

Số: 47 /CT-BVNTW

Hà Nội, ngày 02 tháng 06 năm 2025

CHỈ THỊ

V/v: Thực hiện Quy trình kỹ thuật và quy trình quản lý tại Bệnh viện Nhi Trung ương

Để thống nhất việc thực hiện một số quy trình kỹ thuật và quy trình quản lý thuộc Trung tâm Tế bào gốc - Bệnh viện Nhi Trung ương, Bệnh viện đã xây dựng và ban hành một số quy trình sau:

1. Quy trình kỹ thuật thu thập máu dây rốn để phân lập tế bào gốc (mã: QTKT.A46.1.2);
2. Quy trình kỹ thuật xử lý và lưu trữ tế bào gốc máu dây rốn (mã: QTKT.A46.2.2);
3. Quy trình kỹ thuật phân lập tế bào gốc bằng hệ thống máy tự động COM.TEC (mã: QTKT.A46.3.2);
4. Quy trình kỹ thuật thu thập dịch tủy xương để phân lập tế bào gốc (mã: QTKT.A46.4.2);
5. Quy trình kỹ thuật xử lý tế bào gốc bằng phương pháp thủ công bất đồng nhóm máu ABO (mã: QTKT.A46.5.2);
6. Quy trình kỹ thuật xử lý tế bào gốc bằng phương pháp thủ công phù hợp nhóm máu ABO (mã: QTKT.A46.6.2);
7. Quy trình xét nghiệm đếm tế bào gốc CD34 bằng kỹ thuật Flow cytometry trên máy BD FACSCanto II (mã: QTXN.A42.2.1);
8. Quy trình xét nghiệm đếm tế bào gốc CD34 bằng kỹ thuật Flow cytometry trên máy Navios EX (mã: QTXN.A42.21.1);
9. Quy trình xét nghiệm đếm tế bào gốc trung mô bằng kỹ thuật Flow cytometry (mã: QTXN.A42.20.1)
10. Quy trình kỹ thuật giảm thể tích khối tế bào gốc máu ngoại vi để bảo quản lạnh (mã: QTKT.A46.7.2);
11. Quy trình kỹ thuật đông lạnh khối tế bào gốc bằng hệ thống hạ nhiệt (mã: QTKT.A46.8.2);
12. Quy trình kỹ thuật bảo quản khối tế bào gốc đông lạnh bằng bình chứa Nitơ lỏng (mã: QTKT.A46.9.2);



13. Quy trình kỹ thuật rã đông khối tế bào gốc đông lạnh bằng bình cách thủy (mã: QTKT.A46.10.2);

14. Quy trình chọn lọc các tế bào CD34+ bằng hệ thống CliniMACS (mã: QTKT.A46.11.2);

15. Quy trình loại tế bào CD3+ và tế bào CD45RA+ bằng máy CliniMACS (mã: QTKT.A46.13.2);

16. Quy trình kỹ thuật đông lạnh khối tế bào gốc bằng phương pháp thủ công (mã: QTKT.A46.16.2);

17. Quy trình vận chuyển khối TBG đến đơn vị sử dụng (mã: QTKT.A46.17.2);

18. Quy trình quản lý xuất khối Tế bào gốc lưu trữ (mã: QTQL.A46.3.1);

(xin xem file đính kèm)

Ban Giám đốc yêu cầu các đơn vị trong Bệnh viện thực hiện đúng các Quy trình kỹ thuật trên.

Chi thị này có hiệu lực kể từ ngày ký.

Nơi nhận:

- Tất cả khoa/phòng/Trung tâm
- Lưu: V.thư; P.KHTH.(02)



BỘ Y TẾ
BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG



QUY TRÌNH KỸ THUẬT THU THẬP
MÁU DÂY RÓN ĐỂ PHÂN LẬP TẾ BÀO GỐC
QTKT.A46.1.2

Phiên bản: 2.0

Ngày hiệu lực: 02/06/2025

	Họ tên	Chức vụ	Chữ ký
Soạn thảo	Hà Thị Phương	Nhân viên Trung tâm Tế bào gốc	
Xem xét	Nguyễn Thanh Bình	Phụ trách Trung tâm Tế bào gốc	
Phê duyệt	Cao Việt Tùng	Phó Giám đốc Bệnh viện	

Hà Nội – 2025



	BỘ Y TẾ	Trang 2 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.1.2
	Quy trình kỹ thuật thu thập máu dây rốn để phân lập tế bào gốc	02/06/2025

Lịch sử thay đổi tài liệu

Phiên bản	Ngày hiệu lực	Sửa đổi
1.0	01/06/2023	Phiên bản mới
1.0	01/01/2024	Soát xét định kỳ không thay đổi nội dung
2.0	02/06/2025	Thay đổi mã tài liệu

Phân phối

Trung tâm Tế bào gốc: 01 bản

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 3 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.1.2
	Quy trình kỹ thuật thu thập máu dây rốn để phân lập tế bào gốc	02/06/2025

1. MỤC ĐÍCH

- Thu thập máu từ dây rốn của trẻ sơ sinh ngay sau khi dây rốn được kẹp và cắt rời khỏi cơ thể trẻ, đảm bảo lấy được tối đa thể tích, số lượng tế bào và vô khuẩn để có thể tiếp tục xử lý và phân lập tế bào gốc.

2. PHẠM VI ÁP DỤNG

- Áp dụng tại Trung tâm Tế bào gốc - Bệnh viện Nhi Trung ương.

3. TRÁCH NHIỆM

- Tất cả nhân viên Trung tâm Tế bào gốc đã được đào tạo có trách nhiệm tuân thủ đúng quy trình khi thực hiện và đề xuất nhu cầu xây dựng mới, sửa đổi/cập nhật, cải tiến và đảm bảo tính hiệu lực của quy trình này.

- Giám đốc/Phó giám đốc Bệnh viện Nhi Trung ương có trách nhiệm phê duyệt quy trình.

4. NHỮNG NGƯỜI QUẢN LÝ, GIÁM SÁT TUÂN THỦ QUY TRÌNH NÀY

- Lãnh đạo Trung tâm Tế bào gốc, kỹ thuật y trường, nhân viên quản lý chất lượng, nhân viên quản lý kỹ thuật chịu trách nhiệm quản lý, giám sát sự tuân thủ quy trình kỹ thuật của nhân viên.

- Nhân viên kiểm soát tài liệu chịu trách nhiệm phân phối tài liệu phiên bản mới nhất, thu hồi phiên bản cũ.

- Tất cả nhân viên Trung tâm Tế bào gốc đã được đào tạo có trách nhiệm áp dụng, tuân thủ việc thực hiện và đề xuất cải tiến quy trình.

5. VIẾT TẮT

TBG: Tế bào gốc

MDR (Umbilical Cord Blood): Máu dây rốn

TNC (Total Nucleated Cell): Tổng số tế bào có nhân

WBC (White Blood Cell): Tế bào bạch cầu

NRBC (Nucleated Red Blood Cell): Tế bào hồng cầu có nhân

KTV: Kỹ thuật viên

QLCL: Quản lý chất lượng

QLKT: Quản lý kỹ thuật

6. NỘI DUNG

6.1. Đại cương

6.1.1. Định nghĩa

- **Dây rốn:** là phần nối từ thai nhi đến bánh rau có chức năng vận chuyển, trao đổi chất dinh dưỡng giữa mẹ và con trong quá trình mang thai.

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 4 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.1.2
	Quy trình kỹ thuật thu thập máu dây rốn để phân lập tế bào gốc	02/06/2025

- **Máu dây rốn:** là máu nằm trong mạch máu của dây rốn và bánh rau, cũng là máu của chính trẻ sơ sinh tồn dư sau khi kẹp và cắt dây rốn trong quá trình sinh đẻ.

- **Túi thu thập MDR:** là túi chuyên dụng cho thu thập máu dây rốn hoặc túi lấy máu đơn loại 250 ml chứa chất chống đông CPD-A1.

6.1.2. Nguyên lý kỹ thuật

Kỹ thuật thu thập MDR: trong dây rốn, bánh rau còn tồn tại một thể tích máu nhất định của trẻ sơ sinh. Sử dụng túi lấy máu chuyên dụng thu thập tối đa thể tích máu trong dây rốn. Kỹ thuật phải được thực hiện đảm bảo vô trùng ở tất cả các bước.

Quy trình này được thực hiện sau khi em bé được sinh ra an toàn. Máu còn lại trong rau thai/ dây rốn không còn có tác dụng gì đối với trẻ sơ sinh và được coi là chất thải sinh học.

6.2. Chỉ định

Tất cả các trường hợp sản phụ có nhu cầu thu thập máu dây rốn của con mình, đã được tư vấn và hướng dẫn đầy đủ về lợi ích, mục đích, các quy trình sẽ thực hiện; đã có đầy đủ kết quả sàng lọc đánh giá sức khỏe và hoàn thiện phí dịch vụ theo yêu cầu của bệnh viện.

6.3. Chống chỉ định

- Các xét nghiệm sàng lọc mẹ không đạt;
- Tuổi thai < 35 tuần;
- Tình trạng sản khoa của người mẹ không cho phép thu thập máu dây rốn (theo chỉ định của bác sĩ chuyên khoa sản).
- Sản phụ và gia đình không đồng ý thu thập máu dây rốn.

6.4. Thận trọng

- Mẹ sốt trên 38°C trong lúc chuyển dạ;
- Chuyển dạ kéo dài trên 24 giờ;
- Thai sinh non ≤ 37 tuần và cân nặng dưới 2500 gram.
- *Lưu ý:* Toàn bộ các trường hợp thận trọng đều phải được ghi cụ thể, chính xác trên phiếu thu thập mẫu máu dây rốn (BM1/QTKT.A46.1) và có xác nhận của sản phụ/ người nhà sản phụ trên phiếu xác nhận thu thập mẫu máu dây rốn (BM2/QTKT.A46.1).

- Máu dây rốn cũng được coi là mẫu sinh học có nguy cơ lây nhiễm, cần có các biện pháp an toàn khi tiếp xúc như luôn đeo găng tay khi thao tác với mẫu.

6.5. Chuẩn bị

6.5.1. Người thực hiện

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 5 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.1.2
	Quy trình kỹ thuật thu thập mẫu dây rốn để phân lập tế bào gốc	02/06/2025

a) Nhân lực trực tiếp: 01 nhân viên (bác sĩ, điều dưỡng, KTV đã được đào tạo).

b) Nhân lực hỗ trợ (nếu có): 01 nhân viên (bác sĩ, điều dưỡng, KTV).

6.5.2. Thuốc

Không áp dụng

6.5.3. Vật tư

STT	Danh mục	Đơn vị	Số lượng	Ghi chú
1	Túi thu thập MDR/ túi lấy máu đơn 250 ml	Túi	1-2	Sử dụng thêm túi thứ 2 khi cần lấy MDR sau sổ rau
2	Toan vô khuẩn/ khăn đa dụng vô khuẩn	Cái	1	
3	Toan vô khuẩn/ khăn đa dụng vô khuẩn có lỗ đường kính khoảng 5 cm	Cái	1	Sử dụng trong trường hợp thu thập MDR sau sổ rau
4	Áo phẫu thuật	Bộ	1	
5	Gạc vô khuẩn	Miếng	10	
6	Mũ giấy	Cái	1	
7	Khẩu trang	Cái	1	
8	Bao giấy	Đôi	1	
9	Găng phẫu thuật	Đôi	1-2	
10	Găng tay y tế	Đôi	1	
11	Tem, nhãn dán túi máu	Cái	1	
12	Cồn 70%	Lọ	1	
13	Betadine (cồn iod)	Lọ	1	

Lưu ý:

- Các vật tư từ mục 1-9 vô trùng, hạn sử dụng trên bao bì sản phẩm. Các vật tư và hóa chất không dùng khi đã hết hạn sử dụng.

- Mục 1: Túi thu thập MDR (chứa chất chống đông CPD-A1) khi chưa sử dụng được bảo quản:

+ Nhiệt độ 1 – 35°C, độ ẩm dưới 75%, tránh nơi có nhiệt độ cao và trực tiếp dưới ánh nắng mặt trời.

+ Không sử dụng trong trường hợp túi bị hỏng, rò rỉ chất lỏng, dịch bên trong túi bị vẩn đục hoặc có chứa vật thể hoặc túi bảo vệ bên ngoài có nghi ngờ hư hại.

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 6 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.1.2
	Quy trình kỹ thuật thu thập mẫu dây rốn để phân lập tế bào gốc	02/06/2025

6.5.4. Trang thiết bị

- 01 Xe tiêm/ xe thu thập có giá treo: sử dụng trong trường hợp thu thập sau mổ rau;
- 01 Kim vuốt dây túi máu (nếu có);

6.5.5. Người bệnh

Chuẩn bị sản phụ:

- Sản phụ được tư vấn, giải thích về kỹ thuật trước khi thực hiện: mục đích, các bước tiến hành, nguy cơ có thể xảy ra...
- Hoàn thiện hợp đồng và phí dịch vụ lưu trữ trước khi tiến hành thu thập mẫu MDR.
- Trong trường hợp các hợp thân trọng ở trên và/hoặc sản phụ đăng ký dịch vụ lưu trữ máu dây rốn ngay thời điểm chuyển dạ (đối với sinh thường) hay thời điểm sinh (đối với sinh mổ), đã được giải thích về những nguy cơ và rủi ro nhưng vẫn có nhu cầu lưu trữ MDR, cần phải ký cam kết giữa hai bên (sản phụ và bên cung cấp dịch vụ lưu trữ MDR).
- Thông báo cho bác sĩ/ hộ sinh của bệnh viện phụ sản về việc thu thập MDR.
- Đối chiếu thông tin sản phụ với hồ sơ thu thập MDR.

6.5.6. Hồ sơ bệnh án

Chuẩn bị phiếu thu thập và xác nhận thu thập MDR mã tài liệu BM1/QTKT.A46.1 và BM2/QTKT.A46.1

6.5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện quy trình: 1 giờ.
- Thời gian thường trực: Nhân viên được phân công thu thập luôn thường trực kể từ khi sản phụ có dấu hiệu chuyển dạ hoặc có mặt tại phòng mổ/ phòng sinh trước ít nhất 1 giờ để thu thập mẫu MDR kịp thời.

6.5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng sinh đẻ hoặc phòng mổ tại các bệnh viện phụ sản hoặc khoa sản của các bệnh viện đa khoa.

6.5.9. Kiểm tra hồ sơ

- Kiểm tra, đối chiếu thông tin sản phụ chuẩn bị thu thập MDR với người nhà sản phụ, hồ sơ/ bệnh án sinh (nếu có) và thông tin đăng ký thu thập MDR.

6.6. Tiến hành quy trình kỹ thuật

6.6.1. Trước khi vào phòng đẻ/ phòng mổ

- Rửa tay thường quy, mang mũ, khẩu trang, bao giấy, thay quần áo công tác đúng quy trình vào phòng đẻ/ phòng mổ;

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

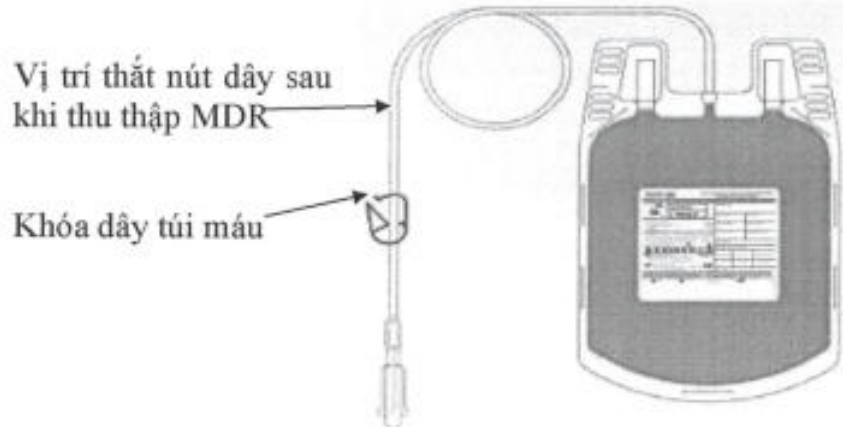
	BỘ Y TẾ	Trang 7 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.1.2
	Quy trình kỹ thuật thu thập máu dây rốn để phân lập tế bào gốc	02/06/2025

- Sau khi vào phòng đẻ/ phòng mổ:
- + Chuẩn bị bộ dụng cụ thu thập trên bàn: trải toan/khăn vô khuẩn, túi lấy máu vô trùng, gạc vô trùng thấm betadin. Tất cả các thao tác đảm bảo vô trùng;
- + Rửa tay ngoại khoa theo đúng quy trình;
- + Mặc áo phẫu thuật, đeo găng tay vô khuẩn đúng quy định.
- Có 2 kỹ thuật thu thập: trước sổ rau và sau sổ rau. Kỹ thuật thu thập trước sổ rau thường được sử dụng để thu được tối đa thể tích máu trong dây rốn. Cần nhắc thu thập sau sổ rau với trường hợp có tai biến sản khoa hoặc theo yêu cầu của bác sĩ chuyên khoa sản đối với sản phụ có bệnh lý không cho phép thu thập máu dây rốn trước sổ rau.
- Quá trình thu thập MDR diễn ra trong 10 phút để đảm bảo không khởi phát quá trình đông máu.

6.6.2. Kỹ thuật thu thập trước sổ rau

Bước 1	- Ngay sau khi em bé ra khỏi tử cung của mẹ, bác sĩ hoặc nữ hộ sinh kẹp và cắt dây rốn. Nhân viên thu thập xác định vị trí lấy máu tại tĩnh mạch rốn gần phía kẹp. - Sát trùng dây rốn bằng gạc thấm cồn iod từ vị trí gần kẹp rốn vuốt qua vị trí lấy máu về phía bánh rau 3 lần đối với sinh thường, 1 lần với sinh mổ.
Bước 2	- Mở nắp kim, luồn kim vào tĩnh mạch rốn góc 30-45° tại vị trí đã xác định. - Hạ vị trí lấy máu thấp hơn bánh rau và túi máu thấp hơn vị trí lấy máu. Nhờ tác dụng của trọng lực, máu sẽ chảy vào túi lấy máu cho đến khi dây rốn màu trắng và không còn máu trong dây rốn, lắc đều túi máu dây rốn để trộn máu với chất chống đông trong túi. - Túi máu có thể được đặt trên một bề mặt sạch hoặc tấm lót vô khuẩn dùng một lần (có thể dùng toan sạch trong bộ áo phẫu thuật).
Bước 3	- Rút kim lấy máu ra khỏi tĩnh mạch khi máu trong tĩnh mạch đã được thu thập hết. - Bấm khóa dây túi máu, trượt dụng cụ bảo hộ kim cho đến khi bao bọc hết đầu kim và kim được khóa đúng vị trí (đối với túi thu thập MDR chuyên dụng có khóa bảo vệ đầu kim) hoặc đóng chặt nắp kim đối với túi lấy máu đơn không có khóa bảo vệ đầu kim.
Bước 4	- Dùng kim vuốt (nếu có) để vuốt hết máu trong dây vào túi, nhẹ nhàng trộn đều máu với chất chống đông trong túi. Nếu không có kim vuốt có thể mở hé nắp kim để máu từ dây chảy hết về túi, đóng nắp kim, sau đó trộn đều máu trong túi.

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	Kiểm tra lại khóa dây túi máu, thắt chặt nút dây ở phía gần đầu kim lấy máu (hình vẽ bên dưới) để đảm bảo chắc chắn máu không bị chảy ra ngoài. 
Bước 5	Nếu rau bong non và thể tích MDR thu thập trước sổ rau thấp thì có thể tiến hành thu thập thêm MDR sau sổ rau vào túi lấy máu mới và phải đảm bảo vô khuẩn.
Bước 6	- Ghi thông tin sản phụ lên túi thu thập, dán tem nhãn và điền thông tin vào nhãn túi thu thập. - Hoàn thiện phiếu thu thập và xác nhận thu thập MDR theo biểu mẫu BM1/QTKT.A46.1 và BM2/QTKT.A46.1
Bước 7	Gói túi máu vào toan/khăn hoặc túi zip sạch. Giữ túi máu ở ngăn mát tủ lạnh 2-8°C hoặc nhiệt độ phòng (từ 15 – 25°C), để mẫu vào hộp vận chuyển, vận chuyển mẫu về phòng xử lý càng sớm càng tốt và tối đa 24 giờ từ khi thu thập.

6.6.3. Kỹ thuật thu thập sau sổ rau

Bước 1	Ngay sau khi sổ rau, đặt bánh rau, dây rốn vào khay vô trùng và chuyển ngay về xe thu thập.
Bước 2	- Bánh rau được đặt vào tấm toan/ khăn vô khuẩn, luồn dây rốn qua lỗ tròn giữa miếng toan, gói bánh rau lại thành túi treo lên giá inox đã sát khuẩn. - Sát trùng vị trí lấy máu và dây rốn bằng betadine (cồn iod) như quy trình thu thập trước sổ rau.
Bước 3	Thực hiện quy trình giống thu thập MDR trước sổ rau từ bước 2 đến bước 7 và bỏ qua bước 5.

- **Lưu ý:** Hạn chế đâm kim nhiều lần/ nhiều vị trí trên dây rốn. Tuy nhiên trường hợp dây rốn xẹp nhanh hoặc có rò rỉ tại vị trí đâm kim thì có thể kẹp lên phía trên vị trí đâm kim cũ bằng kẹp vô khuẩn và thực hiện lấy máu tại vị trí khác phía trên vị trí đã kẹp.

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 9 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.1.2
	Quy trình kỹ thuật thu thập mẫu dây rốn để phân lập tế bào gốc	02/06/2025

- Đối với trường hợp đa thai: Mỗi KTV phụ trách thu thập mẫu MDR từ một bánh rau, để thu mẫu kịp thời và hiệu quả. Các mẫu MDR được thu thập độc lập như đơn thai.

- Xử lý rác thải y tế theo quy định.

6.6.4. Kết thúc quy trình

a) Hoàn thiện hồ sơ

- Ghi lại các bất thường khi thu thập MDR, các dị tật của em bé sau sinh và bất thường dây rốn (nếu có) vào phiếu thu thập MDR BM1/QTKT.A46.1, lưu hồ sơ;

- Xin chữ ký xác nhận thu thập từ người nhà sản phụ trên phiếu xác nhận thu thập mã tài liệu BM2/QTKT.A46.1, lưu hồ sơ;

- Đối với các đơn vị hợp tác thu thập MDR cần cân khối lượng và tính thể tích sơ bộ túi MDR theo công thức:

$$V(\text{MDR}) = \frac{\text{Khối lượng túi máu sau thu thập} - \text{Khối lượng túi ban đầu đã bao gồm chất chống đông}}{1.05} (*)$$

(khối lượng túi ban đầu đã bao gồm chất chống đông đối với túi teruflex là 70 gr; túi Wego là 81 gr)

- Trường hợp mẫu thu thập được có thể tích thấp < 60 ml ghi rõ lý do vào phiếu thu thập MDR mã tài liệu BM1/QTKT.A46.1, KTV thu thập mẫu (nhân viên thu thập mẫu của bệnh viện Nhi Trung Ương hoặc bệnh viện hợp tác) trao đổi trực tiếp với người nhà sản phụ về các nguyên nhân ảnh hưởng trực tiếp, sau đó lấy xác nhận của người nhà trên phiếu xác nhận thu thập mã tài liệu BM2/QTKT.A46.1;

- Hoàn thiện phiếu tiến trình thu thập và xử lý MDR mã tài liệu BM3/QTKT.A46.1;

b) Đánh giá mẫu sau thu thập

- Ngay sau khi mẫu được vận chuyển về phòng xử lý cần đánh giá thể tích theo công thức (*), đánh giá tình trạng và thông tin trên mẫu. Nếu mẫu có thể tích 30-60ml cần rút mẫu đếm công thức máu và tính TNC như sau:

+ Dùng kim vuốt hết máu trong dây từ vị trí gần sát túi máu dây rốn đến phía kim lấy máu khoảng 25cm, hàn cắt bỏ phần dây chứa máu. Trộn đều mẫu trong túi.

+ Dùng kim vuốt dây và trộn 10 lần. Hàn cắt 1 đoạn dây 8-10cm chứa mẫu. Cắt dây, chuyển mẫu vào ống, ghi thông tin/ dán code lên ống chứa mẫu, đếm công thức máu. Tính TNC theo công thức:

$$\text{TNC}[10^8] = \frac{(WBC + NRBC) * V(\text{MDR})}{100}$$

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 10 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.1.2
	Quy trình kỹ thuật thu thập máu dây rốn để phân lập tế bào gốc	02/06/2025

(Thể tích MDR đã bao gồm chất chống đông, đơn vị mL; WBC, NRBC đơn vị $10^6/\text{mL}$)

- **Mẫu đạt yêu cầu khi:**

- + Mẫu không nhiễm khuẩn;
- + Không có cục máu đông;
- + Túi thu thập đầy đủ nhãn, thông tin;
- + Túi máu không rách, vỡ hoặc màu sắc bất thường;
- + Mẫu MDR được xử lý và lưu trữ khi $V \geq 30 \text{ ml}$ và $\text{TNC} \geq 5,0 \times 10^8$ tế bào;

Lưu ý: Đối với mẫu thiếu thông tin, yêu cầu nhân viên thu thập bổ sung đầy đủ thông tin theo yêu cầu trước khi nhận mẫu. Đối với mẫu có cục máu đông, cần phải loại bỏ cục máu đông trước khi xử lý mẫu.

- **Mẫu không đạt yêu cầu khi:**

- + Nhiễm khuẩn trong quá trình thu thập máu dây rốn.
- + Mẫu có màu sắc, vật thể bất thường.
- + Túi máu không nguyên vẹn, rò rỉ, thiếu thông tin cần thiết.
- + Thể tích túi MDR $< 30 \text{ ml}$.
- + $\text{TNC} < 5,0 \times 10^8$ tế bào.

c) *Báo cáo số liệu và tư vấn khách hàng*

- Nhân viên đánh giá mẫu MDR sau thu thập có trách nhiệm báo cáo kết quả đánh giá về thể tích và TNC của mẫu có $\text{TNC} < 7 \times 10^8$ tế bào cho nhân viên tư vấn.

+ Nếu TNC trong khoảng 5 đến 7×10^8 tế bào và thể tích $< 60 \text{ ml}$, nhân viên tư vấn cần thông báo đến khách hàng về thể tích và số lượng TNC của mẫu.

+ Nếu $\text{TNC} < 5 \times 10^8$ tế bào, nhân viên tư vấn thông báo đến khách hàng mẫu không đạt điều kiện lưu trữ.

- Mẫu MDR có TNC thấp $< 5 \times 10^8$ tế bào vẫn được xử lý và lưu trữ khi khách hàng đã được tư vấn đầy đủ về tình trạng mẫu mà vẫn có nhu cầu lưu và hoàn thành nghĩa vụ tài chính đầy đủ.

- Toàn bộ các trường hợp trao đổi với khách hàng phải lưu lại văn bản được xác nhận từ gia đình (qua Zalo) hoặc file ghi âm.

- Toàn bộ các trường hợp mẫu không lưu trữ được do thể tích và TNC thấp $< 5 \times 10^8$ tế bào phải được báo cáo lãnh đạo Trung tâm, tổng kết, xem xét và đánh giá định kỳ.

d) *Bàn giao và lưu hồ sơ*

- Báo cáo kết quả thu thập mẫu MDR và bàn giao mẫu trên nhóm zalo “Thu thập và xử lý MDR”

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 11 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.1.2
	Quy trình kỹ thuật thu thập máu dây rốn để phân lập tế bào gốc	02/06/2025

- Lưu hồ sơ các biểu mẫu khi đã hoàn thiện.

6.7. Theo dõi và xử trí tai biến

6.7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

Tai biến thường liên quan đến kỹ thuật thu thập, ảnh hưởng đến thể tích mẫu thu được, không có tai biến liên quan đến sản phụ và em bé lưu MDR, các tai biến có thể gặp:

- Máu chảy chậm, nguy cơ đông dây: kiểm tra kim đã vào đúng tĩnh mạch rốn chưa; vị trí kim, dây túi máu và túi máu tạo thành đường thẳng từ trên xuống dưới thuận lợi cho dòng chảy;

- Đâm xuyên kim qua dây rốn khiến máu bị rò rỉ ra ngoài: dùng pank/kẹp vô khuẩn trong bộ dụng cụ mổ/ đỡ để dễ kẹp phía trên vị trí đâm xuyên, sát khuẩn lại dây rốn bằng betadin (cồn iod) và tiến hành thu thập MDR theo các bước trên.

- Kim đâm vào tay KTV thu thập: xử trí phơi nhiễm và tai nạn nghề nghiệp theo hướng dẫn ở “Sổ tay hướng dẫn an toàn phòng xét nghiệm” mã tài liệu ST.XN.2.6

- Toàn bộ các tai biến (nếu có) phải được ghi lại vào phiếu tiến trình mã tài liệu BM3/QTKT.A46.1

6.7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

Không áp dụng

6.7.3. Biến chứng muộn

Không áp dụng

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Huyết học-Truyền máu-Miễn dịch-Di truyền-Sinh học phân tử, số 2017/QĐ-BYT ngày 09/06/2014, trang 323-325.
2. Hal E. Broxmeyer, 2003 “*Cord Blood Biology, Immunology, Banking, and Clinical Transplantation*”, AABB Press.
3. N M-Reboredo et al., 2000, “Collection, processing and cryopreservation of umbilical cord blood for unrelated transplantation”, *Bone Marrow Transplantation*, 26: 1263-1270.
4. B Anthony Armson et al., “Umbilical Cord Blood: Counselling, Collection, and Banking”, *J Obstet Gynaecol Can*, 2015 Sep; 37(9), 832-844.
5. <https://terumo.com.vn/public/upload/files/hướng dẫn sử dụng túi máu .pdf>

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.



PHIẾU THU THẬP MẪU MÁU DÂY RÓN
(Mã hồ sơ:...../MDR)

I. Thông tin chung

Họ và tên mẹ:; Ngày sinh:.....

Số điện thoại của mẹ/bố: (NR).....; (ĐD).....

Địa điểm thu thập:

Ngày giờ thu thập:giờ.....phút, ngàythángnăm.....

II. Thông tin thu thập

I.1. Tình trạng sản phụ					
Lần sinh		Tình trạng mang thai		Hình thức sinh	
☐	Lần thứ nhất	☐	Thai một	☐	Sinh thường
☐	Lần thứ 2 trở đi	☐	Thai đôi	☐	Sinh mổ
Thời gian chuyển dạ		Thời gian vỡ ối trước sinh		Tình trạng sốt	
☐	> 24 giờ	☐	> 24 giờ	☐	Có
☐	< 24 giờ	☐	< 24 giờ	☐	Không
II.2. Tình trạng em bé lúc sinh					
Tuổi thai:.....tuần			Cân nặng em bé:.....gr		
Dị tật thai nhi:			Giới tính:		
☐	Không		☐	Không	
☐	Có (.....)		☐	Có (.....)	
II.3. Đặc điểm mẫu MDR thu thập được					
Kỹ thuật thu thập		Thể tích MDR thu thập được:.....ml			
☐	Trước sổ rau	Li do thể tích thu thập thấp < 60 ml (nếu có):			
☐	Sau sổ rau				
Hãng sản xuất túi thu thập máu dây rốn:.....		Lot:		HSD:	

Ngày tháng năm 20...

Người thu thập

(Ký, ghi rõ họ tên)



PHIẾU XÁC NHẬN THU THẬP MẪU MÁU DÂY RÓN
(Mã hồ sơ:...../MDR)

Họ và tên sản phụ:.....; Ngày sinh:.....

Số điện thoại của mẹ/bố: (NR).....: (ĐD)

Địa điểm thu thập:.....

Ngày giờ thu thập:.....giờ.....phút, ngày.....tháng.....năm.....

Chúng tôi xác nhận đã thu thập mẫu máu dây rốn của em bé con sản phụ nói trên và sẽ tiến hành xử lý, đánh giá, lưu trữ. Kết quả và thông tin mẫu máu dây rốn sẽ được thông báo cho sản phụ và gia đình trong vòng 1 tháng kể từ ngày thu thập.

Trao đổi thông tin trước và sau thu thập (nếu có):

.....
.....
.....
.....

	Ngày	tháng	năm 20..
Đại diện gia đình	Người hỗ trợ thu thập	Người thu thập	
(Ký, ghi rõ họ tên)	(Ký, ghi rõ họ tên)	(Ký, ghi rõ họ tên)	



TIẾN TRÌNH THU THẬP, XỬ LÝ, LƯU TRỮ MÁU DÂY RÓN MÃ MÁU DÂY RÓN:.....

Họ và tên sản phụ:.....Ngày sinh sản phụ:.....

Địa chỉ:.....

Nơi thu thập:.....

Thời gian thu thập:.....Thời gian xử lý:.....

