất và vật tư tiêu hao phù hợp;
- Máy ly tâm túi máu;

- Máy lắc túi máu;
- Máy nối dây vô trùng;
- Máy hàn dây túi máu;
- Phòng sạch và các thiết bị phù trợ khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu

Đầy đủ thông tin: mã mẫu, loại chế phẩm, họ tên người hiến, họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán...

2.5. Phiếu chỉ định

Kiểm tra phiếu chỉ định: ghi đầy đủ thông tin theo quy định: mã mẫu, loại chế phẩm, họ tên người hiến, họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán...

2.6. Thời gian thực hiện: khoảng 330-360 phút.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Cơ sở có hệ thống phòng sạch và tử an toàn sinh học.

3. AN TOÀN

3.1. An toàn thực hành

- Mặc áo bảo hộ, tạp dề, đeo găng tay chuyên dụng khi tiếp xúc ni tơ lỏng;
- Đi giày, dép kín mũi chân.
- Thao tác đúng quy trình, chính xác.

3.2. An toàn hóa chất

- Đảm bảo các nguyên tắc an toàn khi làm việc với ni tơ lỏng.
- Ghi rõ ngày nhận, mở hóa chất;
- Hóa chất chưa sử dụng được sắp xếp gọn gàng, phân loại rõ ràng;
- Đọc kỹ nhãn mác hóa chất trước khi sử dụng;
- Hóa chất thải bỏ được đổ, để đúng nơi quy định.

3.3. An toàn thiết bị và điện

- Đảm bảo tay và các bề mặt khô khi tiếp xúc thiết bị điện hay dây nối.
- Kiểm tra mọi dây dẫn phích và dây nối dài; thay thế nếu cần.
- Không tự ý cắt đóng cầu dao điện.
- Luôn có đường điện ưu tiên để an toàn cho các thiết bị.

3.4. Quy định về hiệu chuẩn

Các thiết bị được hiệu chuẩn định kỳ theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Chuẩn bị trước khi xử lý

- Người thực hiện: rửa tay hai lần; mặc quần áo bảo hộ theo quy định;
- Sát khuẩn bề mặt túi máu trước khi chuyển vào phòng xử lý và trước khi chuyển túi vào tử an toàn sinh học;
- Dán barcode, ghi thông tin vào phiếu và túi xử lý;
- Rã đông khối tế bào gốc theo quy trình nếu bảo quản đông lạnh.

4.2. Thực hiện kỹ thuật

4.2.1. Chuẩn bị mẫu và các vật tư

- Chuẩn bị túi tế bào đã thu nhận;
- Chuẩn bị các loại túi chuyển (túi rỗng vô trùng có gắn dây nối) gồm:
 - + Loại túi 600 ml: 1 túi A-túi chuẩn bị tế bào; 1-2 túi B-túi thu nhận tế bào; 1 túi P-túi rửa huyết tương và 1 túi W-túi rửa để chuyển các dung dịch rửa.
 - + Loại túi 1000 ml: 2-3 túi.
- Xác định thể tích của túi tế bào, lấy mẫu để xét nghiệm đầu vào:
Đếm số lượng tế bào có nhân, tế bào CD3, tỷ lệ tế bào sống.

(Mỗi lọ (kit) hóa chất thường đủ dùng cho 15×10^9 tế bào CD3 hoặc 40×10^9 tế bào có nhân. Nếu số lượng tế bào nhiều hơn thì dùng nhiều hóa chất hơn (kit lớn có thể dùng cho mẫu có $\leq 80 \times 10^9$ tế bào có nhân và $\leq 30 \times 10^9$ tế bào CD3)).

4.2.2. Pha loãng

- Chuyển mẫu sang túi chuyển A: kết nối túi chứa mẫu tế bào ban đầu vào túi 600 ml (túi A) bằng hệ thống kết nối vô trùng, mở khóa chuyển hết mẫu từ túi ban đầu sang túi mới (túi A), sau đó khóa lại, hàn cắt chỗ nối, để lại đoạn đuôi dây khoảng 15 cm để nối khi cần thiết.

Cân túi (túi A) sau khi chuyển để tính thể tích, ghi lại thể tích ban đầu.

- Tính lượng dung dịch đệm cần pha loãng, để thể tích cuối cùng là 600ml.
- Kết nối một bộ dây nối với túi dung dịch đệm, khóa dây trước khi nối.
- Kết nối túi tế bào (túi A) với túi dung dịch đệm (bằng máy kết nối vô trùng), treo túi dung dịch đệm lên móc treo.
- Đặt túi tế bào A lên cân, cân trừ bì.
- Mở khóa để dung dịch đệm sang túi A đạt 600 ml, (dùng cân điện tử để xác định chính xác thể tích, ghi lại thể tích đệm đã dùng).
- Khóa túi tế bào (túi A) lại, hàn cắt dây, để dài đuôi dây 15 cm để nối khi cần, cân túi, ghi lại.
- Trộn đều túi tế bào (túi A) bằng cách đảo đều trên tay hoặc máy trộn.

4.2.3. Ly tâm

- Dùng máy nối vô trùng, nối túi A với túi 600ml rỗng (túi P); khóa dây nối.
- Đặt các túi vào hệ thống ly tâm, quay đầu có dây lên trên.
- Ly tâm nhẹ túi với tốc độ 200g/15 phút ở nhiệt độ phòng (19-25°C), tránh dùng phanh mạnh làm sục túi.
- Đặt túi đã ly tâm lên bàn ép, mở khóa dây nối, ép dịch nổi tối đa sang túi P.
- Khóa và ngắt kết nối sau khi ép xong, hàn dây để lại đoạn dây dài 15 cm.

4.2.4. Điều chỉnh thể tích

- Cân túi A sau ép; tính thể tích (V) dịch đệm cần bù để đạt V cuối là 95ml (hoặc 190ml với kit lớn): $V_{\text{đệm}} = 95\text{ml} - V_{\text{túi A sau ép}} - V_{\text{kháng thể dự kiến}}$.

- Chuẩn bị túi chứa 1 lít dung dịch đệm có dây nối vô trùng và dùng máy nối vô trùng nối với túi A, khóa dây nối. Treo túi đệm lên giá treo.

- Mở khóa dây nối, chuyển dung dịch đệm sang túi tế bào đến khi đạt thể tích mong muốn (tổng 95 ml nếu kit đơn, 190 ml nếu kit đôi).

- Hàn, cắt dây nối, để lại 15 cm dây của túi tế bào để dự phòng cần nối sau.

- Trộn đều túi tế bào nhẹ nhàng, tránh trộn quá mạnh tay, đảm bảo tế bào dàn đều trong dung dịch.

- Cân lại túi.

4.2.5. Ủ mẫu với hạt từ

- Tùy thuộc vào số lượng tế bào ban đầu, dùng bơm tiêm 10ml thêm 1 hoặc 2 lọ hóa chất chọn lọc CD3 vào túi tế bào (túi A).

- Trộn đều túi trên máy lắc. Có thể đặt tốc độ 25 vòng/phút hoặc trộn bằng tay trong vòng 30 phút, nhiệt độ phòng.

4.2.6. Rửa kháng thể thừa sau ủ.

* Rửa mẫu tế bào.

- Cắm bộ chuyển vào một túi dung dịch chứa 500ml dung dịch đệm, để khóa đóng.

- Dùng máy nối vô trùng nối túi dung dịch đệm với túi tế bào A, treo túi đệm lên giá treo.

- Đặt túi A lên cân, cân trừ bì.

- Mở khóa túi đệm, chuyển dung dịch đệm vào túi tế bào. Ghi lại cân nặng, lượng đệm đã chuyển sang.

- Hàn cắt túi tế bào A tách khỏi túi đệm, để lại 15 cm đuôi dây để nối khi cần.

- Trộn đều túi tế bào A.

- Dùng máy nối vô trùng nối túi tế bào A với túi rửa W1.

- Quay đầu có dây của các túi lên trên, đặt bộ túi vào buồng ly tâm.

- Ly tâm nhẹ túi với tốc độ 300g/15 phút ở nhiệt độ phòng (19-25°C), tránh dùng phanh mạnh làm sục túi.

- Nhẹ nhàng lấy bộ túi đã ly tâm ra, treo túi tế bào vào bàn ép.

- Đặt túi rửa W1 lên cân, cân trừ bì.

- Mở khóa, dùng bàn ép loại bỏ dịch nối thừa trong túi tế bào A vào túi rửa W1, cố gắng đẩy tối đa lượng dịch thừa nếu được.

- Hàn cắt tách rời 2 túi, để lại 15 cm ở túi tế bào A để nối khi cần.

- Dung dịch trong túi W1 để lại chưa bỏ, dùng để tính toán đến khi hoàn thành quy trình.

- Trộn đều lại mẫu trong túi tế bào A.

- Cân lại các túi sản phẩm sau rửa.

- Tính toán lượng dung dịch đệm dự kiến đưa vào ở lần rửa tiếp (150 ml với kit đơn và 250-300 mg với kit đôi).

*** Trộn dung dịch đệm**

- Dùng máy nối vô trùng nối túi dung dịch đệm (chứa ít nhất 500ml đệm) với túi tế bào A, treo túi đệm lên giá treo.
- Đặt túi A lên cân, cân trừ bì.
- Mở khóa túi đệm, chuyển hết lượng dung dịch đệm vào túi tế bào (theo thể tích đã tính toán ở trên).
- Hàn cắt túi tế bào A tách khỏi túi đệm, để lại 15 cm đuôi dây để nối khi cần.
- Trộn đều túi tế bào A. Tránh trộn quá mạnh, đảm bảo tế bào dàn đều.
- Lấy mẫu 0.5 ml.
- Cân lại túi sản phẩm, ghi lại.

4.2.7. Chuẩn bị máy chọn lọc tế bào bằng hạt từ

- Mở máy chọn lọc tế bào bằng hạt từ.
- Lựa chọn chương trình loại bỏ tế bào.
- Nhập số catalogue của bộ kit và của hóa chất vào vị trí tương ứng trên màn hình.

4.2.8. Lắp bộ kit chọn lọc tế bào bằng hạt từ

- Kiểm tra bộ kit loại bỏ tế bào, xem số lô, ngày sản xuất, toàn vẹn không rách hỏng.
- Kết nối túi thải vào móc treo.
- Đặt cột đầu vào vị trí giữ.
- Điều chỉnh độ cao của giá treo theo kích cỡ của các túi cho phù hợp.
- Kết nối bộ kit vào máy.
- Kết nối túi dung dịch đệm vào máy.

4.2.9. Tráng máy

- Kết nối túi dung dịch đệm vào vị trí tương ứng cột treo bên trái.
- Bắt đầu chạy tráng máy, thời gian 10 phút, kiểm tra xem có biểu hiện rò rỉ hoặc tắc nghẽn ở vị trí nào trong khi tráng hay không. Kết thúc tráng máy kiểm tra đảm bảo dịch có đủ trong các đường dây, không có khí trong dây, còn dịch trong túi rửa dịch tráng (ở trên) và túi rửa dịch đệm (ở dưới), không có dịch trong túi thành phần âm tính và túi sản phẩm.
- Chạy chương trình kiểm tra độ nguyên vẹn của bộ kit sau khi tráng, máy sẽ kiểm tra áp lực của các phần trên và dưới để đảm bảo không bị rò rỉ (theo hướng dẫn trên máy).

4.2.10. Lắp túi tế bào

- Chuẩn bị bộ lọc, túi tế bào A.
- Nối đầu dưới của bộ lọc vào dây giữa của bộ kit.
- Cắm đầu trên của bộ lọc vào túi tế bào A.
- Treo túi lên cột treo giữa.
- Kiểm tra lại lần cuối các cảm biến, đảm bảo các dây nối tới túi thu thập thông suốt.

4.2.11. Chạy máy chọn lọc tế bào bằng hạt từ

Chạy máy, máy sẽ tiến hành quá trình chọn lọc tự động gồm các bước như sau:

- Gắn tế bào: Nam châm ở trạng thái hoạt động. Tế bào qua bộ lọc chạy vào cột nam châm, những tế bào gắn hạt từ được giữ lại, những tế bào không gắn sẽ đi vào túi tái nạp.

- Các tế bào trong túi tái nạp lại tiếp tục đi qua nam châm một lần nữa, sau đó đi vào túi thu sản phẩm.

- Tráng rửa hệ thống lọc và túi tái nạp: hệ thống lọc và túi tái nạp được rửa bằng dịch đệm 2 lần để giảm thiểu hao hụt tế bào.

- Kết thúc: nam châm bị bất hoạt, tế bào gắn hạt từ rời khỏi cột và được đưa vào túi sản phẩm loại bỏ (túi B). Thể tích cuối cùng là 45 ml.

4.2.12. Thu sản phẩm

- Hàn dây và lấy túi thu sản phẩm,.

- Cân đánh giá thể tích cuối, trộn đều, lấy 0,5ml mẫu xét nghiệm.

- Hàn dây và lấy túi sản phẩm loại bỏ, túi rửa dịch đệm, giữ lại để đánh giá.

- Tháo bỏ bộ kit.

- Tắt máy.

4.2.13. Xét nghiệm

Kiểm tra lại các mẫu đã lấy để tính hiệu quả chọn lọc tế bào: đếm số lượng bạch cầu, tỷ lệ tế bào sống, số lượng tế bào có dấu ấn cần chọn lọc (tế bào CD3+, CD19+...).

4.3. Nhận định kết quả

- Phân tích kết quả dựa vào các chỉ số xét nghiệm sau:

- + Bạch cầu sau gạn tách, bạch cầu sau gắn hạt từ;

- + Tỷ lệ sống của tế bào;

- + Tổng số tế bào CD3+;

- Tỷ lệ loại bỏ tế bào mong muốn $\geq 80\%$.

4.4. Kết thúc quy trình

- Điền đầy đủ các thông tin trên phiếu xử lý và tính hiệu suất xử lý.

- Gửi mẫu xét nghiệm (tùy theo mục đích ứng dụng): Công thức máu, nhóm máu, virus, CD3, CD19, cấy máu đến các phòng xét nghiệm.

- Bàn giao mẫu tế bào gốc cho bộ phận bảo quản.

- Đối với các dấu ấn khác, quy trình tiến hành tương tự, chỉ thay loại kháng thể gắn hạt từ và chương trình chạy phù hợp.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Hành chính	Nhầm mẫu, nhầm tên	Đối chiếu thông tin mẫu và chỉ định	Sửa thông tin và lấy lại mẫu

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Thiết bị, dụng cụ	Thiết bị không đảm bảo yêu cầu	Các sản phẩm tạo ra không đạt chất lượng như yêu cầu	Sửa chữa, thay thế
2	Nhân viên thực hiện	Thực hiện không đúng quy trình	Mẫu điều chế không đúng cách, chất lượng mẫu sau bảo quản không đảm bảo	Đào tạo lại

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Safa Karandish (2009). Selecting CD34+ Cells Using the CliniMACS System. *Basic cellular therapy manufacturing procedures. Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation, Bethesda, MD: AABB, 2009*, chapter 32 (Method 32-2), p.406-409.
2. Miltenyi Biotec GmbH (2015). CD3 reagent. CliniMACS user manual, software 2.4x.
3. Julie Edwards (2009). Cell Separation by Counterflow Centrifugal Elutriation. *Basic cellular therapy manufacturing procedures. Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation, Bethesda, MD: AABB, 2009*, chapter 33, p.410-5.

30. LÀM GIÀU BẠCH CẦU ĐƠN NHÂN TRÊN HỆ THỐNG TỰ ĐỘNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Loại bỏ các thành phần thừa, giữ lại thể tích tối thiểu, thu hồi tối đa số lượng tế bào đơn nhân trong khối tế bào gốc tủy xương.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Bạch cầu đơn nhân là thành phần quan trọng nhất quyết định chất lượng của khối tế bào gốc từ dịch tủy xương. Sử dụng hệ thống tự động để ly tâm tỷ trọng, phân tách và loại bỏ những thành phần dư thừa như huyết tương, hồng cầu để thu được khối bạch cầu đơn nhân thuần nhất tối đa từ dịch tủy xương.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Kỹ thuật y: 02 người.

2.2. Phương tiện

2.2.1. Dụng cụ:

- Pipet cơ, pipet điện;
- Bàn ép túi máu; máy hàn dây; kim vuốt dây túi máu, cân điện tử;
- Tất cả các dụng cụ phải được hấp tiệt trùng.

2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Bộ kit phân tách tế bào theo máy;
- Bộ túi xử lý tế bào gốc;
- Gạc, bông thấm vô trùng;
- Bông tắm cồn sát trùng 70°, cồn iod;
- Ống đựng mẫu xét nghiệm;
- Lưỡi dao hàn vô trùng;
- Kim lấy mẫu túi máu vô trùng;
- Bơm, kim tiêm;
- Quần áo vô trùng, mũ, khẩu trang, găng tay.

2.2.3. Hoá chất

- Dung dịch ACD-A;
- Dung dịch khử khuẩn (cồn 70°....);
- Chai cấy vi trùng vi nấm;
- Hóa chất tiệt trùng bàn xét nghiệm, dụng cụ.

2.3. Thiết bị

- Hệ thống tách bạch cầu đơn nhân tự động;
- Tủ an toàn sinh học vô trùng có đèn cồn, tủ lạnh 4°C;
- Máy ly tâm lạnh;
- Máy lắc túi máu;
- Máy phân tích tế bào máu.

2.4. Chuẩn bị mẫu

Khởi tế bào gốc từ dịch tủy xương.

2.5. Phiếu chỉ định

Ghi đầy đủ thông tin: mã mẫu, loại chế phẩm, họ tên người hiến, họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán...

2.6. Thời gian thực hiện: khoảng 270-300 phút.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: cơ sở có hệ thống phòng sạch và tử an toàn sinh học.

3. AN TOÀN

3.1. An toàn thực hành

- Mặc áo, găng tay vô khuẩn khi làm việc;
- Đi giày, dép kín mũi chân;
- Thao tác đúng quy trình, chính xác.

3.2. An toàn hóa chất

- Ghi rõ ngày nhận, mở hóa chất;
- Hóa chất chưa sử dụng được sắp xếp gọn gàng, phân loại rõ ràng;
- Đọc kỹ nhãn mác hóa chất trước khi sử dụng;
- Hóa chất thải bỏ được đổ, để đúng nơi quy định.

3.3. An toàn thiết bị và điện

- Đảm bảo tay và các bề mặt khô khi tiếp xúc thiết bị điện hay dây nối.
- Kiểm tra mọi dây dẫn phích và dây nối dài, thay thế nếu cần.
- Không tự ý cắt đóng cầu dao điện.
- Luôn có đường điện ưu tiên để an toàn cho các thiết bị.