STT	Quá trình (Mỗi quá trình ghi rõ tình trạng: Bình thường hoặc có sự cố xảy ra. Khi xảy ra sự cố cần ký xác nhận của Lãnh đạo trung tâm)	Người thực hiện	Người xác nhận thông tin
1	Quá trình trước thu thập		
	Ngày....tháng...năm....:		
2	Quá trình thu thập/ thu nhận MDR		
	Ngày....tháng...năm....:		
3	Quá trình xử lý, lưu trữ		
	Ngày....tháng...năm....:		
4	Hoàn thiện hồ sơ		
	Ngày....tháng...năm....:		
5	Quá trình lưu trữ		
	Ngày....tháng...năm....:		

BỘ Y TẾ
BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG



QUY TRÌNH KỸ THUẬT XỬ LÝ VÀ LƯU TRỮ
TẾ BÀO GỐC MÁU DÂY RỐN
QTKT.A46.2.2

Phiên bản: 2.0

Ngày hiệu lực: 02/06/2025

	Họ tên	Chức vụ	Chữ ký
Soạn thảo	Hà Thị Phương	Nhân viên Trung tâm Tế bào gốc	
Xem xét	Nguyễn Thanh Bình	Phụ trách Trung tâm Tế bào gốc	
Phê duyệt	Cao Việt Tùng	Phó Giám đốc Bệnh viện	

Hà Nội – 2025

	BỘ Y TẾ	Trang 2 trên 14
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.2.2
	Quy trình kỹ thuật xử lý và lưu trữ tế bào gốc máu dây rốn	02/06/2025

Lịch sử thay đổi tài liệu

Phiên bản	Ngày hiệu lực	Sửa đổi
1.0	01/06/2023	Phiên bản mới
1.0	01/01/2024	Soát xét định kỳ không thay đổi nội dung
2.0	02/06/2025	Thay đổi mã tài liệu

Phân phối

Đơn vị Ngân hàng Tế bào gốc- Trung tâm Tế bào gốc: 01 bản

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 3 trên 14
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.2.2
	Quy trình kỹ thuật xử lý và lưu trữ tế bào gốc máu dây rốn	02/06/2025

1. MỤC ĐÍCH

- Đơn vị MDR sau khi thu thập được xử lý loại hồng cầu, giảm thể tích để tạo khối TBG đậm đặc. Sử dụng dung dịch bảo quản DMSO và dung dịch nuôi dưỡng dextran cho vào khối TBG đậm đặc, sau đó đông lạnh bằng thống hạ nhiệt độ có kiểm soát và bảo quản lâu dài bằng bình chứa nito lỏng.

2. PHẠM VI ÁP DỤNG

- Áp dụng tại Trung tâm tế bào gốc - Bệnh viện Nhi Trung Ương.

3. TRÁCH NHIỆM

- Tất cả nhân viên Trung tâm Tế bào gốc đã được đào tạo có trách nhiệm tuân thủ đúng quy trình khi thực hiện và đề xuất nhu cầu xây dựng mới, sửa đổi/cập nhật, cải tiến và đảm bảo tính hiệu lực của quy trình này.

- Giám đốc/Phó giám đốc Bệnh viện Nhi Trung ương có trách nhiệm phê duyệt quy trình.

4. NHỮNG NGƯỜI QUẢN LÝ, GIÁM SÁT TUÂN THỦ QUY TRÌNH NÀY

- Lãnh đạo Trung tâm Tế bào gốc, kỹ thuật y trường, nhân viên quản lý chất lượng, nhân viên quản lý kỹ thuật chịu trách nhiệm quản lý, giám sát sự tuân thủ quy trình kỹ thuật của nhân viên.

- Nhân viên kiểm soát tài liệu chịu trách nhiệm phân phối tài liệu phiên bản mới nhất, thu hồi phiên bản cũ.

- Tất cả nhân viên Trung tâm Tế bào gốc đã được đào tạo có trách nhiệm áp dụng, tuân thủ việc thực hiện và đề xuất cải tiến quy trình.

5. VIẾT TẮT

TBG: Tế bào gốc

MDR (Umbilical Cord Blood): Máu dây rốn

TNC (Total Nucleated Cell): Tổng số tế bào có nhân

Lym (Lymphocyte): Bạch cầu lympho

Mono (Monocyte): Bạch cầu mono

NRBC (Nucleated Red Blood Cell): Tế bào hồng cầu có nhân

ATSH: An toàn sinh học

KTV: Kỹ thuật viên

6. NỘI DUNG

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 4 trên 14
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.2.2
	Quy trình kỹ thuật xử lý và lưu trữ tế bào gốc máu dây rốn	02/06/2025

6.1. Đại cương

- **Tế bào gốc (TBG)** có các đặc tính:
 - + Khả năng tự tái tạo (self renewal): Từ một tế bào gốc có thể sản sinh ra nhiều tế bào gốc khác giống tế bào nguyên thủy.
 - + Khả năng biệt hóa đa dòng (differentiation): TBG có thể biệt hóa thành những tế bào có nhiệm vụ chuyên biệt như tế bào tạo máu, tế bào thần kinh...
 - + Khả năng tái định cư (homing): Là hiện tượng các TBG khi truyền vào cơ thể có thể di chuyển về tủy xương, ở đây chúng sẽ tăng sinh và biệt hóa ra các tế bào chức năng.
- **Tế bào gốc từ máu dây rốn (MDR)**: là những tế bào non có khả năng tự tái sinh và biệt hóa thành các tế bào trưởng thành để thay thế cho các tế bào già nhằm đảm bảo cấu trúc, chức năng của các mô, cơ quan. Trong MDR có các thành phần:
 - + TBG tạo máu, khoảng 68% tế bào nằm ở pha G0 của chu kỳ phân bào nên khả năng mọc cụm tạo ra các dòng tế bào máu khác nhau như hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu cao hơn nguồn tủy xương và máu ngoại vi.
 - + TBG trung mô trong MDR có thể biệt hóa thành các loại tế bào khác nhau như tế bào thần kinh, tế bào gan, cơ, xương...

6.2. Chỉ định

- Mẫu máu dây rốn sau thu thập đảm bảo tiêu chuẩn xử lý:
- + Thể tích thu thập ≥ 30 ml và $TNC \geq 5 \times 10^8$ tế bào.
- + Thể tích thu thập từ 30-60 ml cần kiểm tra số lượng tế bào có nhân trước khi xử lý.
- Mẫu máu dây rốn sau thu thập có số lượng $TNC < 5 \times 10^8$ tế bào, khách hàng đã được tư vấn về tình trạng mẫu sau thu thập nhưng vẫn mong muốn lưu trữ và hoàn thành nghĩa vụ tài chính đầy đủ.

6.3. Chống chỉ định

Không áp dụng

6.4. Thận trọng

- Máu dây rốn cũng được coi là mẫu sinh học có nguy cơ lây nhiễm, cần có các biện pháp an toàn khi tiếp xúc như luôn đeo găng tay khi thao tác với mẫu.
- Tất cả các thao tác hờ đổi với mẫu phải thực hiện trong tủ ATSH.

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 5 trên 14
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.2.2
	Quy trình kỹ thuật xử lý và lưu trữ tế bào gốc máu dây rốn	02/06/2025

6.5. Chuẩn bị

6.5.1. Người thực hiện

- a) Nhân lực trực tiếp: 01 kỹ thuật y.
b) Nhân lực hỗ trợ: 01 kỹ thuật y.

6.5.2. Thuốc, hóa chất

- Hydroxyethyl Starch (Dung dịch trợ lắng HES 600): khoảng 10-20 ml/mẫu.
- DMSO (Dimethyl sulfoxide): 2,5-3 ml/mẫu.
- Dextran T40: 2,5-3 ml/ mẫu.

6.5.3. Vật tư

STT	Danh mục	Đơn vị	Số lượng
1	Áo phẫu thuật/ bộ quần áo vô trùng	Bộ	01
2	Mũ vô trùng	Cái	01
3	Khẩu trang vô trùng	Cái	01
4	Đép đi trong phòng sạch/bao giấy	Đôi	01
5	Găng tay cao su	Đôi	05
6	Bộ túi xử lý MDR	Bộ	01
7	Dụng cụ hỗ trợ lấy mẫu	Cái	02
8	Hộp bảo quản đông lạnh 25ml (canister)	Cái	01
9	Túi bao ngoài máu dây rốn	Cái	01
10	Ống lưu mẫu đông lạnh loại 1-2ml	Cái	02
11	Xi lanh 1ml	Cái	01
12	Xi lanh 5ml	Cái	04
13	Xi lanh 10ml	Cái	01
14	Xi lanh 20 ml	Cái	01

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 6 trên 14
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.2.2
	Quy trình kỹ thuật xử lý và lưu trữ tế bào gốc máu dây rốn	02/06/2025

15	Kim 18G	Cái	10
16	Bông	Miếng	30
17	Chai cấy máu	Chai	02
18	Ống lấy máu không có chốt chống đông	Cái	05
19	Ống ly tâm 1,5-2 ml	Cái	02
20	Cồn iod/ betadin	Chai	01
21	Khay tiêm vô trùng	Cái	02

6.5.4. Trang thiết bị

Mục	Tên	Đơn vị	Số lượng
1	Tủ an toàn sinh học cấp 2	Cái	01
2	Máy ly tâm lạnh túi máu	Cái	01
3	Bàn ép huyết tương	Cái	01
4	Cân điện tử	Cái	01
5	Máy lắc túi máu	Cái	01
6	Máy hàn dây túi máu	Cái	01
7	Máy hàn nối dây túi máu	Cái	01
8	Máy hàn túi bao ngoài	Cái	01
9	Máy hạ nhiệt độ có kiểm soát	Cái	01
10	Tủ lạnh 2-8°C	Cái	01
11	Tủ lạnh âm sâu -80°C	Cái	01
12	Tủ lưu trữ đông lạnh bằng nitơ lỏng	Cái	01
13	Gel lạnh	Cái	03
14	Giá cầm ống máu/eppendorf	Cái	01

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 7 trên 14
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.2.2
	Quy trình kỹ thuật xử lý và lưu trữ tế bào gốc máu dây rốn	02/06/2025

15	Pank/ kẹp	Cái	02
----	-----------	-----	----

6.5.5. Người bệnh

- Máu dây rốn được thu thập theo quy trình QTKT.A46.1 và bảo quản nhiệt độ 2-8°C tối đa 48 giờ trước khi xử lý.

- Kiểm tra túi máu dây rốn: thể tích, tình trạng đông dây, túi máu có được nguyên vẹn, đảm bảo vô trùng và bảo quản đúng điều kiện.

- Sát khuẩn túi MDR bằng gạc hoặc khăn sạch thấm cồn 70° → chuyển vào phòng xử lý.

6.5.6. Hồ sơ bệnh án

- Chuẩn bị phiếu xét nghiệm, lấy tem/barcode xét nghiệm;

- In thêm 6 tem/code/nhãn (lấy từ code xét nghiệm đếm CD34);

- Chuẩn bị biểu mẫu phiếu xử lý mã BM1/QTKT.A46.2; phiếu tiến trình thu thập, xử lý và lưu trữ MDR mã BM3/QTKT.A46.1;

6.5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật

6 - 8 giờ/ mẫu

6.5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Phòng sạch xử lý/ chế biến tế bào Trung tâm Tế bào gốc - Bệnh viện Nhi Trung ương.

6.5.9. Kiểm tra hồ sơ

- Kiểm tra, đối chiếu thông tin bệnh nhân từ hợp đồng, phiếu thu thập và mẫu MDR.

6.6. Tiến hành quy trình kỹ thuật

6.6.1. Trước khi vào phòng xử lý/chế biến tế bào

- Thay dép, vệ sinh tay thường quy;

- Mang mũ, khẩu trang, mặc áo phẫu thuật/ bộ quần áo vô trùng;

- Dán barcode vào ống xét nghiệm tương ứng, code CD34 in thêm dán vào ống lưu mẫu hồng cầu, huyết tương sau xử lý.

- Các dụng cụ đưa vào phòng sạch cần được vệ sinh và khử khuẩn bằng cồn 70°;

6.6.2. Rút mẫu trước xử lý và thêm dung dịch trợ lắng HES

- Cân trọng lượng túi MDR (M1).

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 8 trên 14
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.2.2
	Quy trình kỹ thuật xử lý và lưu trữ tế bào gốc máu dây rốn	02/06/2025

- Thử tích thực túi MDR:

$$V1 = (M1 - \text{trọng lượng túi đã bao gồm chất chống đông}) / 1,05$$

Lưu ý: nếu trong dây túi MDR sau thu thập có chứa máu đã bị đông thì không vuốt máu đông vào túi mà phải loại bỏ. Khi đó thử tích thực túi MDR cần trừ đi thử tích máu đông trong dây (cứ 10 cm dây tương đương 1 ml máu).

- Dùng kim vuốt vuốt dây từ vị trí gần túi MDR về phía kim một đoạn 15 - 20 cm để loại bỏ máu đông trong dây, giữ kim vuốt, hàn cắt bỏ dây túi máu, giữ lại khoảng 15 cm dây gần túi để kết nối với bộ kit xử lý.

- Đặt túi MDR lên máy lắc đều trong vòng 5 phút.

- Tính lượng HES 600 cho vào túi MDR = $(V1 - 1,5) \times 18\%$;

- Khởi động tủ ATSH theo hướng dẫn sử dụng tủ ATSH;

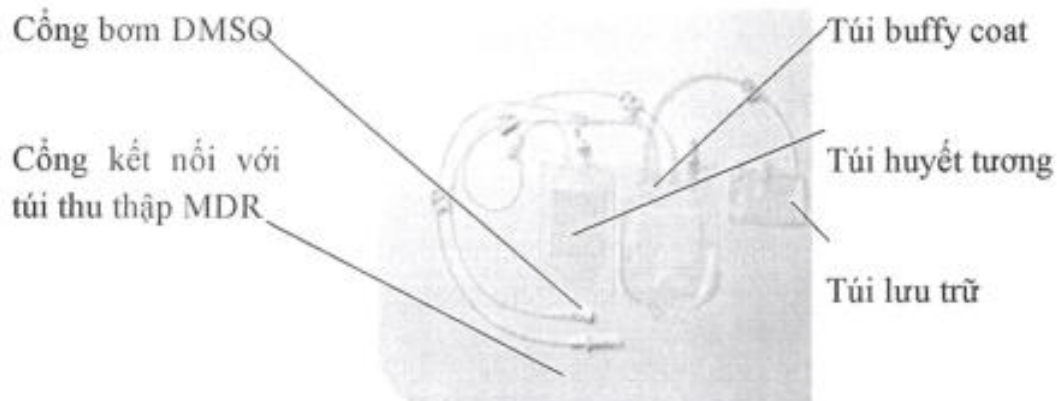
- Vệ sinh tủ ATSH bằng cồn 70°, sử dụng tủ sau khi bật quạt gió ít nhất 3 phút;

- Chuẩn bị 1 khay tiệt vô trùng chứa bông thấm cồn iod/betadin và 1 khay để đầu kim và bông sau sử dụng;

- Khử khuẩn bề mặt các dụng cụ, vật tư, mẫu MDR bằng gạc hoặc khăn sạch thấm cồn 70° trước khi đưa vào tủ ATSH, bao gồm: 1 xi lanh 1 ml, 3 xi lanh 5 ml, 1 xi lanh 10 ml, 1 xi lanh 20 ml, 2 dụng cụ lấy mẫu, 5-10 kim 18G, HES 600, bộ túi xử lý MDR, ống lấy máu không chứa chất chống đông đã dán code CTM trước xử lý, chai cấy máu; bút marker;

- Đeo găng tay vô trùng hoặc găng tay thường khử khuẩn bằng cồn 70° trước khi thao tác trong tủ ATSH;

- Mở bộ túi xử lý, đóng tất cả khóa giữa các túi trong bộ xử lý, vặn chặt cổng kết nối DMSO (cấu tạo bộ túi xử lý hình bên dưới):



Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.



BỘ Y TẾ	Trang 9 trên 14
BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.2.2
Quy trình kỹ thuật xử lý và lưu trữ tế bào gốc máu dây rốn	02/06/2025

- Gắn mã lưu trữ cho đơn vị máu dây rốn theo quy định: năm/tháng/ngày-số thự tự mẫu thu thập trong ngày/MDR. Mã số lưu trữ mẫu máu dây rốn được viết trên phiếu xử lý, túi thu thập, hộp bảo quản, các túi trong bộ kit xử lý, túi lưu trữ bằng bút marker không xóa được. Barcode dán trên túi lưu trữ và hộp bảo quản bằng chất liệu phù hợp, không bị hỏng nát hoặc mất đi trong quá trình xử lý và lưu trữ đông lạnh.

- Kết nối dụng cụ lấy mẫu với túi MDR, dùng xi lanh và kim 18G hút 0,5 ml để đếm công thức máu (lưu ý kim không chạm vào ống khi bơm máu), 1 ml để cấy máu.

Lưu ý: Thay xi lanh và kim mới sau mỗi lần rút mẫu hoặc thêm HES hay chất bảo quản.

- Sát trùng nút cao su của túi dung dịch HES, sát trùng vị trí lấy mẫu trên túi MDR, dùng xi lanh đã kết nối với kim 18G lấy lượng HES đã tính ở trên, bơm nhẹ nhàng vào túi MDR, lắc trộn đều trong vòng 5 phút

- Kết nối túi MDR với bộ kit bằng máy hàn nối dây túi máu vô trùng.

- Treo túi MDR để lắng túi khoảng 45-90 phút tùy theo độ lắng của hồng cầu.

- Tính thể tích MDR + chất chống đông sau khi rút mẫu:

$$V2 = V1 + 35 - 1,5$$

6.6.3. Thu buffy coat và loại hồng cầu

a) Thu buffy coat và ly tâm lần 1

- Khi huyết tương MDR lắng khoảng 1/2 túi máu bắt đầu ép huyết tương và buffy coat.

- Treo túi MDR lên bàn ép. Đặt bộ kit lên bàn cân điện tử. Dùng kẹp kẹp giữ túi MDR và túi buffy coat trong bộ túi xử lý để điều chỉnh tốc độ ép. Mở khóa từ từ chuyển toàn bộ huyết tương và buffy coat sang túi 2 (túi buffy coat) tránh bị sục hồng cầu. Lượng hồng cầu lấy trong lần 1 là 5 gram.

- Đẩy khí trong túi buffy coat và phần hồng cầu trong dây về phía túi MDR ban đầu. Khóa van trắng giữa hai túi, trộn đều túi MDR. Xếp túi theo chiều thẳng đứng vào công ly tâm, ly tâm chương trình MDR1 trên máy Sigma (1500v/p (722g) x 4p, tăng tốc 7, giảm tốc 4) hoặc 2500 v/p trong 30 giây trên máy ly tâm Kobuta.

b) Ép buffy coat và ly tâm lần 2

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 10 trên 14
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.2.2
	Quy trình kỹ thuật xử lý và lưu trữ tế bào gốc máu dây rốn	02/06/2025

- Nhẹ nhàng nhắc bộ túi ra khỏi máy ly tâm. Treo túi MDR lên bàn ép, chuyển phần buffy coat còn lại từ túi thu thập MDR sang túi buffy coat. Lượng hồng cầu lấy trong lần 2 là 3-4 gram. Đẩy phần hồng cầu trong đoạn dây chảy sang túi MDR, khóa kẹp giữa hai túi.

Lưu ý: Nếu túi MDR ban đầu thể tích hoặc số lượng tế bào có nhân thấp thì có thể ly tâm lần 2 theo chương trình MDR2 trên máy Sigma 1500v/p (722g) x 5p, tăng tốc 7, giảm tốc 4 hoặc 2500v/p trong 60s trên máy Kobuta để lấy thêm buffy coat. Lượng hồng cầu lấy thêm là 2 gram.

- Hàn bỏ túi MDR ban đầu.

6.6.4. Loại bỏ huyết tương

- Cân túi thu hoạch buffy coat và huyết tương (M2).

- Tính lượng huyết tương cần rút ra = M2 - 83

- Xếp bộ túi xử lý vào công ly tâm theo chiều thẳng đứng, ly tâm chương trình MDR3 trên máy Sigma 1500v/p (722g) x 6 phút, tăng tốc 9, giảm tốc 3 hoặc 2500v/p trong 100s trên máy Kobuta.

- Nhẹ nhàng nhắc túi ra khỏi máy ly tâm đặt lên bàn ép. Ép huyết tương sang túi 3 (túi huyết tương), để lại 20 - 22gram buffy coat;

- Đẩy khí và huyết tương trong dây về phía túi buffy coat. Cắt rời túi huyết tương.

- Cân túi sau khi cắt bỏ huyết tương (M3).

- Tính thể tích túi buffy coat $V3 = (M3 - 38) / 1,03$

- Chuyển túi buffy coat vào tủ an toàn sinh học, trộn đều, kết nối dụng cụ rút mẫu, rút 0,5 ml mẫu sau xử lý để đếm công thức máu và CD34;

- Tính thể tích túi buffy coat còn lại sau rút mẫu $V4 = V3 - 0,5$

- Để túi buffy coat vào tủ lạnh 2-8°C ít nhất 30 phút trước khi bơm chất bảo quản;

6.6.5. Chuẩn bị dung dịch bảo quản đông lạnh

- Chuẩn bị dung dịch bảo quản chứa 10% DMSO và Dextran T40 theo tỉ lệ 1:1 vào bơm tiêm. Các thao tác thực hiện trong tủ ATSH. Ghi lại thể tích DMSO sử dụng vào phiếu xử lý mã tài liệu BM1/QTKT.A46.2.2.

- Dung dịch bảo quản lạnh sau khi chuẩn bị phải được để lạnh ở 2-8°C ít nhất 30 phút trước khi sử dụng và phải sử dụng trong vòng 4 giờ.

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 11 trên 14
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.2.2
	Quy trình kỹ thuật xử lý và lưu trữ tế bào gốc máu dây rốn	02/06/2025

- Kết nối xi lanh chứa dung dịch bảo quản đã để lạnh với túi buffy coat qua cổng bơm DMSO. Đặt túi buffy coat vào giữa 2 gel lạnh (gel đã để lạnh 4°C ít nhất 30 phút), đặt trên máy lắc, trộn đều mẫu trên máy lắc. Bơm từ từ dung dịch bảo quản tốc độ 24ml DMSO/ giờ.

- Chuyển mẫu đã bổ sung chất bảo quản vào tủ ATSH, rút 1,5 ml chia vào 2 ống bảo quản đông lạnh (cryotube) mỗi ống 0,25 ml và 1 ml cho cấy máu. Mỗi cryotube chứa tối thiểu 2×10^6 tế bào có nhân.

- Dồn toàn bộ buffy coat sang túi lưu trữ, loại bỏ hết khí trong túi.

- Hàn dây sát túi và một đoạn 3-5cm dây chứa tế bào gốc gần túi lưu kèm, cắt bỏ phần túi thừa.

- Đặt toàn bộ túi tế bào gốc và đoạn dây vào túi bao ngoài (over wrap), hàn miệng túi. Đặt toàn bộ túi tế bào gốc này vào hộp bảo quản (canister).

- Đặt hộp bảo quản chứa khối tế bào gốc và 2 cryotube mẫu TBG vào máy hạ nhiệt theo chương trình.

- Hạ lạnh theo quy trình đông lạnh khối TBG bằng hệ thống hạ nhiệt mã quy trình QTKT.A46.8. In và lưu hồ sơ tiến trình làm lạnh.

- Trong trường hợp không đủ điều kiện hạ lạnh theo quy trình QTKT.A46.8 thì có thể hạ nhiệt mẫu theo quy trình hạ lạnh thủ công mã quy trình QTKT.A46.16, sau đó chuyển mẫu vào nito lỏng bảo quản lâu dài. Hoàn thiện phiếu tiến trình làm lạnh thủ công mã tài liệu BM1/QTKT.A46.16 và lưu hồ sơ.

- Tính thể tích khối TBG lưu trữ:

$$V5 = V4 + V (\text{DMSO} + \text{Dextran}) - V \text{ cryotube} - V \text{ cấy máu}$$

- Rút 1,5 ml mẫu hồng cầu và 1,5 ml mẫu huyết tương của MDR vào ống eppendorf, lưu từ -80°C.

- Vệ sinh tủ ATSH, bật đèn UV.

- Vệ sinh máy móc và dụng cụ.

- Bật đèn UV phòng xử lý 30-60 phút.

- Gửi mẫu xét nghiệm tới các khoa xét nghiệm.

6.6.6. Các công thức tính

a) Trước xử lý:

$$\text{TNC} \times 10^8 = (\text{WBC} + \text{NRBC}) \times V2/100$$

$$\text{MNC} \times 10^8 = (\text{Lym} + \text{Mono}) \times V2/100$$

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 12 trên 14
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.2.2
	Quy trình kỹ thuật xử lý và lưu trữ tế bào gốc máu dây rốn	02/06/2025

b) Sau xử lý:

$$TNC \times 10^8 = (WBC + NRBC) \times V3/100$$

$$MNC \times 10^8 = (Lym + Mono) \times V3/100$$

c) Thông số lưu trữ:

- Sau rút mẫu đếm CD34:

$$A = TNC \times 10^8 = (WBC + NRBC) \times V4/100$$

$$B = MNC \times 10^8 = (Lym + Mono) \times V4/100$$

$$C = CD34 \times 10^5 = \text{số lượng CD34 (tế bào/}\mu\text{l)} \times V4/100$$

Thể tích sau khi bơm DMSO + Dextran: $V4 + V$ (DMSO + Dextran)

Thể tích sau khi rút mẫu lưu cryotube và cấy máu: $V5$

- Các thông số lưu trữ:

$$TNC \text{ lưu trữ} = A \times V5 / (V4 + V \text{ DMSO} + V \text{ dextran})$$

$$MNC \text{ lưu trữ} = B \times V5 / (V4 + V \text{ DMSO} + V \text{ dextran})$$

$$CD34 \text{ lưu trữ} = C \times V5 / (V4 + V \text{ DMSO} + V \text{ dextran})$$

6.6.7. Kết thúc quy trình

a) Hoàn thiện các biểu mẫu và nhập cơ sở dữ liệu

- Hoàn thiện phiếu xử lý theo biểu mẫu BM1/QTKT.A46.2.2

- Hoàn thiện phiếu tiến trình thu thập, xử lý và lưu trữ MDR BM3/QTKT.A46.1.2

- Lưu hồ sơ phiếu tiến trình làm lạnh hoặc biểu đồ hạ nhiệt.

- Điền thông tin xử lý vào sổ thu thập và xử lý MDR.

- Nhập dữ liệu về vị trí và tên mẫu lên file Danh sách khung lưu trữ và danh sách lưu mẫu cryotube trên google drive Trung tâm Tế bào gốc.

b) Đánh giá mẫu MDR sau xử lý

- Mỗi đơn vị MDR sau xử lý cần đạt được tiêu chuẩn (theo Tiêu chuẩn quốc tế NetCord-FACT phiên bản thứ sáu):

$$+ TNC \geq 5 \times 10^8 \text{ tế bào}$$

$$+ \text{Số lượng tế bào gốc CD34 sống} \geq 1,25 \times 10^6 \text{ tế bào}$$

$$+ \text{Hiệu suất thu hồi TNC sau xử lý} \geq 60\%$$

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 13 trên 14
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.2.2
	Quy trình kỹ thuật xử lý và lưu trữ tế bào gốc máu dây rốn	02/06/2025

+ Tỷ lệ sống CD34 sau xử lý $\geq 85\%$

- Các tiêu chuẩn an toàn:

+ Các virus âm tính: HbsAg, HIV, HCV, TPHA, CMV-IgM

+ Cây máu phát hiện vi khuẩn và nấm tại 2 thời điểm trước và sau xử lý: âm tính.

Lưu ý:

- Các tiêu chuẩn trên áp dụng khi ghép tế bào gốc MDR không cùng huyết thống. Trường hợp cùng huyết thống, số lượng TNC và CD34 không đưa ra tiêu chuẩn.

- Cần tư vấn cho khách hàng lưu trữ MDR nếu các đơn vị MDR không đạt tiêu chuẩn trên. Cần có cam kết từ khách hàng khi các mẫu MDR không đạt nhưng khách hàng vẫn có nhu cầu lưu trữ. Trường hợp đơn vị MDR nhiễm khuẩn hoặc có dương tính với một trong các virus trên được lưu trữ thì phải được cách ly riêng.

c) Báo cáo kết quả và tư vấn khách hàng

- Nhân viên xử lý mẫu thu thập kết quả đánh giá mẫu sau xử lý, ghi chép kết quả đánh giá mẫu vào sổ xử lý máu dây rốn sau khi có đầy đủ kết quả xét nghiệm.

- Nếu kết quả không đạt các tiêu chuẩn ở mục 6.6.2 cần báo cho lãnh đạo trung tâm và nhân viên phụ trách kỹ thuật. Nhân viên phụ trách kỹ thuật và bác sỹ được phân công tư vấn cho khách hàng có lưu kèm bằng chứng tư vấn (zalo hoặc file ghi âm).

- Mẫu có kết quả cấy máu dương tính hoặc một trong các xét nghiệm virus dương tính (thể đang hoạt động) cần tư vấn hủy mẫu. Các trường hợp còn lại mẫu có thể lưu trữ tiếp nếu khách hàng có nhu cầu và hoàn thành nghĩa vụ tài chính đầy đủ.

6.7. Theo dõi và xử trí tai biến

Không áp dụng

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Huyết Học - Truyền Máu - Miễn dịch - Di Truyền - Sinh học phân tử (ban hành kèm theo quyết định số: 3336/ QĐ-BYT ngày 20 tháng 7 năm 2017 của Bộ trưởng Bộ Y tế)

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 14 trên 14
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.2.2
	Quy trình kỹ thuật xử lý và lưu trữ tế bào gốc máu dây rốn	02/06/2025

2. AABB Technical Manual 13th Edition, Collection, processing, and banking of umbilical cord blood stem cells for transplantation and regenerative medicine Methods Mol Biol, 2012; 279 -290

3. Package-Insert HPC ALLOCORD

4. Package-Insert-HEMACORD-(HPC-Cord-Blood)

5. Package-Insert-HPC-Cord-Blood-Bloodworks 2016

6. Package-Insert-HPC-Cord-Blood-LifeSouth

7. The EBMT Handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies, 7th edition, Springer, 2019.

8. <https://www.stemcell.com/how-to-prepare-a-buffy-coat.html>

9. <https://www.reprocell.com/blog/biopta/buffy-coat-preparation-from-whole-blood>

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.



PHIẾU XỬ LÝ MẪU MÁU DÂY RÓN
(Mã hồ sơ:...../MDR)

I. Thông tin chung

Họ và tên mẹ:.....; Ngày sinh:.....
Ngày xử lý:.....giờ.....ngày.....tháng.....năm.....

II. Vật tư và hóa chất

Tên vật tư/ hóa chất	Nhà sản xuất	Lô/lot	Hạn sử dụng
Bộ kit xử lý			
Hydroxyl Ethyl Starch (HES)			
DMSO			
Dextran			
Túi lưu trữ đông lạnh			

III. Thông tin xử lý

Chỉ số	Thể tích
Thể tích mẫu MDR ban đầu (V1)	ml
Rút mẫu làm xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu và cấy máu (trước xử lý)	ml
Thể tích MDR+ chất chống đông sau rút mẫu xét nghiệm (V2)	ml
Lượng HES thêm vào	ml
Thu hoạch buffy coat (V3)	ml
Rút mẫu xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu và đếm CD 34 (sau xử lý)	ml
Thể tích buffy coat còn lại sau rút mẫu xét nghiệm (V4)	ml
Thể tích dung dịch bảo quản DMSO + DEXTRAN cho thêm	ml
Rút mẫu vào.....cryotube lưu trữ	ml
Rút mẫu làm xét nghiệm cấy máu (sau xử lý)	ml
Thể tích tế bào gốc MDR lưu trữ (V5)	ml

II. Các thông số sau xử lý

	Trước xử lý	Sau xử lý	Hiệu suất
TNC x 10^8 tế bào			
MNC x 10^8 tế bào			
Hematocrit (%)			

III. Thông tin lưu trữ

Mã số mẫu MDR	/MDR	TNC x 10^8	
Vị trí lưu mẫu MDR		MNC x 10^8	
Vị trí lưu cryotube		CD34 x 10^5	

Ngày tháng năm 2025

Người xử lý

(Ký, ghi rõ họ tên)

IV. Tiến trình làm lạnh tự động

- Hạ lạnh tự động theo chương trình 4 trên máy CryoMed Freezer

Bước 1: Chờ đến 20°C

Bước 2: 1°C/ phút đến -6°C

Bước 3: 25°C/ phút đến -50°C

Bước 4: 10°C/ phút đến -14°C

Bước 5: 1°C/ phút đến -45°C

Bước 6: 10°C/ phút đến -90°C

Bước 7: Kết thúc

Nhân viên xác nhận



BỘ Y TẾ
BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG



QUY TRÌNH PHÂN LẬP TẾ BÀO GỐC MÁU NGOẠI VI
BẰNG HỆ THỐNG MÁY COM.TEC
QTKT.A46.3.2

Phiên bản: 2.0

Ngày hiệu lực: 02/06/2025

	Họ tên	Chức vụ	Chữ ký
Soạn thảo	Đặng Thị Hà	TK Miễn dịch- TT. Tế bào gốc	
Xem xét	Nguyễn Thanh Bình	Phụ trách TT. Tế bào gốc	
	Bùi Ngọc Lan	GD Trung tâm Ung thư	
	Đặng Ánh Dương	TK Điều trị tích cực ngoại khoa	
Phê duyệt	Cao Việt Tùng	Phó Giám đốc Bệnh viện	

BỆ
TRU



Hà Nội – 2025



Lịch sử thay đổi tài liệu

Phiên bản	Ngày hiệu lực	Sửa đổi
1.0	01/06/2023	Soạn thảo mới
2.0	02/06/2025	Thay đổi mã tài liệu

Phân phối

Đơn vị Ngân hàng Tế bào gốc- Trung tâm Tế bào gốc: 01 bản

	BỘ Y TẾ	Trang 3 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.3.2
	Quy trình kỹ thuật phân lập tế bào gốc ngoại vi bằng hệ thống máy tự động COM.TEC	02/06/2025

1. MỤC ĐÍCH

– Quy trình nhằm giúp nhân viên Trung tâm Tế bào gốc – Bệnh viện Nhi Trung ương và các khoa liên quan thực hiện theo nội dung quy trình, để đảm bảo an toàn cho người bệnh nhân trong quá trình thu hoạch và điều trị bằng khối TBG có chất lượng tốt.

– Ứng dụng: Thu hoạch khối tế bào gốc tạo máu từ máu ngoại vi.

2. PHẠM VI ÁP DỤNG

– Áp dụng cho quy trình thu hoạch tế bào gốc ngoại vi bằng máy COM.TEC tại Trung tâm Tế bào gốc – Bệnh viện Nhi trung ương.

– Các khoa lâm sàng liên quan: Khoa Điều trị tích cực ngoại khoa, Trung tâm Ung thư...

3. TRÁCH NHIỆM

– Giám đốc/Phó giám đốc Bệnh viện Nhi Trung ương có trách nhiệm phê duyệt quy trình.

– Bác sỹ: lên kế hoạch và đảm bảo thực hiện quy trình thu hoạch hiệu quả, an toàn cho bệnh nhân/người hiến.

– Kỹ thuật viên đã được đào tạo có trách nhiệm tuân thủ đúng quy trình khi thực hiện.

4. NHỮNG NGƯỜI QUẢN LÝ, GIÁM SÁT TUÂN THỦ QUY TRÌNH NÀY

– Giám đốc Trung tâm: xác định, đề xuất nhu cầu xây dựng mới, sửa đổi/cập nhật, cải tiến và tổ chức phổ biến, thực hiện đảm bảo tính hiệu lực của quy trình này.

– Lãnh đạo Trung tâm/Lãnh đạo Ngân hàng Tế bào gốc, Kỹ thuật Y trưởng, QLCL, QLKT chịu trách nhiệm quản lý, giám sát sự tuân thủ quy trình xét nghiệm của nhân viên.

– Nhân viên quản lý tài liệu chịu trách nhiệm phân phối tài liệu phiên bản mới nhất, thu hồi phiên bản cũ.

– Trưởng/phó khoa và điều dưỡng trưởng các khoa liên quan phối hợp giám sát tuân thủ quy trình.

5. VIẾT TẮT

– PBSC (Peripheral Blood Stem Cells): Tế bào gốc từ máu ngoại vi

	BỘ Y TẾ	Trang 4 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.3.2
	Quy trình kỹ thuật phân lập tế bào gốc ngoại vi bằng hệ thống máy tự động COM.TEC	02/06/2025

- TBV (Total Blood Volume): Tổng lưu lượng máu tuần hoàn
- HC: Hồng cầu
- BC: Bạch cầu
- TC: Tiểu cầu
- TBG: Tế bào gốc
- CTM: Công thức máu
- HT: Huyết tương
- G-CSF (Granulocyte-Colony Stimulating Factor): Yếu tố kích thích bạch cầu hạt

6. NỘI DUNG

6.1. Đại cương

- Định nghĩa: Thu hoạch tế bào gốc máu ngoại vi là quá trình phân lập tế bào gốc từ nguồn máu ngoại vi sau dùng thuốc kích tế bào gốc G-CSF để ghép tế bào gốc tạo máu đồng loài hoặc tự thân.
- Nguyên lý: Phân tách các thành phần máu bằng hệ thống ly tâm liên tục để thu được lớp tế bào gốc và hoàn trả lại các thành phần máu khác cho bệnh nhân.

6.2. Chỉ định

- Bệnh nhân có chỉ định ghép TBG tạo máu để điều trị các bệnh sau:
 - + Ghép tế bào gốc tạo máu tự thân điều trị bệnh ác tính có chỉ định hóa trị liều cao và/hoặc di căn: U nguyên bào thần kinh giai đoạn 4, một số u lympho, sarcoma Ewing di căn/giai đoạn 4, một số bệnh bạch cầu cấp dòng tủy.
 - + Ghép tế bào gốc tạo máu đồng loài điều trị các bệnh máu: Suy tủy xương, suy giảm miễn dịch bẩm sinh, tan máu bẩm sinh...
- Bệnh nhân/người cho đáp ứng điều kiện đạt số lượng tế bào gốc tạo máu CD34 trong máu ngoại vi sau khi dùng thuốc kích bạch cầu (ngày 4 hoặc 5 sau kích bạch cầu bằng G-CSF).
 - + Số lượng tế bào CD34 > 20 cells/ μ l: Tiến hành thu thập.
 - + Số lượng tế bào CD34 từ 10 đến 20 cells/ μ l: Cân nhắc thu thập, có thể dùng thêm thuốc Plerixafor (thuốc có tác dụng huy động tế bào gốc từ trong tủy xương ra máu ngoại vi).

6.3. Chống chỉ định



6.3.1. Chống chỉ định tuyệt đối

- Số lượng tế bào gốc trong máu ngoại vi trước thu hoạch < 10 tế bào CD34/ μ l.
- Người hiến tế bào gốc không đủ điều kiện hiến.
- Người bệnh nhiễm bệnh lây truyền qua đường máu: HBV, HCV, HIV, Anti CMV (IgM) anti EBV (IgM).
- Bệnh nhân < 6kg.

6.3.2. Chống chỉ định tương đối

- Người bệnh có tình trạng sốt hoặc rối loạn đông máu hoặc các tình trạng cấp cứu khác.
- Tình trạng lâm sàng và tĩnh mạch không cho phép thực hiện thủ thuật.

6.4. Thận trọng

- Khi thể tích máu xử lý chia tổng thể tích máu bệnh nhân > 5,3 lần, cân nhắc thu thập 2 ngày liên tiếp.
- Trường hợp bệnh nhân/người cho có TBV < 2 lít hoặc cân nặng < 25kg yêu cầu phải mỗi khối HC trước khi chạy máy.

6.5. Chuẩn bị

6.5.1. Người thực hiện

- Thực hiện quy trình kỹ thuật: 01 bác sỹ, 02 kỹ thuật viên.
- Thực hiện tiền mê, thủ thuật đặt Catheter, theo dõi bệnh nhân trong quá trình làm thủ thuật...: 01 bác sỹ lâm sàng, 01 điều dưỡng.

6.5.2. Thuốc

Tên	Số lượng
Nước muối sinh lý 500ml	02
Gạc phẫu thuật/bông vô trùng	01
Cồn 70°	10mL
Albumin 20%	20mL

- Chuẩn bị HC môi: Đơn vị KHC cùng nhóm máu bệnh nhân, đã **chiếu xạ và lọc bạch cầu** làm phản ứng chéo hòa hợp giữa túi HC và người cho (liên hệ khoa Truyền máu trước 1-2 ngày).

6.5.3. Vật tư



Tên	Số lượng
Kit PIYA	01
Dung dịch chống đông ACD	01
Phin lọc bạch cầu dành cho hồng cầu	01
Thẻ định nhóm máu tại giường	01
Chạc 3 không dây	02
Dây truyền máu	02
Túi máu đơn 250mL	01

6.5.4. Trang thiết bị

- Máy tách thành phần máu COM.TEC: 01 máy.
- Trước khi thu thập TBG, phải vệ sinh lau chùi máy COM.TEC, kiểm tra xem máy có bị ẩm hay trục trặc không.
- Mâm ly tâm PIYA: 01 cái.
- Ổ lưu điện: 01 cái.
- Máy hàn dây tự động: 01 cái.
- Máy ly tâm túi máu: 01 cái.

6.5.5. Người bệnh/người cho

- Người bệnh/người cho được giải thích kỹ về mục đích tiến hành quy trình gạn tách tế bào gốc. Người bệnh/người cho được khám, theo dõi lâm sàng và xét nghiệm trước, trong, sau khi tiến hành gạn tách, được giải thích các nguy cơ có thể xảy ra.
- Xét nghiệm bệnh lây truyền qua đường máu: HBV, HCV, HIV, Anti CMV (IgG, IgM) anti EBV (IgG, IgM) trong vòng 3 tháng tốt nhất trong vòng 30 ngày trước ngày thu thập
- Sử dụng thuốc kích bạch cầu G-CSF theo phác đồ của từng bệnh lý khác nhau.
- Xét nghiệm công thức máu, khí máu, điện giải đồ, hóa sinh chức năng gan thận, đếm số lượng tế bào CD34+ cùng ngày thu thập.
- Đối với người cho khỏe mạnh, trước khi thu hoạch cần đảm bảo tiêu chuẩn người hiến máu và các thành phần máu theo thông tư 26/BYT.



– Đối với người bệnh. Để đảm bảo an toàn người bệnh, trước thu hoạch số lượng tiểu cầu ≥ 140 G/l, Hb > 9.0 g/dl và chuẩn bị khối HC, khối tiểu cầu đã lọc BC, chiếu xạ, CMV âm tính để truyền bù trong và sau thu hoạch (nếu cần).

– Trong ngày thu hoạch:

Bệnh nhân/người cho đáp ứng điều kiện đạt số lượng tế bào gốc tạo máu CD34, số lượng BC trong máu ngoại vi ngày 4 hoặc 5 sau kích bạch cầu bằng G-CSF.

+ Số lượng tế bào CD34 > 20 cells/ μ l: Tiến hành thu thập.

+ Số lượng tế bào CD34 từ 10 đến 20 cells/ μ l: Cân nhắc thu thập, có thể dùng thêm thuốc Plerixafor (thuốc có tác dụng huy động tế bào gốc từ trong tủy xương ra máu ngoại vi).

+ Số lượng BC: Để quá trình gạn tách tế bào gốc máy phân tách được lớp Buffy coat hiệu quả thì khuyến cáo số lượng BC ≥ 20 G/l, trong trường hợp thấp hơn 20 G/l thì căn cứ vào nhu cầu điều trị sẽ quyết định việc gạn tách.

6.5.6. Hồ sơ bệnh án

6.5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 4 giờ.

6.5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Phòng thực hiện thủ thuật, đảm bảo vô khuẩn, hồi sức cấp cứu.
- Đối với bệnh nhân ghép tế bào gốc tự thân: thu hoạch TBG tại khoa Điều trị tích cực ngoại khoa.
- Đối với người cho TBG máu ngoại vi: thu hoạch tại Trung tâm Tế bào gốc.

6.5.9. Kiểm tra hồ sơ

- Kiểm tra tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng chỉ định cần thực hiện kỹ thuật.
- Kiểm tra các kết quả xét nghiệm huyết học, hóa sinh, vi sinh, đếm số lượng tế bào gốc CD34+.
- Lập bảng dự kiến thu thập tế bào gốc
- Kiểm tra bảng kiểm an toàn thủ thuật

6.6. Tiến hành quy trình kỹ thuật

6.6.1. Bước 1: Tiền mê, đặt catheter... (bác sỹ và điều dưỡng lâm sàng)

- Theo quy trình kỹ thuật của khoa lâm sàng.

	BỘ Y TẾ	Trang 8 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.3.2
	Quy trình kỹ thuật phân lập tế bào gốc ngoại vi bằng hệ thống máy tự động COM.TEC	02/06/2025

6.6.2. Bước 2: Chuẩn bị khối HC để môi máy COMTEC đối với người hiến có cân nặng < 25kg

– Tráng nước muối, dây lọc BC cho khối HC, kết nối dây lọc và túi HC. Vì còn phải pha loãng với Albumin nên lọc khối HC sang 1 túi 350 ml. Cân tính thể tích thực của túi HC đã lọc (V1).

- Lắc đều túi máu, vuốt dây 5-6 lần, hàn 1 đoạn dây để đo CTM.
- Tính thể tích Albumin 5% trong nước muối sinh lý cần cho vào:

$$V(\text{albumin } 5\%) = \frac{V(\text{Khối hồng cầu}) * (Hct(\text{Khối hồng cầu}) - Hct(\text{bệnh nhân}))}{Hct(\text{bệnh nhân})}$$

– Pha dung dịch Albumin 5% trong nước muối sinh lý. Bơm thể tích Albumin đã tính toán vào túi HC đã lọc BC qua dây truyền dịch. Cho túi HC lên cân và thêm vào lượng Albumin như đã tính toán.

– Hàn túi, lắc đều túi máu, vuốt dây 5-6 lần, hàn 1 đoạn dây để đo CTM so sánh với Hematocrit bệnh nhân.

6.6.3. Bước 3: Lắp kit PIYA, cài đặt máy COM.TEC

- Bật máy, lựa chọn chương trình thu thập tế bào gốc PIYA.
- Lắp kit và vận hành máy theo bảng lệnh trên màn hình giao diện.
- Cài đặt thông số giới tính, cân nặng, chiều cao, số lượng BC và CD34 của người cho, số chu kỳ chạy, thể tích máu mỗi chu kỳ (Blood volume), vận tốc máu chảy tùy theo từng thể trạng (Blood flow), thể tích buffycoat thu được (V buffycoat), thể tích kỳ tràn để tách buffycoat và HT (V spillover), liều lượng ACD. Máy sẽ tự tính toán thể tích sản phẩm TBG và số lượng CD34 ước tính.

Chú ý: Cài đặt thông số Blood volume, Blood flow, số chu kỳ chạy, liều ACD theo bảng dự kiến trước thu thập.

6.6.4. Bước 4: Kết nối bệnh nhân và thu thập TBG trên máy COM.TEC

– **Đối với người cho cần môi máu:** dùng chạc nối 3 và dây truyền dịch kết nối đầu vào (màu đỏ) của bộ kit với khối HC đã pha Albumin và đầu ra (màu xanh) với túi nước thải. Sau khi mỗi chu kỳ đầu khoảng 180-200ml ấn Stop, chuyển 2 đầu kết nối sang bệnh nhân và bắt đầu chạy máy.

- Kết nối người bệnh/người hiến và chạy máy.
- Quan sát kỳ Spillover ở chu kỳ 1 đối với trường hợp không cần môi máu và chu kỳ 2 đối với trường hợp cần môi máu. Khi thấy tế bào bắt đầu phân tách giữa



lớp HT và buffycoat có thể ấn Stop phase để chuyển sang kỳ thu buffycoat. Từ chu kỳ sau máy sẽ tự động nhớ và chuyển buffycoat. Đối với người cho có số lượng CD34 không cao có thể chọn thể tích buffycoat cao lên để thu được nhiều tế bào gốc hơn nhưng có thể lẫn nhiều hồng cầu, tiểu cầu.

– Sau khi chạy xong số chu kỳ đã cài đặt máy sẽ báo, hàn hoặc kẹp thật chắc chắn túi sản phẩm bắt đầu từ đoạn dây phân chia buffycoat.

6.6.5. Bước 5: Kết thúc quy trình

- Đánh giá tình trạng người bệnh sau thực hiện kỹ thuật.
- Đối với người cho bệnh nhi: Xem xét tiến hành chu trình trả máu, phụ thuộc vào cân bằng dịch, tình trạng thiếu máu của bệnh nhân khi kết thúc thu thập
- Đối với người cho là người trưởng thành: Tùy trường hợp cụ thể để cân nhắc có nên trả máu về cho bệnh nhân hay không.
- Sao đó ngắt kết nối giữa máy với người bệnh/người hiến, tháo kit và tắt máy.

6.7. Theo dõi và xử trí tai biến

– BS thực hiện thủ thuật: Phối hợp cùng KTV vận hành dự kiến liều thu thập, cân bằng dịch, kiểm tra các kết quả xét nghiệm của bệnh nhân trước, giữa chu kỳ và kết thúc thu thập để phối hợp cùng BS lâm sàng xử lý, ra quyết định dừng thu thập khi có sự cố không đảm bảo an toàn người hiến.

– Trong quá trình thu hoạch điều chỉnh các thông số cài đặt máy kịp thời đảm bảo hiệu suất và chất lượng cho khối tế bào gốc thu hoạch.

6.7.1. Tai biến trong khi thực hiện thủ thuật

a) Hạ huyết áp

– Theo dõi dấu hiệu sinh tồn của bệnh nhân trước trong và sau quá trình thu thập tế bào gốc của bệnh nhân, đảm bảo xử lý nhanh chóng an toàn cho bệnh nhân.

– Điều chỉnh Blood flow, blood volume để có tốc độ rút máu phù hợp, đảm bảo lượng máu rút ra không quá 1/10 tổng lưu lượng tuần hoàn của bệnh nhân.

– Xử trí: Bù nhanh NaCl 0,9% liều 10ml/kg (nếu cần) và theo dõi đáp ứng điều trị.

b) Lỗi áp lực đường dẫn máu ra

– Kiểm tra đường tĩnh mạch của bệnh nhân. Nếu là tĩnh mạch ngoại vi, cần thiết có thể đổi tĩnh mạch khác.



- Kiểm tra chắc ba kết nối người bệnh và đường dẫn máu ra.
- Nếu sau khi kiểm tra và hướng dẫn vẫn không hết lỗi thì giảm tốc độ dòng máu đường lấy máu ra đến khi máy hết báo lỗi, sau đó tiếp tục theo dõi.

c) Giảm tiểu cầu, giảm huyết sắc tố

- Trước thu thập: các XN theo quy trình tuyển chọn người cho tế bào gốc
- Sau đặt catheter, kết nối máy: kiểm tra kết quả xét nghiệm khí máu, công thức máu.
- Giữa chu kỳ thu thập: kiểm tra kết quả khí máu, Hb, Tiểu cầu. Nếu kết quả xét nghiệm SLTC < 80G/l và/hoặc Hb < 8 g/dl báo BS lâm sàng truyền khối TC hoặc HC, tạm dừng máy thu thập hoặc để chế độ duy trì blood flow 10ml/phút.

c) Hạ Canxi máu

- Trước thu thập: các XN theo quy trình tuyển chọn người cho tế bào gốc.
- Sau đặt catheter, kết nối máy: kiểm tra kết quả xét nghiệm khí máu.
- Giữa chu kỳ thu thập: kiểm tra kết quả khí máu, Canxi.
- Nếu hạ Canxi, đề nghị bolus Canxi gluconat 10%, cân nhắc điều chỉnh tỉ lệ ACD: Blood hoặc dừng quy trình.
- Phòng hạ canxi máu: Truyền Canxi gluconat 10% tổng liều 1ml/kg, truyền liên tục bắt đầu sau khi thu hoạch TBG 15 phút. Sau đó điều chỉnh tùy thuộc vào kết quả xét nghiệm canxi máu.

d) Không trả máu về được cho người bệnh/người hiến

- Yêu cầu điều dưỡng kiểm tra lại đường ven trả về đảm bảo độ thông suốt và đồng thời kiểm tra lại van áp lực trả máu về (Van xanh). Nếu máu không trả được về và bệnh nhân có tình trạng tím tái, xin ý kiến bác sĩ để quyết định dừng máy và/hoặc xử lý hệ thống lấy máu truyền lại cấp cứu cho bệnh nhân.

e) Các tai biến khác

- Bác sĩ và điều dưỡng chuyên trách chịu trách nhiệm xử trí.

6.7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

a) Giảm tiểu cầu, giảm huyết sắc tố

- Kiểm tra kết quả khí máu, Hb, Tiểu cầu. Nếu TC < 80 G/l hoặc Hb < 8 g/dl báo bác sĩ lâm sàng truyền khối TC hoặc HC.

b) Hạ Canxi máu

	BỘ Y TẾ	Trang 11 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.3.2
	Quy trình kỹ thuật phân lập tế bào gốc ngoại vi bằng hệ thống máy tự động COM.TEC	02/06/2025

– Kiểm tra kết quả khí máu, Canxi, điện giải đồ. Nếu hạ Canxi máu, báo bác sỹ lâm sàng.

6.7.3. Theo dõi sản phẩm sau thu thập

a) Hiệu suất thu thập

$HS (\%) = (CD34+/\mu l \text{ trong sản phẩm} * \text{Thể tích sản phẩm}) * 100 / (CD34+ \text{ trước thu hoạch} * \text{tổng thể tích máu đã xử lý})$

b) Đánh giá vi sinh

– Kết quả cấy máu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. <https://www.fresenius-kabi.com/my/products/com-tec>
2. Stem cell apheresis of patients for autologous transplantation (HS001.09), Würzburg University Children's Hospital
3. The EBMT Handbook Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies, 2019

PHIẾU PHẪU THUẬT/THỦ THUẬT

- Họ tên người bệnh: Tuổi: Nam/Nữ:.....
- Chẩn đoán:
- Phẫu thuật/ thủ thuật lúc: giờ phút, ngày tháng năm
- Phương pháp phẫu thuật/ thủ thuật: **Gạn tách tế bào gốc từ máu ngoại vi bằng máy tự động**
- Bác sĩ phẫu thuật/ thủ thuật:
- Kỹ thuật viên:

CÁC BƯỚC THỰC HIỆN

1. Chuẩn bị bệnh nhân/người cho
2. Chuẩn bị thiết bị, vật tư tiêu hao: độ ẩm máy, thiết bị điện, kit hóa chất...
3. Chuẩn bị khối hồng cầu để mỗi máy
 - Tráng NaCl 0,9% dây lọc bạch cầu cho khối HC, kết nối dây lọc và túi
 - Kết nối dung dịch Albumin với túi HC đã lọc BC qua dây truyền dịch
4. Tiến hành mỗi máy
5. Lắp đặt bộ kit thu thập, cài đặt và chạy máy
 - Lựa chọn chương trình thu thập tế bào gốc bằng bộ kit
 - Cài đặt các thông số
6. Kết nối máy thu thập với người cho/bệnh nhân: tiến hành thu thập TBG theo quy trình
7. Kết thúc thủ thuật: ngắt kết nối với người cho, tháo kit, tắt máy
 - Tình trạng bệnh nhân trong và sau thủ thuật: Bệnh nhân ổn định
 - Thời gian thu thập từ giờ phút ngày tháng năm 2025
 - Kết thúc thủ thuật an toàn lúc giờ phút cùng ngày.
 - Bệnh nhân tiếp tục được theo dõi sau thủ thuật.

THUỐC/VẬT TƯ TIÊU HAO ĐÃ DÙNG

- Bộ kit gạn tách bạch cầu và tế bào gốc: 1 bộ
- Nước muối sinh lý 0,9%, chai 500 mL: 02 chai
- Chạc ba: 02 chiếc
- Dây truyền máu: 02 chiếc
- Túi lưu đông lạnh: 01 túi

Ngày tháng năm 202...

PHẪU THUẬT/ THỦ THUẬT VIÊN

(Ký và ghi rõ họ tên)

BỘ Y TẾ
BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG



QUY TRÌNH THU THẬP DỊCH TỬ XƯƠNG
ĐỂ PHÂN LẬP TẾ BÀO GỐC
QTKT.A46.4.2

Phiên bản: 2.0

Ngày hiệu lực: 02/06/2025

	Họ tên	Chức vụ	Chữ ký
Soạn thảo	Đặng Thị Hà	TK Miễn dịch- TT. Tế bào gốc	
Xem xét	Nguyễn Thanh Bình	Phụ trách TT. Tế bào gốc	
	Bùi Ngọc Lan	GD Trung tâm Ung thư	
	Thiều Tăng Thắng	Phụ trách khoa Gây mê hồi sức	
Phê duyệt	Cao Việt Tùng	Phó Giám đốc Bệnh viện	

Hà Nội – 2025

	BỘ Y TẾ	Trang 2 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.4.2
	Quy trình kỹ thuật thu thập dịch tủy xương để phân lập tế bào gốc	02/06/2025

Lịch sử thay đổi tài liệu

Phiên bản	Ngày hiệu lực	Sửa đổi
1.0	01/06/2023	Phiên bản mới
1.0	02/01/2024	Soát xét định kỳ không thay đổi nội dung
2.0	02/06/2025	Thay đổi mã tài liệu

hân phối

- Đơn vị ngân hàng Tế bào gốc- Trung tâm Tế bào gốc: 01 bản



1. MỤC ĐÍCH

Quy trình này giúp cho nhân viên Trung tâm Tế bào gốc – Bệnh viện Nhi Trung ương và các khoa lâm sàng liên quan thực hiện theo đúng quy trình, để đảm bảo an toàn cho bệnh nhân/người hiến trong quá trình thu hoạch và thu được khối tế bào gốc có chất lượng tốt.

2. PHẠM VI ÁP DỤNG

Quy trình thu thập dịch tủy xương để phân lập tế bào gốc áp dụng tại Trung tâm Tế bào gốc và các khoa lâm sàng liên quan (khoa Gây mê hồi sức, các khoa có bệnh nhân ghép...).

3. TRÁCH NHIỆM

- Giám đốc/Phó giám đốc Bệnh viện Nhi Trung ương có trách nhiệm phê duyệt quy trình.
- Tất cả nhân viên Trung tâm Tế bào gốc đã được đào tạo tuân thủ đúng quy trình khi thực hiện.
- Các nhân viên được phân công tại các khoa liên quan phối hợp thực hiện theo đúng quy trình.

4. NHỮNG NGƯỜI QUẢN LÝ, GIÁM SÁT TUÂN THỦ QUY TRÌNH NÀY

- Giám đốc Trung tâm: xác định, đề xuất nhu cầu xây dựng mới, sửa đổi/cập nhật, cải tiến và tổ chức phổ biến, thực hiện đảm bảo tính hiệu lực của quy trình này.
- Lãnh đạo Trung tâm/Lãnh đạo Ngân hàng Tế bào gốc, Kỹ thuật Y trưởng, QLCL, QLKT chịu trách nhiệm quản lý, giám sát sự tuân thủ quy trình kỹ thuật của nhân viên.
- Nhân viên kiểm soát tài liệu chịu trách nhiệm phân phối tài liệu phiên bản mới nhất, thu hồi phiên bản cũ.
- Trưởng/phó khoa và điều dưỡng trưởng các khoa liên quan phối hợp giám sát tuân thủ quy trình.

5. VIẾT TẮT

- TBG: Tế bào gốc
- KTV: Kỹ thuật viên
- QLCL: Quản lý chất lượng
- QLKT: Quản lý kỹ thuật



<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 4 trên 11</i>
<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTKT.A46.4.2</i>
<i>Quy trình kỹ thuật thu thập dịch tủy xương để phân lập tế bào gốc</i>	<i>02/06/2025</i>

- TT-TBG: Trung tâm Tế bào gốc
- GMHS: Gây mê hồi sức
- CTM: Công thức máu
- ĐMCB: Đông máu cơ bản

6. NỘI DUNG

6.1. Đại cương

- **Tế bào gốc** có các đặc tính:
 - + Khả năng tự tái tạo (self renewal): Từ một tế bào gốc có thể sản sinh ra nhiều tế bào gốc khác giống tế bào nguyên thủy.
 - + Khả năng biệt hóa đa dòng (differentiation): TBG có thể biệt hóa thành những tế bào có nhiệm vụ chuyên biệt như tế bào tạo máu, tế bào thần kinh...
 - + Khả năng tái định cư (homing): Là hiện tượng các TBG khi truyền vào cơ thể có thể di chuyển về tủy xương, ở đây chúng sẽ tăng sinh và biệt hóa ra các tế bào chức năng.
- **Tế bào gốc tạo máu nguồn tủy xương:** Tủy xương là lớp mô bào xốp nằm giữa các khoảng trống của xương. Ở trẻ nhỏ, tất cả các xương tham gia tạo máu. Ở trẻ lớn và người trưởng thành, TBG tạo máu chỉ có trong các xương dẹt như xương sọ, xương chậu, xương ức...
- **Kỹ thuật thu thập tế bào gốc từ dịch tủy xương:** Sử dụng kim Harvest tủy xương để chọc hút dịch tại các khoang tạo máu có chứa nhiều tế bào gốc tạo máu, tế bào trung mô, tế bào đầu dòng nội mạc, nguyên bào sợi... cho vào túi bảo quản, sau đó xử lý, phân lập để tạo khối tế bào gốc có chất lượng tốt.

6.2. Chỉ định

- Người hiến tế bào gốc tạo máu tủy xương: sau khi đã kiểm tra đầy đủ các thông số xét nghiệm máu cũng như các xét nghiệm cận lâm sàng khác đạt yêu cầu theo quy trình tuyển chọn người cho tế bào gốc.
- Người bệnh có chỉ định điều trị bằng phương pháp ghép tế bào gốc tạo máu tự thân.

6.3. Chống chỉ định

- Người có tiền sử dị ứng thuốc gây mê, gây tê
- Người có bệnh lý về rối loạn đông máu
- Bệnh nhân/người cho đang trong đợt viêm mũi họng, viêm phổi

- Vùng vị trí chọc kim không bị nhiễm trùng, viêm phù nề

6.4. Thận trọng

Không áp dụng

6.5. Chuẩn bị

6.5.1. Người thực hiện

a) Nhân lực thực hiện quy trình kỹ thuật gây mê, hồi sức sau phẫu thuật/thủ thuật: Theo quy trình của khoa GMHS.

b) Nhân lực thực hiện kỹ thuật thu thập dịch tủy xương: Trung tâm Tế bào gốc (02 Bác sỹ, 02 Kỹ thuật viên).

6.5.2. Thuốc (áp dụng cho kỹ thuật thu thập dịch tủy xương)

STT	Danh mục	Số lượng	Ghi chú
1	Heparin 5000UI (lọ 10ml)	01	Dùng để pha dung dịch tráng kim và chống đông dịch tủy xương
2	Natri clorid 0.9% 100ml	02	Dùng để pha dung dịch Heparin

6.5.3. Vật tư (áp dụng cho kỹ thuật thu thập dịch tủy xương)

STT	Danh mục	Số lượng	Ghi chú
1	Kim Harvest tủy xương 14G	04	Loại kim dùng 1 lần
2	Bộ Kit thu thập tủy xương (Bone Marrow Collection Kit)	01	Bộ gồm (túi thu gom lọc, Bầu lọc 200-500 micron, túi đựng dung dịch bảo quản)
3	Giá inox chuyên dụng dùng để treo khối tế bào gốc trong quá trình bơm dịch tủy xương, lọc tế bào	01	Chuyển Trung tâm Tiệt trùng để tiệt trùng trước thu thập 01 ngày
4	Bông gạc đắp vết thương (gói)	02	
5	Băng vô trùng trong suốt không thấm nước Optiskin Film 73mm x 80mm, Urgo (cái)	02	
6	Bát kê đựng 500ml	02	
7	Bơm tiêm nhựa 20ml	10	

8	Bơm kim tiêm 5ml	5	
9	Bơm kim tiêm 1ml	1	
10	Kim nhựa 18G	2	

6.5.4. Trang thiết bị.

Sử dụng trang thiết bị tại khoa Gây mê hồi sức.