3.4. Quy định về hiệu chuẩn

Các thiết bị được hiệu chuẩn theo quy định để đảm bảo quá trình vận hành.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Chuẩn bị trước khi xử lý

- Người thực hiện: rửa tay hai lần; mặc quần áo bảo hộ theo quy định;
- Sát khuẩn bề mặt túi máu trước khi chuyển vào phòng xử lý và trước khi chuyển túi vào tử an toàn sinh học;
- Dán barcode, ghi thông tin vào phiếu và túi xử lý.

4.2. Thực hiện kỹ thuật

- Chuyển mẫu vào túi chuyển thể tích 2 lít, trộn đều, cân túi và tính toán thể tích. Tính toán thể tích hồng cầu trong túi.
- Thêm thể tích chống đông ACD-A, đảm bảo lượng ACD-A cuối là 10% (loại trừ ACD-A thừa trong quá trình thu thập).
- Lấy mẫu để làm xét nghiệm đánh giá.
- Dùng màng lọc loại trừ các thành phần mỡ, cục đông, mảnh xương nếu cần.
- Khởi động và thiết lập các thông số trên hệ thống máy tự động.

- Nhập thể tích túi sản phẩm, hematocrit vào màn hình (thực hiện với thể tích 100-600ml, hematocrit 10-80%, nếu thông số nhỏ hơn thì đổi phương pháp khác).

- Thể tích khối tế bào nên đạt tối thiểu 125 ml, nếu thấp hơn cần có biện pháp để tăng thể tích hồng cầu lên hoặc dùng kỹ thuật khác.

- Kết nối túi chứa dịch tủy xương vào bộ kit xử lý, chú ý khóa các mối dây theo quy trình.

- Mở khóa, chuyển toàn bộ dịch tủy xương sang túi kit.

- Kết nối túi kit vào túi sản phẩm cuối theo các đường phù hợp.

- Treo túi sản phẩm, mở các đường dây lấy mẫu và trả về, đường dịch muối tráng theo hướng dẫn trên máy.

- Nhấn nút chạy mẫu trên máy, theo dõi quá trình xử lý của máy. Mở van thu thập khi máy đã thực hiện được quá trình phân lớp phù hợp.

- Trong quá trình xử lý, thỉnh thoảng trộn nhẹ khối dịch tủy xương để tránh lắng đáy túi.

- Khi kết thúc quá trình xử lý, chọn chương trình để tiến hành tráng lại bộ kit.

4.3. Nhận định kết quả

- Tỷ lệ thu hồi tế bào đơn nhân $\geq 70\%$.

- Tế bào đơn nhân chiếm 25-30% tỷ lệ tế bào có nhân.

4.4. Kết thúc quy trình

- Điền đầy đủ các thông tin trên phiếu xử lý và tính hiệu suất xử lý;

- Gửi mẫu xét nghiệm (tùy theo mục đích ứng dụng): Công thức máu, nhóm máu, virus, số lượng tế bào CD34+, cấy máu đến các phòng xét nghiệm;

- Bàn giao mẫu tế bào gốc cho bộ phận bảo quản.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Hành chính	Nhầm mẫu, nhầm tên	Đối chiếu thông tin mẫu và chỉ định	Sửa thông tin và lấy lại mẫu

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Thiết bị, dụng cụ	Thiết bị không đảm bảo yêu cầu	Các sản phẩm tạo ra không đạt chất lượng như yêu cầu	Sửa chữa, thay thế
2	Nhân viên thực hiện	Thực hiện không đúng quy trình	Mẫu điều chế không đúng cách, chất lượng mẫu sau bảo quản không đảm bảo	Đào tạo lại

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Melissa Croskell, Kathy Loper, and David H. McKenna (2009). Processing Marrow on Fenwal CS3000 Plus for Mononuclear Cell Enrichment. *Basic cellular therapy manufacturing procedures. Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation, Bethesda, MD: AABB, 2009*, chapter 26 (Method 26-5), p.318-320.
2. Melissa Croskell, Kathy Loper, and David H. McKenna (2009). Processing Marrow Using the COBE Spectra for Mononuclear Cell Enrichment. *Basic cellular therapy manufacturing procedures. Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation, Bethesda, MD: AABB, 2009*, chapter 26 (Method 26-6), p.321-323.
3. Quy trình hướng dẫn của máy và AABB (American Association of Blood Bank).
4. JCBN (the Japanese Cord Blood Bank Network).

31. GIẢM THỂ TÍCH KHỐI TẾ BÀO GỐC MÁU NGOẠI VI

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Loại bỏ các thành phần thừa, giữ lại thể tích tối thiểu; thu hồi tối đa số lượng tế bào có nhân trong khối tế bào gốc máu ngoại vi (hiệu suất thu hồi $\geq 70\%$).

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Khối tế bào gốc máu ngoại vi mới thu thập có nhiều thành phần chiếm thể tích và không cần thiết và khó bảo quản. Giảm thể tích là sử dụng kỹ thuật phân lớp bằng ly tâm tỷ trọng để phân tách và loại bỏ những thành phần dư thừa nhằm đạt thể tích tối ưu cho lưu trữ, bảo quản.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Kỹ thuật y: 02 người.

2.2. Vật tư

a. Thiết bị:

- Tủ an toàn sinh học vô trùng có đèn cồn, tủ lạnh 4°C;
- Máy ly tâm lạnh;
- Máy lắc túi máu;
- Máy phân tích tế bào máu.

2.2.1. Dụng cụ:

- Túi đeo lấy máu, bộ túi xử lý tế bào gốc;
- Pipet cơ, pipet điện;
- Hộp bảo vệ kim loại (canister);
- Bàn ép túi máu; máy hàn dây; kìm vuốt dây túi máu, cân điện tử;
- Tất cả các dụng cụ phải được hấp tiệt trùng.

2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Bộ túi xử lý;
- Gạc, bông thấm vô trùng;
- Bông thấm cồn sát trùng 70°, cồn iod;
- Ống đựng mẫu xét nghiệm;
- Bơm, kim tiêm;
- Lưỡi dao hàn vô trùng;
- Kim lấy mẫu túi máu vô trùng;
- Quần áo vô trùng, mũ, khẩu trang, găng tay.

2.2.3. Hoá chất

- Dung dịch khử khuẩn (cồn 70°....);
- Chai cấy vi trùng vi nấm;
- Hóa chất tiệt trùng bàn xét nghiệm, dụng cụ.

2.3. Thiết bị

- Tủ an toàn sinh học vô trùng có đèn cồn, tủ lạnh 4°C;

- Máy ly tâm lạnh;
- Máy lắc túi máu;
- Máy phân tích tế bào máu.

2.4. Chuẩn bị mẫu

Khởi tế bào gốc sau thu thập.

2.5. Phiếu chỉ định

Ghi đầy đủ thông tin: mã số, loại chế phẩm, họ tên người hiến, họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán...

2.6. Thời gian thực hiện: khoảng 270-300 phút.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: cơ sở có hệ thống phòng sạch và tử an toàn sinh học.

3. AN TOÀN

3.1. An toàn thực hành

- Mặc áo, găng tay vô khuẩn khi làm việc;
- Đi giày, dép kín mũi chân;
- Thao tác đúng quy trình, chính xác.

3.2. An toàn hóa chất

- Ghi rõ ngày nhận, mở hóa chất;
- Hóa chất chưa sử dụng được sắp xếp gọn gàng, phân loại rõ ràng;
- Đọc kỹ nhãn mác hóa chất trước khi sử dụng;
- Hóa chất thải bỏ được đổ, để đúng nơi quy định.

3.3. An toàn thiết bị và điện

- Đảm bảo tay và các bề mặt làm việc khô khi tiếp xúc thiết bị điện, dây điện
- Kiểm tra dây dẫn, phích và dây nối điện, thay thế nếu cần.
- Không tự ý cắt đóng cầu dao điện.
- Luôn có đường điện ưu tiên để an toàn cho các thiết bị.

3.4. Quy định về hiệu chuẩn

Các thiết bị được hiệu chuẩn theo quy định để đảm bảo quá trình vận hành.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Chuẩn bị trước khi xử lý

- Người thực hiện: rửa tay hai lần; mặc quần áo bảo hộ theo quy định.
- Sát khuẩn bề mặt túi máu trước khi chuyển vào phòng xử lý và trước khi chuyển túi vào tử an toàn sinh học.
- Dán barcode, ghi thông tin vào phiếu và túi xử lý.

4.2. Thực hiện kỹ thuật

- Cân túi thu thập tế bào gốc để ước lượng thể tích khối tế bào gốc.
- Trộn đều túi thu thập.
- Lấy mẫu để làm xét nghiệm: tổng phân tích tích tế bào máu, tế bào CD34+;
- Tính toán số lượng tế bào có nhân trong túi thu thập và thể tích huyết tương để dự kiến mức độ xử lý giảm thể tích.

- Hàn nối vô trùng dây từ túi thu thập với hệ thống túi xử lý.
- Chuyển mẫu từ túi thu thập sang bộ túi xử lý.
- Chuyển bộ túi xử lý vào buồng ly tâm, tiến hành ly tâm.
- Dùng bàn ép đẩy lớp huyết tương trong túi chứa mẫu ra một túi kết nối khác trong bộ túi xử lý. Đảm bảo lớp bạch cầu vẫn còn nguyên trong túi (để lại khoảng cách đến phần đỉnh túi khoảng 3 cm).
- Cân lại túi sản phẩm và ước tính lại thể tích.
- Trộn đều túi sản phẩm.
- Lấy mẫu để làm xét nghiệm, đánh giá số lượng tế bào sau giảm thể tích.
- Tính toán tỷ lệ thu hồi tế bào sau xử lý.

4.3. Nhận định kết quả

- Tỷ lệ thu hồi tế bào có nhân $\geq 90\%$.
- Mật độ tế bào cuối cùng khoảng 20-800 G/l sau xử lý, trước khi thêm dung dịch bảo quản.

4.4. Kết thúc quy trình

- Điền đầy đủ các thông tin trên phiếu xử lý và tính hiệu suất xử lý;
- Gửi mẫu xét nghiệm (tùy theo mục đích ứng dụng): Công thức máu, nhóm máu, virus, CD34, cấy máu đến các phòng xét nghiệm;
- Bàn giao mẫu tế bào gốc cho bộ phận bảo quản.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Hành chính	Nhầm mẫu, nhầm tên	Đối chiếu thông tin mẫu và chỉ định	Sửa thông tin và lấy lại mẫu

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Thiết bị, dụng cụ	Thiết bị không đảm bảo yêu cầu	Các sản phẩm tạo ra không đạt chất lượng như yêu cầu	Sửa chữa, thay thế
2	Nhân viên thực hiện	Thực hiện không đúng quy trình	Mẫu điều chế không đúng cách, chất lượng mẫu sau bảo quản không đảm bảo	Đào tạo lại

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Melissa Croskell, Kathy Loper, and David H. McKenna (2009). Volume Reduction of Peripheral Blood Progenitor Cells for Cryopreservation. *Basic cellular therapy manufacturing procedures. Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation, Bethesda, MD: AABB, 2009*, chapter 26 (Method 26-3), p.314-315.

2. Quy trình hướng dẫn của máy và AABB (American Association of Blood Bank).

32. BẢO QUẢN TẾ BÀO GỐC ĐÔNG LẠNH Ở NHIỆT ĐỘ ÂM 80°C

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Lưu trữ đơn vị tế bào gốc có thể tích nhỏ lâu dài trong nhiệt độ đông lạnh, duy trì ổn định các đặc tính sinh lý, sinh hóa của tế bào, đảm bảo hồi phục khả năng sống khi rã đông.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Tế bào gốc sau khi thu thập, xử lý cần được làm lạnh và bảo quản ở nhiệt độ -80°C hoặc thấp hơn để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào. Hạ lạnh nhanh tạo các tinh thể đá nội bào, kéo theo tăng áp lực thẩm thấu ngoại bào, làm nước ra ngoài tế bào làm chết tế bào. Ngược lại nếu hạ lạnh chậm quá, tạo các tinh thể đá ngoại bào làm nước đi vào trong tế bào gây tan tế bào. Để hạn chế những tác hại này cần có quy trình hạ lạnh phù hợp với sự hỗ trợ của các chất bảo quản lạnh. Một số chất bảo quản lạnh thẩm thấu (DMSO) hoặc không thẩm thấu (Trehalose, HES...) giúp ngăn ngừa tác động tổn thương tế bào của các tinh thể băng trong quá trình đông lạnh và áp suất thẩm thấu trong quá trình rã đông.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Kỹ thuật y/ Bác sỹ/ Dược sỹ: 02 người.

2.2. Vật tư

- Bơm kim tiêm sử dụng một lần các loại và kim tiêm 18G;
- Ống bảo quản lạnh;
- Quần áo, khẩu trang, găng tay, mũ vô trùng;
- Dung dịch bảo quản lạnh (HES 5%DMSO);
- NaCl 0,9%;
- Nguồn nitơ lỏng cho hạ lạnh.

2.3. Thiết bị

- Tủ an toàn sinh học;
- Tủ lạnh 4°C;
- Tủ lạnh - 80°C;
- Máy hạ lạnh theo chương trình hoặc hộp dụng cụ hạ lạnh.

2.4. Chuẩn bị bệnh phẩm

Bệnh phẩm là mẫu tế bào gốc được đóng gói trong các ống lưu trữ.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu chỉ định đầy đủ thông tin: họ tên, tuổi, quê quán, loại bệnh phẩm.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 210-240 phút.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Cơ sở có hệ thống phòng sạch và tủ an toàn sinh học.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các quy định về phòng chống cháy nổ.

- Đảm bảo quy định về an toàn sinh học.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Khôi tế bào gốc: Sau khi đã tách và rửa xong.
- Chuẩn bị dung dịch bảo quản lạnh (HES 5%DMSO) vào ống Falcon 15ml và giữ ở 4°C 10-15 phút (thể tích dung dịch bảo quản phù hợp với lượng tế bào cần bảo quản).
- Nhẹ nhàng nhả dung dịch bảo quản lạnh vào ống tế bào sao cho 1 ml dung dịch chứa 1 triệu tế bào.
- Trộn đều, chia tế bào vào các ống đông lạnh (1ml/ ống).
- Chuyển ống đông lạnh vào hộp bảo vệ.
- Chạy chương trình hạ lạnh cho tế bào gốc để mẫu đạt đến nhiệt độ -80°C.
- Kết thúc quy trình hạ lạnh, chuyển mẫu vào bình lưu giữ ở -80°C.
- Hoàn thiện hồ sơ lưu giữ mẫu.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Trong khi thực hiện có thể mất điện đột ngột làm gián đoạn quá trình hạ lạnh theo chương trình, cần có nguồn điện dự phòng (UPS) cho hệ thống.
- Trong quá trình chuẩn bị dung môi bảo quản, kỹ thuật y pha tỷ lệ chất bảo quản lạnh cao có nguy cơ gây độc cho người bệnh khi sử dụng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

Tế bào gốc cần kiểm tra chất lượng sau khi tiến hành đông lạnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Allison Hubel. Cryopreservation of cellular therapy products. Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation. Bethesda, MD:AABB, 2009, chapter 28, p.342-357.
2. Kelvin G.M.Brockbank, James C.Covault, Michael J.Taylor. A guide to cryopreservation techniques. Cryopreservation manual by Artisan technology

34. BẢO QUẢN KHỐI TẾ BÀO GỐC ĐÔNG LẠNH BẰNG BÌNH CHỨA NITƠ LỎNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Lưu trữ tế bào gốc lâu dài trong nhiệt độ đông lạnh, duy trì ổn định các đặc tính sinh lý, sinh hóa của tế bào gốc đến khi sử dụng.

1.2. Nguyên lý

Đặt tế bào gốc ở nhiệt độ $< -150^{\circ}\text{C}$ trong môi trường nitơ lỏng, giúp cho tế bào giảm chuyển hóa, qua đó duy trì được các đặc tính sinh lý, sinh hóa cần thiết trong thời gian lâu dài.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện:

Bác sĩ/kỹ thuật y/dược sĩ: 02 người.

2.2. Thiết bị-dụng cụ:

- Thùng lưu giữ mẫu chứa nitơ lỏng;
- Bình cấp Nitơ lỏng;
- Đồ bảo hộ chuyên dụng khi tiếp xúc với nitơ lỏng (găng tay, áo, kính);
- Hệ thống giá đựng hộp bảo vệ tế bào gốc (Canister);
- Hệ thống giá đựng ống lưu kèm (cryo);
- Các vật tư hỗ trợ khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu

Khối tế bào gốc kèm theo ống lưu kèm sau khi đã được hạ nhiệt độ theo chương trình

2.5. Hồ sơ

Sơ đồ lưu mẫu.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 25-30 phút.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: phòng lưu trữ Tế bào gốc.

3. AN TOÀN

Mặc đồ bảo hộ an toàn (áo, găng tay, kính) khi tiếp xúc với nitơ lỏng.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

Bước 1: Xác định vị trí lưu mẫu

Xác định vị trí và lập sơ đồ lưu mẫu theo biểu mẫu của đơn vị gồm sơ đồ lưu khối tế bào gốc và sơ đồ lưu mẫu kèm theo.

Bước 2: Thực hiện lưu mẫu

- Mặc đồ bảo hộ chống bỏng ni-tơ: áo, găng tay, kính;
- Mở cửa hệ thống hạ nhiệt theo chương trình;
- Nhanh chóng lấy hộp chứa tế bào gốc (canister) cho vào hệ thống giá đựng và đặt vào vị trí vừa xác định ở bước 1 và cất vào bình lưu trữ;

- Tiếp tục lấy ống mẫu lưu kèm (cryo) cho vào giá đựng ống nghiệm theo đúng vị trí đã xác định ở bước 1 và cất vào bình lưu trữ.

Bước 3: Ghi chép hồ sơ

Ghi thông tin quá trình lưu mẫu vào các vị trí xác định ở bước 1.

5. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Lưu mẫu đúng vị trí.
- Ghi chép hồ sơ đầy đủ.
- Theo dõi, bổ sung nitơ theo đúng quy định.
- Thiết bị theo dõi nhiệt độ sử dụng đầu cảm biến phải được hiệu chuẩn theo quy trình.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Allison Hubel. Cryopreservation of cellular therapy products. Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation. Bethesda, MD:AABB, 2009, chapter 28, p.342-357.