6.5.5. Người bệnh

a) Lựa chọn người cho tế bào gốc nguồn tủy xương

STT	Nội dung	Kết quả
1	Hỏi tiền sử nguy cơ trước khi làm thủ thuật gây mê	Không tiền sử bệnh lý tim mạch, dị ứng, hô hấp cấp...
2	Khám lâm sàng: lưu ý bệnh lý tim mạch, rối loạn đông cầm máu, ác tính	Không mắc bệnh
3	Xét nghiệm trước ghép: Định typ HLA với các locus A, B, C, DRB1 bằng phương pháp PCR-SSO hoặc PCR-SSP	Phù hợp HLA người cho và người nhận: 7/8 hoặc 8/8
4	Sàng lọc các dấu ấn bệnh nhiễm trùng (làm trong vòng 30 ngày trước khi thu thập TBG)	HIV, HBV (HBsAg, HBsAb, HBcAb), HCV (HCVAb), CMV (IgM+IgG), EBV, HSV (IgM+IgG), Varicella (IgM+IgG): Âm tính hoặc không mắc bệnh cấp
5	Xét nghiệm Huyết học: CTM, ĐMCB, tủy đồ	Bình thường
6	Hóa sinh máu: Ure, cre, GOT, GPT, GGT, LDH, G, T3, T4, TSH, điện giải đồ...	Bình thường
7	Điện quang: XQ phổi, siêu âm ổ bụng	Bình thường
8	Nhóm máu ABO và Rh	

b) Chuẩn bị người bệnh trước gây mê: Thực hiện theo quy trình kỹ thuật gây mê vô cảm của khoa Gây mê hồi sức

Bước/ quá trình	Nội dung	Trách nhiệm
1	Giải thích bệnh nhân, liên hệ lịch gây mê	Khoa lâm sàng có bệnh nhân làm phẫu thuật/thủ thuật

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 7 trên 11</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTKT.A46.4.2</i>
	<i>Quy trình kỹ thuật thu thập dịch tủy xương để phân lập tế bào gốc</i>	<i>02/06/2025</i>

2	Khám tiền mê theo quy trình	Khoa GMHS
3	Bàn giao bệnh nhân giữa khoa lâm sàng và khoa GMHS	Khoa lâm sàng Khoa GMHS
4	Đánh giá nguy cơ mất máu trong quá trình thu thập để lĩnh khối hồng cầu đã lọc, xạ bạch cầu và xét nghiệm CMV âm tính	Khoa GMHS Bác sỹ làm thủ thuật

6.5.6. Hồ sơ bệnh án

Hồ sơ bệnh án đầy đủ các thông tin như: chỉ định thực hiện kỹ thuật, biên bản thông qua phẫu thuật/thủ thuật, bản cam kết đồng ý thực hiện thủ thuật có chữ ký của người bệnh hoặc đại diện gia đình, bảng kiểm bàn giao bệnh nhân.

6.5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật

- Kỹ thuật gây mê: 03 giờ.
- Kỹ thuật thu thập dịch tủy xương: 03 giờ.
- Chăm sóc hồi tỉnh: 02 giờ.

6.5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Khoa Gây mê hồi sức - Bệnh viện Nhi Trung ương.

6.5.9. Kiểm tra hồ sơ

a) *Kiểm tra người bệnh:* Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện kỹ thuật...

b) *Thực hiện bảng kiểm an toàn phẫu thuật, thủ thuật, cam kết của bệnh nhân/gia đình đồng ý làm thủ thuật, bảng kiểm chuyển bệnh nhân*

c) *Đặt tư thế người bệnh.*

– Theo quy trình đặt nội khí quản bằng phương pháp vô cảm của khoa Gây mê hồi sức: Bệnh nhân nằm ngửa.

– Theo quy trình thu thập dịch tủy xương: Bệnh nhân nằm sấp.

6.6. Tiến hành quy trình kỹ thuật

QTKT của phương pháp vô cảm thực hiện theo quy trình riêng của khoa Gây mê hồi sức.

6.6.1. Bước 1: Chuẩn bị rửa tay ngoại khoa

a) *Thực hiện rửa tay ngoại khoa*

Bác sĩ, KTV được phân công thực hiện rửa tay ngoại khoa theo quy định.

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 8 trên 11</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTKT.A46.4.2</i>
	<i>Quy trình kỹ thuật thu thập dịch tủy xương để phân lập tế bào gốc</i>	<i>02/06/2025</i>

b) Thực hiện mặc quần áo, phương tiện bảo hộ

Bác sĩ, KTV được phân công thực hiện mặc quần áo, phương tiện bảo hộ theo quy định của khoa Gây mê hồi sức.

6.6.2. Bước 2: Chuẩn bị thuốc/dụng cụ

a) Công việc KTV phụ 2 thực hiện để giúp KTV phụ 1

- Mở bộ dụng cụ vô trùng bao gồm: kit thu gom lọc tủy, NaCl 0.9%, Kim harvest, kim 18G, giá treo túi tủy.
- Mở nắp lọ Heparin, sát trùng lọ bằng cồn 70⁰ để người **KTV- phụ 1** dùng xilanh rút heparin pha dung dịch chống đông.

b) Công việc của KTV-phụ 1: Chuẩn bị dụng cụ làm thủ thuật trên bàn vô khuẩn

- Pha dung dịch tráng kim có nồng độ Heparin 100UI/ml (lấy 2ml Heparin 5000UI bơm vào 98ml NaCl 0.9%)→Lấy 20-30ml cho vào bát kê để tránh kim Harvest và tráng xi lanh 20ml.
- Pha dung dịch chống đông dịch tủy xương có nồng độ Heparin 50UI/ml (lấy 1ml Heparin 5000UI bơm vào 99ml NaCl 0.9%)→ Cú 10ml dịch tủy xương thêm 1ml chống đông vào túi thu gom.
- Mở túi bọc giá inox chuyên dụng đã hấp sấy vô trùng, lắp bộ kit đựng túi thu thập dịch tủy xương lên giá (lưu ý khóa kẹp van phía đáy túi, mở miệng túi để bơm dịch tủy xương vào).

6.6.3. Bước 3: Chuẩn bị vị trí chọc tủy (công việc của Bác sĩ)

- Chuẩn bị vị trí chọc tủy:
 - + Tư thế bệnh nhân: Bệnh nhân sau khi gây mê, tư thế nằm sấp, bộc lộ vùng gai chậu sau trên 2 bên.
 - + Sát trùng vị trí chọc vùng gai chậu sau trên 2 bên trái + phải, sát trùng theo nguyên tắc ngoại khoa.
- Trải toan vô khuẩn trên bệnh nhân.

6.6.4. Bước 4: Kỹ thuật thu thập dịch tủy xương (công việc của Bác sĩ)

a) Xác định vị trí chọc hút dịch tủy xương tại vùng gai chậu sau trên 2 bên trái và phải:

- **Cách 1:** Sờ tay vào vùng gai chậu sau trên thấy điểm lõm khi bệnh nhân nằm sấp đó là điểm chọc hút dịch xương.
- **Cách 2:** Kẻ đường thẳng nối hai GCTT, kẻ tiếp một đường nối giữa xương cùng cụt với GCTT, làm thành một hình tam giác vuông xương cụt - chậu

	BỘ Y TẾ	Trang 9 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.4.2
	Quy trình kỹ thuật thu thập dịch tủy xương để phân lập tế bào gốc	02/06/2025

- cột sống. Điểm chọc hút tủy xương nằm chính giữa đường phân giác từ góc vuông.

b) Thao tác chọc

– Sử dụng kim Harvest tủy xương vào vị trí chọc, đưa kim qua các lớp: da, cơ, màng xương, ổ tạo tủy. Tại ổ tạo tủy, đưa kim với độ sâu khoảng 1,5-2,0 cm đến khi vào khoang tạo máu (cảm giác xương xốp)→Rút nòng kim

– Dùng xilanh 20ml đã tránh Heparin hút với áp lực vừa, từ từ để dịch tủy xương vào bơm tiêm, mỗi lần hút 2-5ml.

– Rút bơm tiêm đưa cho người phụ. Mỗi ổ tạo tủy lưu kim, hút dịch lặp lại khoảng 5 – 10 lần

– Chuyển ổ tạo tủy: Thực hiện bằng cách rút kim ra khỏi xương chậu nhưng không ra khỏi mặt da, chọc theo hướng lên trên hoặc xuống dưới hoặc sang hai bên của vị trí vừa chọc, cách nhau 2 – 3cm. Sau khi chọc ở các vị trí gần nhau, nếu chưa đủ dịch cần chọc vị trí xa hơn.

– Chọc hút dịch tủy xương được thực hiện đồng thời tại hai bên gai chậu.

Ghi chú: tổng thể tích hút dịch tủy xương $\leq 20\text{ml/kg}$, trong quá trình hút dịch luôn phối hợp cùng bác sỹ gây mê theo dõi chỉ số tuần hoàn hô hấp của bệnh nhân/người cho.

6.6.5. Bước 5: Công việc KTV phụ giúp bác sĩ

– Nhận xi lanh dịch tủy xương từ BS, nhẹ nhàng bơm vào túi thu gom, sau đó tráng xilanh bằng dung dịch tráng kim rồi chuyển cho bác sỹ (trong quá trình bơm dịch tủy xương vào túi đựng cần lắc trộn đều với chất chống đông).

– Lặp lại bước trên đến khi kết thúc thu thập.

6.6.6. Bước 6. Kết thúc thu thập (công việc của Bác sĩ)

– Rút kim, băng cầm máu.

– Bàn giao bệnh nhân cho ekip gây mê tiếp tục công việc của quy trình kỹ thuật vô cảm.

6.6.7. Bước 7: Chuẩn bị lọc tế bào (công việc của KTV)

– Khi khối lượng túi tủy cần thu gom đạt yêu cầu, đẩy nắp túi.

– Kết nối các phần của túi thu gom dịch tủy xương theo thứ tự: Túi thu gom → màng lọc 500micron → màng lọc 200micron → túi chứa dịch tủy sau lọc loại túi 600ml hoặc 2000ml tùy theo thể tích thu được → Mở van khóa để dịch tủy chảy từ túi thu gom qua các bầu lọc vào túi chứa.

	BỘ Y TẾ	Trang 10 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.4.2
	Quy trình kỹ thuật thu thập dịch tủy xương để phân lập tế bào gốc	02/06/2025

- Sau khi lọc hết dịch tủy xương, bơm thêm 20ml Human albumin 5% vào túi thu gom để tráng hết túi → Khóa van túi chứa, ngắt kết nối với các bộ lọc.
- Ghi thông tin, gắn nhãn lên túi sản phẩm dịch tủy xương sau lọc.

6.6.8. 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.

6.7. Theo dõi và xử trí tai biến

- Theo dõi bệnh nhân trước, trong và sau khi làm thủ thuật tại phòng mổ theo quy trình của khoa GMHS.
- 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:

6.7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Trong quá trình thực hiện thủ thuật, bệnh nhân/người cho có nguy cơ mất máu cấp gây giảm thể tích tuần hoàn.
- Xử lý tai biến: truyền bù dịch bằng dung dịch Ringer lactac, Glucose 5%, Nacl 0,9%, dung dịch cao phân tử, truyền khối Hồng cầu đã lọc, xạ bạch cầu, xét nghiệm CMV âm tính...Theo quy trình hồi sức cấp cứu của khoa Gây mê hồi sức.

6.7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Chảy máu tại vị trí chọc: Sử dụng adrenalin 1mg/1ml thấm vào gạc đắp vào vị trí chảy máu, dùng gạc vô khuẩn băng ép.
- Tụ máu vùng lấy tủy: rạch lấy máu tụ, băng ép.
- 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 bằng betadin và băng lại vết chọc. Nếu nhiễm trùng nơi chọc xuất hiện 24 giờ sau khi làm thủ thuật có thể xử trí bằng cách: nạo viêm, làm sạch và điều trị kháng sinh.

6.7.3. Biến chứng muộn

- Thiếu máu kéo dài dài, suy tủy xương thứ phát.

	BỘ Y TẾ	Trang 11 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.4.2
	Quy trình kỹ thuật thu thập dịch tủy xương để phân lập tế bào gốc	02/06/2025

- Xử lý biến chứng:
- + Điều trị thuốc bổ sắt, tạo hồng cầu, dinh dưỡng....
- + Khám sức khỏe định kỳ, xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu, định lượng Fe, Feritin huyết thanh...

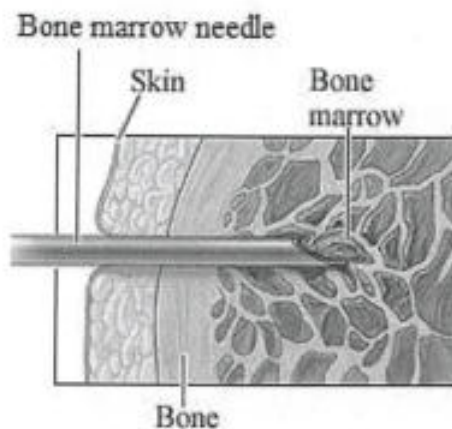
TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Huyết học-Truyền máu-Miễn dịch-Di truyền-Sinh học phân tử, số 2017/QĐ-BYT ngày 09/06/2014, trang 318-322, 333-335
2. Thomas R. Spiter, MD. Bone Marrow collection. Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation, Bethesda, MD: AABB, 2009, chapter 22, p.236-250

- Họ tên người bệnh: Tuổi: Nam/Nữ
- Chẩn đoán:
- Phẫu thuật/ thủ thuật lúc: giờ phút, ngày tháng năm
- Phương pháp phẫu thuật/ thủ thuật: **Thu thập dịch tủy xương để phân lập tế bào gốc**
- Bác sĩ phẫu thuật/ thủ thuật:

LƯỢC ĐỒ PHẪU THUẬT/ THỦ THUẬT

- ☐ Gai chậu sau trên bên trái
☐ Gai chậu sau trên bên phải



TRÌNH TỰ PHẪU THUẬT/ THỦ THUẬT

Bộc lộ vị trí chọc tại gai chậu sau trên hai bên trái và phải
Tiến hành sát trùng vị trí chọc bằng Povidon iod TP 10%.
Sử dụng kim Harvest tủy xương
Đưa kim qua các lớp: da – cơ – màng xương - ổ tạo máu
Tại các ổ tạo máu, hút ml dịch tủy xương
Rút kim, băng ép bằng gạc vô khuẩn cho tới khi ngừng chảy máu tại vị trí chọc
Bỏ gạc, dán Opside tại vị trí chọc
Tình trạng bệnh nhân trong và sau thủ thuật:
Kết thúc thủ thuật an toàn lúc giờ phút cùng ngày.
Bệnh nhân tiếp tục được theo dõi sau thủ thuật tại phòng gây mê khoa GMHS

Ngày tháng năm

PHẪU THUẬT/ THỦ THUẬT VIÊN

(Ký và ghi rõ họ tên)

BỘ Y TẾ
BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG



QUY TRÌNH XỬ LÝ TẾ BÀO GỐC BẰNG PHƯƠNG
PHÁP THỦ CÔNG BẤT ĐỒNG NHÓM MÁU ABO
QTKT.A46.5.2

Phiên bản: 2.0

Ngày hiệu lực: 02/06/2025

	Họ tên	Chức vụ	Chữ ký
Soạn thảo	Hà Thị Phương	Nhân viên Trung tâm Tế bào gốc	
Xem xét	Nguyễn Thanh Bình	Phụ trách Trung tâm Tế bào gốc	
Phê duyệt	Cao Việt Tùng	PGĐ Bệnh viện Nhi Trung ương	

Hà Nội – 2025



	BỘ Y TẾ	Trang 2 trên 12
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.5.2
	Quy trình kỹ thuật xử lý tế bào gốc bằng phương pháp thủ công bất đồng nhóm máu ABO	02/06/2025

Lịch sử thay đổi tài liệu

Phiên bản	Ngày hiệu lực	Sửa đổi
1.0	01/06/2023	Phiên bản mới
1.0	02/01/2024	Soát xét định kỳ không thay đổi nội dung
2.0	02/06/2025	Thay đổi mã tài liệu

Phân phối

Trung tâm tế bào gốc: 01 bản

	BỘ Y TẾ	<i>Trang 3 trên 12</i>
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.5.2
	Quy trình kỹ thuật xử lý tế bào gốc bằng phương pháp thủ công bất đồng nhóm máu ABO	02/06/2025

1. MỤC ĐÍCH

- Mô tả quy trình xử lý khối TBG bất đồng nhỏ và bất đồng lớn nhóm máu ABO loại bỏ các thành phần gây phản ứng kháng nguyên - kháng thể do bất đồng nhóm máu giữa người cho và người nhận trước khi truyền cho bệnh nhân.

- Loại hồng cầu trái nhóm để thể tích hồng cầu trái nhóm còn lại trong túi sản phẩm cuối cùng là $<0,5$ ml/kg đối với trường hợp bất đồng lớn nhóm máu ABO.

2. PHẠM VI ÁP DỤNG

- Áp dụng tại Trung tâm Tế bào gốc, Bệnh viện Nhi Trung ương.

3. TRÁCH NHIỆM

- Tất cả nhân viên Trung tâm Tế bào gốc đã được đào tạo có trách nhiệm tuân thủ đúng quy trình khi thực hiện và đề xuất nhu cầu xây dựng mới, sửa đổi/cập nhật, cải tiến và đảm bảo tính hiệu lực của quy trình này.

- Giám đốc/phó giám đốc Bệnh viện Nhi Trung ương có trách nhiệm phê duyệt quy trình.

4. NHỮNG NGƯỜI QUẢN LÝ, GIÁM SÁT TUÂN THỦ QUY TRÌNH NÀY

- Lãnh đạo Trung tâm Tế bào gốc, kỹ thuật y trưởng, nhân viên quản lý chất lượng, nhân viên quản lý kỹ thuật chịu trách nhiệm quản lý, giám sát sự tuân thủ quy trình xét nghiệm của nhân viên.

- Nhân viên kiểm soát tài liệu chịu trách nhiệm phân phối tài liệu phiên bản mới nhất, thu hồi phiên bản cũ.

- Tất cả nhân viên Trung tâm Tế bào gốc đã được đào tạo có trách nhiệm áp dụng, tuân thủ việc thực hiện và đề xuất cải tiến quy trình.

5. VIẾT TẮT

PBSC: tế bào gốc từ máu ngoại vi

TBG: Tế bào gốc

HC: Hồng cầu

HT: Huyết tương

BC: Bạch cầu

CTM: Công thức máu

HCT: Hematocrit

SLTB: Số lượng tế bào

TNC: Total nucleated cells (tổng số tế bào có nhân)

NRBC: Tế bào hồng cầu có nhân

MNC: Tổng tế bào đơn nhân

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 4 trên 12
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.5.2
	Quy trình kỹ thuật xử lý tế bào gốc bằng phương pháp thủ công bất đồng nhóm máu ABO	02/06/2025

Lym: Tế bào bạch cầu lympho

Mono: Tế bào bạch cầu mono

H: Hiệu suất

HLA: Human Leukocyte Antigens

ATSH: An toàn sinh học

6. NỘI DUNG

6.1. Đại cương

- Bất đồng lớn nhóm máu (Major mismatch) xảy ra khi kháng thể của người nhận chống lại kháng nguyên A/B của người cho.

- Bất đồng nhỏ nhóm máu (Minor mismatch) xảy ra khi kháng thể kháng A/B của người cho có mặt chống lại kháng nguyên A/B của người nhận.

- Bất đồng hai chiều (Bidirection Mismatch) xảy ra khi cả người cho và người nhận đều có kháng thể chống lại nhau.

- Khi người cho và người nhận tế bào gốc hòa hợp về HLA nhưng bất đồng về hệ nhóm máu hệ ABO, sau khi thu thập TBG phải xử lý để loại bỏ thành phần không mong muốn. Tùy theo phân loại bất đồng nhóm máu giữa người cho và người nhận, cách xử lý TBG sẽ khác nhau. Đối với bất đồng nhỏ, cần loại bỏ tối đa huyết tương trong khối TBG còn đối với bất đồng lớn và bất đồng hai chiều, khối TBG sẽ được xử lý để loại bỏ tối đa hồng cầu và huyết tương, chỉ giữ lại phần buffycoat.

- Dựa vào độ lắng của hồng cầu, sử dụng phương pháp ly tâm phân lớp để tách được thành phần như mong muốn.

Bảng: Phân loại bất đồng hệ nhóm máu ABO trong ghép TBG

Bất đồng	Nhóm máu	
	Người nhận	Người cho
Bất đồng nhỏ (minor mismatch)	A	O
	B	O
	AB	O,A,B
Bất đồng lớn (major mismatch)	O	A,B,AB
	A	AB
	B	AB
Bất đồng hai chiều (Bidirectional)	A	B
	B	A

6.2. Chỉ định

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 5 trên 12
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.3.2
	Quy trình kỹ thuật xử lý tế bào gốc bằng phương pháp thủ công bất đồng nhóm máu ABO	02/06/2025

- Trường hợp bất đồng nhỏ nhóm máu ABO, hiệu giá kháng thể isoagglutinin $> 1/256$ thì bắt buộc phải loại huyết tương. Nếu hiệu giá kháng thể isoagglutinin $< 1/128$ thì có thể xem xét loại huyết tương nhưng không bắt buộc.

- Trường hợp bất đồng lớn hoặc bất đồng 2 chiều, người nhận có hiệu giá kháng thể isohemagglutinin lớn hơn $1/32$ bắt buộc phải loại hồng cầu. Nếu hiệu giá kháng thể isohemagglutinin nhỏ hơn $1/16$ thì có thể xem xét loại hồng cầu nhưng không bắt buộc.

- Nếu không làm xét nghiệm hiệu giá kháng thể isoagglutinin và isohemagglutinin của người nhận thì xử lý trong tất cả các trường hợp.

6.3. Chống chỉ định

Không áp dụng.

6.4. Thận trọng

Tất cả các thao tác hờ đối với mẫu phải thực hiện trong tủ ATSH.

6.5. Chuẩn bị

6.5.1. Người thực hiện

- 02 kỹ thuật viên đã được đào tạo thực hiện quy trình.
- 01 bác sỹ phân tích, đánh giá kết quả (2 giờ).

6.5.2. Thuốc/ hóa chất:

- 02 Chai nước muối sinh lý 0,9%.
- 01 Túi Hydroxyethyl Starch (HES) 6%.
- 01 Lọ human serum albumin 20% có thể pha với máu.
- 01 Khối hồng cầu nhóm máu O Rh dương (trường hợp người nhận Rh âm thì cần sử dụng khối hồng cầu O Rh âm).

6.5.3. Vật tư

STT	Danh mục	Đơn vị	Số lượng
1	Quần áo vô trùng/ áo phẫu thuật	Cái	02
2	Mũ vô trùng	Cái	02
3	Khẩu trang vô trùng	Cái	02
4	Găng tay vô trùng	Cái	04
6	Bơm tiêm 1 ml	Cái	02
7	Bơm tiêm 5 ml	Cái	04
8	Bơm tiêm 10 ml	Cái	02
9	Bơm tiêm 20 ml	Cái	02
10	Bơm tiêm 50 ml	Cái	02

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 6 trên 12
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.5.2
	Quy trình kỹ thuật xử lý tế bào gốc bằng phương pháp thủ công bất đồng nhóm máu ABO	02/06/2025

11	Kim 18G	Cái	10
12	Dụng cụ rút mẫu (sampling site couple)	Cái	02
13	Bộ túi lấy máu bốn 450ml đỉnh-đáy hoặc bộ túi lấy máu ba 350ml	Bộ	02

6.5.4. Trang thiết bị

STT	Danh mục	Đơn vị	Số lượng
1	Phòng sạch đảm bảo vô trùng	Cái	01
2	Tủ an toàn sinh học cấp II	Cái	01
3	Máy ly tâm lạnh túi máu	Cái	01
4	Tủ lạnh	Cái	01
6	Bàn ép túi máu	Cái	01
7	Máy lách túi máu	Cái	01
8	Máy hàn dây túi máu	Cái	01
9	Máy hàn nối dây túi máu vô trùng	Cái	01
10	Pank, kẹp	Cái	02

6.5.5. Người bệnh

- Không áp dụng.

6.5.6. Hồ sơ bệnh án

- Chuẩn bị phiếu xét nghiệm, lấy tem/barcode xét nghiệm;
- In thêm 6 tem/code/nhãn (lấy từ code xét nghiệm đếm CD34);
- Chuẩn bị biểu mẫu phiếu xử lý tế bào gốc bất đồng nhỏ nhóm máu, mã tài liệu **BM1/QTKT.A46.5.2**, và phiếu xử lý tế bào gốc bất đồng lớn nhóm máu, mã tài liệu **BM2/QTKT.A46.5.2**;

6.5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật

- 8 giờ/ mẫu

6.5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Phòng sạch xử lý/ chế biến tế bào Trung tâm Tế bào gốc - Bệnh viện Nhi Trung Ương.

6.5.9. Kiểm tra hồ sơ

- Kiểm tra thông tin khối tế bào gốc sau thu thập đúng bệnh nhân và người cho tế bào gốc.

6.6. Tiến hành quy trình kỹ thuật

	BỘ Y TẾ	Trang 7 trên 12
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.5.2
	Quy trình kỹ thuật xử lý tế bào gốc bằng phương pháp thủ công bất đồng nhóm máu ABO	02/06/2025

- Trước khi vào phòng xử lý TBG cần rửa tay theo quy trình vệ sinh tay thường quy, mã tài liệu QTKT.A46.15 và mặc đồ bảo hộ theo quy định vào phòng sạch;

- Sau khi vào phòng sạch, khởi động tủ ATSH cấp II theo Hướng dẫn sử dụng tủ ATSH cấp II mã tài liệu S Sát khuẩn bằng cồn tất cả các vật tư trước khi đưa vào tủ ATSH.

- Ghi thông tin mẫu bằng bút dạ và/hoặc dán barcode thông tin mẫu/bệnh nhân lên tất cả các túi xử lý, ống rút mẫu, chai cấy, túi lưu trữ đông lạnh và hộp bảo quản (nếu mẫu có lưu trữ đông lạnh);

- Mã số của khối tế bào gốc được quy định như sau: nguồn tế bào gốc/năm/tháng/ngày/số thứ tự mẫu trong ngày. Ví dụ mẫu tế bào gốc đầu tiên được thu thập ngày 01/01/2024 từ máu ngoại vi thì sẽ có mã số là PBSC20240101-01; Mẫu TBG thứ 2 được thu thập ngày 01/01/2024 từ tủy xương thì sẽ có mã số là BM20240101-02;

- Cân túi chứa tế bào gốc sau thu thập. Tính thể tích V1:

$$V1 = (\text{Trọng lượng túi tế bào gốc sau thu thập} - \text{trọng lượng vỏ túi}) / 1,05$$

Trong đó: trọng lượng vỏ túi sản phẩm bộ kit P1Ya là 72 gram, túi tủy 600ml là 45 gram.

- Rút 1,5 ml mẫu xét nghiệm CTM, CD34, cấy trước xử lý, tính thể tích sau rút mẫu:

$$V2 = V1 - 1,5$$

- Tính TNC, MNC, CD34 trước xử lý:

$$TNC \times 10^8 = (WBC + NRBC) \times V2/100$$

$$MNC \times 10^8 = (Lym + Mono) \times V2/100$$

$$CD34 \times 10^5 = \text{số lượng CD34 (tế bào/}\mu\text{l)} \times V2/100$$

- Loại bỏ dung dịch chống đông và dịch nuôi dưỡng hồng cầu trong bộ túi máu ba 350ml hoặc 450ml trong tủ ATSH. Dùng kẹp khóa đường ống giữa các túi.

- Chuẩn bị dung dịch human albumin (HAS) 5% (có thể pha từ human albumin 20% trong nước muối 0,9%).

6.6.1. Trường hợp bất đồng nhỏ nhóm máu ABO

a) Sản phẩm TBG gạn tách từ máu ngoại vi

- Ly tâm túi sản phẩm tốc độ 850 g trong 15 phút (tăng tốc mức 9, giảm tốc mức 3)

- Nhẹ nhàng treo túi lên bàn ép, ép bỏ hết huyết tương, thu lấy phần tế bào.

	BỘ Y TẾ	Trang 8 trên 12
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.5.2
	Quy trình kỹ thuật xử lý tế bào gốc bằng phương pháp thủ công bất đồng nhóm máu ABO	02/06/2025

- Thêm dung dịch HSA 5% sao cho thể tích HSA gấp ít nhất 2-3 lần thể tích cặn tế bào thu được sau bước ly tâm ở trên.

- Ly tâm chương trình rửa tế bào 300g trong 15 phút (tăng tốc mức 9, giảm tốc mức 3).

- Nhẹ nhàng treo túi lên bàn ép, ép bỏ hết phần dịch phía trên, thu lấy toàn bộ tế bào.

- Cân túi tế bào và tính thể tích tế bào sau khi rửa V3.

- Trộn đều mẫu, rút 0,5 ml cho xét nghiệm đếm CTM và CD34, 1 ml cho cấy máu sau xử lý. Tính thể tích tế bào gốc sau khi rút mẫu V4.

b) Sản phẩm TBG từ tủy xương

- Chuyển khối TBG vào túi định - đầy trong bộ túi lấy máu bốn 450 (nếu V1 > 400 ml thì chia khối TBG vào 2 túi).

- Ly tâm tốc độ 1500 vòng/ phút (722g) trong 10 phút;

- Treo túi định đầy chứa mẫu lên, mở khóa giữa túi định - đầy và 1 túi rỗng phía dưới, thao tác nhẹ nhàng từ từ chuyển hồng cầu sang một túi rỗng sau đó kẹp dây lại; Chú ý giữ lại phần buffycoat tối đa tránh mất tế bào gốc tạo máu.

- Nhẹ nhàng chuyển túi lên bàn ép, ép huyết tương sang túi rỗng phía trên túi định - đầy (chú ý không ép kiệt để tránh mất tế bào);

- Trộn đều túi buffycoat, chuyển sang túi rỗng còn lại;

- Dồn các túi buffycoat vào một túi (trong trường hợp chia túi xử lý), hàn dây cắt rời túi buffycoat.

- Thêm dung dịch human albumin 5% với thể tích gấp 3 lần thể tích buffycoat, trộn đều mẫu.

- Kết nối túi buffycoat với 1 túi rỗng vô trùng bằng máy hàn nối ống vô trùng.

- Ly tâm chương trình rửa tế bào 300g trong 15 phút (tăng tốc mức 9, giảm tốc mức 3).

- Nhẹ nhàng treo túi lên bàn ép, ép bỏ hết phần dịch phía trên, thu lấy toàn bộ tế bào.

$$V3 = (\text{trọng lượng túi buffycoat sau rửa} - \text{trọng lượng vỏ túi}) / 1,03$$

- Trộn đều mẫu, rút 0,5 ml cho xét nghiệm đếm CTM và CD34, 1 ml cho cấy máu sau xử lý. Tính thể tích tế bào gốc sau khi rút mẫu V4.

6.6.2. Trường hợp bất đồng lớn hoặc bất đồng hai chiều

6.6.2.1. Thu buffycoat 1

- Sau khi đếm CTM tính thể tích HC có trong túi sản phẩm:

$$\text{Thể tích HC ban đầu} = V2 \times \text{HCT} \times \text{độ pha loãng (mL)}$$

	BỘ Y TẾ	Trang 9 trên 12
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.5.2
	Quy trình kỹ thuật xử lý tế bào gốc bằng phương pháp thủ công bất đồng nhóm máu ABO	02/06/2025

- Chuyển khối TBG vào túi định - đáy trong bộ túi lấy máu bốn 450 (nếu V1 > 400 ml thì chia khối TBG vào 2 túi);

- Dung dịch HES 6% (trọng lượng phân tử 130/0,4) được thêm vào mỗi túi 50% so với thể tích khối TBG (nếu sử dụng HES trọng lượng phân tử 600 thì thể tích cần thêm là 15%), trộn đều mẫu với HES;

- Treo túi tùy lên để lắng tự nhiên trong 45-90 phút tùy theo mức độ lắng hồng cầu;

- Sau khi hồng cầu lắng khoảng ½ túi, kẹp dây giữa túi TBG và túi rỗng phía dưới, mở khóa dây, mở hé kẹp để hồng cầu chảy từ từ xuống, loại tối đa đông cầu;

- Nhẹ nhàng chuyển túi TBG lên bàn ép HT, loại tối đa HT vào túi rỗng phía trên;

- Nếu túi sản phẩm ban đầu được chia nhỏ ra, trộn các túi buffycoat thu được dồn thành 1 túi (buffycoat 1).

- Cân, tính thể tích túi buffycoat 1 (V3) thu được:

$$V3 = (\text{Trọng lượng túi buffycoat 1} - \text{trọng lượng vỏ túi}) / 1,03$$

- Trộn đều, rút 0,5 ml đếm CTM, thể tích buffycoat 1 còn lại:

$$V4 = V3 - 0,5$$

- Tính TNC và hiệu suất thu hồi TNC theo các công thức:

$$TNC \times 10^8 = (WBC + NRBC) \times V4 / 100$$

$$H = \frac{\text{TNC buffycoat 1}}{\text{TNC trước xử lý}} \times 100\%$$

- Hàn cắt bỏ túi HC và HT khi hiệu suất thu hồi buffycoat 1 đạt > 80%

- Tính thể tích hồng cầu trong buffycoat 1 (HC trái nhóm):

$$V \text{ hồng cầu} = V4 \times HCT \times \text{độ pha loãng (mL)}$$

6.6.2.2. Trộn buffycoat 1 với khối hồng cầu O chiếu xạ lọc BC, CMV (-)

- Trộn đều khối hồng cầu O đã chiếu xạ, CMV (-), lọc BC, rút 1 ml đếm CTM

- Tính thể tích HC O = V (Khối hồng cầu O thêm vào) x HCT

- Trộn khối hồng cầu O với túi buffycoat 1

- Tính % HC người cho:

$$A = \frac{\text{Thể tích HC trong buffycoat 1}}{\text{Tổng thể tích HC trong buffycoat 1 + HC trong túi HC nhóm O}} \times 100\%$$

	BỘ Y TẾ	Trang 10 trên 12
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.5.2
	Quy trình kỹ thuật xử lý tế bào gốc bằng phương pháp thủ công bất đồng nhóm máu ABO	02/06/2025

6.6.2.3. Thu buffycoat 2

- Thêm 50 mL dung dịch human albumin 5% (pha từ human albumin 20% và nước muối sinh lý 0,9%) trộn đều;

- Kết nối đỉnh và đáy túi TBG với túi rỗng;

- Ly tâm túi hỗn hợp sau khi trộn 1500 vòng/phút (722g) trong 10 phút, tách buffycoat 2 (thực hiện thao tác giống tách buffycoat 1);

- Cân và tính thể tích buffycoat 2:

$$V5 = (\text{Trọng lượng túi buffycoat 2} - \text{trọng lượng vỏ túi})/1,03$$

- Rút 1,5 ml mẫu đếm CTM, CD34, cấy máu (chú ý pha loãng mẫu trước khi đếm CTM), tính thể tích buffycoat 2 sau rút mẫu:

$$V6 = V5 - 1,5$$

- Tính thể tích HC trong túi buffycoat 2:

$$B = V6 \times \text{HCT (ml)}$$

- Tính thể tích HC người cho còn lại trong túi buffycoat 2

$$\text{Thể tích HC người cho còn lại} = A \times B \text{ (ml)}$$

Lưu ý: Thể tích HC còn lại phải đạt < 0,5 ml/kg cân nặng bệnh nhân.

- Tính TNC và hiệu suất thu hồi TNC theo các công thức:

$$\text{TNC} \times 10^8 = (\text{WBC} + \text{NRBC}) \times V6/100$$

$$H = \frac{\text{TNC sau xử lý}}{\text{TNC trước xử lý}} \times 100\%$$

- Tính MNC và hiệu suất thu hồi MNC theo các công thức:

$$\text{MNC} \times 10^8 = (\text{Lym} + \text{Mono}) \times V6/100$$

$$H = \frac{\text{MNC sau xử lý}}{\text{MNC trước xử lý}} \times 100\%$$

- Tính CD34 và hiệu suất thu hồi CD34 theo công thức:

$$\text{CD34} \times 10^5 = \text{số lượng CD34 (tế bào/}\mu\text{l)} \times V6/100$$

$$H = \frac{\text{Số lượng CD34 sau xử lý}}{\text{Số lượng CD34 trước xử lý}} \times 100\%$$

- Từ số lượng TNC, CD34 trong sản phẩm sau xử lý, chia cho cân nặng bệnh nhân để tính liều TNC và liều CD34 ghép cho bệnh nhân.

	BỘ Y TẾ	Trang 11 trên 12
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.5.2
	Quy trình kỹ thuật xử lý tế bào gốc bằng phương pháp thủ công bất đồng nhóm máu ABO	02/06/2025

6.6.3. Pha loãng khối tế bào gốc

Pha loãng khối tế bào gốc trước khi truyền cho bệnh nhân bằng HAS 5% sao cho thể tích cuối cùng $V7 < 20 \text{ ml/kg}$ cân nặng bệnh nhân.

6.6.4. Kết thúc quy trình

- Dán nhãn, điền thông tin người cho, người nhận lên túi tế bào gốc, thông tin sản phẩm tế bào gốc (thể tích, liều CD34, ...).

- Hoàn thiện biểu mẫu Phiếu xử lý TBG bất đồng nhóm máu:

+ Trường hợp bất đồng nhỏ mã tài liệu BM1/QTKT.A46.5.2

+ Trường hợp bất đồng lớn mã tài liệu BM2/QTKT.A46.5.2

- Hoàn thiện phiếu truyền chế phẩm TBG mã BM1/QTKT.A46.10

- Vận chuyển khối TBG đến phòng ghép TBG theo QTKT.A46.17

- Nếu không truyền ngay có thể bảo quản trong tủ lạnh $2-8^{\circ}\text{C}$ trong 24 giờ.

- Nếu lưu trữ đông lạnh, thực hiện tiếp các bước theo quy trình:

+ Đông lạnh khối TBG bằng hệ thống hạ nhiệt QTKT.A46.8.2

+ Bảo quản đông lạnh khối TBG bằng bình chứa nitơ lỏng QTKT.A46.9.2

6.7. Theo dõi và xử trí tai biến

Không áp dụng

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Austin Christensen, FenFen Hsieh, Michael Boyer, Daniel Couriel, and Jo-Anna Reems, Red cell depletion of major ABO Incompatible bone marrow hematopoietic progenitor cells HPC(M) with the Spectra Optia, Annals of Clinical & Laboratory Science, vol. 50, no. 6, 2020

2. Nicola Daniele, Maria Cristina Scerpa, Cecilia Rossi, Alessandro Lanti, Gaspare Adorno, Giancarlo Isacchi, Francesco Zinno, The processing of stem cell concentrates from the bone marrow in ABO-incompatible transplants: how and when, Blood Transfusion 2014; 12: 150-8

3. Andrea Jarisch, Emilia Salzmänn-Manrique, Jan Soerensen, Gudrun Sach, Eva Rettinger, Andre Willasch, Shahrzad Bakhtiar, Dieter Klarmann, Susanne Brauninger, Laura Moser, Julia Fekadu, Martin Hutter, Thomas Klingebiel, Jan-Henning Klusmann, Peter Bader, Halvard Bonig, Donor-type red blood cell transfusion to deplete isoagglutinins prior to allogeneic stem cell transplantation from ABO major incompatible bone marrow donors, Br J Haematol. 2023;201:1159-1168

4. L. Fantin, C.V. Olivieri, F. Spirito-Daffara, A. Doglio, S. Olivero, A comparison of two protocols for optimal red blood cell depletion using Sepax-2

	BỘ Y TẾ	Trang 12 trên 12
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.5.2
	Quy trình kỹ thuật xử lý tế bào gốc bằng phương pháp thủ công bất đồng nhóm máu ABO	02/06/2025

device for ABOmajor incompatible transplantation in adults, Current Research in Translational Medicine, Volume 67, Issue 3, August 2019, Pages 107-111

5. Soo-Zin Kim-Wanner, Gesine Bug, Juliane Steinmann, Salem Ajib, Nadine Sorg, Carolin Poppe, Milica Bunos, Eva Wingenfeld, Christiane Hümmer, Beate Luxembourg, Erhard Seifried, and Halvard Bonig, Erythrocyte depletion from bone marrow: performance evaluation after 50 clinical-scale depletions with Spectra Optia BMC, J Transl Med, 2017; 15: 174.

6. Claudia Del Fante, Luigia Scudeller, Santina Recupero, Gianluca Viarengo, Stella Boghen, Antonella Gurrado, Marco Zecca, Jerard Seghatchian, Cesare Perotti, Automated red blood cell depletion in ABO incompatible grafts in the pediatric setting, Transfus Apher Sci, 2017 Dec, 56(6):895-899.

7. Scott T. Avecilla, Steven M. Marionneaux, Tyler D. Leiva, Jo-ann Tonon, Virgil T. Chan, Christine Moun, Richard C. Meagher, and Peter Maslak, 2015, Comparison of manual hematocrit determinations versus automated methods for hematopoietic progenitor cell apheresis products, Transfusion, 56 (2), 528-532.

8. Francesco Zinno, et al., 2011, Processing of hematopoietic stem cells from peripheral blood before cryopreservation: use of a closed automated system, Transfusion.



**PHIẾU XỬ LÝ TẾ BÀO GỐC
BẤT ĐỒNG NHỎ NHÓM MÁU ABO**

I. Thông tin bệnh nhân

Người cho:	Người nhận:
MSBA:	MSBA:
Nhóm máu:	Khoa phòng:
Nguồn tế bào gốc:	Chẩn đoán:
☐ Máu ngoại vi; ☐ Tủy xương	Cân nặng:Nhóm máu:

II. Hóa chất và vật tư tiêu hao chính

Tên hóa chất/ vật tư	Hãng sản xuất	Lô/ Lot	Hạn sử dụng
Túi lưu trữ			
DMSO			
Human albumin			

III. Thông tin xử lý

Ngày xử lý: / /

Phương pháp xử lý: ☐ Loại huyết tương; ☐ Loại hồng cầu

	Chỉ số	Kết quả	Ghi chú
V1	Thể tích túi tế bào gốc + chống đông (mL)		
V2	Thể tích sau rút mẫu (V1-V rút mẫu) (mL)		
V3	Thể tích tế bào sau loại huyết tương và một phần hồng cầu (nếu có)(mL)		
V4	Thể tích tế bào sau rút mẫu (V3-V rút mẫu) (mL)		
	Số lượng TNC ($\times 10^8$) (tế bào)		
	Số lượng CD34 ($\times 10^6$) (tế bào)		
V5	Thể tích truyền cho bệnh nhân (mL) (truyền tươi sau xử lý, không lưu trữ đông lạnh)		

IV. Hiệu suất xử lý tế bào

Các thông số	TNC $\times 10^8$	MNC $\times 10^8$	CD34 $\times 10^5$
Trước xử lý			
Sau xử lý			
Hiệu suất (%)			

V. Thông tin lưu trữ

	Mã mẫu 1:	Mã mẫu 2:
Tổng thể tích lưu trữ	... ml	... ml
Liều CD34/kg	... x 10 ⁶ /kg	... x 10 ⁶ /kg
DMSO	... ml	... ml
Huyết tương tự thân/ human albumin 5% trong NaCl 0.9%	... ml	... ml
Vị trí lưu mẫu tế bào gốc		
Vị trí lưu cryotube		

NHÂN VIÊN XỬ LÝ

Ngày tháng năm 202...

TRUNG TÂM TẾ BÀO GỐC



**PHIẾU XỬ LÝ TẾ BÀO GỐC
BẤT ĐỒNG LỚN NHÓM MÁU ABO**

I. Thông tin bệnh nhân

Người cho:	Người nhận:
MSBA:	MSBA:
Nhóm máu:	Khoa phòng:
Nguồn tế bào gốc:	Chẩn đoán:
☐ Máu ngoại vi; ☐ Tủy xương	Cân nặng:Nhóm máu:

II. Hóa chất và vật tư tiêu hao chính

Tên hóa chất/ vật tư	Hãng sản xuất	Lô/ Lot	Hạn sử dụng
Túi lưu trữ			
DMSO			
Human albumin			

III. Thông tin xử lý

Ngày xử lý: / /

	Chỉ số	Kết quả	Ghi chú
V1	Thể tích túi tế bào gốc + chống đông (mL)		
V2	Thể tích sau rút mẫu (V1-V rút mẫu) (mL)		
	Thể tích hồng cầu trái nhóm ban đầu (V2 x HCT) (mL)		
V3	Thể tích buffycoat 1 thu được(mL)		
V4	Thể tích buffycoat 1 sau rút mẫu (V3-V rút mẫu) (mL)		
	Thể tích hồng cầu trái nhóm còn lại trong buffycoat 1 (V4 x HCT x độ pha loãng) (mL)		
	Mã đơn vị khối hồng cầu nhóm máu O		
	Thể tích khối hồng cầu O tia xạ lọc BC thêm vào (mL)		
	Thể tích hồng cầu nhóm máu O trong khối hồng cầu thêm vào (V x HCT)		
	% HC người cho sau khi trộn buffycoat 1 với KHC O $A = (\text{Thể tích HC trong buffycoat 1}) / (\text{tổng thể tích HC trong buffy 1} + \text{HC trong túi HC O}) \times 100\%$		

V5	Thể tích buffycoat 2 thu được (mL)		
V6	Thể tích buffycoat 2 sau rút mẫu (mL)		
	Thể tích hồng cầu trong buffycoat 2 ($B = V6 \times HCT$) (mL)		
	Thể tích HC người cho còn lại trong buffycoat 2 ($A \times B$) (mL)		
	Số lượng CD34 ($\times 10^6$) (tế bào)		
	Liều CD34/kg		
	Liều TNC $\times 10^8$ /kg		
V7	Thể tích truyền cho bệnh nhân (mL)		

IV. Hiệu suất xử lý tế bào

	TNC $\times 10^8$	MNC $\times 10^8$	CD34 $\times 10^5$
Tế bào gốc trước xử lý			
Buffycoat 1			
Buffycoat 2			
Hiệu suất (%)			

V. Thông tin lưu trữ

	Mã mẫu 1:	Mã mẫu 2:
Tổng thể tích lưu trữ	... ml	... ml
Liều CD34/kg	... $\times 10^6$ /kg	... $\times 10^6$ /kg
DMSO	... ml	... ml
Huyết tương tự thân/ human albumin 5%	... ml	... ml
Vị trí lưu mẫu PBSC		
Vị trí lưu cryotube		

NHÂN VIÊN XỬ LÝ

Ngày tháng năm 202...
TRUNG TÂM TẾ BÀO GỐC

BỘ Y TẾ
BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG



QUY TRÌNH KỸ THUẬT XỬ LÝ TẾ BÀO GỐC
BẰNG PHƯƠNG PHÁP THỦ CÔNG
PHÙ HỢP NHÓM MÁU ABO
QTKT.A46.6.2

Phiên bản: 2.0

Ngày hiệu lực: 02/06/2025

	Họ tên	Chức vụ	Chữ ký
Soạn thảo	Hà Thị Phương	Nhân viên Trung tâm Tế bào gốc	
Xem xét	Nguyễn Thanh Bình	Phụ trách Trung tâm Tế bào gốc	
Phê duyệt	Cao Việt Tùng	Phó Giám đốc Bệnh viện	

Hà Nội – 2025



	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 2 trên 9</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTKT.A46.6.2</i>
	<i>Quy trình kỹ thuật xử lý tế bào gốc bằng phương pháp thủ công phù hợp nhóm máu ABO</i>	<i>02/06/2025</i>

Lịch sử thay đổi tài liệu

Phiên bản	Ngày hiệu lực	Sửa đổi
1.0	01/06/2023	Phiên bản mới
1.0	02/01/2024	Soát xét định kỳ không thay đổi nội dung
2.0	02/06/2025	Thay đổi mã tài liệu

Phân phối

Đơn vị Ngân hàng Tế bào gốc- Trung tâm Tế bào gốc: 01 bản

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 3 trên 9</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTKT.A46.6.2</i>
	<i>Quy trình kỹ thuật xử lý tế bào gốc bằng phương pháp thủ công phù hợp nhóm máu ABO</i>	<i>02/06/2025</i>

1. MỤC ĐÍCH

- Quy trình kỹ thuật nhằm loại bỏ những thành phần không cần thiết cho mục đích cấy ghép trong khối tế bào gốc từ tủy xương và máu ngoại vi (chủ yếu áp dụng đối với khối TBG từ tủy xương), giảm thể tích, loại hồng cầu cho khối tế bào gốc trước khi truyền cho bệnh nhân hoặc lưu trữ đông lạnh.

2. PHẠM VI ÁP DỤNG

- Áp dụng tại Trung tâm Tế bào gốc - Bệnh viện Nhi Trung ương.

3. TRÁCH NHIỆM

- Tất cả nhân viên Trung tâm Tế bào gốc đã được đào tạo có trách nhiệm tuân thủ đúng quy trình khi thực hiện và đề xuất nhu cầu xây dựng mới, sửa đổi/cập nhật, cải tiến và đảm bảo tính hiệu lực của quy trình này.

- Giám đốc/Phó giám đốc Bệnh viện Nhi Trung ương có trách nhiệm phê duyệt quy trình.

4. NHỮNG NGƯỜI QUẢN LÝ, GIÁM SÁT TUÂN THỦ QUY TRÌNH NÀY

- Lãnh đạo Trung tâm Tế bào gốc, kỹ thuật y trường, nhân viên quản lý chất lượng, nhân viên quản lý kỹ thuật chịu trách nhiệm quản lý, giám sát sự tuân thủ quy trình kỹ thuật của nhân viên.

- Nhân viên kiểm soát tài liệu chịu trách nhiệm phân phối tài liệu phiên bản mới nhất, thu hồi phiên bản cũ.

- Tất cả nhân viên Trung tâm Tế bào gốc đã được đào tạo có trách nhiệm áp dụng, tuân thủ việc thực hiện và đề xuất cải tiến quy trình.

5. VIẾT TẮT

TBG: Tế bào gốc

ATSH: An toàn sinh học

TNC: Total Nucleated Cells (tổng tế bào có nhân)

NRBC: Nucleated Red Blood Cell (tế bào hồng cầu có nhân)

6. NỘI DUNG

6.1. Đại cương

6.1.1. Nguyên lý

Khối tế bào gốc sau khi thu thập có thể tích lớn. Sử dụng phương pháp ly tâm phân lớp để tách riêng lớp buffycoat, loại bỏ một phần lớn hồng cầu và huyết tương trước khi truyền cho bệnh nhân hoặc lưu trữ đông lạnh.

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 4 trên 9</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTKT.A46.6.2</i>
	<i>Quy trình kỹ thuật xử lý tế bào gốc bằng phương pháp thủ công phù hợp nhóm máu ABO</i>	<i>02/06/2025</i>

6.1.2. Mục đích của kỹ thuật

Các tế bào hồng cầu không cần thiết cho quá trình cấy ghép, thậm chí có tế bào hồng cầu trong quá trình cấy ghép có thể nguy hiểm vì một số lý do. Lý do quan trọng nhất khiến hồng cầu gây nguy hiểm cho bệnh nhân là chúng có xu hướng không tồn tại được trong quá trình đông băng và tan băng. Các tế bào hồng cầu trải qua quá trình "phân giải" trong quá trình bảo quản lạnh hoặc rã đông, có thể khiến bệnh nhân bị bệnh nặng do ảnh hưởng đến chức năng thận và có thể gây tử vong. Vì tất cả những lý do trên, việc loại bỏ hồng cầu trước khi bảo quản là rất cần thiết.

Huyết tương cần loại bỏ nhằm giảm thể tích cho khối tế bào gốc, giảm lượng chất bảo quản cần thiết, đưa về thể tích phù hợp để truyền cho bệnh nhân hoặc lưu trữ đông lạnh.

6.2. Chỉ định

- Khối TBG có thể tích lớn, lượng hồng cầu nhiều (thường gặp tế bào gốc từ tủy xương).

- + Nếu bệnh nhân truyền luôn không lưu trữ thì thể tích TBG $\geq 20\text{ml/kg}$ cần thiết phải loại hồng cầu và huyết tương theo quy trình này.

- + Nếu lưu trữ đông lạnh thì xử lý loại hồng cầu và giảm thể tích là bắt buộc đối với TBG từ tủy xương.

6.3. Chống chỉ định

Không áp dụng

6.4. Thận trọng

- Mọi thao tác hờ đối với mẫu phải làm trong tủ ATSH.

6.5. Chuẩn bị

6.5.1. Người thực hiện

a) Nhân lực trực tiếp: 01 kỹ thuật y hoặc bác sỹ.

b) Nhân lực hỗ trợ: 01 kỹ thuật y.

6.5.2. Thuốc

Không áp dụng.

6.5.3. Vật tư, hóa chất

a) Vật tư

	BỘ Y TẾ	Trang 5 trên 9
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.6.2
	Quy trình kỹ thuật xử lý tế bào gốc bằng phương pháp thủ công phù hợp nhóm máu ABO	02/06/2025

STT	Danh mục	Đơn vị	Số lượng
1	Quần áo vô trùng/ áo phẫu thuật	Cái	01
2	Mũ vô trùng	Cái	01
3	Khẩu trang vô trùng	Cái	01
4	Găng tay y tế	Cái	02
6	Găng tay vô trùng	Cái	02
7	Bơm tiêm 1 ml	Cái	02
8	Bơm tiêm 5 ml	Cái	04
9	Bơm tiêm 10 ml	Cái	02
10	Bơm tiêm 20 ml	Cái	01
11	Bơm tiêm 50 ml	Cái	01
12	Kim 18G	Cái	10
13	Dụng cụ rút mẫu (sampling site couple)	Cái	02
14	Bộ túi lấy máu bốn 450ml đỉnh-đáy hoặc bộ túi lấy máu ba 350ml	Bộ	02

b, Hóa chất

- 01 chai nước muối sinh lý 0,9% 100 ml

6.5.4. Trang thiết bị

STT	Danh mục	Đơn vị	Số lượng
1	Phòng sạch đảm bảo vô trùng	Cái	01
2	Tủ an toàn sinh học cấp II	Cái	01
3	Máy ly tâm lạnh túi máu	Cái	01
4	Tủ lạnh	Cái	01

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	<i>Trang 6 trên 9</i>
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.6.2
	<i>Quy trình kỹ thuật xử lý tế bào gốc bằng phương pháp thủ công phù hợp nhóm máu ABO</i>	<i>02/06/2025</i>

6	Bàn ép túi máu	Cái	01
7	Máy lắc túi máu	Cái	01
8	Máy hàn dây túi máu	Cái	01
9	Máy hàn nối dây túi máu vô trùng	Cái	01
10	Pank, kẹp	Cái	02

6.5.5. Người bệnh

- Không áp dụng

6.5.6. Hồ sơ bệnh án

- Chuẩn bị biểu mẫu Phiếu xử lý TBG phù hợp nhóm máu mã tài liệu **BM1/QTKT.A46.6**

- Chuẩn bị biểu mẫu Phiếu thông tin TBG mã tài liệu **BM2/QTKT.A46.6**

- Chuẩn bị tem/ barcode: In 4 code xét nghiệm đếm tế bào gốc CD34 để dán vào túi TBG và hộp bảo quản đông lạnh (trong trường hợp lưu trữ đông lạnh).

6.5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật

3 giờ

6.5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng sạch xử lý/ chế biến tế bào, Trung tâm Tế bào gốc.

6.5.9. Kiểm tra hồ sơ

Kiểm tra thông tin mẫu tế bào gốc đúng tên người hiến/ bệnh nhân lấy tế bào gốc.

6.6. Tiến hành quy trình kỹ thuật

6.6.1. Bước 1: Trước khi vào phòng sạch

- Rửa tay theo quy trình vệ sinh tay thường quy QTKT.A46.15
- Đội mũ, đeo khẩu trang và mặc áo vô trùng (áo phẫu thuật) theo quy định.

6.6.2. Bước 2: Sau khi vào phòng sạch

- Khởi động tủ ATSH theo hướng dẫn sử dụng tủ ATSH mã tài liệu **HDCV.A46.7**;

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 7 trên 9
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.6.2
	Quy trình kỹ thuật xử lý tế bào gốc bằng phương pháp thủ công phù hợp nhóm máu ABO	02/06/2025

- Sát khuẩn bằng cồn 70° các dụng cụ và vật tư trước khi đưa vào tủ ATSH;
- Ghi thông tin mẫu bằng bút dạ và/hoặc dán barcode thông tin mẫu/bệnh nhân lên tất cả các túi xử lý, ống rút mẫu, chai cấy, túi lưu trữ đông lạnh và hộp bảo quản (nếu mẫu có lưu trữ đông lạnh); Mã số của khối tế bào gốc được quy định như sau: nguồn tế bào gốc/năm/tháng/ngày/số thứ tự mẫu trong ngày. Ví dụ mẫu tế bào gốc đầu tiên được thu thập ngày 01/01/2024 từ máu ngoại vi thì sẽ có mã số là PBSC20240101-01; Mẫu TBG thứ 2 được thu thập ngày 01/01/2024 từ tủy xương thì sẽ có mã số là BM20240101-02).
- Khối TBG sau khi thu hoạch xong cân khối lượng, tính thể tích V1:
+ Túi sản phẩm từ bộ kit P1Ya có thể tích:
$$V1 = (\text{khối lượng sản phẩm} - 72) / 1,05$$

(Trong đó khối lượng vỏ túi sản phẩm là 72 gram)
- + Túi sản phẩm từ bộ kit thu thập tủy 600 ml Fresenius Kabbi có thể tích:
$$V1 = (\text{Khối lượng sản phẩm} - 45) / 1,05$$

(Trong đó khối lượng vỏ túi sản phẩm là 45 gram)
- Rút 0,5 ml mẫu đếm CTM, 1ml cấy máu;
- Tính thể tích TBG còn lại sau rút mẫu:
$$V2 = V1 - 1,5$$
- Loại bỏ hết dịch chống đông và dịch nuôi dưỡng hồng cầu trong bộ túi bốn 450, kẹp dây nối giữa túi đỉnh - đáy và các túi còn lại;
- Chuyển khối TBG vào túi đỉnh - đáy trong bộ túi lấy máu bốn 450 (nếu $V1 > 400$ ml thì chia khối TBG vào 2 túi);
- Ly tâm tốc độ 1500 vòng/phút (722 g) trong 10 phút;
- Treo túi đỉnh đáy chứa mẫu lên, mở khóa giữa túi đỉnh - đáy và 1 túi rỗng phía dưới, thao tác nhẹ nhàng từ từ chuyển hồng cầu sang một túi rỗng sau đó kẹp dây lại; Chú ý giữ lại phần buffycoat tối đa tránh mất tế bào gốc tạo máu.
- Nhẹ nhàng chuyển túi lên bàn ép, ép huyết tương sang túi rỗng phía trên túi đỉnh - đáy (chú ý không ép kiệt để tránh mất tế bào);
- Trộn đều túi buffycoat, chuyển sang túi rỗng còn lại;
- Dồn các túi buffycoat vào một túi (trong trường hợp chia túi xử lý), hàn dây cắt rời túi buffycoat cân tính thể tích V3:

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 8 trên 9
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.6.2
	Quy trình kỹ thuật xử lý tế bào gốc bằng phương pháp thủ công phù hợp nhóm máu ABO	02/06/2025

$$V3 = (\text{trọng lượng túi buffycoat} - \text{trọng lượng vỏ túi}) / 1,03$$

6.6.3. Bước 3. Rút mẫu đếm CTM, CD34, cấy máu

- Trộn đều buffycoat trên máy lắc trong 5 phút, rút mẫu 0,5 ml đếm công thức máu và CD34;

- Tính thể tích buffycoat (TBG sau xử lý) sau rút mẫu:

$$V4 = V3 - 0,5$$

- Tính hiệu suất thu hồi TNC:

+ Tính TNC trước xử lý:

$$TNC \times 10^8 = (WBC + NRBC) \times V2/100$$

+ Tính TNC sau xử lý:

$$TNC \times 10^8 = (WBC + NRBC) \times V4/100$$

+ Tính số lượng tế bào gốc CD34 trước xử lý:

$$CD34 \times 10^5 = \text{số lượng CD34 (tế bào/}\mu\text{l)} \times V2/100$$

+ Tính số lượng tế bào gốc CD34 sau xử lý:

$$CD34 \times 10^5 = \text{số lượng CD34 (tế bào/}\mu\text{l)} \times V4/100$$

+ Hiệu suất thu hồi TNC:

$$H\% = (TNC \text{ sau xử lý} / TNC \text{ trước xử lý}) \times 100\%$$

+ Hiệu suất thu hồi CD34:

$$H\% = (\text{tổng CD34 sau xử lý} / \text{tổng CD34 trước xử lý}) \times 100\%$$

+ Nếu hiệu suất thu hồi TNC > 80% là đạt. Gửi mẫu xét nghiệm đếm CD34 khi hiệu suất đạt;

+ Nếu hiệu suất thu hồi TNC < 80% và liều tế bào/kg bệnh nhân thấp thì có thể chuyển hồng cầu và huyết tương vào túi định - đáy, lặp lại bước ly tâm để thu thêm buffycoat; các bước tính toán TNC, CD34, hiệu suất như trên;

- Để bảo quản 2-8°C trước khi truyền cho bệnh nhân, có thể pha loãng buffycoat bằng huyết tương tự thân hoặc human albumin 5% trước khi truyền sao cho thể tích truyền < 20 ml/kg cân nặng bệnh nhân;

- Nếu lưu trữ đông lạnh thì thực hiện theo quy trình đông lạnh khối TBG bằng hệ thống hạ nhiệt QTKT.A46.8 và bảo quản khối TBG đông lạnh QTKT.A46.9

	BỘ Y TẾ	Trang 9 trên 9
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.6.2
	Quy trình kỹ thuật xử lý tế bào gốc bằng phương pháp thủ công phù hợp nhóm máu ABO	02/06/2025

6.6.5. Kết thúc quy trình

- Hoàn thành phiếu xử lý khối TBG phù hợp nhóm máu ABO theo biểu mẫu BM1/QTKT.A46.6
- Hoàn thiện phiếu thông tin mẫu TBG biểu mẫu BM2/QTKT.A46.6
- Ghi nhật ký máy ly tâm, tủ ATSH, máy hạ nhiệt;
- Lưu hồ sơ xử lý, lưu trữ vào file Ghép tế bào gốc và lưu bản mềm trên máy tính;
- Lưu sơ đồ vị trí mẫu, vị trí cryotube trên sơ đồ lưu trong Google drive (nếu mẫu có bảo quản đông lạnh)

6.7. Theo dõi và xử trí tai biến

Không áp dụng

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lt. Gen. (Dr) Velu Nair, Dr. Geeta Jotwani, Dr. Gitika Kharkwal, National guidelines for hematopoietic cell transplantation, Indian Council of Medical Research, New Delhi, 2021



PHIẾU XỬ LÝ TẾ BÀO GỐC PHÙ HỢP NHÓM MÁU ABO

I. Thông tin bệnh nhân

Người cho:	Người nhận:
Ngày sinh:	Ngày sinh:
MSBA:	MSBA:
Nhóm máu:	Khoa phòng:
Nguồn TBG: ☐ Máu ngoại vi; ☐ Tủy xương	Cân nặng: Nhóm máu:

II. Hóa chất, vật tư tiêu hao chính

Tên hóa chất/ vật tư	Hãng sản xuất	Lô/ Lot	Hạn sử dụng
Bộ túi máu ba/bốn			
Túi lưu trữ			
DMSO			

III. Thông tin xử lý

Ngày xử lý: ... / ... /

	Chỉ số	Kết quả	Ghi chú
V1	Thể tích túi TBG sau thu thập + chống đông (mL)		
V2	Thể tích TBG sau rút mẫu		
V3	Thể tích buffycoat thu được sau xử lý (mL)		
V4	Thể tích buffycoat sau rút mẫu		
	TNC trước xử lý ($\times 10^8$ tế bào)		
	TNC sau xử lý ($\times 10^8$ tế bào)		
	Hiệu suất thu hồi TNC (%)		
	Số lượng CD34 trước xử lý ($\times 10^6$ tế bào)		
	Số lượng CD34 sau xử lý ($\times 10^6$ tế bào)		
	Hiệu suất thu hồi CD34 (%)		

IV. Thông tin lưu trữ

	Mã mẫu 1:	Mã mẫu 2:
Tổng thể tích lưu trữ	... ml	... ml
Liều CD34/kg	... $\times 10^6$ /kg	... $\times 10^6$ /kg
DMSO	... ml	... ml
Huyết tương tự thân/ human albumin 5% trong NaCl 0.9%	... ml	... ml
Vị trí lưu mẫu TBG		
Vị trí lưu cryotube		

Ngày ... tháng ... năm 20...

Nhân viên xử lý

Trung tâm Tế bào gốc



PHIẾU THÔNG TIN MẪU TẾ BÀO GỐC

(Mã số mẫu:)

I. THÔNG TIN CHUNG

1.1. Thông tin bệnh nhân lấy tế bào gốc

Họ và tên: Ngày sinh: Giới tính:
Khoa/phòng điều trị: MSBN:
Số CCCD: Cấp ngày: Nơi cấp: CCSQLHC

1.2. Thông tin người giám hộ

Họ và tên: Ngày sinh: Giới tính:
Số CCCD: Cấp ngày: Nơi cấp: CCSQLHC
Địa chỉ: ĐT liên hệ:
Là.....của bệnh nhân

II. THÔNG TIN MẪU TẾ BÀO GỐC

2.1	Thông tin mẫu	
	Loại mẫu	☐ TBG Tủy xương; ☐ TBG ngoại vi
	Ngày thu hoạch; Ngày lưu trữ	/...../.....;/...../.....
	Vị trí lưu trữ/ Điều kiện lưu trữ	/Nitơ lỏng
2.2	Các chỉ số chất lượng	
	Thể tích	mL
	TNC (tổng số tế bào có nhân)	$\times 10^8$ tế bào
	MNC (tổng số tế bào đơn nhân)	$\times 10^8$ tế bào
	Số lượng tế bào gốc tạo máu CD34+	$\times 10^5$ tế bào

III. THÔNG TIN LIÊN HỆ

- Trung tâm Tế bào gốc, Bệnh viện Nhi Trung ương
- Điện thoại: 024.62738604; 0947691005; 0559968908

Hà Nội, ngày tháng năm 202...