2. Thermo Scientific. CryoMed Controlled Rate Freezer Operating and Maintenance Manual 7017452 Rev.3.

34. ĐÔNG LẠNH KHỐI TẾ BÀO GỐC TRÊN HỆ THỐNG HẠ NHIỆT ĐỘ THEO CHƯƠNG TRÌNH

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật:

Hạn chế tối đa các tổn thương cho tế bào gốc (TBG) khi hạ nhiệt từ 2 đến 8°C về nhiệt độ âm sâu (dưới -80°C) để bảo quản.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý:

Trong quá trình hạ nhiệt khối tế bào gốc xuống nhiệt độ âm sâu, hỗn dịch trong khối tế bào gốc thường gặp các biến đổi về lý hóa như nước bị tinh thể hóa, giải phóng nhiệt, thay đổi áp suất thẩm thấu cơ chất... Các yếu tố này nếu không được kiểm soát đều có thể dẫn đến tổn thương tế bào gốc. Hạ nhiệt độ theo chương trình khắc phục vấn đề này bằng cách sử dụng thiết bị chuyên dụng để điều chỉnh tốc độ hạ nhiệt nhanh/chậm ở những điểm nhiệt quan trọng, giúp hạn chế tối đa các tổn thương tế bào do những yếu tố trên.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Bác sĩ/kỹ thuật y/dược sĩ: 02 người.

2.2. Vật tư

- Dụng cụ: giá đỡ hộp bảo vệ chứa tế bào gốc;
- Hóa chất: nitơ lỏng.

2.3. Thiết bị

- Bình cấp nitơ lỏng cho máy hạ nhiệt độ;
- Dây nối truyền nitơ;
- Hệ thống bình lưu trữ đông lạnh;
- Bộ dụng cụ bảo hộ khi tiếp xúc với nitơ lỏng: găng tay, áo chuyên dụng chống bỏng lạnh; kính bảo hộ;
- Bộ cảm biến nhiệt độ của mẫu và của buồng hạ nhiệt;
- Thiết bị khác như máy sấy...;
- Máy hạ nhiệt độ theo chương trình có kết nối với máy tính.

2.4. Chuẩn bị mẫu tế bào gốc:

- Mẫu tế bào gốc đã được bổ sung dung dịch bảo quản.
- Mẫu tế bào gốc chứa trong túi chuyên dụng có thể chịu được nhiệt độ âm 196°C và được đặt trong hộp bảo vệ.
- Mẫu được giữ ở nhiệt độ 2 đến 8°C trong thời gian dưới 10 phút sau khi bơm dung dịch bảo quản.

2.5. Hồ sơ

Ghi đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người hiến, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại, thời gian lấy TBG...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 105-120 phút.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: phòng lưu trữ Tế bào gốc.

3. AN TOÀN

- Mặc đồ bảo hộ an toàn (áo, găng tay, kính) khi tiếp xúc với nitơ lỏng;
- Đeo găng tay bảo hộ khi tiếp xúc với các vật dụng có nhiệt độ âm sâu.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Chuẩn bị máy hạ nhiệt

Các bước chuẩn bị thiết bị trước khi thực hiện quy trình gồm:

- Kiểm tra lượng nitơ có trong bình cấp đảm bảo trên 50% đủ để thực hiện hoàn thành một chương trình hạ nhiệt độ, kết nối bình nitơ với máy hạ nhiệt độ;
- Hạ áp suất bình cấp nitơ về mức từ 15 đến 28 psi;
- Thực hiện sấy van sau máy hạ nhiệt độ từ 3 đến 5 phút;
- Bật máy hạ nhiệt độ, máy tính, kiểm tra kết nối của máy hạ nhiệt độ với bình cấp nitơ;
- Khởi động phần mềm hạ nhiệt độ theo chu trình, chuẩn bị chương trình hạ nhiệt độ theo từng loại mẫu bệnh phẩm đã được cài sẵn.

4.1.2. Chuyển mẫu vào thiết bị, chạy máy và theo dõi

- Chuyển khối tế bào gốc sau xử lý được bảo vệ trong hộp bảo vệ từ phòng xử lý sang phòng hạ nhiệt độ;
- Mở cửa buồng máy hạ nhiệt độ đặt hộp bảo vệ lên giá đỡ;
- Cắm và kiểm tra cảm biến nhiệt độ mẫu. Nếu sử dụng cảm biến nhiệt độ mẫu là loại cảm biến dạng lá mỏng thì đặt đầu cảm ứng nhiệt độ của mẫu phía mặt trong của hộp bảo vệ chứa mẫu, tiếp xúc với khối tế bào gốc. Các cảm biến khác đặt cạnh vị trí đặt mẫu;
- Đóng cửa buồng máy hạ nhiệt độ;
- Nhấn nút khởi động chương trình chạy máy;
- Mở van cấp nitơ vào máy hạ nhiệt độ;
- Theo dõi diễn biến quá trình chạy máy: các bước nhiệt độ của mẫu và buồng, nếu nhiệt độ thấp hoặc cao hệ thống sẽ cảnh báo bằng còi;
- Máy sẽ cấp nitơ để hạ nhiệt độ theo tuần tự các bước đã cài đặt. Sau khi kết thúc bước cuối cùng sẽ cảnh báo bằng còi.

4.1.3. Kết thúc chạy máy và lưu mẫu

- Dừng chương trình chạy máy;
- Khóa van cấp nitơ cho máy;
- In sơ đồ hạ nhiệt độ và lưu màn hình chạy máy;
- Mở buồng hạ nhiệt độ của máy;
- Chuyển mẫu vào hệ thống bình lưu trữ đông lạnh;
- Thực hiện chế độ làm ấm của máy để đưa thiết bị về nhiệt độ phòng;
- Ghi chép các hồ sơ liên quan.

4.2. Nhận định kết quả

- Máy thực hiện các bước chương trình hạ nhiệt độ không xuất hiện lỗi;
- Nhiệt độ mẫu đạt được nhiệt độ cài đặt (dưới âm 90°C).

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.
- Xem xét và ký duyệt kết quả.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
Áp suất bình nitơ thấp	Áp suất bình nitơ dưới 15 psi	Nhìn đồng hồ áp suất	Thay bình nitơ mới

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
Hết nitơ	Nhiệt độ buồng không đảm bảo	Cảnh báo của máy hạ nhiệt độ. Vạch hiển thị của bình nitơ	Thay bình nitơ mới
Cảm biến nhiệt độ lỗi	Lỏng kết nối	Mất kết nối nhiệt độ mẫu	Cắm lại cảm biến nhiệt độ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
Quên cất mẫu	Nhân viên được phân công quên cất mẫu	Còi cảnh báo không được tắt	Phân công người thay thế

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nhiệt độ mẫu đạt được nhiệt độ cài đặt (dưới âm 90°C).
- Mẫu sau hạ nhiệt độ không bị phồng, nứt vỡ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Allison Hubel. Cryopreservation of cellular therapy products. Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation. Bethesda, MD: AABB, 2009, chapter 28, p.342-357.

2. Bộ Y Tế. Tài liệu “Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Huyết học-Truyền máu-Miễn dịch-Di truyền-Sinh học phân tử”.

3. Kelvin G.M.Brockbank, James C.Covault, Michael J.Taylor. A guide to cryopreservation techniques. Cryopreservation manual by Artisan technology group-Thermo Scientific corp, 2003.

4. Mazzilli F, Delfino M, Imbrogno N, Elia J, Dondero F. Survival of micro-organisms in cryostorage of human sperm. Cell Tissue Banking. 2006;7:75–79.

5. McBurnie LD, Bardo B. Validation of sterile filtration of liquid nitrogen. Pharm Technol North America. 2002;26:74–82.

35. ĐÔNG LẠNH KHỐI TẾ BÀO TRỊ LIỆU BẰNG HỆ THỐNG HẠ NHIỆT ĐỘ THEO CHƯƠNG TRÌNH

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đưa nhiệt độ khối tế bào trị liệu sau khi xử lý từ +4°C về -80°C tránh làm tổn thương và chết tế bào do sốc nhiệt trước khi lưu giữ trong nitơ lỏng; đảm bảo cho khối tế bào được toàn vẹn trong quá trình hạ nhiệt.

1.2. Nguyên lý

Dựa trên tính chất biến đổi trạng thái và sinh nhiệt của hỗn hợp tế bào trong khối tế bào trị liệu để tác động nhiệt của hệ thống vào thời điểm thích hợp, giúp cho khối tế bào được hạ nhiệt độ nhanh, ổn định và không bị biến động nhiệt độ trong suốt quá trình hạ nhiệt.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Bác sĩ/kỹ thuật y: 02 người.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ:

- Bộ dụng cụ bảo hộ khi tiếp xúc với nitơ lỏng;
- Hộp bảo vệ kim loại (canister);
- Bộ cảm biến nhiệt độ.

2.2.2. Vật tư tiêu hao

Mũ, khẩu trang, bao chân.

2.2.3. Hoá chất

Nitơ lỏng chứa trong bình cấp.

2.3. Thiết bị

- Máy hạ nhiệt độ theo chương trình có kết nối với máy tính;
- Bình cấp nitơ lỏng cho máy hạ nhiệt độ;
- Bình bảo quản tế bào gốc.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

Khối tế bào trị liệu sau xử lý.

2.5. Phiếu chỉ định

Kiểm tra phiếu chỉ định: ghi đầy đủ thông tin theo quy định: mã mẫu, loại chế phẩm, họ tên người hiến, họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 105-120 phút.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: phòng lưu trữ tế bào.

3. AN TOÀN

3.1. An toàn thực hành

- Mặc áo bảo hộ, tạp dề, đeo găng tay chuyên dụng khi tiếp xúc nitơ lỏng;
- Đi giày, dép kín mũi chân;

- Thao tác đúng quy trình, chính xác.

3.2. An toàn hóa chất

Đảm bảo các nguyên tắc an toàn khi làm việc với ni tơ lỏng.

3.3. An toàn thiết bị và điện

- Tay và các bề mặt làm việc khô khi tiếp xúc thiết bị điện hay dây nối.
- Kiểm tra mọi dây dẫn phích và dây nối dài. Thay thế nếu cần.
- Không tự ý cắt đóng cầu dao điện.
- Luôn có đường điện ưu tiên để an toàn cho các thiết bị.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Chuẩn bị trước khi xử lý

- Người thực hiện: mặc quần áo bảo hộ theo quy định;
- Chuẩn bị máy và dụng cụ, kiểm tra tình trạng máy;
- Đưa áp suất bình cấp ni tơ lỏng về khoảng 20-30psi và kết nối với máy;
- Kiểm tra khối tế bào trị liệu đảm bảo đã trộn dung dịch bảo quản và được bọc các lớp bảo vệ cần thiết như túi hút chân không, vỏ canister.

4.2. Thực hiện kỹ thuật

4.2.1. *Bật máy hạ nhiệt độ, khởi động phần mềm trên màn hình*

- Chọn phần mềm hạ nhiệt độ khối tế bào trị liệu.
- Chọn chương trình hạ nhiệt độ theo loại tế bào và thể tích tế bào tương ứng.

4.2.2. *Chuyển mẫu vào buồng hạ nhiệt*

- Đặt canister chứa mẫu tế bào trị liệu lên giá đỡ của buồng hạ nhiệt độ;
- Đặt đầu cảm ứng nhiệt độ của mẫu tiếp xúc với khối tế bào trị liệu;
- Đóng cửa của buồng hạ nhiệt độ;
- Mở van cấp ni tơ vào máy hạ nhiệt độ;

4.2.3. *Khởi động và theo dõi trong quá trình chạy máy*

- Nhấn nút “Start” để chạy chương trình.
- Thực hiện chu trình hạ nhiệt theo các bước (thiết lập theo loại tế bào trị liệu);
- Theo dõi các bất thường trong quá trình chạy (cảnh báo bằng còi và sơ đồ hạ nhiệt được hiển thị);
- Kết thúc chạy máy nhấn nút “Stop”;
- Nhấn nút “Back” trên máy hạ nhiệt độ và khóa van cấp ni tơ cho máy.

4.2.4. *Chuyển mẫu lưu giữ đông lạnh*

- Mở buồng hạ nhiệt độ của máy;
- Lấy canister chứa mẫu tế bào đã đông lạnh đặt vào vị trí trên giá cài;
- Đặt giá cài canister vào hệ thống bình lưu trữ;
- Thoát chương trình chạy máy

4.3. Nhận định kết quả

- Đạt yêu cầu khi: khối tế bào trị liệu được đưa về nhiệt độ âm sâu tối ưu theo đúng loại và thể tích của mẫu, sơ đồ biểu diễn nhiệt độ phù hợp với quy trình cài đặt trên máy, mẫu còn nguyên vẹn, không rách vỡ;

- Không đạt yêu cầu khi: mẫu không đạt nhiệt độ tối ưu, sơ đồ nhiệt độ buồng hạ nhiệt và mẫu không tương xứng, mẫu bị tổn hại, rách vỡ.

4.4. Kết thúc quy trình

- Hoàn thiện hồ sơ, lưu lại sơ đồ hạ nhiệt độ, điền đầy đủ các thông tin trên biểu mẫu theo dõi;

- Bàn giao mẫu tế bào trị liệu cho bộ phận bảo quản.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Hành chính	Nhầm mẫu, nhầm tên	Đối chiếu thông tin mẫu và chỉ định	Sửa thông tin và lấy lại mẫu

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Thiết bị, dụng cụ	Chương trình cài đặt trên máy lỗi	Đường hiển thị nhiệt độ bất thường	Cài đặt lại chương trình
2	Nhân viên thực hiện	Thực hiện không đúng quy trình	Mẫu bảo quản không đúng cách, chất lượng mẫu sau bảo quản không đảm bảo	Đào tạo lại

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Allison Hubel (2009). Cryopreservation of cellular therapy products. *Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation*. Bethesda, MD:AABB, 2009, chapter 28, p.342-357.
2. Kelvin G.M.Brockbank, James C.Covault, Michael J.Taylor (2003). A guide to cryopreservation techniques. *Cryopreservation manual by Artisan technology group-Thermo Scientific corp*.
3. Quy trình kỹ thuật của AABB (American Association of Blood Bank) và JCBN (the Japaneses Cord Blood Bank Network).

36. HẠ LẠNH CÓ KIỂM SOÁT TỐC ĐỘ VÀ LƯU TRỮ KHỐI TẾ BÀO GỐC BẰNG HỆ THỐNG TỰ ĐỘNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đưa nhiệt độ khối tế bào gốc sau khi xử lý từ +4°C về -80°C tránh làm tổn thương do sốc nhiệt trước khi lưu giữ trong nitơ lỏng, sau đó tự động lưu trữ vào vị trí thích hợp; đảm bảo cho khối tế bào được toàn vẹn trong quá trình hạ nhiệt.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Sử dụng hệ thống hoàn toàn tự động trong quản lý việc hạ nhiệt độ và lưu trữ mẫu tế bào gốc.

- Dựa trên tính chất biến đổi trạng thái và sinh nhiệt của hỗn hợp tế bào trong khối tế bào gốc, dùng hệ thống tác động nhiệt vào thời điểm thích hợp, giúp cho khối tế bào được hạ nhiệt độ nhanh, ổn định và tế bào không bị tổn thương.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Kỹ thuật y: 01 người.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Bộ hạ nhiệt để gắn với canister trước khi đưa vào máy.
- Bộ dụng cụ bảo hộ khi tiếp xúc với nitơ lỏng.
- Canister chuyên dụng.
- Giá đỡ cat-set.
- Bộ cảm biến nhiệt độ.

2.2.2. Vật tư tiêu hao

Mũ, khẩu trang, bao chân.

2.2.3. Hoá chất

Nitơ lỏng chứa trong bình cấp.

2.3. Thiết bị

- Hệ thống máy có khả năng hạ nhiệt độ và lưu trữ tự động hoàn toàn;
- Bình cấp nitơ lỏng cho máy hạ nhiệt độ;
- Bình bảo quản tế bào gốc.

2.4. Chuẩn bị mẫu

Khối tế bào gốc sau xử lý.

2.5. Phiếu chỉ định

Ghi đầy đủ thông tin: mã mẫu, loại chế phẩm, họ tên người hiến, họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán...

2.6. Thời gian thực hiện: khoảng 105-120 phút.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: phòng lưu trữ tế bào gốc.

3. AN TOÀN

3.1. An toàn thực hành

- Mặc áo bảo hộ, tạp dề, đeo găng tay chuyên dụng khi tiếp xúc ni tơ lỏng.
- Đi giày, dép kín mũi chân.
- Thao tác đúng quy trình, chính xác.

3.2. An toàn hóa chất

Đảm bảo các nguyên tắc an toàn khi làm việc với ni tơ lỏng.

3.3. An toàn thiết bị và điện

- Đảm bảo tay và các bề mặt khô khi tiếp xúc thiết bị điện hay dây điện.
- Kiểm tra mọi dây dẫn phích và dây nối điện, thay thế nếu cần.
- Không tự ý cắt đóng cầu dao điện.
- Luôn có đường điện ưu tiên để an toàn cho các thiết bị.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Chuẩn bị trước khi xử lý

- Người thực hiện: mặc quần áo bảo hộ theo quy định;
- Chuẩn bị máy và dụng cụ, kiểm tra tình trạng máy;
- Đưa áp suất bình cấp ni tơ lỏng về khoảng 20-30psi và kết nối với máy;
- Kiểm tra tình trạng mẫu tế bào gốc sau xử lý, đảm bảo đầy đủ thông tin

hành chính và được gắn các vật tư bảo vệ phù hợp.

4.2. Thực hiện kỹ thuật

4.2.1. Gắn mẫu vào bộ canister

- Dán nhãn bằng mã vạch cho canister.
- Dán nhãn cho mẫu tế bào gốc trong canister.
- Bọc túi tế bào gốc bằng overwrap, hút chân không, hàn kín.
- Đặt túi vào canister, đóng khóa.
- Chuyển canister vào bộ hạ nhiệt độ kiểm soát chương trình.

4.2.2. Hạ nhiệt độ

- Lựa chọn cửa hạ nhiệt sẽ sử dụng.
- Đặt bộ hạ nhiệt vào cửa tương ứng, lắp chặt bộ hạ nhiệt đến khi đèn báo đỏ.
- Hệ thống tự động đọc mã của mẫu trên canister.
- Nhấn nút để bắt đầu hạ nhiệt độ.

4.2.3. Lưu trữ

Sau khi hạ nhiệt độ xong, máy tiến hành lưu trữ canister vào vị trí xác định.

4.3. Nhận định kết quả

- Sau lưu trữ, tỷ lệ tế bào có nhân thu hồi $\geq 80\%$.
- Tỷ lệ tế bào CD34 thu hồi $\geq 90\%$.
- Đạt yêu cầu khi: khối tế bào nguyên vẹn, không rách vỡ, tỷ lệ tế bào sống sau rã đông đạt tiêu chuẩn.
- Không đạt yêu cầu khi: khối tế bào bị tổn hại, rách vỡ, tỷ lệ tế bào sống sau rã đông không đạt tiêu chuẩn.

4.4. Kết thúc quy trình

- Hoàn thiện hồ sơ, lưu lại sơ đồ hạ nhiệt độ, điền đầy đủ các thông tin trên biểu mẫu theo dõi;
- Bàn giao mẫu tế bào gốc cho bộ phận bảo quản.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Hành chính	Nhầm mẫu, nhầm tên	Đối chiếu thông tin mẫu và chỉ định	Sửa thông tin và lấy lại mẫu

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Thiết bị, dụng cụ	Chương trình cài đặt trên máy lỗi	Đường hiển thị nhiệt độ bất thường	Cài đặt lại chương trình
2	Nhân viên thực hiện	Thực hiện không đúng quy trình	Mẫu bảo quản không đúng cách, chất lượng mẫu sau bảo quản không đảm bảo	Đào tạo lại

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Allison Hubel (2009). Cryopreservation of cellular therapy products. *Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation*. Bethesda, MD:AABB, 2009, chapter 28, p.342-357.
2. Allison Hubel (2009). Automated controlled-rate freezing, storage, and retrieval of volume-reduced cord blood units using the BioArchive system. *Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation*. Bethesda, MD:AABB, 2009, chapter 28, (method 28-2), p.352-357.
3. Kelvin G.M.Brockbank, James C.Covault, Michael J.Taylor (2003). A guide to cryopreservation techniques. *Cryopreservation manual by Artisan technology group-Thermo Scientific corp*.
4. Quy trình hướng dẫn của hãng Thermogenetics và AABB (American Association of Blood Bank).

37. RÃ ĐÔNG KHỐI TẾ BÀO GỐC ĐÔNG LẠNH BẰNG BÌNH CÁCH THỦY

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Tan đông khối tế bào gốc về trạng thái lỏng hoàn toàn để có thể truyền hoặc ứng dụng. Đảm bảo cho khối tế bào được toàn vẹn và an toàn cho nhân viên.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Sử dụng bình cách thủy với nhiệt độ 37°C để đưa các sản phẩm tế bào bảo quản đông lạnh về điều kiện sử dụng trong khoảng thời gian nhất định.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Kỹ thuật y: 02 người.

2.2. Phương tiện

2.2.1. Dụng cụ:

- Bình cách thủy 37°C;
- Bộ bảo hộ khi tiếp xúc với nitơ;
- Thùng vận chuyển tế bào gốc chuyên dụng (shipper);
- Hồ sơ lưu mẫu.

2.2.2. Hoá chất

Nước cất.

2.4. Chuẩn bị mẫu

Khối tế bào gốc đông lạnh.

2.5. Phiếu chỉ định

Đầy đủ thông tin theo quy định: Mã mẫu, loại chế phẩm, họ tên người hiến, họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán...

2.6. Thời gian thực hiện: khoảng 45-60 phút.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Phòng ghép tế bào gốc hoặc thủ thuật lâm sàng.
- Phòng sạch (trong trường hợp có chỉ định).

3. AN TOÀN

3.1. An toàn thực hành

- Đeo bộ bảo hộ tiếp xúc với nitơ lỏng (kính, tạp dề, găng tay, ủng...).
- Thao tác đúng quy trình, chính xác.

3.2. An toàn hóa chất

Kiểm tra mức nitơ lỏng đảm bảo nhiệt độ của thùng chứa mẫu.

3.3. An toàn thiết bị và điện

- Đổ đủ nước cất vào bình cách thủy trước khi cắm vào nguồn điện.
- Tay và các bề mặt làm việc khô khi tiếp xúc thiết bị điện hay dây nối.

3.4. Quy định về hiệu chuẩn

Các thiết bị được hiệu chuẩn theo quy định để đảm bảo quá trình vận hành.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Chuẩn bị trước khi rã đông

- Đối chiếu tên tuổi người bệnh, người hiến (nếu có) trên phiếu chỉ định ghép với hồ sơ và thông tin trên đơn vị tế bào gốc được lựa chọn.
- Chuẩn bị bình cách thủy: cho nước cất vào bình và điều chỉnh nhiệt độ bình cách thủy đạt nhiệt độ ổn định ở 37°C.

4.2. Thực hiện kỹ thuật

- Người thực hiện: rửa tay hai lần, mặc quần áo bảo hộ theo quy định;
- Mở nắp hộp bảo vệ (canister) chứa khối tế bào gốc, đối chiếu thông tin trên túi tế bào gốc với chỉ định.
- Lấy đoạn dây lưu kèm và bảo quản ở nhiệt độ đông lạnh (-150°C đến -196°C), để đánh giá chất lượng khi cần.
- Đặt túi tế bào gốc vào trong bình cách thủy 37°C, dùng tay xoa nhẹ bề mặt túi làm tan đông trong túi;
- Thời gian rã đông tùy thuộc vào thể tích túi tế bào gốc.
- + Túi tế bào gốc máu dây rốn thể tích 25ml rã đông trong khoảng thời gian 2-5 phút/túi;
- + Túi tế bào gốc máu ngoại vi có thể tích từ 30 đến 100ml rã đông trong khoảng thời gian từ 3-7 phút/1 túi;
- Quá trình rã đông cảm nhận bằng mắt và tay, khi tế bào gốc trong túi tan đều nhanh chóng chuyển cho kíp thực hiện ghép để truyền cho người bệnh (quá trình này làm càng nhanh càng tốt vì tế bào gốc sau khi rã đông sẽ chết rất nhanh theo thời gian);
- Thu dọn dụng cụ và hoàn thiện hồ sơ.

4.3. Tiêu chuẩn đánh giá chất lượng

- Khối tế bào gốc phải tan đông hoàn toàn trước khi sử dụng;
- Khối tế bào gốc không bị thủng, vỡ;
- Đảm bảo điều kiện vô trùng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Meghan Delaney, Richard L.Haspel (2009). Thawing and infusing cellular therapy products. *Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation*. Bethesda, MD:AABB, 2009, chapter 31, p.375-396.
2. Quy trình kỹ thuật của AABB (American Association of Blood Bank).

38. RỬA KHỐI TẾ BÀO GỐC SAU BẢO QUẢN BẰNG PHƯƠNG PHÁP THỦ CÔNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Loại bỏ dung dịch bảo quản sau rã đông, hạn chế tác dụng phụ khi sử dụng khối tế bào gốc cho người bệnh hoặc rửa mẫu xét nghiệm để hạn chế ảnh hưởng đến tỷ lệ sống của tế bào; áp dụng kỹ thuật khi không có hệ thống rửa tự động.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Dựa theo nguyên lý ly tâm phân lớp theo tỷ trọng để ly tâm, ép thủ công loại bỏ các thành phần như DMSO, huyết sắc tố và các mảnh vỡ tế bào... trong khối tế bào gốc sau bảo quản đông lạnh.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Kỹ thuật y: 01 người.

2.2. Phương tiện

a. Dụng cụ:

- Bộ kit rửa;
- Bộ dụng cụ bảo hộ khi tiếp xúc với nitơ lỏng;
- Bàn ép;
- Buồng đếm;
- Kính hiển vi.

b. Vật tư tiêu hao

- Mũ, khẩu trang, bao chân;
- Lưỡi dao hàn vô trùng;
- Kim lấy mẫu túi máu vô trùng.

c. Hoá chất

Dung dịch rửa: huyết tương, albumin hoặc NaCl 0,9%, dextran 40.

2.3. Thiết bị

- Tủ bảo quản lạnh.
- Tủ an toàn sinh học.
- Bể cách thủy.
- Máy ly tâm.
- Máy hàn nhiệt.

2.4. Chuẩn bị mẫu

Khối tế bào gốc sau bảo quản.

2.5. Phiếu chỉ định

Đầy đủ thông tin: mã mẫu, loại chế phẩm, họ tên người hiến, họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán...

2.6. Thời gian thực hiện: khoảng 105-120 phút.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Cơ sở có hệ thống phòng sạch và tử an toàn sinh học.

3. AN TOÀN

3.1. An toàn thực hành

- Mặc áo bảo hộ, tạp dề, đeo găng tay chuyên dụng khi tiếp xúc ni tơ lỏng.
- Đi giày, dép kín mũi chân.
- Thao tác đúng quy trình, chính xác.

3.2. An toàn hóa chất

- Đảm bảo các nguyên tắc an toàn khi làm việc với ni tơ lỏng.
- Ghi rõ ngày nhận, mở hóa chất.
- Hóa chất chưa sử dụng được sắp xếp gọn gàng, phân loại rõ ràng.
- Đọc kỹ nhãn mác hóa chất trước khi sử dụng.
- Hóa chất thải bỏ được đổ, để đúng nơi quy định.

3.3. An toàn thiết bị và điện

- Đảm bảo tay và các bề mặt khô khi tiếp xúc thiết bị điện hay dây nối.
- Kiểm tra mọi dây dẫn phích và dây nối dài, thay thế nếu cần.
- Không tự ý cắt đóng cầu dao điện.
- Luôn có đường điện ưu tiên để an toàn cho các thiết bị.

3.4. Quy định về hiệu chuẩn

Các thiết bị được hiệu chuẩn theo quy định để đảm bảo quá trình vận hành.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Chuẩn bị trước khi xử lý

- Người thực hiện: mặc quần áo bảo hộ theo quy định.
- Chuẩn bị các hồ sơ chỉ định.
- Kiểm tra kỹ các hồ sơ về mẫu, về số lượng, thứ tự, nhận diện mẫu.
- Chuẩn bị sẵn ống lấy mẫu.
- Lấy nước vào bể cách thủy, thiết lập để nhiệt độ ổn định ở 37°C.
- Chuẩn bị tử an toàn sinh học và các vật tư cần thiết.
- Làm lạnh dung dịch rửa (dextran 40 và albumin 5%) ở 4°C.

4.2. Thực hiện kỹ thuật

4.2.1. Rã đông

- Thực hiện rã đông mẫu tế bào gốc trong bể cách thủy.
- Lấy mẫu làm xét nghiệm (đếm tế bào, đánh giá tỷ lệ tế bào sống).

4.2.2. Rửa mẫu:

- Thêm từ từ dung dịch rửa dextran 40 nhiệt độ lạnh bằng $\frac{1}{2}$ thể tích mẫu ban đầu (bơm máy tốc độ 5ml/phút).

- Tiếp tục thêm từ từ dung dịch albumin 5% nhiệt độ lạnh với thể tích và tốc độ như trên.

- Chuyển tế bào vào túi chuyển 300 ml, hàn dây chuyển, để lại khoảng 10-15 cm đoạn dây.

- Kết nối túi tế bào với một túi chuyển 300 ml mới.

- Đặt cả 2 túi vào máy ly tâm, tiến hành ly tâm 400g trong 10 phút, ở 10°C.

- Đặt túi đã ly tâm vào bàn ép, đẩy tới đa lớp huyết tương sang túi mới trống.
- Hàn cắt túi huyết tương.
- Thêm dextran 40 hoặc albumin 5% bằng thể tích ban đầu.
- Trộn đều mẫu, lấy 1-2 ml mẫu để làm xét nghiệm (đếm số lượng tế bào, đánh giá tỷ lệ tế bào sống, đếm tế bào trên máy flow cytometry).
- Lấy thể tích phù hợp để sử dụng tính theo liều tế bào. Có thể cô đặc túi về thể tích tối thiểu là 25ml với albumin 5%.
- Túi sau rửa phải giữ trong tủ bảo quản lạnh 4°C và sử dụng trong vòng 24 giờ từ khi rã đông.

Chú ý: Sau rửa phải kiểm tra chất lượng trước khi truyền cho người bệnh.

4.3. Nhận định kết quả

- Đạt yêu cầu: tỷ lệ thu hồi tế bào có nhân $\geq 70\%$, tỷ lệ sống $\geq 50\%$.
- Không đạt yêu cầu: tỷ lệ thu hồi tế bào có nhân $< 70\%$, tỷ lệ sống $< 50\%$.

4.4. Kết thúc quy trình

- Hoàn thiện hồ sơ, điền đầy đủ các thông tin trên biểu mẫu theo dõi;
- Bàn giao mẫu tế bào gốc cho bộ phận sử dụng.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Hành chính	Nhầm mẫu, nhầm tên	Đối chiếu thông tin mẫu và chỉ định	Sửa thông tin và lấy lại mẫu

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Thiết bị, dụng cụ	Thiết bị không đảm bảo yêu cầu	Các sản phẩm tạo ra không đạt chất lượng như yêu cầu	Sửa chữa, thay thế
2	Nhân viên thực hiện	Thực hiện không đúng quy trình	Mẫu sau rửa không đúng cách, chất lượng mẫu sau bảo quản không đảm bảo	Đào tạo lại

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Meghan Delaney, Richard L.Haspel (2009). Thawing and infusing cellular therapy products. *Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation*. Bethesda, MD:AABB, 2009, chapter 31, p.375-396.
2. Meghan Delaney, Richard L.Haspel (2009). Washing cryopreserved hematopoietic progenitor cells to remove dimethyl sulfoxide. *Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation*. Bethesda, MD:AABB, 2009, chapter 31, method 31-4, p.389-390.
3. Quy trình kỹ thuật của AABB (American Association of Blood Bank).

39. RỬA KHỐI TẾ BÀO GỐC SAU BẢO QUẢN TRÊN HỆ THỐNG TỰ ĐỘNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Loại bỏ dung dịch bảo quản sau rã đông, hạn chế tác dụng phụ khi sử dụng khối tế bào gốc cho người bệnh hoặc rửa mẫu xét nghiệm để hạn chế ảnh hưởng đến tỷ lệ sống tế bào; đảm bảo chất lượng tốt nhất cho khối tế bào gốc sau rửa.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Dựa trên nguyên lý ly tâm phân lớp theo tỷ trọng và cảm biến màu, hệ thống máy sẽ loại bỏ các thành phần như DMSO, huyết sắc tố và các mảnh vỡ tế bào...trong khối tế bào gốc sau bảo quản đông lạnh.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Kỹ thuật y: 01 người.

2.2. Phương tiện

2.2.1. Dụng cụ:

- Bộ kit rửa,
- Bộ dụng cụ bảo hộ khi tiếp xúc với nitơ lỏng.

2.2.2. Vật tư tiêu hao

Mũ, khẩu trang, bao chân.

2.2.3. Hoá chất

Dung dịch rửa gồm các loại: huyết tương, albumin hoặc NaCl 0,9%.

2.3. Thiết bị

Hệ thống máy xử lý tế bào tự động.

2.4. Chuẩn bị mẫu

Khối tế bào gốc sau bảo quản.

2.5. Phiếu chỉ định

Đầy đủ thông tin theo quy định: mã mẫu, loại chế phẩm, họ tên người hiến, họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán...

2.6. Thời gian thực hiện: khoảng 105-120 phút.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Cơ sở có hệ thống phòng sạch và tủ an toàn sinh học.

3. AN TOÀN

3.1. An toàn thực hành

- Mặc áo, găng tay vô khuẩn khi làm việc;
- Đi giày, dép kín mũi chân;
- Thao tác đúng quy trình, chính xác.

3.2. An toàn hóa chất

- Ghi rõ ngày nhận, mở hóa chất;

- Hóa chất chưa sử dụng được sắp xếp gọn gàng, phân loại rõ ràng;
- Đọc kỹ nhãn mác hóa chất trước khi sử dụng;
- Hóa chất thải bỏ được đổ, để đúng nơi quy định.

3.3. An toàn thiết bị và điện

- Đảm bảo tay và các bề mặt khô khi tiếp xúc thiết bị điện hay dây nối.
- Kiểm tra mọi dây dẫn phích và dây nối dài, thay thế nếu cần.
- Không tự ý cắt đóng cầu dao điện.
- Luôn có đường điện ưu tiên để an toàn cho các thiết bị.

3.4. Quy định về hiệu chuẩn

Các thiết bị được hiệu chuẩn theo quy định để đảm bảo quá trình vận hành.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Chuẩn bị trước khi xử lý

- Người thực hiện: mặc quần áo bảo hộ theo quy định;
- Chuẩn bị các hồ sơ chỉ định;
- Kiểm tra kỹ các hồ sơ về mẫu, đảm bảo đúng mẫu cần rửa đông về số lượng, thứ tự;
- Chuẩn bị dung dịch rửa:

Thể tích (V) dung dịch rửa được tính bằng công thức:

$$V_{\text{rửa}} = V_{\text{mẫu}} \times \text{tỷ lệ hòa loãng} + V_{\text{sản phẩm}} + 30 \text{ (ml)}$$

(nếu rửa bằng quy trình chuẩn - standard wash)

Hoặc:

$$V_{\text{rửa}} = V_{\text{mẫu}} \times \text{tỷ lệ hòa loãng} + V_{\text{sản phẩm}} + 250 \text{ (ml)}$$

(nếu rửa bằng quy trình high wash)

- Chuẩn bị bộ kit và lắp vào máy
- + Kiểm tra kit trước khi mở để đảm bảo sử dụng đúng loại kit;
- + Mở kit đóng tất cả các kẹp;
- + Kết nối kit với túi chứa sản phẩm trong điều kiện vô trùng;
- + Kết nối kit với dung dịch rửa trong điều kiện vô trùng.

4.2. Thực hiện kỹ thuật

4.2.1. Cài đặt thông số và lắp kit

- Cài đặt các thông số: thể tích mẫu đầu vào, sản phẩm đầu ra, dung dịch rửa;
- Tiến hành lắp kit theo hướng dẫn của màn hình hoặc sơ đồ.

4.2.2. Môi hệ thống

Dùng dung dịch huyết tương, albumin hoặc NaCl 0,9% để môi hệ thống.

4.2.3. Rửa đông và kết nối túi mẫu với kit

- Rửa đông mẫu tế bào gốc trong bể cách thủy ở 37°C;
- Kết nối mẫu sau rửa đông với kit.

4.2.4. Chạy máy tự động và theo dõi trong quá trình chạy

4.2.5. Kết thúc chạy máy

- Tháo bộ kit ra khỏi máy;

- Tách rời và thu túi sản phẩm;
- Lấy mẫu kiểm tra kết quả;
- Thu dọn dụng cụ.

Chú ý: Chất lượng của tế bào đã được rửa phải được kiểm soát, bằng quy trình được phê duyệt trước khi truyền cho người bệnh.

4.3. Nhận định kết quả

- Đạt yêu cầu: tỷ lệ thu hồi tế bào có nhân $\geq 70\%$, tỷ lệ sống $\geq 50\%$.
- Không đạt yêu cầu: tỷ lệ thu hồi tế bào có nhân $< 70\%$, tỷ lệ sống $< 50\%$.