Phụ trách Trung tâm

PGS.TS.BS. Nguyễn Thanh Bình

BỘ Y TẾ
BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG



QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM
ĐẾM TẾ BÀO GỐC CD34+ BẰNG KỸ THUẬT
FLOW CYTOMETRY TRÊN MÁY BD FACSCANTO II
QTXN.A42.2.1

Phiên bản: 2.0

Ngày hiệu lực: 02/06/2025

	Họ tên	Chức vụ	Chữ ký
Soạn thảo	Tạ Thị Thoa	Nhân viên Trung tâm Tế bào gốc	
Xem xét	Đặng Thị Hà	Trưởng khoa Miễn dịch Trung tâm Tế bào gốc	
	Nguyễn Thanh Bình	Phụ trách Trung tâm Tế bào gốc	
Phê duyệt	Cao Việt Tùng	Phó Giám đốc Bệnh viện	

Hà Nội – 2025



	BỘ Y TẾ	Trang 2 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTXN.A42.2.1
	Quy trình kỹ thuật xét nghiệm đếm tế bào gốc CD34+ bằng kỹ thuật Flow Cytometry trên máy BD FACSCantoII	02/06/2025

Lịch sử thay đổi tài liệu

Phiên bản	Ngày hiệu lực	Sửa đổi
1.0	01/01/2023	Soát xét không thay đổi nội dung
1.0	02/01/2024	Soát xét không thay đổi nội dung
1.0	02/06/2025	Soát xét không thay đổi nội dung

Phân phối

Khoa miễn dịch- Trung tâm Tế bào gốc: 01 bản

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 3 trên 11</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTXN.A42.2.1</i>
	<i>Quy trình kỹ thuật xét nghiệm đếm tế bào gốc CD34+ bằng kỹ thuật Flow Cytometry trên máy BD FACSCantoII</i>	<i>02/06/2025</i>

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

– Mô tả các bước thực hiện xét nghiệm đếm tế bào gốc tạo máu CD34+ trên máy BD FACScanto II tại khoa Miễn dịch - Trung tâm Tế bào gốc.

– Đếm tế bào gốc CD34+ có ý nghĩa quan trọng trong việc tính toán liều ghép tế bào gốc tạo máu cho bệnh nhân, kiểm soát quá trình huy động tế bào gốc ra máu ngoại vi, là một trong các chỉ tiêu đánh giá chất lượng khối mẫu dây rốn, khối tế bào gốc tủy xương...

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

1.2.1 Định nghĩa

– HPC (Hematopoietic Progenitor Cells): Tế bào tiền thân tạo máu

– CD34: Kháng nguyên CD34 là một họ gồm các glycoprotein chuỗi đơn xuyên màng loại I được glycosyl hóa khác nhau. Các tế bào gốc tạo máu mang kháng nguyên CD34 trên bề mặt tế bào, do đó dấu ấn CD34 được xem là dấu ấn đặc hiệu cho tế bào gốc tạo máu và được sử dụng trong xét nghiệm đếm số lượng tế bào gốc tạo máu.

– CD45: Được gọi là kháng nguyên bạch cầu. CD45 là một loại protein được biểu hiện trên bề mặt của tất cả các tế bào tạo máu và tế bào tiền thân của chúng, ngoại trừ hồng cầu và tiểu cầu.

1.2.2 Nguyên lý xét nghiệm

– Tế bào gốc tạo máu có kháng nguyên CD34 trên bề mặt. Ủ kháng thể CD34 gắn huỳnh quang với mẫu bệnh phẩm có tế bào gốc tạo máu, kháng thể này sẽ gắn đặc hiệu lên bề mặt tế bào mang CD34. Sử dụng ống BD trucount, kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang phân tích trên máy phân tích tế bào dòng chảy (flow cytometer) có thể đếm chính xác số lượng và tỷ lệ % tế bào gốc tạo máu CD34 trong mẫu bệnh phẩm.

– Thuốc nhuộm 7-AAD được thêm vào để đánh giá khả năng sống của các tế bào. Các tế bào được nhuộm với 7-AAD+ là tế bào chết. Ammonium clorua được thêm vào để ly giải các hồng cầu trước khi thu thập mẫu trên hệ thống phân tích dòng chảy tế bào.

2. CHUẨN BỊ

2.1 Người thực hiện:

– Kỹ thuật Y đã được đào tạo thành thạo xét nghiệm CD34 trên máy BD FACSCanto II: 01

– Bác sĩ kiểm soát, đánh giá kết quả xét nghiệm: 01

2.2 Vật tư

2.2.1 Hóa chất, sinh phẩm

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 4 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTXN.A42.2.1
	Quy trình kỹ thuật xét nghiệm đếm tế bào gốc CD34+ bằng kỹ thuật Flow Cytometry trên máy BD FACSCantoII	02/06/2025

Thuốc thử BD® Stem Cell: Gồm CD45 FITC và CD34 PE. Được cung cấp trong PBS có chứa albumin huyết thanh bò (BSA) và 0.1% sodium azide.

Bảng 1 Thành phần thuốc thử BD® Stem Cell

Kháng thể	Chất huỳnh quang	Dòng	Isotype	Nồng độ (µg/mL)
CD45	FITC	2D17,8	IgG ₁ , kappa	12.5
CD34	PE	8G12 ⁹	IgG ₁ , kappa	10.0

– 7-AAD: 7-AAD (45–65 µg/mL) là thuốc nhuộm acid nucleic để đánh giá sống chết của tế bào.

– 10X Ammonium Chloride Lysing Solution: Dung dịch ammonium chloride là dung dịch không có chất cố định để ly giải tế bào hồng cầu. Pha loãng dung dịch 10X thành 1X trước khi sử dụng (1 phần của 10X ammonium chloride với 9 phần nước khử ion). Bảo quản ở nhiệt độ phòng. Dung dịch 1X chỉ sử dụng trong ngày.

– Ống BD Trucount™: Được cung cấp 2 gói, mỗi gói gồm 25 ống sử dụng một lần. Mỗi ống có chứa hạt huỳnh quang dạng đông khô.

– Các dung dịch khác: Nước khử ion để pha loãng hóa chất, PBS 1X để pha loãng mẫu...

Bảo quản hóa chất:

– Lưu trữ thuốc thử BD Stem Cell (CD45/CD34) reagent ở 2°C đến 8 °C. Không tiếp xúc trực tiếp với ánh sáng trong quá trình lưu trữ hoặc ủ với các tế bào.

– Lưu trữ 7-AAD ở 2°C đến 8 °C. Tránh ánh sáng.

– Lưu trữ 10X amonium clorua ở 2°C đến 8 °C.

– Lưu trữ ống BD Trucount tubes trong túi giấy bạc ban đầu ở 2 °C đến 25°C. Để tránh khả năng ngưng tụ, chỉ mở túi sau khi nó đã đạt đến nhiệt độ phòng và cẩn thận đóng túi ngay lập tức sau khi lấy ống.

– Một túi chưa mở có thể ổn định cho sử dụng đến ngày hết hạn được hiển thị trên bao bì. Sử dụng ống trong vòng 1 giờ sau khi lấy ra từ túi giấy bạc. Sử dụng các ống còn lại trong vòng 1 tháng sau khi mở túi.

2.2.2 Vật tư tiêu hao

– Ống EDTA hoặc ACD-A lấy mẫu máu và vật liệu cần dùng để lấy mẫu

– Đầu côn 20, 100 và 1000 µl

– Ống xét nghiệm (12x75 mm)

2.3 Trang thiết bị:

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 5 trên 11</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTXN.A42.2.1</i>
	<i>Quy trình kỹ thuật xét nghiệm đếm tế bào gốc CD34+ bằng kỹ thuật Flow Cytometry trên máy BD FACSCantoII</i>	<i>02/06/2025</i>

- Máy BD Facs Canto II
- Máy Vontex
- Đồng hồ bấm giờ
- Khay đá
- Micropipettor hiệu chuẩn
- Đầu côn 20 μ L, 100 μ L, 1000 μ L
- Ống BD Falcon 5ml

2.4 Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

– Chuẩn bị người bệnh theo Quy trình thu thập máu dây rốn để phân lập tế bào gốc (QTKT.A46.1), Quy trình phân lập tế bào gốc bằng hệ thống máy tự động COM.TEC (QTKT.A46.3), Quy trình thu thập dịch tủy xương để phân lập tế bào gốc (QTKT.A46.4).

– Các mẫu có thể được phân tích:

- + Máu ngoại vi bình thường và huy động
- + Các sản phẩm gạn tách bạch cầu tươi và rã đông
- + Tủy xương tươi và rã đông
- + Máu dây rốn tươi và rã đông

– Chất chống đông sử dụng:

- + EDTA, ACD-A, và Heparin có thể dùng với máu ngoại vi (tươi và huy động), sản phẩm gạn tách bạch cầu (tươi và rã đông), tủy xương (tươi và rã đông), máu dây rốn (tươi và rã đông).
- + CPD cho máu ngoại vi (bình thường và huy động), máu dây rốn (tươi và rã đông).
- + Hỗn hợp EDTA, ACD-A, và Heparin có thể sử dụng cho sản phẩm gạn tách bạch cầu

– Thẻ tích mẫu cần sử dụng cho xét nghiệm: 1-2 ml

– Giữ mẫu chưa pha loãng ở 2-8⁰C khi chưa nhuộm. Nhuộm mẫu trong vòng 24h sau khi thu thập. Mẫu dây rốn nhuộm trong vòng 48h giờ. Mẫu trữ đông nhuộm ngay lập tức sau khi rã đông.

2.5 Phiếu chỉ định xét nghiệm

– Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm đầy đủ thông: họ tên người bệnh, ID, tuổi, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm...

2.6 Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 6 trên 11</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTXN.A42.2.1</i>
	<i>Quy trình kỹ thuật xét nghiệm đếm tế bào gốc CD34+ bằng kỹ thuật Flow Cytometry trên máy BD FACSCantoII</i>	<i>02/06/2025</i>

- Thời gian thực hiện xét nghiệm: 2 giờ

2.7 Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Xét nghiệm được thực hiện tại khoa Miễn dịch - Trung tâm Tế bào gốc.

3. AN TOÀN

- Sử dụng đúng, đủ dụng cụ bảo hộ: Khẩu trang, găng tay, mũ, giày, kính...trong quá trình thực hiện xét nghiệm
- Thiết bị được bảo trì, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng kế hoạch hàng năm đảm bảo an toàn, đảm bảo kết quả chính xác
- Kiểm soát môi trường làm việc: Đánh giá các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn...đáp ứng yêu cầu theo Quy trình theo dõi và kiểm soát điều kiện môi trường QTQL.A42.7
- Dụng cụ làm xét nghiệm, mẫu bệnh phẩm sau xét nghiệm sẽ được xử lý và thải bỏ theo quy trình vệ sinh và xử lý chất thải trong phòng xét nghiệm QTQL.A42.6.1
- Thực hiện an toàn sinh học, an toàn hoá chất, an toàn điện, an toàn cháy nổ theo đúng hướng dẫn trong Sổ tay an toàn phòng xét nghiệm ST.XN.2.4

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1 Chuẩn bị máy

- Khởi động máy theo quy trình vận hành bảo dưỡng máy hệ thống Facs Canto II
- Chạy chuẩn máy 7 color setup bead theo quy trình chuẩn máy Facs Canto II
- Chuẩn bị mẫu tối ưu (Optimize CD34):
 - + Sử dụng mẫu Stem cell Control Low hoặc High
 - + Sử dụng ống BD Falcon Polystyrene
 - + Lấy 100 µl mẫu + 20 µL BD Stemcell Reagent + 20 µL 7-AAD→ ủ 20 phút bóng tối, nhiệt độ phòng.
 - + Cho 2ml dung dịch Amonium chloride lysing 1X→ ủ 10 phút bóng tối, nhiệt độ phòng
- Đếm tối ưu xét nghiệm CD34 trên máy Facs Canto II

4.1.2 Chuẩn bị mẫu

- Đếm mẫu bệnh phẩm trên máy huyết học tự động để biết số lượng bạch cầu.

	BỘ Y TẾ	Trang 7 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTXN.A42.2.1
	Quy trình kỹ thuật xét nghiệm đếm tế bào gốc CD34+ bằng kỹ thuật Flow Cytometry trên máy BD FACSCantoII	02/06/2025

- Nếu SLBC $\geq 40G/l$, pha loãng mẫu bằng PBS 1X
- Cài lại số lượng Bead, Lot hóa chất, Lot ống Trucount (nếu thay đổi LOT mới)

4.1.3. Nhuộm mẫu

Chuẩn bị thể tích trong bảng sau để nhuộm mẫu:

Mục đích	Loại mẫu	Loại ống	Thuốc thử (μL)		Chất chuẩn BD Stem cell control (μL)		Mẫu (μL)
			CD34/CD45	7-AAD	CD34 cao	CD34 thấp	
Setup 7-AAD	Optimization	Polystyrene	20	20	100 (1 trong 2 mẫu cao hoặc thấp)		
QC	CD34 high	BD Trucount	20		100		
	CD34 Low	BD Trucount	20			100	
Nhuộm mẫu Bệnh nhân	Mẫu	BD Trucount	20	20			100

a. Mẫu Control

- Sử dụng ống BD trucount, ghi tên mẫu control .
- Lấy 100 μl mẫu control Low hoặc High + 20 μL BD Stemcell Reagent $\rightarrow$ ủ 20 phút bóng tối, nhiệt độ phòng.
- Cho 2ml dung dịch phá vỡ hồng cầu hoặc Amonium chloride lysing 1X $\rightarrow$ ủ 10 phút bóng tối, nhiệt độ phòng.
- Đếm mẫu trên máy FACSCantoII.

b. Mẫu bệnh phẩm

- Sử dụng ống BD trucount, ghi thông tin về mẫu lên ống.
- Lấy 100 μl mẫu + 20 μL BD Stemcell Reagen + 20 μL 7-AAD $\rightarrow$ ủ 20 phút bóng tối, nhiệt độ phòng.

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 8 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTXN.A42.2.1
	Quy trình kỹ thuật xét nghiệm đếm tế bào gốc CD34+ bằng kỹ thuật Flow Cytometry trên máy BD FACSCantoII	02/06/2025

– Cho 2ml Amonium chloride lysing 1X → ủ 10 phút bóng tối, nhiệt độ phòng.

– Đếm mẫu trên máy FACSCanto II.

c. Lưu ý

– Mẫu sau rã đông, không cần ủ 10 phút để phá vỡ hồng cầu, sau khi ủ kháng thể xong cần đếm mẫu ngay.

– Ghi hệ số pha loãng lên ống (nếu có).

4.1.4. Chạy mẫu trên hệ thống máy FACSCantoII

– Mở phần mềm BD FACSCanto Clinical, Pass word: BDIS

– Nhập tên- mẫu bệnh nhân hoặc mẫu control

– Chọn panel BD stem cell đối với mẫu control.

– Chọn panel BD stem cell + 7AAD đối với mẫu bệnh phẩm, nhập hệ số pha loãng (nếu có)

– Lưu kết quả trên ổ D → KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM → CD34 → File theo năm và tháng

– Nhấn Ready to Run để chạy

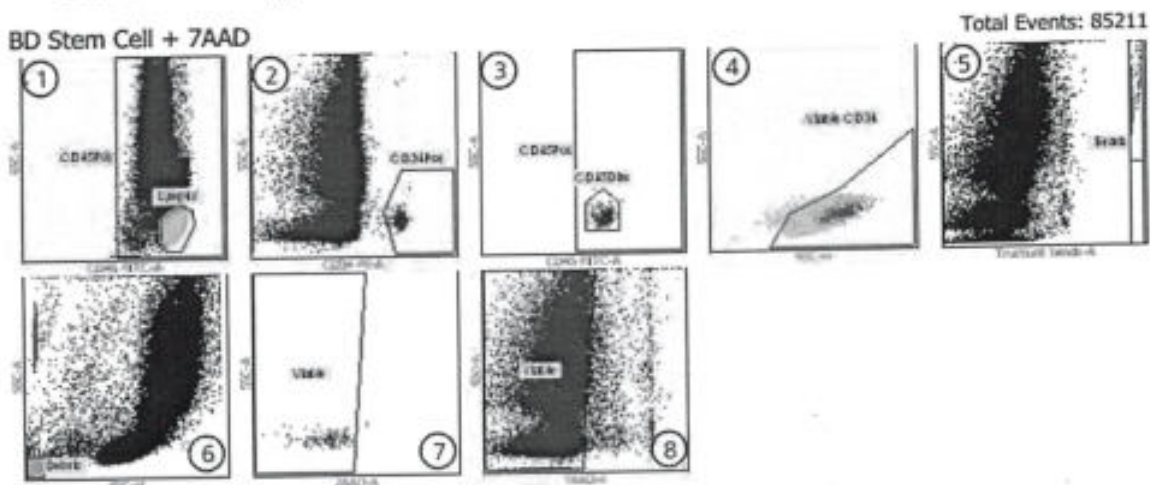
4.2. Nhận định kết quả

– Đánh giá kết quả nội kiểm (IQC) CD34 trước khi chạy mẫu bệnh nhân

+ KQ IQC Đạt: Chạy mẫu bệnh nhân

+ KQ IQC không đạt: Không chạy mẫu bệnh nhân. Kiểm tra, đánh giá lại toàn bộ hệ thống máy và hóa chất xét nghiệm

– Phân tích kết quả:



	BỘ Y TẾ	Trang 9 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTXN.A42.2.1
	Quy trình kỹ thuật xét nghiệm đếm tế bào gốc CD34+ bằng kỹ thuật Flow Cytometry trên máy BD FACSCantoII	02/06/2025

- Thứ tự gate các cửa sổ trong phiếu kết quả: 6 → 8 → 7 → 1 → 2 → 3 → 4 → 5
- Chú thích các vùng trong phiếu kết quả máy:
 - + Số 1: Gate vùng CD45+, Gate vùng Lymphocyte.
 - + Số 2: Gate vùng CD34+
 - + Số 3: Gate vùng CD34+ dim với CD45+
 - + Số 4: Gate hiển thị quần thể tế bào CD34+ sống
 - + Số 5: Gate vùng Trucount Beads
 - + Số 6: Gate vùng Debris
 - + Số 8: Gate vùng tế bào sống
 - + Số 7: Khẳng định CD34+ sống trong tổng số quần thể tế bào sống đã gate từ hình số 8.
- Diễn giải kết quả: Số lượng tuyệt đối tế bào dương tính trong mẫu được xác định thông qua việc so sánh các event tế bào đó với số lượng event hạt bead. Phần mềm tính toán số lượng tuyệt đối theo công thức sau:

$$\text{Tuyệt đối tế bào dương} = \frac{\text{Số event tế bào dương được thu thập}}{\text{Số event bead được thu thập}} \times \frac{\text{Tuyệt đối Bead (theo LOT)}}{\text{Thể tích hút mẫu}}$$

- Kết quả Xét nghiệm CD34 được trả dưới dạng chỉ số:
 - + Tuyệt đối CD34 sống [CD34 aviable Abs Cnt] (tế bào/ μ l)
 - + % CD34 sống [CD34 aviability %]
 - + Tỷ lệ CD34 sống/ CD45 sống (CD34 aviable/CD45 aviable)
- Các thông số được thực hiện Xác nhận giá trị cho xét nghiệm được thể hiện bảng 1 phần Phụ lục.

4.3 Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả theo quy trình công bố kết quả xét nghiệm và Quy trình trả kết quả xét nghiệm QTQL.A42.14.1 và QTQL.A42.15.1

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

5.1.1 Những sai sót có thể gặp:

- Nhầm bệnh nhân, mẫu bệnh phẩm.

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 10 trên 11</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTXN.A42.2.1</i>
	<i>Quy trình kỹ thuật xét nghiệm đếm tế bào gốc CD34+ bằng kỹ thuật Flow Cytometry trên máy BD FACSCantoII</i>	<i>02/06/2025</i>

– Mẫu: lấy mẫu không đúng ống chống đông, mẫu bị đông vón. Điều kiện lưu mẫu và bảo quản mẫu không đạt.

– Hóa chất đã hết hạn sử dụng. Bảo quản không đúng điều kiện.

– Hóa chất bị nhiễm khuẩn, có thể dẫn đến kết quả sai.

5.1.2 Biện pháp phục: Tuân thủ đúng qui trình quản lý, quy trình kỹ thuật liên quan

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

– Thao tác hút mẫu chưa chuẩn, thiếu bead, thiếu mẫu.

– Chưa đánh giá KQ IQC trước khi chạy mẫu.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

– Sai sót: Nhập nhầm kết quả trên hệ thống Labconn, trả nhầm kết quả cho người bệnh.

– Khắc phục: Tuân thủ đúng Quy trình công bố và trả kết quả xét nghiệm

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

– Bảo dưỡng máy hàng ngày, hàng tuần và hàng tháng theo Quy trình bảo trì bảo dưỡng và xử lý lỗi thường gặp trên máy FASC Canto II

– Hoá chất sử dụng cần đánh giá chất lượng trước khi dùng

– Thực hiện nội kiểm CD34 đầu ngày chạy mẫu. Kết quả IQC “ĐẠT” trước khi chạy mẫu bệnh nhân

– Thực hiện ngoại kiểm CD34 theo chương trình CD34 Stem Cell Enumeration. Theo dõi, đánh giá kết quả ngoại kiểm mỗi chu kỳ tham gia.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Huyết học-Truyền máu-Miễn dịch-Di truyền-Sinh học phân tử, số 2017/QĐ-BYT ngày 09/06/2014, trang 109-111

2. BD Stem Cell Enumeration Kit

3. BD Stem Cell Enumeration Application Guide

	BỘ Y TẾ	Trang 11 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTXN.A42.2.1
	Quy trình kỹ thuật xét nghiệm đếm tế bào gốc CD34+ bằng kỹ thuật Flow Cytometry trên máy BD FACSCantoII	02/06/2025

PHỤ LỤC

Bảng 1: Các thông số xác nhận giá trị sử dụng cho xét nghiệm Đếm tế bào gốc CD34 trên máy BD FACSCantoII tại Khoa Miễn dịch- Trung tâm Tế bào gốc năm 2025.

STT	Thông số khảo sát	Kết quả	Ghi chú
1.	CV lặp lại (%)	4.03	Đánh giá trên mẫu Stem Cell Control BC0325
2.	CV tái lập (%)	4.47	
3.	LOQ (cell/ μ l)	1	
4.	Khoảng tuyến tính khảo sát (Cell/ μ l)	0- 842.4	Đánh giá trên mẫu bệnh nhân thu thập PBSC

BỘ Y TẾ
BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG



QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM
ĐẾM TẾ BÀO GỐC CD34+ BẰNG KỸ THUẬT
FLOW CYTOMETRY TRÊN MÁY NAVIOS EX
QTXN.A42.21.1

Phiên bản: 1.0

Ngày hiệu lực: 02/06/2025

	Họ tên	Chức vụ	Chữ ký
Soạn thảo	Tạ Thị Thoa	Nhân viên Trung tâm Tế bào gốc	
Xem xét	Đặng Thị Hà	Trưởng khoa Miễn dịch Trung tâm Tế bào gốc	
	Nguyễn Thanh Bình	Phụ trách Trung tâm Tế bào gốc	
Phê duyệt	Cao Việt Tùng	Phó Giám đốc bệnh viện	

Hà Nội – 2025



	BỘ Y TẾ	Trang 2 trên 17
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTXN.A42.21.1
	Quy trình kỹ thuật xét nghiệm đếm tế bào gốc CD34+ bằng kỹ thuật Flow Cytometry trên máy Navios EX	02/06/2025

Lịch sử thay đổi tài liệu

Phiên bản	Ngày hiệu lực	Sửa đổi
1.0	01/09/2024	Phiên bản mới
1.0	02/06/2025	Soát xét định kỳ không thay đổi nội dung

Phân phối

Khoa miễn dịch- Trung tâm Tế bào gốc: 01 bản

	BỘ Y TẾ	Trang 3 trên 17
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTXN.A42.21.1
	Quy trình kỹ thuật xét nghiệm đếm tế bào gốc CD34+ bằng kỹ thuật Flow Cytometry trên máy Navios EX	02/06/2025

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

– Mô tả các bước thực hiện xét nghiệm đếm tế bào gốc tạo máu CD34+ trên máy Navios tại khoa Miễn dịch- Trung tâm Tế bào gốc.

– Đếm tế bào gốc CD34+ có ý nghĩa quan trọng trong việc tính toán liều ghép TBG tạo máu cho bệnh nhân, kiểm soát quá trình huy động TBG ra máu ngoại vi, là một trong các chỉ tiêu đánh giá chất lượng khối MDR, khối TBG tủy xương...

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

1.2.1. Định nghĩa

- HPC (Hematopoietic Progenitor Cells): Tế bào tiền thân tạo máu.

- CD34: Kháng nguyên CD34 là một họ gồm các glycoprotein chuỗi đơn xuyên màng loại I được glycosyl hóa khác nhau. Các tế bào gốc tạo máu mang kháng nguyên CD34 trên bề mặt tế bào, do đó dấu ấn CD34 được xem là dấu ấn đặc hiệu cho tế bào gốc tạo máu và được sử dụng trong xét nghiệm đếm số lượng tế bào gốc tạo máu.

- CD45: Được gọi là kháng nguyên bạch cầu. CD45 là một loại protein được biểu hiện trên bề mặt của tất cả các tế bào tạo máu và tế bào tiền thân của chúng, ngoại trừ hồng cầu và tiểu cầu.

1.2.2. Nguyên lý xét nghiệm

– Xét nghiệm dựa trên nguyên lý miễn dịch huỳnh quang. Sử dụng kháng thể đơn dòng gắn huỳnh quang (CD45 FITC, CD34 PE) liên kết với kháng nguyên đặc trưng màng tế bào (CD45, CD34) để xác định tế bào gốc tạo máu (HPC).

– Thực hiện song song ủ mẫu với CD45 FITC/ IsoClonic- Control PE để đánh giá sự gắn không đặc hiệu của kháng CD34 PE. Bổ sung 7-AAD là thuốc nhuộm axit nucleic (ADN tế bào) để phân biệt được tế bào sống và tế bào chết. Tế bào chết nhân sẽ nhuộm và bắt màu 7-AAD, tế bào sống thì không. Tế bào hồng cầu bị ly giải bởi dung dịch NH₄Cl Lysing Solution 1X. Thêm Stem-Count Fluorospheres để tính giá trị tuyệt đối các tế bào đích.

– Máy Navios hoạt động theo nguyên lý kỹ thuật đếm tế bào dòng chảy. Tất cả các tế bào phân tích được đi thành hàng qua chùm ánh sáng laser. Phân tích các tín hiệu huỳnh quang thu nhận từ tế bào, hạt bead mà tính ra được giá trị tuyệt đối, phần trăm, tỷ lệ sống của tế bào CD34.

2. CHUẨN BỊ

2.1 Người thực hiện:

– Kỹ thuật Y đã được đào tạo thành thạo xét nghiệm CD34 trên máy Navios: 01

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 4 trên 17
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTXN.A42.21.1
	Quy trình kỹ thuật xét nghiệm đếm tế bào gốc CD34+ bằng kỹ thuật Flow Cytometry trên máy Navios EX	02/06/2025

- Bác sĩ kiểm soát, đánh giá kết quả xét nghiệm: 01

2.2 Vật tư

2.2.1 Hóa chất, sinh phẩm

a. Bộ Stem-KIT bao gồm:

1. CD45 FITC/ CD34 PE (45/34) – 1 lọ
2. CD45 FITC/ IsoClonic- Control PE (45/CTRL) – 1 lọ
3. Stem-Count Fluorospheres- 1 lọ
4. 7-AAD Viability Dye- 1 lọ
5. 10X NH4Cl Lysing Solution – 2 lọ.

Bảo quản bộ Stem-KIT

- Bảo quản: 2-8⁰C, tránh ánh sáng.
- Bộ Kít khi chưa mở nắp ổn định đến hết hạn sử dụng.
- Mở nắp Stem-Count Fluorospheres ổn định 30 ngày.

Chuẩn bị hoá chất trong bộ Stem-KIT trước khi sử dụng:

- Để tất cả hoá chất về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.
- CD45 FITC/ CD34 PE, CD45 FITC/ IsoClonic- Control PE, 7-AAD Viability Dye sử dụng trực tiếp từ lọ.
- Stem-Count Fluorospheres: Trộn đều dung dịch trước khi hút (vortex 3-5 giây)
- Pha loãng 10X NH4Cl Lysing Solution thành dung dịch 1X trước khi dùng (9 nước cất: 1 Lysing solution). Pha mới mỗi ngày sử dụng.

b. Hóa chất không đi kèm kit

- Nước cất loại ion
- PBS (Phosphate Buffered Saline): Dung dịch đệm
- Stem-Trol Control Cells
- Flow-Check Fluorospheres
- Flow-Set Fluorospheres

2.2.2 Vật tư tiêu hao

- Ống EDTA hoặc ACD-A lấy mẫu máu và vật liệu cần dùng để lấy mẫu
- Đầu côn 20, 100 và 1000 µl
- Ống xét nghiệm (12x75 mm)

2.3 Trang thiết bị:

- Máy Navios EX
- Máy voltex
- Máy ly tâm
- Pipet các loại hút được thể tích: 20, 100, 500 µl
- Đồng hồ hẹn giờ

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	<i>Trang 5 trên 17</i>
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTXN.A42.21.1
	<i>Quy trình kỹ thuật xét nghiệm đếm tế bào gốc CD34+ bằng kỹ thuật Flow Cytometry trên máy Navios EX</i>	<i>02/06/2025</i>

2.4 Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

– Chuẩn bị người bệnh theo Quy trình thu thập máu dây rốn để phân lập tế bào gốc (QTKT.A46.1), Quy trình phân lập tế bào gốc bằng hệ thống máy tự động COM.TEC (QTKT.A46.3), Quy trình thu thập dịch tủy xương để phân lập tế bào gốc (QTKT.A46.4).

- Loại mẫu bệnh phẩm:
 - + Máu ngoại vi bình thường và huy động
 - + Các sản phẩm gạn tách bạch cầu tươi và rã đông
 - + Tủy xương tươi và rã đông
 - + Máu dây rốn tươi và rã đông
- Dụng cụ chứa mẫu: ống chống đông EDTA hoặc ACD- A
- Thời gian ổn định, điều kiện bảo quản mẫu

Loại mẫu	Nhiệt độ bảo quản	Thời gian ổn định
Tủy xương	2- 8 ⁰ C	24 giờ
Sản phẩm sau thu thập	2- 8 ⁰ C	24 giờ
Máu dây rốn	18- 25 ⁰ C	24 giờ
Máu toàn phần	18- 25 ⁰ C	24 giờ
Máu toàn phần được huy động	18- 25 ⁰ C	20 giờ
Mẫu tan đông	Nhuộm ngay khi rã đông	

2.5 Phiếu chỉ định xét nghiệm

– Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm đầy đủ thông: họ tên người bệnh, ID, tuổi, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm...

2.6 Thời gian thực hiện kỹ thuật

- Thời gian thực hiện xét nghiệm: 2 giờ

2.7 Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Xét nghiệm được thực hiện tại Khoa Miễn dịch - Trung tâm Tế bào gốc.

3. AN TOÀN

– Sử dụng đúng, đủ dụng cụ bảo hộ: Khẩu trang, găng tay, mũ, giày, kính...trong quá trình thực hiện xét nghiệm.

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 6 trên 17
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTXN.A42.21.1
	Quy trình kỹ thuật xét nghiệm đếm tế bào gốc CD34+ bằng kỹ thuật Flow Cytometry trên máy Navios EX	02/06/2025

– Thiết bị được bảo trì, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng kế hoạch hàng năm đảm bảo an toàn, đảm bảo kết quả chính xác.

– Kiểm soát môi trường làm việc: Đánh giá các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn... đáp ứng yêu cầu theo Quy trình theo dõi và kiểm soát điều kiện môi trường QTQL.A42.7

– Dụng cụ làm xét nghiệm, mẫu bệnh phẩm sau xét nghiệm sẽ được xử lý và thải bỏ theo quy trình vệ sinh và xử lý chất thải trong phòng xét nghiệm QTQL.A42.6.1

– Thực hiện an toàn sinh học, an toàn hoá chất, an toàn điện, an toàn cháy nổ theo đúng hướng dẫn trong Sổ tay an toàn phòng xét nghiệm ST.XN.2.4

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Thực hiện Flow-Check

– Mục đích: Điều chỉnh và /hoặc xác minh hệ thống dịch và hệ thống quang cho máy Navios EX.

– Thực hiện hàng ngày, trước khi chạy mẫu xét nghiệm. Các bước thực hiện và đánh giá kết quả chạy Flow-check theo Hướng dẫn vận hành chuẩn máy Navios EX.

– Kết quả chạy Flow-Check đạt trước khi vận hành máy Navios EX.