4.4. Kết thúc quy trình

- Hoàn thiện hồ sơ, điền đầy đủ các thông tin trên biểu mẫu theo dõi;
- Bàn giao mẫu tế bào gốc cho bộ phận sử dụng.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Hành chính	Nhầm mẫu, nhầm tên	Đối chiếu thông tin mẫu và chỉ định	Sửa thông tin và lấy lại mẫu

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Thiết bị, dụng cụ	Thiết bị không đảm bảo yêu cầu	Các sản phẩm tạo ra không đạt chất lượng như yêu cầu	Sửa chữa, thay thế
2	Nhân viên thực hiện	Thực hiện không đúng quy trình	Mẫu sau rửa không đúng cách, chất lượng mẫu sau bảo quản không đảm bảo	Đào tạo lại

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Meghan Delaney, Richard L.Haspel (2009). Thawing and infusing cellular therapy products. *Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation*. Bethesda, MD:AABB, 2009, chapter 31, p.375-396.
2. Meghan Delaney, Richard L.Haspel (2009). Washing Cellular Therapy Products Using the COBE 2991. *Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation*. Bethesda, MD:AABB, 2009, chapter 31, method 31-3, p.387-388.
3. Quy trình kỹ thuật của AABB (American Association of Blood Bank).

40. GHÉP TẾ BÀO GỐC TẠO MÁU TỰ THÂN

1. ĐẠI CƯƠNG

Ghép tế bào gốc tạo máu tự thân là phương pháp sử dụng tế bào gốc của người bệnh truyền lại cho chính người bệnh. Đây là phương pháp được xem như hỗ trợ sinh máu sau một đợt hóa trị liệu cao nhằm mục đích duy trì đáp ứng điều trị lâu dài cho người bệnh.

2. CHỈ ĐỊNH

Các bệnh ác tính về máu: Đa u tủy xương, U lympho, lơ xê mi cấp...

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Tuổi trên 70 đối với Đa u tủy xương và trên 65 tuổi đối với U lympho.
- Phụ nữ có thai.
- Ung thư tạng đặc khác (ngoại trừ ung thư da non-melanome hoặc ung thư cổ tử cung tại chỗ) dưới 3 năm trước và không được coi là đã chữa khỏi.
- Nhiễm vi khuẩn, virus, nấm hoặc ký sinh trùng không được kiểm soát, đang trong giai đoạn cấp tính.
- Chức năng thông khí phổi: DLCO < 45% với phác đồ điều kiện hóa vừa phải và < 50% với phác đồ điều kiện hóa mạnh có/ hoặc không xạ trị toàn thân; CV hoặc VEMS < 45% với phác đồ điều kiện hóa vừa phải và < 50% với phác đồ điều kiện hóa mạnh có/ hoặc không xạ trị toàn thân; người bệnh phụ thuộc Oxy.
- Tim mạch: tiền sử suy tim hoặc bệnh mạch vành trước đó cần phải điều trị, mắc bệnh lý rối loạn nhịp hoặc tăng huyết áp không kiểm soát được, EF < 45% với phác đồ điều kiện hóa vừa phải và < 50% với phác đồ điều kiện hóa mạnh có/ hoặc không xạ trị toàn thân.
- Chức năng gan: xơ gan hoặc rối loạn gan mật mức độ nặng, bilirubin và/ hoặc chỉ số GOT/GPT tăng hơn 3 lần giá trị bình thường (nếu điều kiện hóa bằng phác đồ vừa phải) hoặc tăng hơn 2 lần giá trị bình thường (nếu điều kiện hóa phác đồ mạnh có/ không TBI).
- Chức năng thận: creatinin tăng hơn 1,5 – 2 lần giá trị bình thường trừ TH bệnh lý đa u tủy xương.
- HIV dương tính trừ khi CD4+ > 100 tế bào/ μ l và tải lượng virus HIV < 10⁵ copies/ml.
- Rối loạn tâm thần nặng.

4. THẬN TRỌNG

- Người bệnh có các bệnh lý mạn tính về gan, thận, phổi và bệnh tim, nhiễm trùng.
- Người bệnh lơ xê mi cấp.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sĩ có phạm vi hành nghề về huyết học: 01 người;
- Bác sĩ có phạm vi hành nghề về hồi sức: 01 người;

- Điều dưỡng: 03 người.

5.2. Thuốc

- Thuốc theo phác đồ điều kiện hóa tùy thuộc vào từng bệnh lý;
- Thuốc kích thích tăng trưởng bạch cầu hạt G-CSF;
- Thuốc điều trị nhiễm trùng: kháng sinh, kháng nấm, kháng virus;
- Thuốc hỗ trợ biến chứng khác.

5.3. Vật tư

- Bơm tiêm 5ml; 10ml;
- Kim lấy máu, kim luồn;
- Dây truyền máu, dây truyền dịch;
- Bộ dụng cụ vô trùng: kéo, kẹp, 4 bát kim loại, khay quả đậu, khay đựng dụng cụ, toan vô khuẩn;
- Băng, gạc vô trùng, băng dính;
- Găng tay vô trùng;
- Dây garo, bút dạ, bút viết;
- Chai cấy máu;
- Gọng hoặc mask thở oxy, điện cực điện tâm đồ;
- Khí oxy.

5.4. Thiết bị

- Bộ đo huyết áp: huyết áp, ống nghe;
- Dụng cụ rã đông khối tế bào gốc: bình ổn nhiệt (trường hợp đơn vị tế bào gốc được bảo quản âm sâu);
- Máy điện tâm đồ;
- Monitor theo dõi chỉ số sinh tồn.

5.5. Người bệnh

- Người bệnh đủ điều kiện thực hiện ghép tế bào gốc;
- Người bệnh và gia đình được bác sĩ giải thích về quá trình ghép tế bào gốc (lợi ích, nguy cơ, biến chứng...);
- Người bệnh và gia đình đồng ý tiến hành ghép tế bào gốc và kí giấy cam kết.

5.6. Hồ sơ bệnh án

Người bệnh được làm hồ sơ vào viện điều trị nội trú, được làm các xét nghiệm theo yêu cầu trước ghép.

5.7. Thời gian thực hiện: khoảng 30 ngày tùy trường hợp.

5.8. Địa điểm thực hiện

Phòng bệnh vô trùng, tối thiểu có:

- Hệ thống cung cấp oxy;
- Hệ thống lọc không khí;
- Hệ thống nước sinh hoạt đã được lọc vi khuẩn;
- Hệ thống máy theo dõi các dấu hiệu sinh tồn;
- Nhiệt kế và ẩm kế;

- Cân, dây đo;
- Hệ thống cảnh báo.

5.9. Kiểm tra hồ sơ

- Kiểm tra hồ sơ người bệnh;
- Kiểm tra đầy đủ xét nghiệm yêu cầu và cam kết.

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Bước 1: Lựa chọn người bệnh

- Người bệnh được chẩn đoán mắc các bệnh lý có chỉ định ghép tế bào gốc tự thân để điều trị.
- Người bệnh không thuộc trường hợp chống chỉ định với ghép tế bào gốc tự thân.
- Người bệnh có chỉ định ghép sẽ được hội chẩn, được tư vấn và thống nhất phương pháp ghép tế bào gốc.
- Hồ sơ hội chẩn ghép tế bào gốc là bản tóm tắt chi tiết bao gồm thông tin cơ bản của người bệnh, quá trình chẩn đoán, điều trị, các biến chứng xảy ra trong quá trình điều trị...

Bước 2: Huy động tế bào gốc tự thân

- Lựa chọn phác đồ huy động tế bào gốc tự thân tùy thuộc thể bệnh, tình trạng lâm sàng người bệnh...
- Thực hiện huy động tế bào gốc tự thân theo quy trình huy động tế bào gốc tự thân từ máu ngoại vi.

Bước 3: Chuẩn bị người bệnh ghép tế bào gốc:

- Hoàn thiện hồ sơ vào viện điều trị nội trú;
- Người bệnh vào khu điều trị tích cực;
- Đặt đường truyền tĩnh mạch trung tâm.

Bước 4: Điều kiện hóa trước ghép

Lựa chọn phác đồ điều kiện hóa tùy từng thể bệnh và tình trạng lâm sàng của người bệnh.

Bước 5: Truyền tế bào gốc

Truyền khối tế bào gốc theo quy trình truyền tế bào gốc phù hợp (loại đơn vị tế bào gốc được bảo quản âm sâu hoặc không).

Bước 6: Chăm sóc, theo dõi và kiểm soát biến chứng sau ghép

Bước 6.1: Chăm sóc và theo dõi trong giai đoạn tích cực

- Chăm sóc người bệnh toàn diện:
 - + Bác sĩ khám lâm sàng hàng ngày nhằm phát hiện sớm biến chứng;
 - + Điều dưỡng chăm sóc và theo dõi liên tục;
 - + Theo dõi xét nghiệm tổng phân tích máu hàng ngày, các xét nghiệm sinh hóa máu 2-3 ngày/lần hoặc tùy theo diễn biến lâm sàng;
 - + Hỗ trợ dinh dưỡng.
 - + Hỗ trợ tinh thần.

+ Dự phòng và điều trị nhiễm khuẩn, nhiễm nấm, virus CMV, kí sinh trùng.....

+ Truyền chế phẩm máu: truyền khối hồng cầu và khối tiểu cầu gạn tách từ một người cho khi có chỉ định.

+ Sử dụng thuốc kích bạch cầu (G-CSF, GM-CSF).

b) Kết thúc chăm sóc toàn diện:

+ Không phụ thuộc truyền chế phẩm máu ít nhất trên 2 tuần.

+ Không có biến chứng mức độ từ trung bình trở lên hoặc các biến chứng có nguy cơ ảnh hưởng tới tính mạng.

+ Số lượng tuyệt đối bạch cầu trung tính (ANC) > 1G/L.

Bước 6.2: Kiểm soát biến chứng sau ghép: theo hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh lý huyết học.

Bước 7: Theo dõi và dự phòng tái phát:

- Đánh giá tình trạng lui bệnh;

- Điều trị củng cố hoặc duy trì;

- Đánh giá đáp ứng điều trị định kỳ theo hướng dẫn.

Bước 8: Kết thúc quy trình: khi người bệnh tái phát hoặc tử vong.

7. THEO DÕI VÀ XỬ LÝ TAI BIẾN

7.1. Theo dõi

- Theo dõi sát lâm sàng và xét nghiệm trong quá trình điều kiện hóa;

- Theo dõi diễn biến của các dấu hiệu sinh tồn trong quá trình truyền tế bào gốc;

- Theo dõi sát lâm sàng và xét nghiệm sau ghép cho đến khi mọc mảnh ghép.

- Theo dõi đáp ứng điều trị theo hướng dẫn (**Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh lý huyết học**).

7.2. Xử lý tai biến

- Trong quá trình điều kiện hóa trước ghép tế bào gốc: giảm tế bào máu, nhiễm trùng: cần theo dõi phát hiện và xử trí theo tai biến.

- Trong quá trình truyền tế bào gốc: thường không có tai biến; có thể có tăng huyết áp cần cho thuốc hạ áp, phản ứng rét run do dị ứng xử trí corticoid... (xử lý theo quy trình truyền tế bào gốc).

- Sau ghép: có thể có sốt nhiễm trùng, nhiễm nấm, CMV tái hoạt động cần điều trị. Theo dõi sát để xử lý sớm biến chứng có thể xảy ra. Xử lý biến chứng theo hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh lý huyết học.

(*Xử lý biến chứng theo Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh lý huyết học*)

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Jo JC, Kang BW, Jang G, Sym SJ, Lee SS, Koo JE, Kim JW, Kim S, Huh J, Suh C. BEAC or BEAM high-dose chemotherapy followed by autologous stem cell transplantation in non-Hodgkin's lymphoma patients: comparative analysis of efficacy and toxicity. *Ann Hematol*. 2008 Jan;87(1):43-8
2. Takamatsu H, Munemoto S, Murata R, Terasaki Y, Nakajima K, Nakao S. Post-transplantation Consolidation and Maintenance Therapy with lenalidomide for Japanese Patients with Multiple Myeloma. *Anticancer Res*. 2013 Dec;33(12):5681-5.
3. McCarthy PL, Hahn T. Strategies for induction, autologous hematopoietic stem cell transplantation, consolidation, and maintenance for transplantation-eligible multiple myeloma patients. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. ;2013:496-503.
4. Fratino L, Rupolo M, Mazzuccato M, Berretta M, Lleshi A, Tirelli U, Michieli M. Autologous stem cell transplantation as a care option in elderly patients. A review. *Anticancer Agents Med Chem*. 2013 Nov;13(9):1419-29.
5. Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh lý huyết học (Ban hành kèm theo quyết định số 1832/QĐ-BYT ngày 01/07/2022).

41. GHÉP TẾ BÀO GỐC ĐỒNG LOÀI HÒA HỢP HOÀN TOÀN

1. ĐẠI CƯƠNG

Ghép tế bào gốc đồng loài hòa hợp hoàn toàn là phương pháp điều trị được sử dụng rộng rãi trên thế giới, có khả năng chữa khỏi một số bệnh máu. Phương pháp này sử dụng tế bào gốc từ người hiến hòa hợp HLA hoàn toàn (thường cùng huyết thống) truyền cho người bệnh sau khi được điều kiện hóa bằng phác đồ diệt tủy hoặc không diệt tủy.

2. CHỈ ĐỊNH

- Các bệnh máu ác tính: lơ xê mi cấp, lơ xê mi mạn, rối loạn sinh tủy, tăng sinh lympho, hội chứng thực bào, hội chứng tăng sinh tủy...

- Các bệnh lý khác: rối loạn tế bào gốc (suy tủy xương, thiếu máu Fanconi, đái huyết sắc tố kịch phát ban đêm), thalassemia, hội chứng thực bào máu...

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Tuổi > 60 (nếu sử dụng phác đồ điều kiện hóa diệt tủy hoàn toàn – MAC) hoặc > 70 (nếu sử dụng phác đồ điều kiện hóa giảm cường độ liều – RIC).

- Điểm Karnofsky < 80 (nếu sử dụng phác đồ điều kiện hóa diệt tủy hoàn toàn – MAC) hoặc < 70 (nếu sử dụng phác đồ điều kiện hóa giảm cường độ liều – RIC).

- Ung thư tạng đặc khác (ngoại trừ ung thư da non-melanome hoặc ung thư cổ tử cung tại chỗ) dưới 3 năm trước và chưa được chữa khỏi.

- Nhiễm vi khuẩn, virus, nấm hoặc ký sinh trùng không được kiểm soát.

- Chức năng thông khí phổi: DLCO $< 50\%$ với phác đồ điều kiện hóa không có xạ trị toàn thân và $< 60\%$ với phác đồ điều kiện hóa có xạ trị toàn thân; CV hoặc VEMS $< 60\%$; người bệnh phụ thuộc Oxy.

- Tim mạch: tiền sử suy tim hoặc bệnh mạch vành trước đó cần phải điều trị, rối loạn nhịp hoặc tăng huyết áp không kiểm soát được, EF $< 50\%$ nếu có kế hoạch sử dụng phác đồ điều kiện hóa diệt tủy hoàn toàn và EF $< 40\%$ nếu có kế hoạch sử dụng phác đồ điều kiện hóa giảm cường độ liều.

- Chức năng gan: xơ gan hoặc rối loạn gan mật mức độ nặng, bilirubin và/hoặc chỉ số GOT/GPT tăng hơn 2 lần giá trị bình thường (nếu điều kiện hóa bằng phác đồ diệt tủy) hoặc tăng hơn 3 lần giá trị bình thường (nếu điều kiện hóa bằng phác đồ giảm cường độ liều).

- Chức năng thận: creatinin tăng hơn 1,5 – 2 lần giá trị bình thường.

- HIV dương tính.

- Rối loạn tâm thần cần kiểm soát bằng thuốc.

IV. THẬN TRỌNG

Người bệnh có các bệnh lý mạn về gan, thận, phổi, tim mạch và nhiễm trùng.

V. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sĩ có phạm vi hành nghề về huyết học: 01 người;
- Bác sĩ có phạm vi hành nghề về hồi sức: 01 người;
- Điều dưỡng: 03 người.

5.2. Thuốc

- Thuốc theo phác đồ điều kiện hóa tùy thuộc vào từng bệnh.
- Thuốc điều trị nhiễm trùng: kháng sinh, kháng nấm, kháng virus, ký sinh trùng; thuốc kích thích sinh bạch cầu hạt.
- Thuốc hỗ trợ điều trị biến chứng khác: ghép chống chủ cấp, hội chứng mọc mầm ghép....

5.3. Vật tư

- Bơm tiêm 5ml; 10ml;
- Kim lấy máu, kim luồn;
- Dây truyền máu, dây truyền dịch;
- Bộ dụng cụ vô trùng: kéo, kẹp, 4 bát kim loại, khay quả đậu, khay đựng dụng cụ, toan vô khuẩn;
- Băng, gạc vô trùng, băng dính;
- Găng tay vô trùng;
- Dây garo, bút dạ, bút viết;
- Chai cấy máu;
- Gọng hoặc mask thở oxy, điện cực điện tâm đồ;
- Khí oxy.

5.4. Thiết bị

- Bộ đo huyết áp: huyết áp, ống nghe;
- Dụng cụ rã đông khối tế bào gốc: bình ổn nhiệt;
- Máy điện tâm đồ;
- Monitor theo dõi chỉ số sinh tồn.

5.5. Người bệnh

- Đủ điều kiện thực hiện ghép tế bào gốc.
- Người bệnh và gia đình được giải thích về quá trình ghép tế bào gốc (lợi ích, nguy cơ, biến chứng...); đồng ý tiến hành ghép tế bào gốc và kí giấy cam kết.
- Được điều trị theo hướng ghép tế bào gốc và thông qua kế hoạch chi tiết về ghép.

5.6. Hồ sơ bệnh án

Người bệnh được làm hồ sơ vào viện điều trị nội trú, đã được làm đầy đủ các xét nghiệm đánh giá trước ghép.

5.7. Thời gian thực hiện: khoảng 45 ngày tùy trường hợp.

5.8. Địa điểm thực hiện

Phòng bệnh vô trùng dùng cho ghép tế bào gốc tối thiểu có:

- Hệ thống thông khí áp lực dương;
- Hệ thống lọc không khí;
- Hệ thống cung cấp oxy;
- Hệ thống theo dõi dấu hiệu sinh tồn;
- Hệ thống nước sinh hoạt đã được lọc vi khuẩn;
- Nhiệt kế và ẩm kế;
- Cân, dây đo;
- Hệ thống cảnh báo.

5.9. Kiểm tra hồ sơ

- Kiểm tra hồ sơ người bệnh;
- Kiểm tra xét nghiệm, giấy tờ.

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Bước 1: Lựa chọn người bệnh

- Người bệnh có chỉ định ghép tế bào gốc đồng loài để điều trị.
- Người bệnh không có chống chỉ định với ghép tế bào gốc đồng loài.
- Người bệnh được hội chẩn, tư vấn và thống nhất chỉ định ghép tế bào gốc.
- Hồ sơ hội chẩn ghép tế bào gốc là bản tóm tắt chi tiết bao gồm: thông tin cơ bản của người bệnh, quá trình chẩn đoán, điều trị, các biến chứng xảy ra trong quá trình điều trị...

Bước 2: Lựa chọn nguồn tế bào gốc và kiểu ghép

- Nguồn tế bào gốc hòa hợp HLA hoàn toàn;
- Tế bào gốc được huy động từ máu ngoại vi hoặc tủy xương: gạn tách, thu thập, điều chế, bảo quản và đánh giá tế bào gốc cũng được thực hiện theo quy trình.

Bước 3: Chuẩn bị người bệnh trước ghép tế bào gốc

- Hoàn thiện hồ sơ vào viện điều trị nội trú.
- Xây dựng kế hoạch ghép tế bào gốc (thông qua hội đồng ghép tế bào gốc).
- Người bệnh vào khu điều trị tích cực.
- Đặt đường truyền tĩnh mạch trung tâm.

Bước 4: Điều kiện hóa trước ghép

- Điều kiện hóa theo phác đồ được thông qua Hội đồng ghép tế bào gốc.
- Phác đồ điều hóa phụ thuộc vào từng bệnh lý, tình trạng lâm sàng, kiểu ghép: diệt tủy hoặc không diệt tủy, có hoặc không kèm theo xạ toàn thân...

Bước 5: Truyền khối tế bào gốc

- Truyền khối tế bào gốc vào thời điểm 24 – 48 giờ sau khi kết thúc điều kiện hóa.
- Truyền khối tế bào gốc theo quy trình truyền tế bào gốc tùy thuộc loại tế bào gốc (khối tế bào gốc từ máu ngoại vi bảo quản âm sâu hoặc không).

Bước 6: Chăm sóc, theo dõi và kiểm soát biến chứng sau ghép

Bước 6.1: Chăm sóc và theo dõi trong giai đoạn tích cực

- Chăm sóc người bệnh toàn diện:
 - + Bác sĩ thăm khám lâm sàng hàng ngày, điều dưỡng chăm sóc và theo dõi người bệnh liên tục đặc biệt trong 24 giờ đầu nhằm phát hiện sớm các biến chứng.
 - + Theo dõi xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu máu hàng ngày, xét nghiệm đông máu, xét nghiệm sinh hóa máu: chức năng gan, thận, điện giải đồ, định lượng nồng độ thuốc...2-3 ngày/lần hoặc tùy theo diễn biến lâm sàng.
 - + Dự phòng và điều trị: nhiễm khuẩn, nhiễm nấm, virus, kí sinh trùng.
 - + Truyền chế phẩm máu phù hợp: truyền khối hồng cầu và khối tiểu cầu gạn tách từ một người hiến có chiếu xạ, CMV, lọc BC khi có chỉ định (lưu ý trường hợp bất đồng nhóm máu).
 - + Hỗ trợ dinh dưỡng, chăm sóc đường truyền tĩnh mạch trung tâm...
- Kết thúc chăm sóc toàn diện khi:
 - + Người bệnh không có biểu hiện nhiễm trùng, không gặp biến chứng mức độ từ trung bình trở lên hoặc biến chứng có nguy cơ ảnh hưởng đến tính mạng.
 - + Không phụ thuộc truyền máu ít nhất từ 2 tuần trở lên.
 - + Số lượng tuyệt đối bạch cầu trung tính (ANC) > 1 G/L.

Bước 6.2. Chăm sóc, theo dõi và kiểm soát biến chứng sớm sau ghép (theo Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh lý huyết học)

Bước 6.3. Chăm sóc, theo dõi và kiểm soát biến chứng muộn sau ghép (theo Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh lý huyết học)

Bước 7: Theo dõi và dự phòng tái phát sau ghép (theo Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh lý huyết học)

- Đánh giá tình trạng lui bệnh theo hướng dẫn.
- Điều trị củng cố hoặc duy trì tùy vào từng nhóm bệnh.
- Đánh giá đáp ứng điều trị định kì theo hướng dẫn.

Bước 8: Kết thúc quy trình khi bệnh tái phát hoặc tử vong

7. THEO DÕI VÀ XỬ LÝ TAI BIẾN

7.1. Theo dõi

- Theo dõi diễn biến lâm sàng và xét nghiệm trong quá trình điều kiện hóa.
- Theo dõi diễn biến lâm sàng trong quá trình truyền tế bào gốc.
- Theo dõi sát diễn biến lâm sàng và xét nghiệm sau ghép cho đến khi mọc mảnh ghép.
- Theo dõi đáp ứng điều trị và các biến chứng muộn có thể xảy ra.

7.2. Xử lý tai biến

- Trong quá trình điều kiện hóa trước ghép tế bào gốc: giảm tế bào máu, nhiễm trùng, dị ứng, phản ứng thuốc: theo dõi, sử dụng kháng histamine, ngừng thuốc nếu cần.

- Trong quá trình truyền tế bào gốc: thường không có tai biến; có thể có tăng huyết áp cần cho thuốc hạ áp, phản ứng dị ứng xử trí bằng thuốc kháng histamin, corticoid... (xử lý theo quy trình truyền tế bào gốc).

- Sau ghép:

+ Có thể có sốt nhiễm trùng, nhiễm nấm, CMV tái hoạt động cần phải điều trị. Theo dõi sát để xử lý sớm biến chứng có thể xảy ra.

+ Biến chứng ghép sớm: ghép chống chủ cấp, VOD, hội chứng mọc mảnh ghép, bất đồng nhóm máu...

+ Biến chứng ghép muộn: ghép chống chủ mạn,...

(Xử lý biến chứng theo hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh lý huyết học)

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh lý huyết học (Ban hành kèm theo quyết định số 1832/QĐ-BYT ngày 01/07/2022).

2. Haemopoietic Stem Cell Transplantation. The EBMT Handbook. 2014 Revised Edition, <http://clinicaltrials.gov/ct2/search>.

3. Hamadani M et al. How we approach patient evaluation for hematopoietic cell transplantation. Bone Marrow Transplant. 45:1259-1268, 2010.

4. Deeg HJ et al. Who is fit for allogeneic transplantation. Blood 116:4762-4770, 2010.

42. GHÉP TẾ BÀO GỐC ĐỒNG LOẠI NỬA HÒA HỢP

1. ĐẠI CƯƠNG

Ghép tế bào gốc đồng loài nửa hòa hợp là sử dụng tế bào gốc từ người hiến phù hợp HLA không hoàn toàn (HLA hòa hợp không hoàn toàn từ 5/10 trở lên), truyền cho người bệnh sau khi được điều kiện hóa bằng phác đồ diệt tủy hoặc không diệt tủy.

2. CHỈ ĐỊNH

- Các bệnh máu ác tính: lơ xê mi cấp, lơ xê mi mạn, rối loạn sinh tủy, tăng sinh lympho, hội chứng thực bào, hội chứng tăng sinh tủy...
- Các bệnh lý khác: rối loạn tế bào gốc (suy tủy xương, thiếu máu Fanconi, đái huyết sắc tố kịch phát ban đêm); thalassemia, hội chứng thực bào máu...

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Tuổi > 60 (nếu sử dụng phác đồ điều kiện hóa diệt tủy hoàn toàn – MAC) hoặc > 70 (nếu sử dụng phác đồ điều kiện hóa giảm cường độ liều – RIC).
- Điểm Karnofsky < 80 (nếu sử dụng phác đồ điều kiện hóa diệt tủy hoàn toàn – MAC) hoặc < 70 (nếu sử dụng phác đồ điều kiện hóa giảm cường độ liều – RIC).
- Ung thư tạng đặc khác (ngoại trừ ung thư da non-melanome hoặc ung thư cổ tử cung tại chỗ) dưới 3 năm trước và không được coi là đã chữa khỏi.
- Nhiễm vi khuẩn, virus, nấm hoặc ký sinh trùng không được kiểm soát.
- Chức năng thông khí phổi: DLCO < 50% với phác đồ điều kiện hóa không có xạ trị toàn thân và < 60% với phác đồ điều kiện hóa có xạ trị toàn thân; CV hoặc VEMS < 60%; người bệnh phụ thuộc Oxy.
- Tim mạch: tiền sử suy tim hoặc bệnh mạch vành trước đó cần phải điều trị, mắc bệnh lý rối loạn nhịp hoặc tăng huyết áp không kiểm soát được. EF < 40% (phác đồ RIC) hoặc < 50% (phác đồ MAC).
- Chức năng gan: xơ gan hoặc rối loạn gan mật mức độ nặng, bilirubin và/hoặc chỉ số GOT/GPT tăng hơn 2 lần giá trị bình thường (nếu điều kiện hóa bằng phác đồ diệt tủy) hoặc tăng hơn 3 lần giá trị bình thường (nếu điều kiện hóa bằng phác đồ giảm cường độ liều).
- Chức năng thận: creatinin tăng hơn 1,5 – 2 lần giá trị bình thường.
- HIV dương tính.
- Rối loạn tâm thần cần kiểm soát bằng thuốc.

4. THẬN TRỌNG

Người bệnh có các bệnh lý mạn tính về gan, thận, phổi và bệnh tim mạch, nhiễm trùng.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sĩ có phạm vi hành nghề về huyết học: 01 người;
- Bác sĩ có phạm vi hành nghề về hồi sức: 01 người;

- Điều dưỡng: 03 người.

5.2. Thuốc

- Thuốc theo phác đồ điều kiện hóa tùy thuộc vào từng bệnh lý;
- Thuốc kích thích tăng trưởng bạch cầu hạt;
- Thuốc điều trị nhiễm trùng: kháng sinh, kháng nấm, kháng virus, ký sinh trùng;
- Thuốc hỗ trợ khác.

5.3. Vật tư

- Bơm tiêm 5ml; 10ml;
- Kim lấy máu, kim luồn;
- Dây truyền máu;
- Bộ dụng cụ vô trùng: kéo, kẹp, 4 bát kim loại, khay quả đậu, khay đựng dụng cụ, toan vô khuẩn;
- Băng, gạc vô trùng, băng dính;
- Găng tay vô trùng;
- Dây garo, bút dạ, bút viết;
- Chai cất máu;
- Gọng hoặc mask thở oxy, điện cực điện tâm đồ;
- Khí oxy.

5.4. Thiết bị

- Bộ đo huyết áp: huyết áp, ống nghe;
- Dụng cụ ră đông khối tế bào gốc: bình ổn nhiệt;
- Máy điện tâm đồ;
- Monitor theo dõi chỉ số sinh tồn.

5.5. Người bệnh

- Đủ điều kiện thực hiện ghép tế bào gốc.
- Người bệnh và gia đình được bác sĩ giải thích về lợi ích, nguy cơ, biến chứng ghép tế bào gốc; đồng ý tiến hành ghép tế bào gốc và kí giấy cam kết.
- Được điều trị theo hướng ghép tế bào gốc và thông qua kế hoạch chi tiết về ghép.

5.6. Hồ sơ bệnh án

Người bệnh được làm hồ sơ vào viện điều trị nội trú, đã được làm các xét nghiệm theo yêu cầu trước ghép.

5.7. Thời gian thực hiện: khoảng 60 ngày tùy trường hợp.

5.8. Địa điểm thực hiện

Phòng bệnh vô trùng dùng cho ghép tế bào gốc tối thiểu có:

- Hệ thống thông khí áp lực dương;
- Hệ thống lọc không khí;
- Hệ thống cung cấp oxy;
- Hệ thống theo dõi dấu hiệu sinh tồn;
- Hệ thống nước sinh hoạt đã được lọc vi khuẩn;

- Nhiệt kế và âm kế;
- Cân, dây đo;
- Hệ thống cảnh báo.

5.9. Đơn vị tế bào gốc

Đã được xét nghiệm HLA độ phân giải cao chứng minh hòa hợp từ 5/10 trở lên và đủ số lượng tế bào gốc.

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Bước 1: Lựa chọn người bệnh

- Người bệnh được chẩn đoán mắc các bệnh lý ác tính hoặc lành tính cần ghép tế bào gốc đồng loài để điều trị không có người hiến hòa hợp HLA hoàn toàn hoặc đã thất bại sau ghép tế bào gốc đồng loài từ người hiến hòa hợp HLA hoàn toàn.

- Người bệnh không có từ 1 yếu tố chống chỉ định.
- Người bệnh được hội chẩn, được tư vấn và thống nhất phác đồ ghép tế bào gốc.

- Hồ sơ hội chẩn ghép tế bào gốc là bản tóm tắt chi tiết bao gồm thông tin cơ bản của người bệnh, quá trình chẩn đoán, điều trị, các biến chứng xảy ra trong quá trình điều trị...

Bước 2: Lựa chọn nguồn tế bào gốc

- Nguồn tế bào gốc hòa hợp HLA một nửa phù hợp.
- Tế bào gốc được huy động từ máu ngoại vi hoặc tủy xương: gạn tách, thu thập, điều chế và lưu trữ tế bào gốc cũng được thực hiện theo quy trình.

Bước 3: Chuẩn bị người bệnh trước ghép tế bào gốc

- Hoàn thiện hồ sơ vào viện điều trị nội trú.
- Người bệnh vào khu điều trị tích cực.
- Đặt đường truyền tĩnh mạch trung tâm.

Bước 4: Điều kiện hóa trước ghép

Lựa chọn phác đồ điều hóa phụ thuộc vào từng thể bệnh, tình trạng lâm sàng, kiểu ghép: diệt tủy hoặc không diệt tủy, có hoặc không kèm theo xạ toàn thân...

Bước 5: Truyền khối tế bào gốc

- Truyền vào thời điểm 24 giờ - 48 giờ sau khi kết thúc điều kiện hóa.
- Truyền khối tế bào gốc theo quy trình truyền tế bào gốc tùy thuộc loại tế bào gốc (bảo quản âm sâu hay không).

Bước 6: Chăm sóc, theo dõi và kiểm soát biến chứng sau ghép

Bước 6.1: Chăm sóc và theo dõi trong giai đoạn tích cực

- Chăm sóc người bệnh toàn diện:
 - + Bác sĩ thăm khám lâm sàng hàng ngày, điều dưỡng chăm sóc và theo dõi người bệnh liên tục nhằm phát hiện sớm các biến chứng có thể xảy ra.
 - + Theo dõi xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu máu hàng ngày, xét nghiệm đông máu, xét nghiệm sinh hóa máu: chức năng gan, thận, điện giải đồ, định lượng nồng độ thuốc... 2-3 ngày/lần hoặc tùy theo diễn biến lâm sàng.

- + Dự phòng và điều trị nhiễm khuẩn, nhiễm nấm, virus, kí sinh trùng...
- + Truyền chế phẩm máu phù hợp: truyền khối hồng cầu và khối tiểu cầu gạn tách từ một người cho có chiếu xạ, CMV, lọc BC khi có chỉ định (lưu ý trường hợp bất đồng nhóm máu).
- + Hỗ trợ dinh dưỡng, chăm sóc đường truyền tĩnh mạch trung tâm...
- Kết thúc chăm sóc toàn diện khi:
 - + Người bệnh không có biểu hiện nhiễm trùng, không gặp biến chứng mức độ từ trung bình trở lên hoặc biến chứng có nguy cơ ảnh hưởng tính mạng.
 - + Không phụ thuộc truyền máu ít nhất từ 2 tuần trở lên.
 - + Số lượng tuyệt đối bạch cầu trung tính (ANC) > 1G/L.

Bước 6.2. Chăm sóc, theo dõi và kiểm soát biến chứng sớm sau ghép (theo Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh lý huyết học)

Bước 6.3. Chăm sóc, theo dõi và kiểm soát biến chứng muộn sau ghép (theo Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh lý huyết học)

Bước 7: Theo dõi và dự phòng tái phát sau ghép (theo Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh lý huyết học)

- Đánh giá tình trạng lui bệnh.
- Điều trị củng cố hoặc duy trì.
- Đánh giá đáp ứng điều trị định kì theo hướng dẫn.

Bước 8: Kết thúc quy trình khi bệnh tái phát hoặc tử vong

7. THEO DÕI VÀ XỬ LÝ TAI BIẾN

7.1. Theo dõi

- Theo dõi diễn biến trong quá trình điều kiện hóa.
- Theo dõi diễn biến của các dấu hiệu sinh tồn trong quá trình truyền tế bào gốc.
- Theo dõi sát diễn biến lâm sàng và xét nghiệm sau ghép cho đến khi mọc mảnh ghép.
- Theo dõi đáp ứng điều trị và các biến chứng muộn có thể xảy ra.

7.2. Xử lý tai biến

- Trong quá trình điều kiện hóa trước ghép tế bào gốc: giảm tế bào máu, nhiễm trùng; cần theo dõi và xử trí tùy tai biến cụ thể.
 - Trong quá trình truyền tế bào gốc: thường không có tai biến; có thể có tăng huyết áp cần cho thuốc hạ áp, phản ứng rét run do dị ứng xử trí corticoid... (xử lý theo quy trình truyền tế bào gốc).
 - Sau ghép:
 - + Có thể có sốt nhiễm trùng, nhiễm nấm, CMV tái hoạt động cần điều.
- Theo dõi sát để xử lý sớm biến chứng có thể xảy ra.
- + Biến chứng ghép sớm: ghép chống chủ cấp, VOD, hội chứng mọc mảnh ghép, bất đồng nhóm máu....
 - + Biến chứng ghép muộn: ghép chống chủ mạn,....
- (xử lý biến chứng theo hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh lý huyết học)*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh lý huyết học (Ban hành kèm theo quyết định số 1832/QĐ-BYT ngày 01/07/2022)
2. Haemopoietic Stem Cell Transplantation. The EBMT Handbook. 2014 Revised Edition, <http://clinicaltrials.gov/ct2/search>.
3. Hamadani M et al. How we approach patient evaluation for hematopoietic cell transplantation. Bone Marrow Transplant. 45:1259-1268, 2010.
4. Deeg HJ et al. Who is fit for allogeneic transplantation. Blood 116:4762-4770, 2010.