4.1.2. Thực hiện chạy nội kiểm (IQ)

Stem-Trol Control Cells là mẫu nội kiểm cho xét nghiệm CD34. Thực hiện phân tích mẫu nội kiểm trước khi thực hiện mẫu bệnh nhân.

a. Thực hiện ủ mẫu nội kiểm (Stem-Trol Control cells)

- Ghi nhãn trên thân ống: TROL 45/34/7-AAD
- Hút 20 µl CD45 FITC/ CD34 PE vào ống.
- Hút 20 µl 7-AAD vào ống
- Hút 100 µl mẫu máu ngoại vi người khỏe mạnh vào ống
- Stem Trol Cells: Trộn đều trước khi dùng. Hút 20 µl Stem Trol Cells vào ống. Trộn đều.
- Ủ 20 phút ở nhiệt độ phòng (21–26°C), tránh ánh sáng.
- Thêm 2ml dung dịch ly giải NH₄CL (1X), trộn đều, ủ 10 phút ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng.
- Trộn đều Stem-Count Fluorospheres bằng cách trộn ngược lọ 3-5 lần trước khi sử dụng. Hút 100 µl Stem-Count Fluorospheres vào ống.

	BỘ Y TẾ	Trang 7 trên 17
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTXN.A42.21.1
	Quy trình kỹ thuật xét nghiệm đếm tế bào gốc CD34+ bằng kỹ thuật Flow Cytometry trên máy Navios EX	02/06/2025

– Trộn đều mỗi ống trước khi đếm trên máy Navios EX

b. *Đánh giá kết quả nội kiểm CD34:*

Kết quả nội kiểm CD34 được đánh giá “ĐẠT trước khi chạy mẫu bệnh nhân.

4.1.3. Thực hiện xét nghiệm

– Mỗi mẫu chuẩn bị 03 ống xét nghiệm ghi rõ họ tên, chỉ định xét nghiệm, marker trên thân ống.

+ Ống 1: 45/34/7-AAD

+ Ống 2: 45/34/7-AAD

+ Ống 3: 45/CTRL/7-AAD

– Hút 20 µl CD45 FITC/ CD34 PE vào ống 1, ống 2 (45/34/7-AAD).

– Hút 20 µl CD45 FITC/ IsoClonic- Control PE vào ống 3 (45/CTRL/7-AAD).

– Hút 20 µl 7-AAD vào mỗi ống.

– Hút 100 µl mẫu bệnh nhân vào mỗi ống.

– Bạch cầu trong mẫu < 30 G/L. Tối ưu là 15 G/L. Pha loãng mẫu có lượng Bạch cầu cao theo tỷ lệ phù hợp.

– Trộn đều mẫu 5 giây. Ủ 20 phút ở nhiệt độ phòng (21–26°C), tránh ánh sáng.

– Thêm 2ml dung dịch ly giải NH₄CL (1X), trộn đều, ủ 10 phút ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng.

– Trộn đều Stem-Count Fluorospheres bằng cách trộn ngược lọ 5-10 lần trước khi sử dụng. Hút 100 µl Stem-Count Fluorospheres vào mỗi ống.

– Trộn đều mỗi ống trước khi đếm trên máy Navios EX.

	BỘ Y TẾ	Trang 8 trên 17
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTXN.A42.21.1
	Quy trình kỹ thuật xét nghiệm đếm tế bào gốc CD34+ bằng kỹ thuật Flow Cytometry trên máy Navios EX	02/06/2025

Tóm tắt các bước ủ mẫu

Hóa chất / Mẫu	Ống 1 45/3/7-AAD	Ống 2 45/3/7-AAD	Ống 3 45/CTRL/7-AAD
CD45 FITC/ CD34 PE	20 µl	20 µl	
CD45 FITC/ IsoClonic- Control PE			20 µl
7-AAD	20 µl	20 µl	20 µl
Mẫu	100 µl	100 µl	100 µl
	Trộn đều, Ủ 20 phút ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng		
1X NH4CL lysing Solution	2 mL		
	Trộn đều, Ủ 10 phút ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng		
Stem-Count Fluorospheres	100 µl	100 µl	100 µl
	Trộn đều		
	Đếm trên máy Navios EX		

Lưu ý:

- Mẫu tan đông không cần ủ 10 phút trong bước ly giải hồng cầu. Cho Stem-Count Fluorospheres rồi đếm luôn trên máy.
- Mẫu máu dây rốn, tủy xương, sản phẩm gạn tách sau ủ mẫu không để quá 60 phút trước khi đếm trên máy.
- Mẫu máu ngoại vi, máu huy động sau ủ mẫu không để quá 45 phút trước khi đếm trên máy.
- Mẫu ủ xong chưa đếm phải bảo quản 2-8 °C, tránh ánh sáng, hạn chế để nhiệt độ phòng trước khi thu thập.

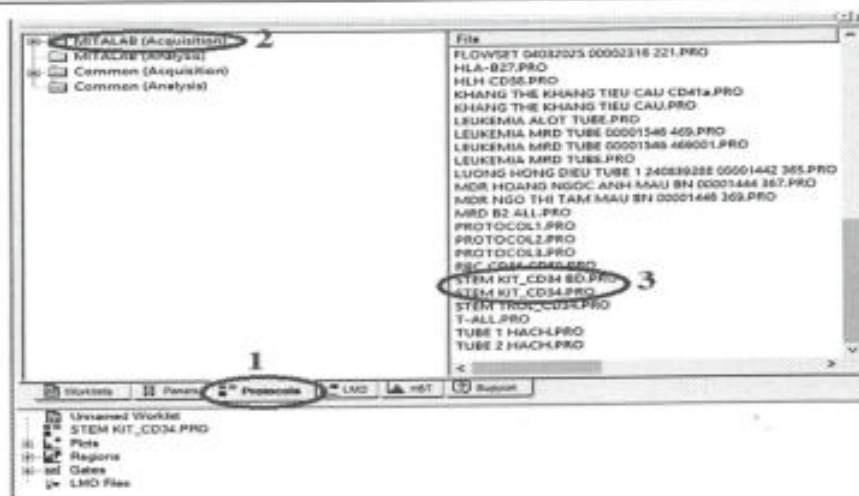
4.1.4 Đếm mẫu trên máy Navios EX

Thực hiện đếm mẫu đã ủ trên máy Navios như sau:

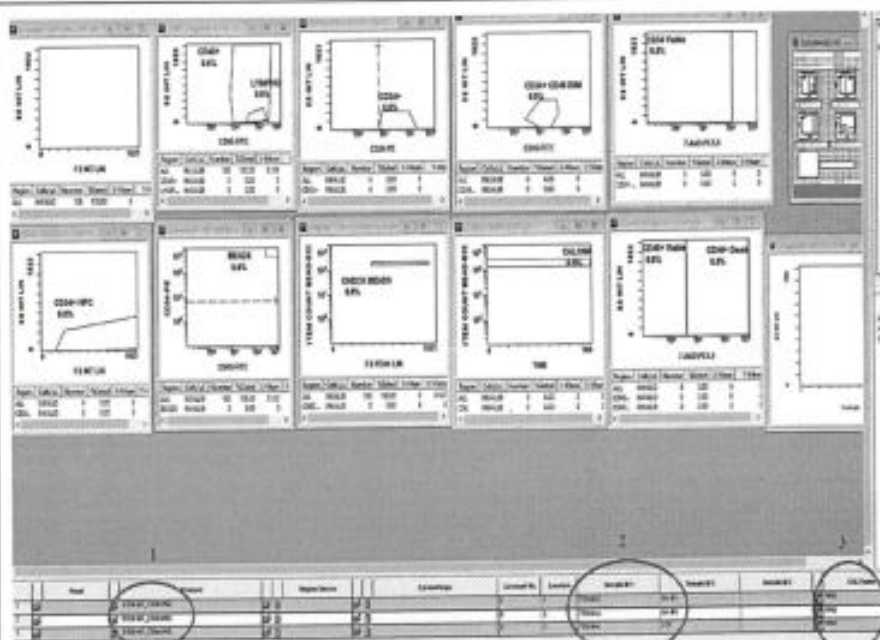
Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.



1. Chọn Protocols cho xét nghiệm đếm CD34 trên phần mềm “Navios Ex Software”



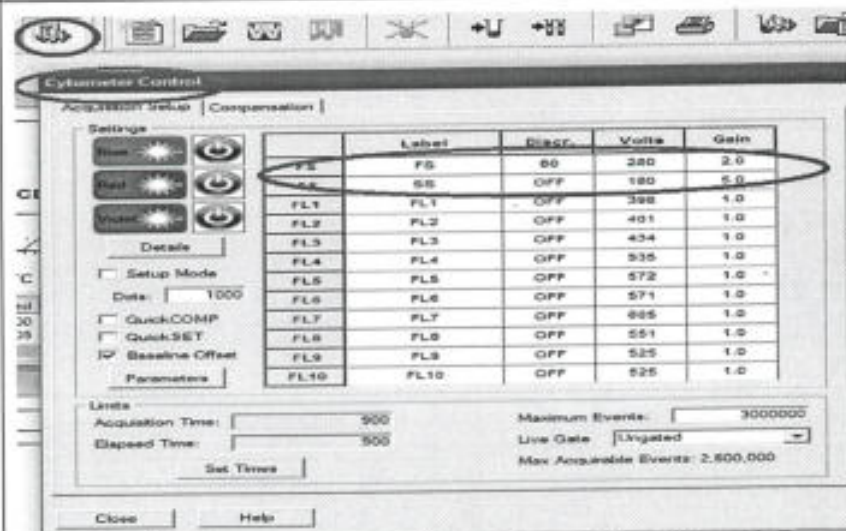
2. Nhập thông tin bệnh nhân, hệ số CAL, hệ số pha loãng, vị trí mẫu trên loader



3. Đặt mẫu đúng vị trí trên loader

Tiến hành chạy mẫu

4. Điều chỉnh các thông số FSC, SSC trong mục Cytometer control cho phù hợp. Sau đó ghi dữ liệu



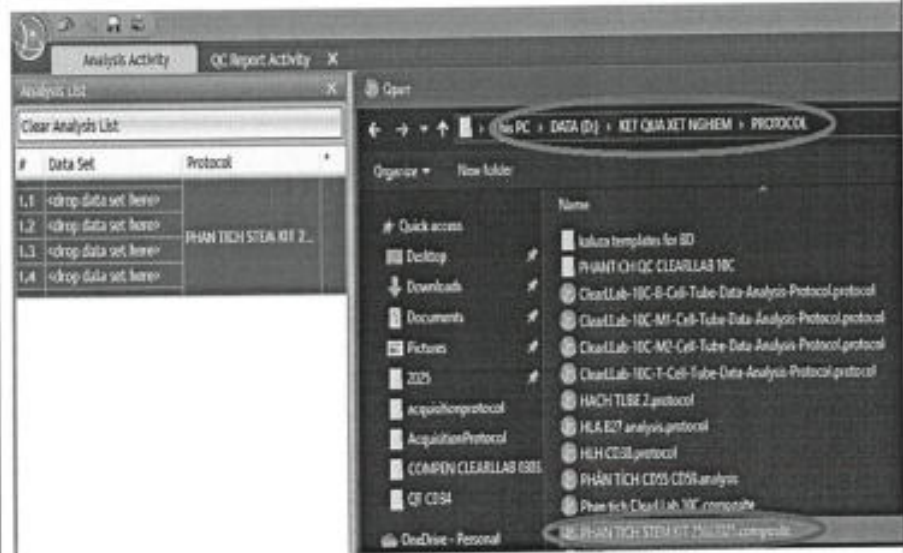
	BỘ Y TẾ	Trang 10 trên 17
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTXN.A42.21.1
	Quy trình kỹ thuật xét nghiệm đếm tế bào gốc CD34+ bằng kỹ thuật Flow Cytometry trên máy Navios EX	02/06/2025

5. Tiến hành phân tích kết quả trên phần mềm Kaluza.



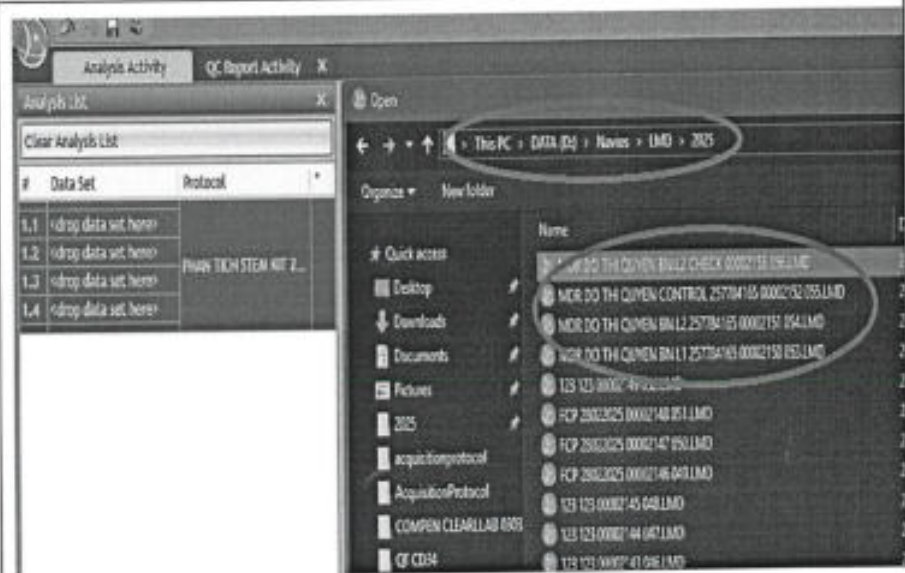
6. Chọn Protocols cho xét nghiệm CD34:

This PC ->
DATA (D) ->
KET QUẢ XÉT
NGHIỆM ->
PROTOCOL



7. Lấy dữ liệu LMD trong File dữ liệu:

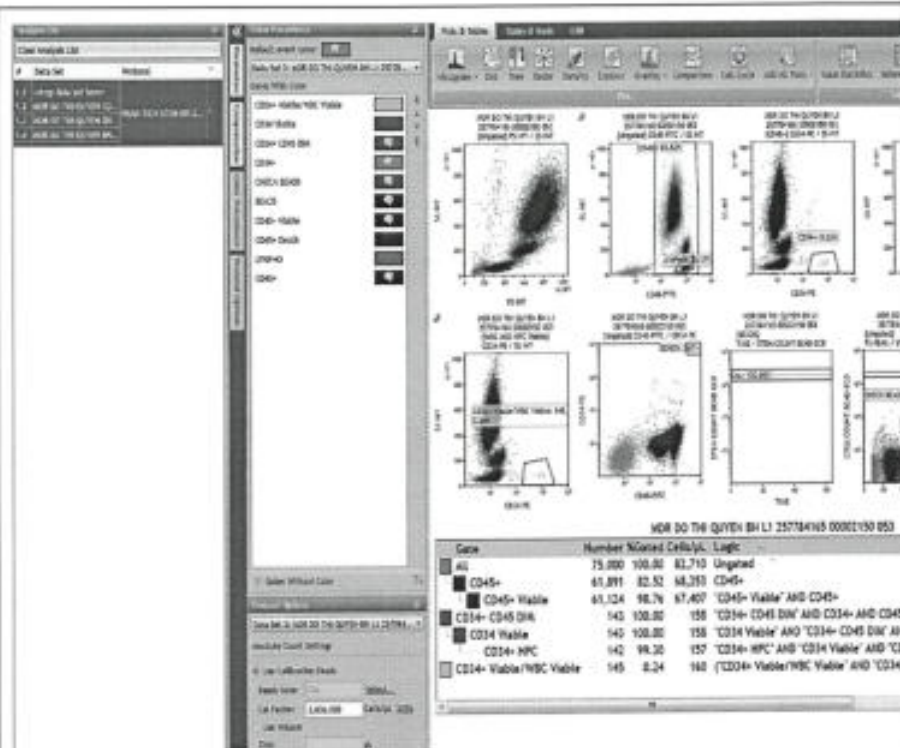
This PC ->
DATA (D) ->
Navios ->
LMD ->
2025 (vị trí lưu file)



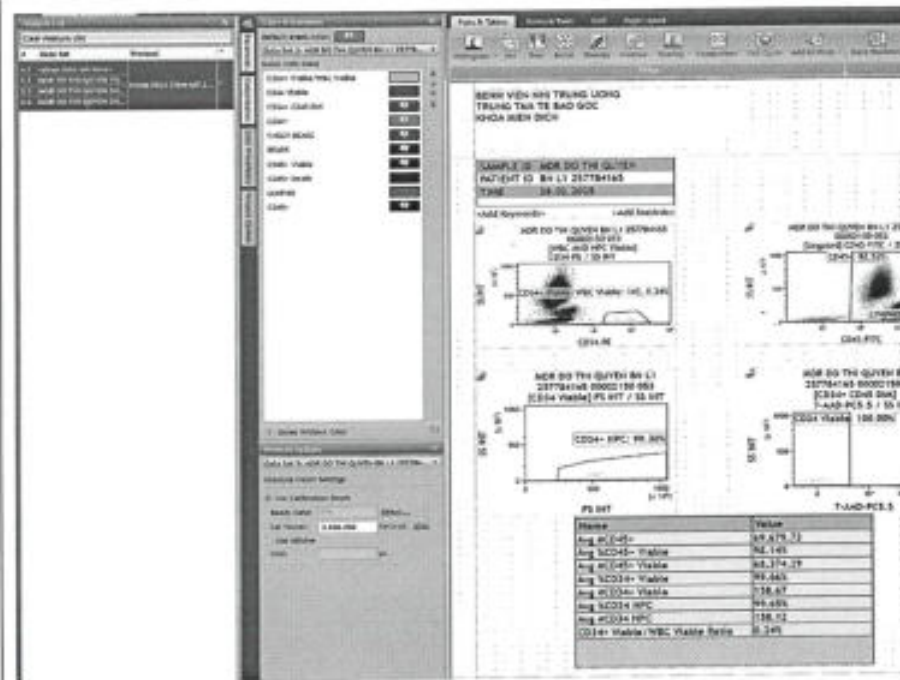
Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.



8. Kiểm tra lại hệ số cal và gate các quần thể



9. Kiểm tra file report kết quả và in file



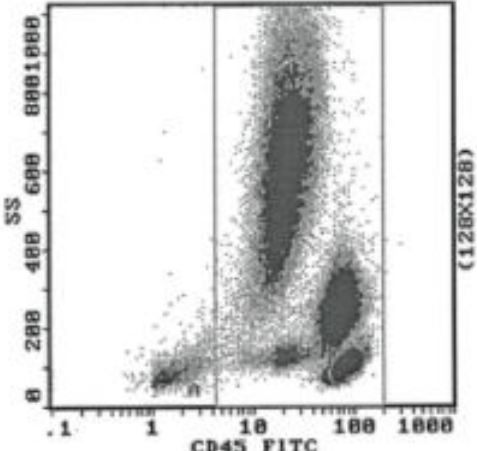
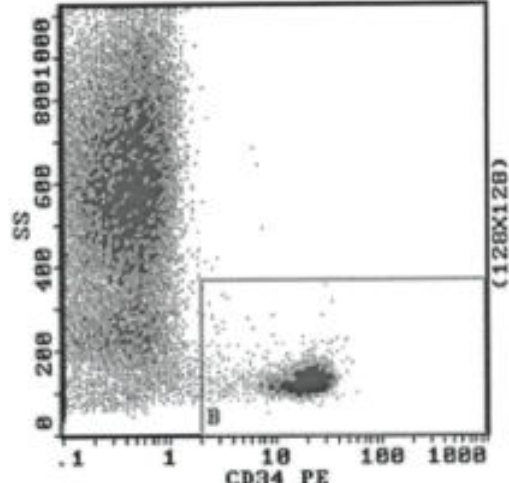
4.2 Nhận định kết quả

- Đánh giá kết quả Flow-Check đạt trước khi chạy máy .
- Đánh giá kết quả IQC CD34 trước khi chạy mẫu bệnh nhân
 - + KQ IQC Đạt: Chạy mẫu bệnh nhân
 - + KQ IQC không đạt: Không chạy mẫu bệnh nhân. Kiểm tra, đánh giá lại toàn bộ hệ thống máy và hóa chất xét nghiệm

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

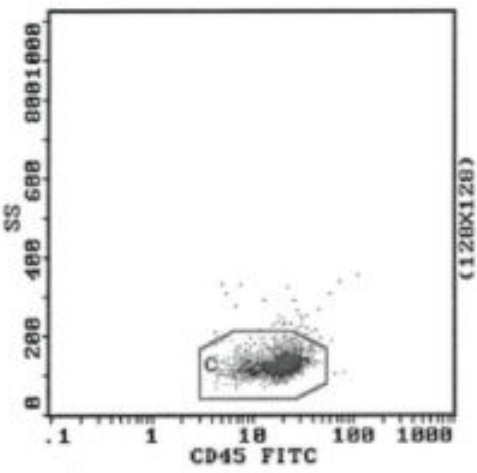
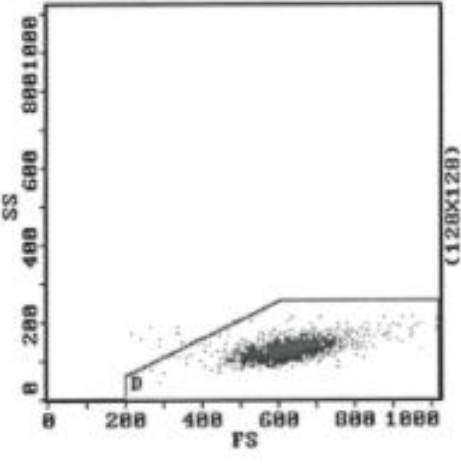
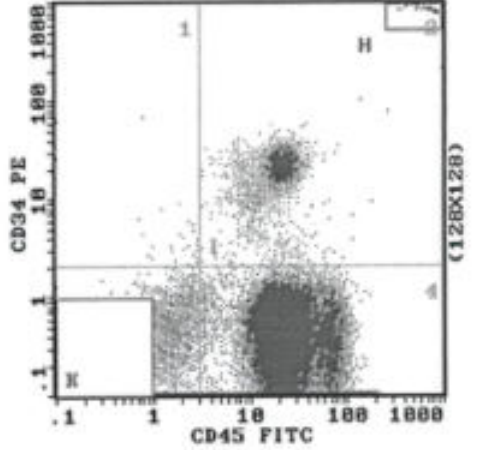
	BỘ Y TẾ	Trang 12 trên 17
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTXN.A42.21.1
	Quy trình kỹ thuật xét nghiệm đếm tế bào gốc CD34+ bằng kỹ thuật Flow Cytometry trên máy Navios EX	02/06/2025

– Phân tích kết quả: Thứ tự phân tích mẫu

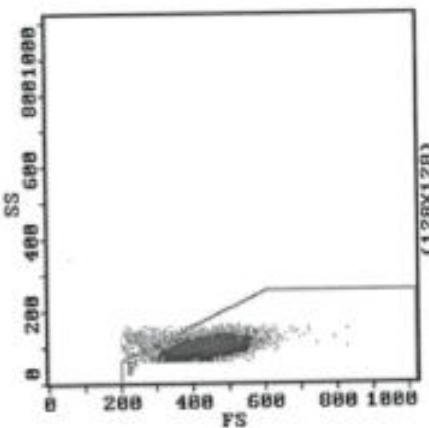
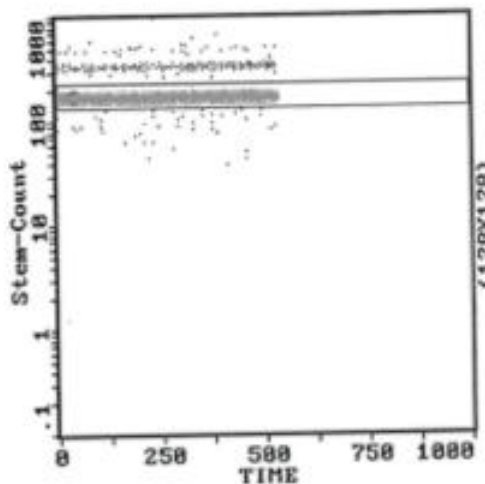
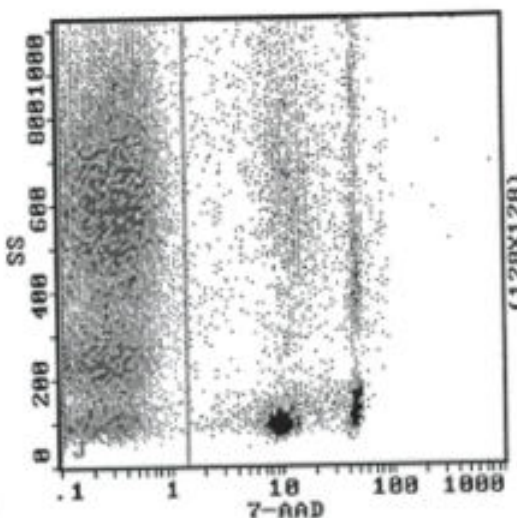
Thứ tự phân tích	Đồ thị minh họa	Ý nghĩa
1	1: J 	Biểu đồ 1: Hiện thị toàn bộ các tế bào sống từ vùng J (biểu đồ 8) trừ bead (Stem-Count Fluorospheres) - Vùng A bao gồm các tế bào bạch cầu (CD45+), loại bỏ tiểu cầu, mảnh vỡ hồng cầu và kết cụm (CD45-). Giá trị tuyệt đối WBC sống trong phân tích được tính theo vùng A. Đây được coi là mẫu số (WBC sống) để tính phần trăm CD34+ sống. - Vùng E chỉ bao gồm tế bào Lympho (CD45+ mạnh, SSC thấp)
2	2: A J 	Biểu đồ 2: Hiện thị các tế bào từ vùng A,J -Khoanh vùng B bao gồm các tế bào (CD34+). Cài đặt dừng thu thập 75.000 tế bào CD45+.

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 13 trên 17
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTXN.A42.21.1
	Quy trình kỹ thuật xét nghiệm đếm tế bào gốc CD34+ bằng kỹ thuật Flow Cytometry trên máy Navios EX	02/06/2025

3	3: ABJ 	Biểu đồ 3: Hiện thị các tế bào từ vùng A, B, J -Khoanh vùng C gồm các tế bào tập chung thành cụm có đặc điểm của tế bào CD34+ HPC (Tán xạ bên SSC thấp, mức độ biểu hiện CD45+ từ thấp đến trung bình). Loại bỏ các tế bào biểu hiện CD45+ mạnh
4	4: ABCJ 	Biểu đồ 4: Hiện thị các tế bào từ vùng A, B, C, J -Vùng D gồm các tế bào tập chung thành cụm. Tán xạ bên mức trung bình, tán xạ thẳng từ trung bình đến cao. Loại bỏ cụm tiểu cầu bất màu yếu ở phía bên trái - Giá trị tế bào ở vùng D được dùng để tính giá trị tuyệt đối tế bào CD34+ HPC
5	5: 	Biểu đồ 5: Hiện thị tất cả tế bào -Vùng vô định H bao gồm tất cả Stem-Count Fluorospheres (cả đơn và đôi), nằm đỉnh góc trái của biểu đồ. -Vùng K để loại hầu hết các tế bào đôi âm tính CD45 trong quá trình thu thập

	BỘ Y TẾ	Trang 14 trên 17
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTXN.A42.21.1
	Quy trình kỹ thuật xét nghiệm đếm tế bào gốc CD34+ bằng kỹ thuật Flow Cytometry trên máy Navios EX	02/06/2025

6	6: E J 	Biểu đồ 6: Hiện thị tất cả tế bào vùng E -Xác nhận các thông số FS và SS của máy đã thiết lập tối ưu cho phân tích mẫu. Điều chỉnh hiệu điện thế FS sao cho: Tế bào Lympho nhỏ nhất nằm ở phần giữa bên trái biểu đồ, nằm trên vùng phân cắt
7	7: H 	Biểu đồ 7: Hiện thị tất cả hạt bead vùng H -Vùng G khoanh vùng các hạt bead đơn (Stem-Count Fluorospheres). Đánh giá tính đồng nhất và liên tục của hạt bead. - Vùng G được gắn nhãn CAL, được dùng để tính toán tự động giá trị tuyệt đối tế bào CD34+HPC - Nhập chính xác nồng độ Bead LOT đang sử dụng trước khi đếm mẫu.
8	8: A 	Biểu đồ 8: Hiện thị tất cả tế bào - Vùng J bao gồm các tế bào sống - Các tế bào chết (bắt màu thuốc nhuộm 7-AAD) được loại khỏi vùng J

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 15 trên 17
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTXN.A42.21.1
	Quy trình kỹ thuật xét nghiệm đếm tế bào gốc CD34+ bằng kỹ thuật Flow Cytometry trên máy Navios EX	02/06/2025

– Diễn giải kết quả: Số lượng tuyệt đối tế bào dương tính trong mẫu được xác định thông qua việc so sánh các event tế bào đó với số lượng event hạt bead. Phần mềm tính toán số lượng tuyệt đối theo công thức sau:

$$\text{Tuyệt đối tế bào dương} = \frac{\text{Số event tế bào dương được thu thập} \times \text{Tuyệt đối Bead (theo LOT)}}{\text{Số event bead được thu thập}}$$

– Kết quả phân tích được chuyển sang phần mềm KALUZA để phân tích các chỉ số mong muốn trả kết quả bệnh nhân

– Kết quả Xét nghiệm CD34 được trả dưới dạng chỉ số:

- + Tuyệt đối CD34 sống [CD34 aviable Abs Cnt] (tế bào/ μ l)
- + % CD34 sống [CD34 aviability %]
- + Tỷ lệ CD34 sống/ CD45 sống (CD34 aviable/CD45 aviable)

Lưu ý: Với những mẫu pha loãng, kết quả cuối cùng cần nhân với hệ số pha loãng thích hợp hoặc nhân Hệ số CAL trước khi chạy mẫu.

– Các thông số được thực hiện Xác nhận giá trị cho xét nghiệm được thể hiện bảng 1 phần Phụ lục.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

– Trả kết quả theo quy trình công bố kết quả xét nghiệm và Quy trình trả kết quả xét nghiệm QTQL.A42.14.1 và QTQL.A42.15.1

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

5.1.1 Những sai sót có thể gặp:

- Nhầm bệnh nhân, mẫu bệnh phẩm.
- Mẫu: lấy mẫu không đúng ống chống đông, mẫu bị đông vón. Điều kiện lưu mẫu và bảo quản mẫu không đạt
- Hóa chất đã hết hạn sử dụng. Bảo quản không đúng điều kiện.
- Hóa chất bị nhiễm khuẩn, có thể dẫn đến kết quả sai.

5.1.2 Biện pháp phục:

- Tuân thủ đúng qui trình quản lý, quy trình kỹ thuật liên quan.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thao tác hút mẫu chưa chuẩn, thiếu bead, thiếu mẫu.
- Chưa đánh giá KQ IQC trước khi chạy mẫu.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 16 trên 17</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTXN.A42.21.1</i>
	<i>Quy trình kỹ thuật xét nghiệm đếm tế bào gốc CD34+ bằng kỹ thuật Flow Cytometry trên máy Navios EX</i>	<i>02/06/2025</i>

– Sai sót: Nhập nhầm kết quả trên hệ thống Labconn, trả nhầm kết quả cho người bệnh.

– Khắc phục: Tuân thủ đúng Quy trình công bố và trả kết quả xét nghiệm

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện Flow-Check hàng ngày. Kết quả đạt, thực hiện chạy mẫu.
- Thực hiện nội kiểm CD34 (Stem-Trol Control Cells) đầu ngày chạy mẫu. Kết quả IQC đạt trước khi chạy mẫu bệnh nhân.
- Thực hiện ngoại kiểm CD34 theo chương trình CD34 Stem Cell Enumeration. Theo dõi, đánh giá kết quả ngoại kiểm mỗi chu kỳ tham gia.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Thông tin sản phẩm Stem- Kit Reagent
2. Thông tin sản phẩm Stem- Trol Control Cells
3. Thông tin sản phẩm Flow-Check Pro

	BỘ Y TẾ	Trang 17 trên 17
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTXN.A42.21.1
	Quy trình kỹ thuật xét nghiệm đếm tế bào gốc CD34+ bằng kỹ thuật Flow Cytometry trên máy Navios EX	02/06/2025

PHỤ LỤC

Bảng 1: Các thông số Xác nhận giá trị sử dụng cho xét nghiệm Đếm số lượng tế bào gốc CD34 trên máy Navios EX tại Khoa Miễn dịch- Trung tâm Tế bào gốc năm 2025.