43. GHÉP TẾ BÀO GỐC TẠO MÁU ĐỒNG LOẠI TỪ MÁU DÂY RÓN

1. ĐẠI CƯƠNG

Ghép tế bào gốc tạo máu từ máu dây rốn là phương pháp điều trị được sử dụng điều trị một số bệnh huyết học. Phương pháp này sử dụng tế bào gốc từ nguồn máu dây rốn phù hợp HLA hoàn toàn hoặc nửa hòa hợp có sẵn trong Đơn vị lưu trữ tế bào gốc để điều trị.

2. CHỈ ĐỊNH

- Các bệnh máu ác tính: lơ xê mi cấp, lơ xê mi mạn, rối loạn sinh tủy, tăng sinh lympho, hội chứng thực bào, hội chứng tăng sinh tủy...

- Các bệnh lý khác: rối loạn tế bào gốc (suy tủy xương, thiếu máu Fanconi, đái huyết sắc tố kịch phát ban đêm), thalassemia, hội chứng thực bào máu...

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Tuổi > 60 (nếu sử dụng phác đồ điều kiện hóa diệt tủy hoàn toàn – MAC) hoặc > 70 (nếu sử dụng phác đồ điều kiện hóa giảm cường độ liều – RIC).

- Điểm Karnofsky < 80 (nếu sử dụng phác đồ điều kiện hóa diệt tủy hoàn toàn – MAC) hoặc < 70 (nếu sử dụng phác đồ điều kiện hóa giảm cường độ liều – RIC).

- Ung thư tạng đặc khác (ngoại trừ ung thư da non-melanome hoặc ung thư cổ tử cung tại chỗ) dưới 3 năm trước và không được coi là đã chữa khỏi.

- Nhiễm vi khuẩn, virus, nấm hoặc ký sinh trùng không được kiểm soát.

- Chức năng thông khí phổi: DLCO < 50% với phác đồ điều kiện hóa không có xạ trị toàn thân và < 60% với phác đồ điều kiện hóa có xạ trị toàn thân; CV hoặc VEMS < 60%; người bệnh phụ thuộc Oxy.

- Tim mạch: tiền sử suy tim hoặc bệnh mạch vành trước đó cần phải điều trị, mắc bệnh lý rối loạn nhịp hoặc tăng huyết áp không kiểm soát được.

- Chức năng gan: xơ gan hoặc rối loạn gan mật mức độ nặng, bilirubin và/hoặc chỉ số GOT/GPT tăng hơn 2 lần giá trị bình thường (nếu điều kiện hóa bằng phác đồ diệt tủy) hoặc tăng hơn 3 lần giá trị bình thường (nếu điều kiện hóa bằng phác đồ giảm cường độ liều).

- Chức năng thận: creatinin tăng hơn 1,5 – 2 lần giá trị bình thường.

- HIV dương tính.

- Rối loạn tâm thần cần kiểm soát bằng thuốc.

4. THẬN TRỌNG

Người bệnh có các bệnh lý mạn tính về gan, thận, phổi và bệnh tim mạch, nhiễm trùng.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sĩ có phạm vi hành nghề về huyết học: 01 người;
- Bác sĩ có phạm vi hành nghề về hồi sức: 01 người;
- Điều dưỡng: 03 người.

5.2. Thuốc

- Thuốc theo phác đồ điều kiện hóa tùy thuộc vào từng bệnh lý;
- Thuốc kích thích tăng trưởng bạch cầu hạt;
- Thuốc điều trị nhiễm trùng: kháng sinh, kháng nấm, kháng virus, ký sinh trùng;
- Thuốc hỗ trợ và xử lý các biến chứng khác.

5.3. Vật tư

- Bơm tiêm 5ml; 10ml;
- Kim lấy máu, kim luồn;
- Dây truyền máu;
- Bộ dụng cụ vô trùng: kéo, kẹp, 4 bát kim loại, khay quả đậu, khay đựng dụng cụ, toan vô khuẩn;
- Băng, gạc vô trùng, băng dính;
- Găng tay vô trùng;
- Dây garô, bút dạ, bút viết;
- Chai cấy máu;
- Gọng hoặc mask thở oxy, điện cực điện tâm đồ;
- Khí oxy.

5.4. Thiết bị

- Bộ đo huyết áp: huyết áp, ống nghe;
- Dụng cụ rã đông khối tế bào gốc: bình ổn nhiệt;
- Máy điện tâm đồ;
- Monitor theo dõi chỉ số sinh tồn.

5.5. Người bệnh

- Đủ điều kiện thực hiện ghép tế bào gốc.
- Người bệnh và gia đình được giải thích về ghép tế bào gốc (lợi ích, nguy cơ, biến chứng...); đồng ý tiến hành ghép tế bào gốc và kí giấy cam kết.
- Được điều trị theo hướng ghép tế bào gốc và thông qua kế hoạch chi tiết về ghép.

5.6. Hồ sơ bệnh án

Người bệnh được làm hồ sơ vào viện điều trị nội trú, được làm các xét nghiệm đánh giá trước ghép.

5.7. Thời gian thực hiện: khoảng 60 ngày tùy trường hợp.

5.8. Địa điểm thực hiện

- Phòng bệnh vô trùng dùng cho ghép tế bào gốc tối thiểu có:
- Hệ thống thông khí áp lực dương;

- Hệ thống lọc không khí;
- Hệ thống cung cấp oxy;
- Hệ thống theo dõi dấu hiệu sinh tồn;
- Hệ thống nước sinh hoạt đã được lọc vi khuẩn;
- Nhiệt kế và ẩm kế;
- Cân, dây đo;
- Hệ thống cảnh báo.

5.9. Đơn vị máu dây rốn

Đã được xét nghiệm HLA độ phân giải cao cho kết quả hòa hợp và có đủ số lượng tế bào gốc theo yêu cầu.

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Bước 1: Lựa chọn người bệnh

- Người bệnh được chẩn đoán mắc các bệnh lý huyết học ác tính hoặc lành tính cần ghép tế bào gốc đồng loài để điều trị không có người hiến hòa hợp HLA hoàn toàn hoặc nửa hòa hợp hoặc đã thất bại sau ghép tế bào gốc đồng loài lần trước.

- Người bệnh không chống chỉ định với ghép tế bào gốc đồng loài.
- Được hội chẩn, được tư vấn và thống nhất về phác đồ ghép tế bào gốc.
- Hồ sơ hội chẩn ghép tế bào gốc là bản tóm tắt chi tiết bao gồm thông tin cơ bản của người bệnh, quá trình chẩn đoán, điều trị, các biến chứng xảy ra trong quá trình điều trị...

Bước 2: Lựa chọn nguồn tế bào gốc

Lựa chọn đơn vị máu dây rốn phù hợp từ ngân hàng máu dây rốn có thể 1 hoặc 2 đơn vị.

Bước 3: Chuẩn bị người bệnh trước ghép tế bào gốc

- Hoàn thiện hồ sơ vào viện điều trị nội trú;
- Cho người bệnh vào khu điều trị tích cực;
- Đặt đường truyền tĩnh mạch trung tâm.

Bước 4: Điều kiện hóa trước ghép

Lựa chọn phác đồ điều hóa phụ thuộc vào từng bệnh lý, tình trạng lâm sàng, kiểu ghép: diệt tủy hoặc không diệt tủy, có hoặc không kèm theo xạ toàn thân...

Bước 5: Truyền khối tế bào gốc

- Thời điểm 24 giờ - 48 giờ sau khi kết thúc điều kiện hóa.
- Tiêm khối tế bào gốc theo quy trình tiêm khối tế bào gốc tạo máu dây rốn.

Bước 6: Chăm sóc, theo dõi và kiểm soát biến chứng sau ghép

Bước 6.1: Chăm sóc và theo dõi trong giai đoạn tích cực

- Chăm sóc người bệnh toàn diện:
 - + Bác sĩ thăm khám lâm sàng hàng ngày, điều dưỡng chăm sóc và theo dõi người bệnh liên tục đặc biệt trong 24 giờ đầu nhằm phát hiện sớm các biến chứng.

+ Theo dõi xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu máu hàng ngày, xét nghiệm đông máu, xét nghiệm sinh hóa máu: chức năng gan, thận, điện giải đồ, định lượng nồng độ thuốc... 2-3 ngày/lần hoặc tùy theo diễn biến lâm sàng.

+ Dự phòng và điều trị: nhiễm khuẩn, nhiễm nấm, virus, kí sinh trùng...

+ Truyền chế phẩm máu phù hợp: truyền khối hồng cầu và khối tiểu cầu gạn tách từ một người cho có chiếu xạ, CMV, lọc BC khi có chỉ định (lưu ý trường hợp bất đồng nhóm máu).

+ Hỗ trợ dinh dưỡng, chăm sóc đường truyền tĩnh mạch trung tâm...

- Kết thúc chăm sóc toàn diện khi:

+ Người bệnh không có biểu hiện nhiễm trùng, không gặp biến chứng mức độ từ trung bình trở lên hoặc biến chứng có nguy cơ ảnh hưởng tới tính mạng.

+ Không phụ thuộc truyền máu ít nhất từ 2 tuần trở lên.

+ Số lượng tuyệt đối bạch cầu trung tính (ANC) > 1G/L.

Bước 6.2. Chăm sóc, theo dõi và kiểm soát biến chứng sớm sau ghép (theo Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh lý huyết học)

Bước 6.3. Chăm sóc, theo dõi và kiểm soát biến chứng muộn sau ghép (theo Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh lý huyết học)

Bước 7: Theo dõi và dự phòng tái phát sau ghép (theo Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh lý huyết học)

- Đánh giá tình trạng lui bệnh.

- Điều trị củng cố hoặc duy trì.

- Đánh giá đáp ứng điều trị định kì.

Bước 8: Kết thúc quy trình khi bệnh tái phát hoặc tử vong

7. THEO DÕI VÀ XỬ LÝ TAI BIẾN

7.1. Theo dõi

- Theo dõi diễn biến lâm sàng trong quá trình điều kiện hóa.

- Theo dõi diễn biến lâm sàng trong quá trình truyền tế bào gốc.

- Theo dõi sát diễn biến lâm sàng và xét nghiệm sau ghép cho đến khi mọc mảnh ghép.

- Theo dõi đáp ứng điều trị và các biến chứng muộn có thể xảy ra.

7.2. Xử lý tai biến

- Trong quá trình điều kiện hóa trước ghép tế bào gốc: giảm tế bào máu, nhiễm trùng,... Xử trí tùy từng trường hợp cụ thể.

- Trong quá trình truyền tế bào gốc: thường không có tai biến; có thể có tăng huyết áp cần cho thuốc hạ áp, phản ứng dị ứng xử trí bằng thuốc kháng histamin, corticoid... (xử lý theo quy trình truyền tế bào gốc).

- Sau ghép:

+ Có thể có sốt nhiễm trùng, nhiễm nấm, CMV tái hoạt động cần điều trị.

Theo dõi sát để xử lý sớm biến chứng có thể xảy ra.

+ Biến chứng ghép sớm: ghép chống chủ cấp, VOD, hội chứng mọc mảnh ghép, bất đồng nhóm máu...

+ Biến chứng ghép muộn: ghép chống chủ mạn,...
(xử lý biến chứng theo hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh lý huyết học)

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh lý huyết học (Ban hành kèm theo quyết định số 1832/QĐ-BYT ngày 01/07/2022)
2. Haemopoietic Stem Cell Transplantation. The EBMT Handbook. 2014 Revised Edition, <http://clinicaltrials.gov/ct2/search>.
3. Hamadani M et al. How we approach patient evaluation for hematopoietic cell transplantation. Bone Marrow Transplant. 45:1259-1268, 2010.
4. Deeg HJ et al. Who is fit for allogeneic transplantation. Blood 116:4762-4770, 2010.

44. GHÉP TẾ BÀO GỐC TẠO MÁU ĐỒNG LOÀI NỬA HÒA HỢP KẾT HỢP MÁU DÂY RÓN

1. ĐẠI CƯƠNG

Ghép tế bào gốc tạo máu đồng loài nửa hòa hợp kết hợp máu dây rốn là sử dụng tế bào gốc từ người hiến hòa hợp HLA từ một nửa kết hợp với máu dây rốn phù hợp với mục đích giảm nguy cơ tử vong so với ghép tế bào gốc từ máu dây rốn đơn thuần.

2. CHỈ ĐỊNH

- Các bệnh máu ác tính: lơ xê mi cấp, lơ xê mi mạn, rối loạn sinh tủy, tăng sinh lympho, hội chứng thực bào, hội chứng tăng sinh tủy...
- Các bệnh lý khác: rối loạn tế bào gốc (suy tủy xương, thiếu máu Fanconi, đái huyết sắc tố kịch phát ban đêm); thalassemia, hội chứng thực bào máu...

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Tuổi > 60 (nếu sử dụng phác đồ điều kiện hóa diệt tủy hoàn toàn – MAC) hoặc > 70 (nếu sử dụng phác đồ điều kiện hóa giảm cường độ liều – RIC).
- Điểm Karnofsky < 80 (nếu sử dụng phác đồ điều kiện hóa diệt tủy hoàn toàn – MAC) hoặc < 70 (nếu sử dụng phác đồ điều kiện hóa giảm cường độ liều – RIC).
- Ung thư tạng đặc khác (ngoại trừ ung thư da non-melanome hoặc ung thư cổ tử cung tại chỗ) dưới 3 năm trước và không được coi là đã chữa khỏi.
- Nhiễm vi khuẩn, virus, nấm hoặc ký sinh trùng không được kiểm soát.
- Chức năng thông khí phổi: DLCO < 50% với phác đồ điều kiện hóa không có xạ trị toàn thân và < 60% với phác đồ điều kiện hóa có xạ trị toàn thân; CV hoặc VEMS < 60%; người bệnh phụ thuộc Oxy.
- Tim mạch: tiền sử suy tim hoặc bệnh mạch vành trước đó cần phải điều trị, mắc bệnh lý rối loạn nhịp hoặc tăng huyết áp không kiểm soát được.
- Chức năng gan: xơ gan hoặc rối loạn gan mật mức độ nặng, bilirubin và/hoặc chỉ số GOT/GPT tăng hơn 2 lần giá trị bình thường (nếu điều kiện hóa bằng phác đồ diệt tủy) hoặc tăng hơn 3 lần giá trị bình thường (nếu điều kiện hóa bằng phác đồ giảm cường độ liều).
- Chức năng thận: creatinin tăng hơn 1,5 – 2 lần giá trị bình thường.
- HIV dương tính.
- Rối loạn tâm thần cần kiểm soát bằng thuốc.

4. THẬN TRỌNG

Người bệnh có các bệnh lý mạn tính về gan, thận, phổi và bệnh tim mạch, nhiễm trùng.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sĩ có phạm vi hành nghề về huyết học: 01 người;
- Bác sĩ có phạm vi hành nghề về hồi sức: 01 người;
- Điều dưỡng: 03 người.

5.2. Thuốc

- Thuốc theo phác đồ điều kiện hóa tùy thuộc vào từng bệnh lý;
- Thuốc kích thích tăng trưởng bạch cầu hạt;
- Thuốc điều trị nhiễm trùng: kháng sinh, kháng nấm, kháng virus, ký sinh trùng;
- Thuốc hỗ trợ khác.

5.3. Vật tư

- Bơm tiêm 5ml; 10ml;
- Kim lấy máu, kim luồn;
- Dây truyền máu;
- Bộ dụng cụ vô trùng: kéo, kẹp, 4 bát kim loại, khay quả đậu, khay đựng dụng cụ, toan vô khuẩn;
- Băng, gạc vô trùng, băng dính;
- Găng tay vô trùng;
- Dây garo, bút dạ, bút viết;
- Chai cấy máu;
- Gọng hoặc mask thở oxy, điện cực điện tâm đồ;
- Khí oxy.

5.4. Thiết bị

- Bộ đo huyết áp: huyết áp, ống nghe;
- Dụng cụ rã đông khối tế bào gốc: bình ổn nhiệt;
- Máy điện tâm đồ;
- Monitor theo dõi chỉ số sinh tồn.

5.5. Người bệnh

- Đủ điều kiện thực hiện ghép tế bào gốc.
- Người bệnh và gia đình được giải thích về quá trình ghép tế bào gốc (lợi ích, nguy cơ, biến chứng...); đồng ý tiến hành ghép tế bào gốc và kí giấy cam kết.
- Được điều trị theo hướng ghép tế bào gốc và thông qua kế hoạch chi tiết về ghép.

5.6. Hồ sơ bệnh án

Người bệnh được làm hồ sơ vào viện điều trị nội trú, được làm các xét nghiệm theo yêu cầu trước ghép.

5.7. Thời gian thực hiện: khoảng 60 ngày tùy trường hợp.

5.8. Địa điểm thực hiện

Phòng bệnh vô trùng dùng cho ghép tế bào gốc tối thiểu có:

- Hệ thống thông khí áp lực dương;
- Hệ thống lọc không khí;
- Hệ thống cung cấp oxy;
- Hệ thống theo dõi dấu hiệu sinh tồn;
- Hệ thống nước sinh hoạt đã được lọc vi khuẩn;
- Nhiệt kế và ẩm kế;

- Cân, dây đo;
- Hệ thống cảnh báo.

5.9. Đơn vị tế bào gốc

Gồm khối tế bào gốc từ máu ngoại vi hòa hợp HLA một nửa từ người cho cùng hoặc không huyết thống và khối tế bào gốc máu dây rốn phù hợp.

6. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

Bước 1: Lựa chọn người bệnh ghép tế bào gốc.

- Người bệnh được chẩn đoán mắc các bệnh lý ác tính hoặc lành tính cần ghép tế bào gốc đồng loài để điều trị không có người hiến hòa hợp HLA hoàn toàn hoặc đã thất bại sau ghép tế bào gốc đồng loài trước đó.

- Người bệnh không chống chỉ định với ghép tế bào gốc đồng loài.

- Người bệnh được hội chẩn, được tư vấn và thống nhất phác đồ ghép tế bào gốc.

- Hồ sơ hội chẩn ghép tế bào gốc là bản tóm tắt chi tiết bao gồm thông tin cơ bản của người bệnh, quá trình chẩn đoán, điều trị, các biến chứng xảy ra trong quá trình điều trị...

Bước 2: Lựa chọn nguồn tế bào gốc.

- Nguồn tế bào gốc từ máu ngoại vi hòa hợp HLA từ ít nhất một nửa.

- Lựa chọn đơn vị máu dây rốn phù hợp từ ngân hàng máu dây rốn.

Bước 3: Chuẩn bị người bệnh trước ghép tế bào gốc

- Hoàn thiện hồ sơ vào viện điều trị nội trú.

- Đưa người bệnh vào khu điều trị tích cực.

- Đặt đường truyền tĩnh mạch trung tâm.

Bước 4: Điều kiện hóa trước ghép

Lựa chọn phác đồ điều hóa phụ thuộc vào từng bệnh, tình trạng lâm sàng người bệnh, kiểu ghép: diệt tủy hoặc không diệt tủy, có hoặc không kèm theo xạ toàn thân...

Bước 5: Truyền khối tế bào gốc

- Truyền vào thời điểm 24 giờ - 48 giờ sau khi kết thúc điều kiện hóa.

- Truyền khối tế bào gốc theo thứ tự dựa trên phác đồ điều trị; quy trình truyền tế bào gốc tùy thuộc loại tế bào gốc (máu ngoại vi bảo quản âm sâu hoặc không; máu dây rốn).

Bước 6: Chăm sóc, theo dõi và kiểm soát biến chứng sau ghép

Bước 6.1: Chăm sóc và theo dõi trong giai đoạn tích cực

- Chăm sóc người bệnh toàn diện:

+ Bác sĩ thăm khám lâm sàng hàng ngày, điều dưỡng chăm sóc và theo dõi người bệnh liên tục nhằm phát hiện sớm các biến chứng có thể xảy ra.

+ Theo dõi xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu hàng ngày, xét nghiệm đông máu, xét nghiệm sinh hóa máu: chức năng gan, thận, điện giải đồ, định lượng nồng độ thuốc... 2-3 ngày/lần hoặc tùy theo diễn biến lâm sàng.

+ Dự phòng và điều trị: nhiễm khuẩn, nhiễm nấm, virus, kí sinh trùng...

+ Truyền chế phẩm máu phù hợp: truyền khối hồng cầu và khối tiểu cầu gạn tách từ một người cho có chiều xạ, CMV, lọc BC khi có chỉ định (lưu ý trường hợp bất đồng nhóm máu).

+ Hỗ trợ dinh dưỡng, chăm sóc đường truyền tĩnh mạch trung tâm...

- Kết thúc chăm sóc toàn diện khi:

+ Người bệnh không có biểu hiện nhiễm trùng, không gặp biến chứng mức độ từ trung bình trở lên hoặc biến chứng có nguy cơ ảnh hưởng tới tính mạng.

+ Không phụ thuộc truyền máu ít nhất từ 2 tuần trở lên.

+ Số lượng tuyệt đối bạch cầu trung tính (ANC) > 1G/L.

Bước 6.2. Chăm sóc, theo dõi và kiểm soát biến chứng sớm sau ghép (theo Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh lý huyết học).

Bước 6.3. Chăm sóc, theo dõi và kiểm soát biến chứng muộn sau ghép (theo Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh lý huyết học).

Bước 7: Theo dõi và dự phòng tái phát sau ghép (theo Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh lý huyết học)

- Đánh giá tình trạng lui bệnh.

- Điều trị củng cố hoặc duy trì.

- Đánh giá đáp ứng điều trị định kì theo hướng dẫn.

Bước 8: Kết thúc quy trình khi bệnh tái phát hoặc tử vong

7. THEO DÕI VÀ XỬ LÝ TAI BIẾN

7.1. Theo dõi

- Theo dõi diễn biến lâm sàng và xét nghiệm trong quá trình điều kiện hóa.

- Theo dõi diễn biến lâm sàng trong quá trình truyền, tiêm tế bào gốc.

- Theo dõi sát diễn biến lâm sàng và xét nghiệm sau ghép cho đến khi mọc mảnh ghép.

- Theo dõi đáp ứng điều trị và các biến chứng muộn có thể xảy ra.

7.2. Xử lý tai biến

- Trong quá trình điều kiện hóa trước ghép tế bào gốc: giảm tế bào máu, nhiễm trùng,... Xử trí theo tình trạng cụ thể.

- Trong quá trình truyền tế bào gốc: thường không có tai biến; có thể có tăng huyết áp cần cho thuốc hạ áp, phản ứng rét run do dị ứng xử trí corticoid... (xử lý theo quy trình truyền tế bào gốc).

- Sau ghép:

+ Có thể có sốt nhiễm trùng, nhiễm nấm, CMV tái hoạt động cần điều trị.

Theo dõi sát để xử lý sớm biến chứng có thể xảy ra.

+ Biến chứng ghép sớm: ghép chống chủ cấp, VOD, hội chứng mọc mảnh ghép, bất đồng nhóm máu....

+ Biến chứng ghép muộn: ghép chống chủ mạn,....

(xử lý biến chứng theo hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh lý huyết học)

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh lý huyết học (Ban hành kèm theo quyết định số 1832/QĐ-BYT ngày 01/07/2022).
2. Haemopoietic Stem Cell Transplantation. The EBMT Handbook. 2014 Revised Edition, <http://clinicaltrials.gov/ct2/search>.
3. Hamadani M et al. Wow we approach patient evaluation for hematopoietic cell transplantation. Bone Marrow Transplant. 45:1259-1268, 2010.
4. Deeg HJ et al. Who is fit for allogeneic transplantation. Blood 116:4762-4770, 2010.

45. TIÊM TẾ BÀO GỐC MÁU DÂY RÓN QUA ĐƯỜNG TĨNH MẠCH

1. ĐẠI CƯƠNG

- Tiêm tế bào gốc qua đường tĩnh mạch là đưa một số lượng cần thiết tế bào gốc phù hợp vào cơ thể người bệnh qua tĩnh mạch bằng đường tiêm, là một bước trong quy trình ghép tế bào gốc điều trị. Tiêm tế bào gốc máu dây rốn thường được thực hiện với khối tế bào gốc nhỏ, tốc độ nhanh.

- Tế bào gốc máu dây rốn là tế bào gốc được thu thập từ máu dây rốn, bảo quản âm sâu (-196°C) bằng DMSO:

+ Liều tế bào có nhân (TNC): Ít nhất phải đạt $1,5-2 \times 10^7$ tế bào có nhân/kg cân nặng người bệnh;

+ Liều CD34+: ít nhất phải đạt 1×10^5 tế bào CD+34/kg cân nặng người bệnh.

2. CHỈ ĐỊNH

Ghép tế bào gốc đồng loài cho:

- Bệnh lý ác tính: rối loạn sinh tủy, lơ xê mi cấp, tăng sinh tủy...

- Bệnh lý lành tính như: suy tủy xương, đái huyết sắc tố kịch phát ban đêm, Thalassemia,...

3. CHUẨN BỊ

3.1. Người thực hiện:

- Bác sĩ có phạm vi hành nghề về huyết học: 01 người;

- Bác sĩ có phạm vi hành nghề về hồi sức: 01 người;

- Điều dưỡng: 02 người.

3.2. Khối tế bào gốc:

Khối tế bào gốc được bảo quản, lưu trữ, vận chuyển và giao nhận bởi đơn vị lưu trữ tế bào gốc. Chỉ rã đông khối tế bào gốc ngay trước khi tiêm.

3.3. Thuốc

- Methylprednisolon;

- Paracetamol;

- Diphenhydramine;

- Thuốc chống nôn, hạ huyết áp, lợi tiểu, PPI, diazepam;

- Dung dịch NaCl 0.9%;

- Hộp chống sốc;

- Dung dịch rửa tay, sát khuẩn da, niêm mạc.

3.4. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm 5ml; 10ml; 20ml;

- Kim lấy máu, kim luồn;

- Dây truyền máu;

- Bộ dụng cụ vô trùng: kéo, kẹp, 4 bát kim loại, khay quả đậu, khay đựng dụng cụ, toan vô khuẩn;

- Băng, gạc vô trùng, băng dính;

- Găng tay vô trùng;

- Dây garo, bút dạ, bút viết;
- Chai cất máu;
- Gọng hoặc mask thở oxy, điện cực điện tâm đồ;
- Khí oxy;
- Kim lấy mẫu chuyên dụng cho máu dây rốn.

3.5. Thiết bị

- Bộ đo huyết áp: huyết áp, ống nghe; máy điện tim;
- Dụng cụ rã đông khối tế bào gốc: bình ổn nhiệt;
- Monitor theo dõi chỉ số sinh tồn.

3.6. Người bệnh

Đủ điều kiện ghép, đã điều kiện hóa và được đưa vào phòng ghép.

3.7. Hồ sơ bệnh án

Người bệnh được làm hồ sơ vào viện điều trị nội trú, đã được làm các xét nghiệm theo yêu cầu trước ghép.

3.8. Thời gian thực hiện kỹ thuật: ước tính 12 giờ (theo dõi 30 phút/ lần trong 2 giờ đầu tiên; 1 giờ/ lần trong 2 giờ tiếp theo; 2 giờ/ lần đến kết thúc theo dõi 12h).

3.9. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng bệnh vô trùng dùng cho ghép tế bào gốc tối thiểu có:

- Hệ thống thông khí áp lực dương;
- Hệ thống lọc không khí;
- Hệ thống cung cấp oxy;
- Hệ thống theo dõi dấu hiệu sinh tồn;
- Hệ thống nước sinh hoạt đã được lọc vi khuẩn;
- Nhiệt kế và ẩm kế;
- Cân, dây đo;
- Hệ thống cảnh báo.

3.10. Kiểm tra hồ sơ

- Kiểm tra người bệnh: tên, tuổi, giới, số giường, chẩn đoán...
- Kiểm tra đơn vị tế bào gốc: đúng người bệnh, đúng đơn vị tế bào gốc, tính toàn vẹn của đơn vị, màu sắc và tính chất của khối tế bào gốc.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Bước 1: Chuẩn bị người bệnh

- Chào hỏi, giải thích cho người bệnh về quy trình trước khi thực hiện.
- Đánh giá tình trạng chung của người bệnh về thể chất và tinh thần trước khi thực hiện quy trình (các dấu hiệu sinh tồn trong giới hạn bình thường, tinh thần thoải mái, ổn định).

Bước 2: Chuẩn bị khối tế bào gốc

Kiểm tra, đối chiếu:

- Xác định danh tính người bệnh.
- Kiểm tra y lệnh điều trị.

- Đối chiếu thông tin trên đơn vị tế bào gốc đảm bảo đúng thông tin đơn vị máu dây rốn được chỉ định tiêm cho người bệnh trong hồ sơ bệnh án.
- Đánh giá đặc điểm bên ngoài khối tế bào gốc đảm bảo toàn vẹn không có bất thường.

Bước 3: Chuẩn bị vật tư, dụng cụ

- Dây tiêm/ truyền tế bào gốc; kim chuyên dụng hút tế bào gốc;
- Khay đựng dụng cụ;
- Băng dính, gạc, cồn.

Bước 4: Tiêm truyền thuốc dự phòng

- Pha thuốc truyền và thuốc tiêm bao gồm:
 - + Thuốc dự phòng dị ứng (kháng histamin, corticoid).
 - + Thuốc an thần (nếu cần).
- Đặt đường truyền tĩnh mạch: kim luôn 18 G.
- Truyền thuốc đã pha theo y lệnh.

Bước 5: Tiêm khối tế bào gốc

- Thông báo để điều dưỡng rửa đông túi tế bào gốc thứ nhất (nếu có nhiều túi) theo quy trình (thường tối đa 5 phút đến khi tan hết phần nước đá trong khối tế bào gốc).

- Điều dưỡng chuyển túi tế bào gốc đã rửa đông vào phòng người bệnh chậm nhất 1 phút.

- Sử dụng bơm tiêm 10 ml kết nối với kim chuyên dụng để hút tế bào gốc và tiêm nhanh vào đường ống thông tĩnh mạch đã đặt sẵn càng nhanh càng tốt (catheter, ống thông Hickman, PICC line, port...), sau khi hết số tế bào gốc trong túi, dùng dung dịch NaCl 9‰ để tráng túi và tiếp tục bơm vào tĩnh mạch của người bệnh (tổng số khoảng 7-10 lần bơm). Thời gian không quá 5 phút.

Bước 6: Theo dõi sau tiêm tế bào gốc

- Ghi phiếu theo dõi, phiếu chăm sóc: mạch, nhiệt độ, huyết áp, nhịp thở, SpO₂, các triệu chứng lâm sàng.
- Theo dõi người bệnh với các chỉ số sinh tồn, triệu chứng lâm sàng.
- Nếu người bệnh có các dấu hiệu bất thường phải xử lý theo hướng dẫn ở mục 6.

Bước 7: Tiêm túi tế bào gốc còn lại

Nếu người bệnh ổn định tiến hành truyền tiếp túi tế bào gốc thứ 2 (nếu có) các bước tương tự truyền túi tế bào gốc thứ nhất.

Bước 8: Kết thúc tiêm tế bào gốc

- Nếu người bệnh ổn định sau khi truyền tế bào gốc 30 phút, tiến hành thu dọn dụng cụ.

- Hướng dẫn người bệnh những điểm cần lưu ý: nằm nghỉ, ăn uống, theo dõi nhiệt độ, màu sắc nước tiểu.

- Theo dõi 30 phút/ lần trong 2 giờ đầu tiên và 1 giờ/ lần trong 2 giờ tiếp theo; 2 giờ/ lần đến kết thúc theo dõi 12 giờ.

- Phân loại rác.

5. KẾT THÚC QUY TRÌNH

- Đánh giá tình trạng người bệnh sau thực hiện kỹ thuật.
- Dẫn dò người bệnh theo dõi toàn trạng và báo cho bác sĩ khi có dấu hiệu cảnh bất thường.

- Hoàn thiện ghi chép hồ sơ bệnh án, lưu hồ sơ.
- Bàn giao người bệnh cho bác sĩ và điều dưỡng tiếp tục theo dõi.

6. THEO DÕI VÀ XỬ LÝ TAI BIẾN

- Cần phát hiện sớm các triệu chứng đe dọa tính mạng liên quan tim mạch, thần kinh, hô hấp.... Loại trừ nguyên nhân tai biến do các bệnh lý nền gây ra.

- Các tai biến thường gặp:

6.1. Nôn, buồn nôn

- Sử dụng thuốc chống nôn và/hoặc kết hợp với thuốc an thần.
- Theo dõi sát đến khi người bệnh ổn định.
- Nếu không ổn định sau 30 phút cần đánh giá lại và xử trí phù hợp.

6.2. Tăng huyết áp

- Đặt người bệnh nằm yên ở trạng thái tĩnh.
- Tùy diễn biến huyết áp có thể sử dụng thuốc hạ áp hỗ trợ nếu không có chống chỉ định (thường dùng nhóm chẹn kênh calci).
- Theo dõi sát đến khi người bệnh ổn định.
- Nếu không ổn định sau 30 phút - 1 giờ cần đánh giá lại và xử trí phù hợp.

6.3. Hạ huyết áp

- Đặt người bệnh nằm yên ở trạng thái tĩnh, đầu thấp.
- Truyền nhanh dịch NaCl 9‰ 500 ml trong vòng 15-30 phút.
- Theo dõi sát đến khi người bệnh ổn định.
- Nếu không ổn định sau 30 phút cần đánh giá lại và xử trí phù hợp.

6.4. Hồi hộp đánh trống ngực, nặng ngực

Kiểm tra nhịp tim, có thể do tăng nhịp tim (> 100 chu kỳ/phút) hoặc giảm nhịp tim (< 60 chu kỳ/phút):

- Đặt người bệnh nằm yên ở trạng thái tĩnh.
- Có thể thêm thuốc an thần, hoặc kháng histamin.
- Theo dõi sát đến khi người bệnh ổn định.
- Nếu không ổn định sau 30 phút cần đánh giá lại và xử trí phù hợp.

6.5. Đau bụng

- Đặt người bệnh nằm yên ở trạng thái tĩnh.
- Có thể thêm thuốc ức chế bơm proton, bọc niêm mạc dạ dày, trung hòa acid dạ dày, thuốc giảm co thắt (buscopan, atropin).
- Theo dõi sát đến khi người bệnh ổn định.
- Nếu không ổn định sau 30 phút cần đánh giá lại và xử trí phù hợp.

6.6. Ban ngứa trên da

- Có thể thêm kháng histamin, methylprednisolon.
- Theo dõi sát đến khi người bệnh ổn định.
- Nếu không ổn định sau 30 phút cần đánh giá lại và xử trí phù hợp.

6.7. Sốt

- Do nhiễm trùng hoặc bạch cầu trong khối tế bào gốc: thường sốt cao, có thể có sốc nhiễm khuẩn; cần xử trí khẩn trương: cấy bệnh phẩm lấy từ túi tế bào gốc để tìm nguyên nhân và điều trị kháng sinh phổ rộng ngay từ đầu cho đến khi cấy máu âm tính hay cho đến khi xác định nguyên nhân gây bệnh.

- Do các cytokin được tiết ra trong quá trình thu gom, xử lý và bảo quản: sốt mức độ nhẹ không kèm rét run, huyết áp tụt hay những triệu chứng gợi ý nhiễm trùng. Nên truyền hết khối tế bào gốc, xử trí hạ sốt.

6.8. Quá tải dịch

Tránh biến chứng quá tải dịch bằng cách truyền chậm và cho thêm lợi tiểu.

6.9. Độc chất bảo quản tế bào gốc (DMSO)

- Biểu hiện: nôn, buồn nôn, ban đỏ ở da, mẩn ngứa, đau đầu, chóng mặt, thay đổi huyết áp và nhịp tim; xử lý bằng cách truyền chậm tế bào gốc. Nếu huyết áp tụt cần phải tăng truyền dịch muối với tốc độ nhanh. Nếu sau 20 phút triệu chứng còn nặng và không cải thiện cân nhắc cho dopamine. Nếu triệu chứng còn nặng phải loại chất bảo quản DMSO khỏi khối tế bào gốc.

- Có thể có loạn nhịp tim như rung nhĩ, nhịp tim chậm; có thể biểu hiện huyết áp tụt hoặc huyết áp tăng và suy thận. Tất cả các bệnh phải được theo dõi chức năng tim trong quá trình truyền tế bào gốc.

6.10. Các biểu hiện khác

Xử trí tùy theo diễn biến lâm sàng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hướng dẫn quy trình kỹ thuật lâm sàng huyết học (Ban hành kèm theo quyết định số 1290/QĐ-HHTM ngày 30 tháng 8 năm 2017)
2. Quy trình truyền tế bào gốc và theo dõi người bệnh sau truyền (ban hành theo quyết định QT.H8.01.01 ngày 30/8/2021)
3. Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh lý huyết học (Ban hành kèm theo quyết định số 1832/QĐ-BYT ngày 01/07/2022)
4. Annette Sauer – Heilborn, Diane Kadidlo, and Jeffrey McCullough (2004), “Patient care during infusion of hematopoietic progenitor cells”, *Transfusion*, Volume 44, 907 – 916.
5. EBMT - The European blood and marrow transplantation textbook for nurses (2018), Chapter 6, 95.