STT	Thông số khảo sát	Kết quả	Ghi chú
1.	CV lặp lại (%)	4.3	Đánh giá trên mẫu Stem-Trol Control Cells.
2.	CV tái lặp (%)	5.57	
3.	LOQ (cell/ μ l)	2	
4.	Khoảng tuyến tính khảo sát (Cell/ μ l)	12.7- 238.3	

BỘ Y TẾ
BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG



QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM ĐỀM TẾ BÀO GỐC
TRUNG MÔ BẢNG KỸ THUẬT FLOW CYTOMETRY
QTXN.A42.20.1

Phiên bản: 1.0

Ngày hiệu lực: 02/06/2025

	Họ tên	Chức vụ	Chữ ký
Soạn thảo	Lê Đức Minh	Nhân viên Trung tâm Tế bào gốc	
Xem xét	Đặng Thị Hà	Trưởng khoa Miễn dịch Trung tâm Tế bào gốc	
	Nguyễn Thanh Bình	Phụ trách Trung tâm Tế bào gốc	
Phê duyệt	Cao Việt Tùng	Phó Giám đốc Bệnh viện Nhi Trung ương	



Hà Nội – 2025

	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	Trang 2 trên 12
	TRUNG TÂM TẾ BÀO GỐC	QTXN.A42.20.1
	Quy trình kỹ thuật về xét nghiệm đếm tế bào gốc trung mô bằng kỹ thuật flow cytometry	02/06/2025

Lịch sử thay đổi tài liệu

Phiên bản	Ngày hiệu lực	Sửa đổi
1.0	01/01/2023	Soát xét không thay đổi nội dung
1.0	02/01/2024	Soát xét không thay đổi nội dung
1.0	02/06/2025	Soát xét không thay đổi nội dung

Phân phối

Khoa miễn dịch – Trung tâm Tế bào gốc: 01 bản

	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	Trang 3 trên 12
	TRUNG TÂM TẾ BÀO GỐC	QTXN.A42.20.1
	Quy trình kỹ thuật về xét nghiệm đếm tế bào gốc trung mô bằng kỹ thuật flow cytometry	02/06/2025

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

– Giúp cho nhân viên Đơn vị Ngân hàng Tế bào gốc nắm được quy trình đếm số lượng tế bào gốc trung mô bằng kỹ thuật Flow cytometry.

– Ứng dụng lâm sàng:

+ Tế bào gốc trung mô có khả năng tái tạo, phát triển thành tế bào chuyên biệt nhằm bổ sung, thay thế các tế bào chức năng trong cơ thể như sụn, mỡ, xương, thần kinh, gan, thận...

+ Ứng dụng trong ghép đồng loài, hỗ trợ chống thải ghép, các bệnh tự miễn...

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

– **Định nghĩa:**

+ Tế bào gốc trung mô là các tế bào gốc trưởng thành đa năng và sở hữu những đặc tính sinh học rất đặc biệt. Cụ thể, tế bào này có khả năng tăng sinh khi được nuôi cấy ở bên ngoài cơ thể (tế bào gốc ngoại sinh), đồng thời cũng có khả năng biệt hóa trở thành các tế bào chức năng trong cơ thể như sụn, mỡ, xương, thần kinh, gan, thận, ...

+ Ngoài ra, tế bào gốc trung mô còn tham gia vào cả miễn dịch bẩm sinh và thích ứng, và các chức năng điều hòa miễn dịch của chúng được thực hiện chủ yếu thông qua tương tác với các tế bào miễn dịch thông qua tiếp xúc giữa tế bào với tế bào và hoạt động cận tiết nhờ các cytokine. Tế bào gốc trung mô có biểu hiện thấp MHC lớp I và không biểu hiện HLA-DR, nhờ đó tránh được hiện tượng thải ghép. Với những đặc tính chuyên biệt và ưu việt nói trên, việc ứng dụng tế bào gốc trung mô trong điều trị bệnh đang ngày càng được mở rộng và trở thành hiện tượng gây chú ý trong y học tái tạo.

+ Trong cơ thể, tế bào gốc trung mô tồn tại ở nhiều cơ quan, bộ phận khác nhau như: mô mỡ, tủy xương, nhau thai, nội mạc tử cung, dịch ối, dây rốn trẻ sơ sinh,...Dựa vào tính sẵn có và dễ thu thập, độ an toàn cao, ít xâm lấn và giảm thiểu chi phí, ứng dụng tế bào gốc trung mô ngày càng mở rộng. Nguồn thu thập tế bào gốc trung mô được lấy phổ biến nhất hiện nay là tại mô mỡ, tủy xương và dây rốn trẻ sơ sinh.

– **Chữ viết tắt**

- + MSCs (Mesenchymal Stem Cells): Tế bào gốc trung mô
- + ISCT: International Society for Cellular Therapy
- + CTM: Công thức máu

– **Nguyên lý:**

	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	Trang 4 trên 12
	TRUNG TÂM TẾ BÀO GỐC	QTXN.A42.20.1
	Quy trình kỹ thuật về xét nghiệm đếm tế bào gốc trung mô bằng kỹ thuật flow cytometry	02/06/2025

+ MSCs dương tính với 3 dấu ấn CD73, CD90, CD105, nhưng âm tính với CD34, CD45, CD11b hoặc CD14, CD19 hoặc CD79a, HLA-DR. Bằng kỹ thuật Flow cytometry cho phép đếm số lượng tế bào MSCs.

+ Bộ kit sử dụng được thiết kế theo khuyến cáo của ISCT. Bộ kit được thiết kế dạng mô-đun để có thể bổ sung thêm các dấu chuẩn khác thêm vào. Cụ thể, các loại cocktail tế bào gốc trung mô dương tính (CD90 FITC, CD105 PerCP-CyTM5.5, CD73 APC) và để mở kênh PE cho kết hợp với các hỗn hợp tế bào gốc trung mô âm tính (CD45 PE, CD34PE, CD11b PE, CD19 PE, HLA-DR PE), kháng thể liên hợp CD44-PE hoặc một loạt liên hợp các kháng thể thương mại gắn PE khác. Phân tích đa màu giúp giảm thiểu số lượng tế bào cần thiết cho một thử nghiệm và hỗn hợp kháng thể giúp việc tạo dựng một quy trình nhuộm hợp lý cho phân tích nhiều mẫu. Các dấu hiệu dương tính riêng lẻ cũng được sản xuất để cài đặt chế độ bù trừ.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện:

- Bác sĩ: 01 (đọc kết quả).
- Kỹ thuật viên: 01 (Thực hiện kỹ thuật xét nghiệm).

2.2. Vật tư:

- **Vật tư tiêu hao**
 - + Đầu côn pipet các loại (5 μ L, 10 μ L, 100 μ L, 200 μ L, 1000 μ L)
 - + Giấy thấm
 - + Găng tay
 - + Hộp đựng chất thải sắc nhọn
 - + Ống nghiệm (eppendorf) 1.5ml...
 - + Ống BDFalcon 15mL, 5mL
- **Hóa chất:**
 - + Hóa chất chạy máy:
 - BD Facsflow
 - BD Facs-clean
 - BD Facshut-down
 - CS&T bead
 - + Hóa chất ủ MSCs:
 - PE hMSC Negative Cocktail
 - PE hMSC Isotype Control Negative Cocktail

	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	Trang 5 trên 12
	TRUNG TÂM TẾ BÀO GỐC	QTXN.A42.20.1
	Quy trình kỹ thuật về xét nghiệm đếm tế bào gốc trung mô bằng kỹ thuật flow cytometry	02/06/2025

- hMSC Positive Cocktail
- hMSC Isotype Control Positive Cocktail
- FITC Mouse Anti-Human-CD90
- PE Mouse Anti-Human-CD44
- PE Mouse IgG2b, k Isotype
- Control APC Mouse Anti-Human CD73
- PerCP-CyTM5.5 Mouse Anti-Human CD105 (Endoglin)
- + Hóa chất bổ sung:
 - Stain Buffer (FBS)/ (PBS 1X, 1%FCS và 0.09% sodium azide)
 - Nước cất 2 lần
 - Farm lysing 1x
 - AccutaseTM Cell Detachment Solution – Hoặc dung dịch tách rời tế bào tác dụng tương tự

2.3. Trang thiết bị:

- Máy xét nghiệm miễn dịch BD FACS Canto II/BD FACS Lyric.
- Máy ly tâm ống 5mL, 15mL, 50mL.
- Máy votex.
- Máy tổng phân tích tế bào máu ngoại vi.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Tủy xương (chống đông bằng heparin hoặc EDTA).
- Tế bào gốc MSC nuôi cấy: nồng độ 10^4 cells/ μ L (các tế bào có thể được hòa vào đệm ở nồng độ 5×10^3 cells/ μ L nếu số lượng tế bào ít).
- Bảo quản:
 - + Nhiệt độ phòng, áp dụng cho mẫu ≤ 24 giờ kể từ khi lấy.
 - + Nhiệt độ 2-8°C, mẫu từ 24 giờ - 72 giờ phải bổ sung dung dịch nuôi dưỡng RPMI (nếu có). Lưu ý MSCs dễ bám vào các bề mặt nên khi sử dụng các mẫu bảo quản phải sử dụng dung dịch tách tế bào.
 - + Mẫu sau ủ kháng thể bảo quản 2-8°C, bọc giấy bạc, thời gian sử dụng mẫu ≤ 4 giờ.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: ghi đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật (ước tính, đơn vị là giờ)

	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	Trang 6 trên 12
	TRUNG TÂM TẾ BÀO GỐC	QTXN.A42.20.1
	Quy trình kỹ thuật về xét nghiệm đếm tế bào gốc trung mô bằng kỹ thuật flow cytometry	02/06/2025

- 2 tiếng 30 phút

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Phòng xét nghiệm - Ngân hàng tế bào gốc.

3. AN TOÀN

- Thực hiện các bước xét nghiệm theo đúng quy trình.
- Điều kiện môi trường làm việc đáp ứng theo đúng yêu cầu theo Quy trình theo dõi và kiểm soát điều kiện môi trường QTQL.A42.7.1
- Sử dụng đúng, đủ dụng cụ bảo hộ: Khẩu trang, găng tay, mũ, giày, kính...
- Dụng cụ làm xét nghiệm, mẫu bệnh phẩm sau xét nghiệm sẽ được xử lý và thải bỏ theo quy trình Vệ sinh và xử lý chất thải trong phòng xét nghiệm QTQL.A42.6.1
- Thực hiện an toàn sinh học, an toàn hoá chất, an toàn điện, an toàn cháy nổ theo đúng hướng dẫn an toàn PXN STAT.CLS.002

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

- **Mẫu tủy xương**
 - + Đếm CTM mẫu tủy xương
 - + Pha loãng mẫu tủy về nồng độ $\leq 10^4$ cells/ μ L (lưu ý ghi lại hệ số pha loãng)
 - + Đánh nhãn các ống và bổ sung các kháng thể theo bảng sau:

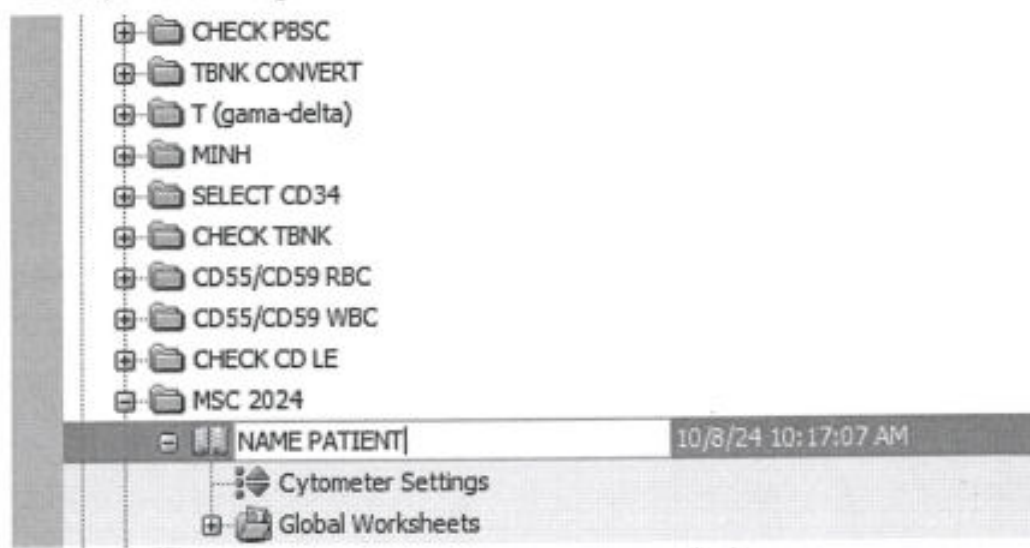
Số ống	Kháng thể	Thể tích/ống
1	FITC Mouse Anti-Human CD90	5 μ L
2	PE Mouse Anti-Human CD44	5 μ L
3	PerCP-Cy TM 5.5 Mouse Anti-Human CD105	5 μ L
4	APC Mouse Anti-Human CD73	5 μ L
5	Không bổ sung gì(Unstain)	
6	hMSC Positive Isotype Control Cocktail	20 μ L
	PE hMSC Negative Isotype Control Cocktail	20 μ L
7	hMSC Positive Cocktail	20 μ L

	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	Trang 7 trên 12
	TRUNG TÂM TẾ BÀO GỐC	QTXN.A42.20.1
	Quy trình kỹ thuật về xét nghiệm đếm tế bào gốc trung mô bằng kỹ thuật flow cytometry	02/06/2025

	PE hMSC Negative Cocktail	20 μ L
	Và/hoặc	
8	hMSC Positive Isotype Control Cocktail	20 μ L
	Chứng Isotype nhỏ thêm (ví dụ PE Mouse IgG2b, κ)	5 μ L
9	hMSC Positive Cocktail	20 μ L
	PE nhỏ thêm (ví dụ PE Mouse Anti-Human CD44)	5 μ L

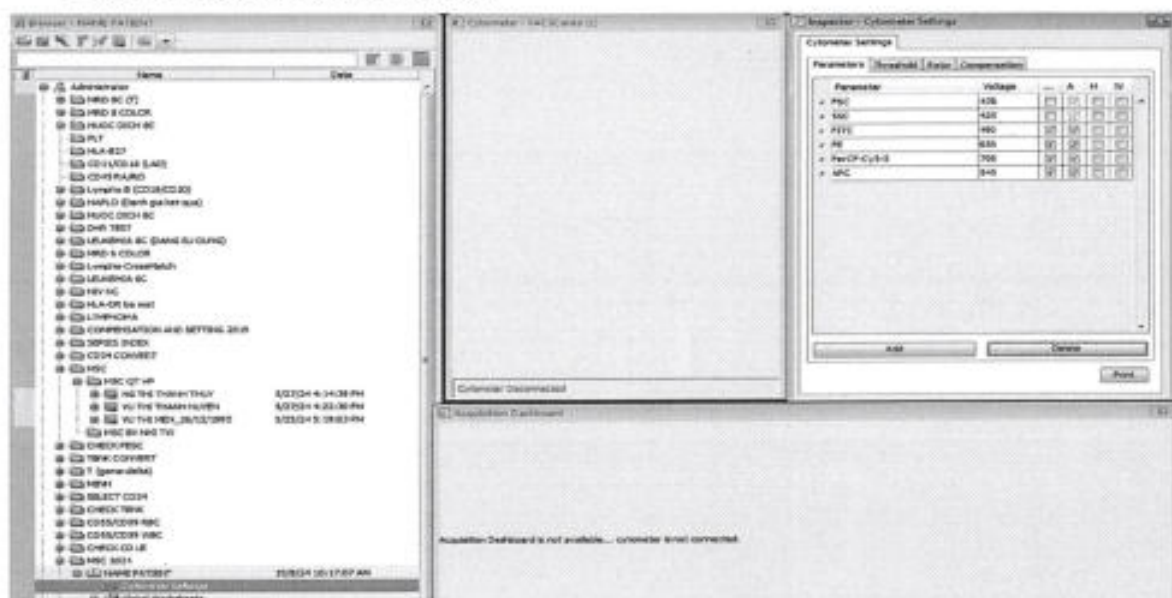
- + Lắp lại ống 5-7 và/hoặc 8-9 cho mỗi mẫu thí nghiệm thêm vào.
- + Bổ sung 100 μ L mẫu tủy đã pha loãng ở trên vào các ống từ 1-7 (trường hợp làm thêm ống 8,9 thì cho thêm vào 2 ống này).
- + Ủ các ống trong tối 30p (có thể trên đá hoặc ở nhiệt độ phòng).
- + Cho 2ml Farm lysing ủ trong 15p ở nhiệt độ phòng. Sau đó ly tâm 2500 rpm/phút trong 5p, đổ dịch nổi giữ lại cặn.
- + Rửa 2 lần với Stain buffer (2500 rpm/phút trong 5p), đối với các ống từ 1-7 cho vào mỗi ống 500 μ L đệm stain buffer và vortex trộn đều.
- + Phân tích tế bào trên máy BD Facsanto/BD FacsLyric.
- + Các ống từ ống 1-5 được dùng làm chứng cho cài đặt máy (cài đặt bù trừ).

- B1: tạo “New experiment”

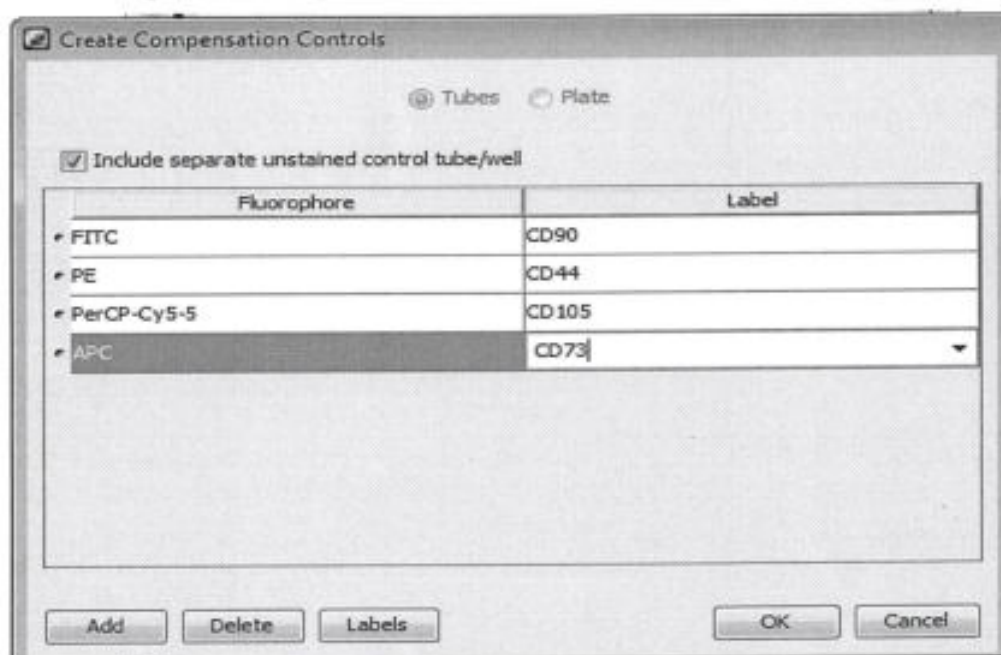




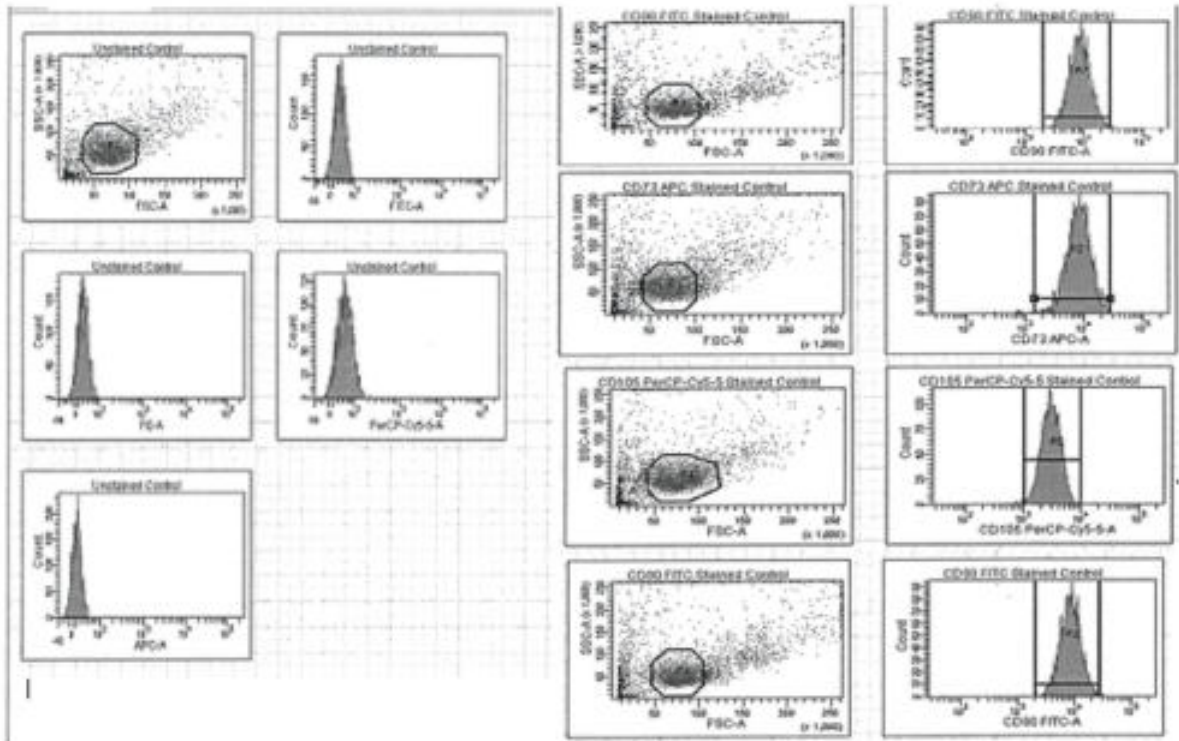
- B2: chọn chuột vào mục “Cytometer setting”, trong mục Inspector lựa chọn các parameter sử dụng.



- B3: Chọn Experiment → compensation setup → Create compensation controls
- B4: Trong mục Compensation controls ghi label → chọn “OK”

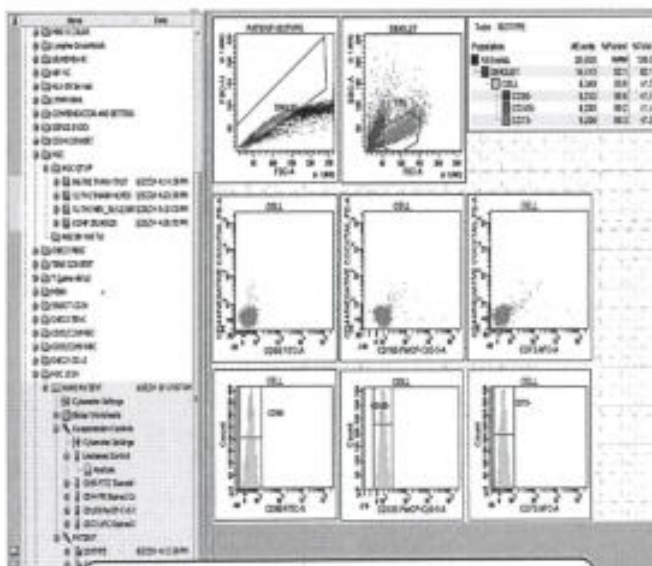


- B5: Chạy ống “Unstain” điều chỉnh thông số xác định vùng quần thể âm tính. Chạy tiếp các ống còn lại xác định vùng quần thể dương tính.

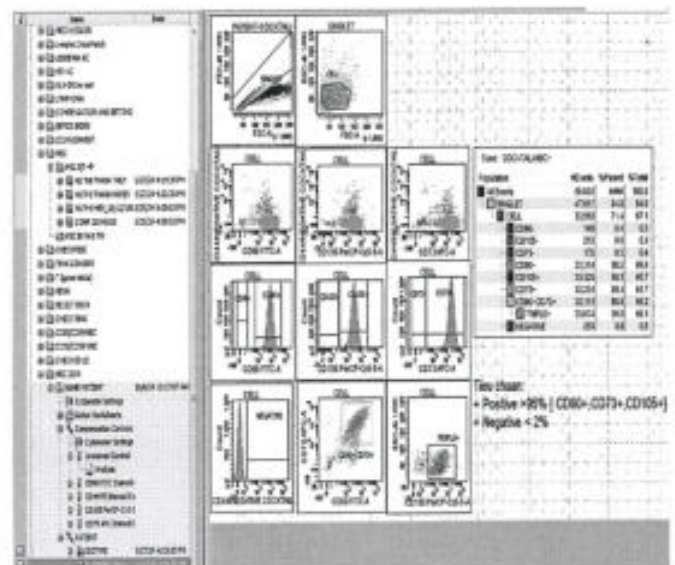


- B6: Sau khi chạy xong, xác định quần thể “Âm tính” và “Dương tính”. Vào mục “Experiment” → chọn “Compensation setup” → chọn “Calculate Compensation”

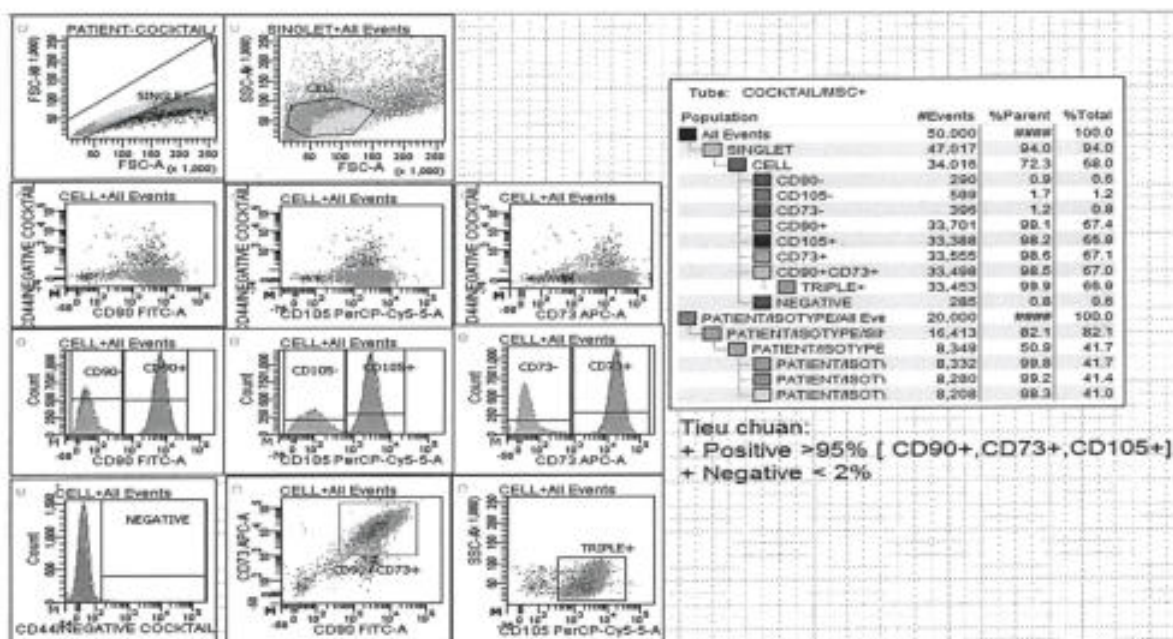
+ Chạy Ống 6,7 để phân tích MSCs



ỐNG 6: ISOTYPE



ỐNG 7: COCKTAIL/MSC+



OVERLAY ỚNG 6 VÀ ỚNG 7 (xác định vùng gate tính kết quả)

– Mẫu MSCs nuôi cấy:

- + Tách rời các tế bào bằng dung dịch BD™ Accutase™ Cell Detachment Solution hoặc các dung dịch tách rời tế bào tương tự, rửa tế bào.
- + Đếm CTM.
- + Hòa tế bào ở nồng độ 1×10^7 tế bào/ml bằng dung dịch BD Pharmingen™ Stain Buffer hay các đệm nhuộm phù hợp.

Các tế bào có thể được hòa vào đệm ở nồng độ 5×10^6 tế bào/ml nếu số lượng tế bào ít.

Chia đều tế bào vào các ống sao cho nồng độ ở mỗi ống: 5×10^5 - 1×10^6 tế bào/100μl.

– Các bước thực hiện:

- + Chuẩn bị 7 hoặc 9 ống giống mẫu tùy xương.
- + Bỏ sung 100μL mẫu MSCs đã pha loãng ở trên vào các ống từ 1-7 (trường hợp làm thêm ống 8,9 thì cho thêm vào 2 ống này).
- + Ủ các ống trong tối 30p (có thể trên đá hoặc ở nhiệt độ phòng).
- + Rửa 2 lần với stain buffer, đối với các ống từ 1-7 cho vào mỗi ống 500 μL đệm stain buffer và votex trộn đều.
- + Phân tích tế bào trên máy BD Facsanto/BD Facslyric
 - o Xác định quần thể tế bào và loại bỏ debris.

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

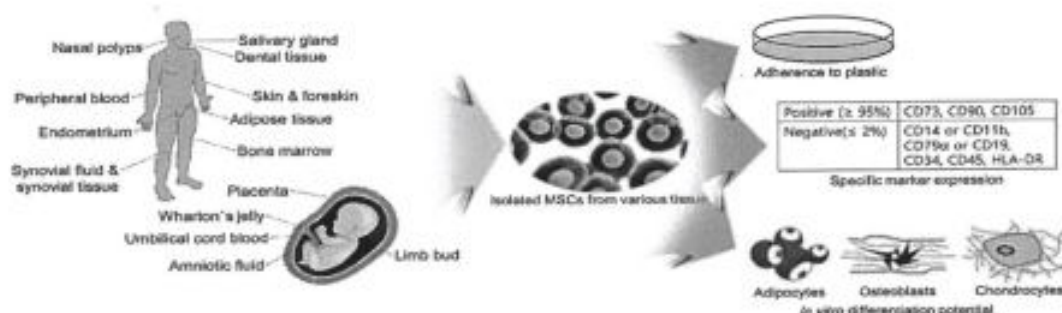
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	Trang 11 trên 12
	TRUNG TÂM TẾ BÀO GỐC	QTXN.A42.20.1
	Quy trình kỹ thuật về xét nghiệm đếm tế bào gốc trung mô bằng kỹ thuật flow cytometry	02/06/2025

- o Ghi tối thiểu 500.000 events.

4.2. Nhận định kết quả

- Đánh giá dựa trên mức độ biểu hiện dương tính của các marker đặc hiệu và biểu hiện âm tính của các marker không đặc hiệu.

Positive ($\geq 95\%$)	CD73, CD90, CD105
Negative ($\leq 2\%$)	CD14 or CD11b CD79a or CD19 CD34, CD45, HLA-DR



- Số lượng tế bào gốc trung mô dựa trên tỷ lệ % và tổng lượng tế bào TNC trong cơ thể.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Báo cáo kết quả và công bố kết quả xét nghiệm theo QTQL.A42.14, QTQL.A42.15

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

STT	Sai sót	Xử trí
1	Sai mẫu bệnh phẩm	Lấy lại mẫu
2	Mẫu bệnh phẩm quá ít	Lấy thêm mẫu
3	Sai thông tin mẫu bệnh phẩm/nhầm mẫu	Yêu cầu kiểm tra lại, lấy lại mẫu bệnh phẩm (nếu cần)

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	Trang 12 trên 12
	TRUNG TÂM TẾ BÀO GỐC	QTXN.A42.20.1
	Quy trình kỹ thuật về xét nghiệm đếm tế bào gốc trung mô bằng kỹ thuật flow cytometry	02/06/2025

STT	Sai sót	Xử trí
1	Nhầm mẫu bệnh phẩm	Ủ lại mẫu (nếu còn bệnh phẩm)
2	Đổ mất mẫu trong quá trình ủ	Ủ lại mẫu/lấy lại bệnh phẩm
3	Cho nhầm hóa chất	Ủ lại mẫu
4	Đếm nhầm ống bệnh phẩm	Ủ lại mẫu
5	Dùng sai bù màu hệ thống	Chọn đúng bù màu hệ thống và chạy lại mẫu xét nghiệm

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

STT	Sai sót	Nguyên nhân	Xử trí
1	Tăng ngưỡng tín hiệu huỳnh quang ở tất các các ống	Nhiễm chéo/mẫu sau ủ không được đếm luôn (để lâu >1 tiếng sau ủ)/Cho nhầm hóa chất	Ủ lại mẫu
2	Ống cocktail (ống 7), các marker không lên	Không cho hóa chất/cho nhầm hóa chất	Ủ lại mẫu
3	Ống Isotype và cocktail đều lên	Cho nhầm hóa chất	Ủ lại mẫu
4	Phân tích sai kết quả	Chạy nhầm mẫu/khoanh vùng đánh giá sai	Kiểm tra lại mẫu. Khoanh vùng và phân tích lại kết quả

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện chạy ống “Isotype” và ống “Unstain” để kiểm soát kỹ thuật xét nghiệm.
- Thực hiện gửi mẫu so sánh liên phòng để đảm bảo xét nghiệm

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ming Li and Susumu Ikehara (2013), *Bone MarrowDerived Mesenchymal stem cells for Organ Repair*, <https://doi.org/10.1155/2013/132642>

BỘ Y TẾ
BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG



QUY TRÌNH GIẢM THẺ TÍCH
KHỐI TẾ BÀO GỐC MÁU NGOẠI VI
ĐỂ BẢO QUẢN ĐÔNG LẠNH
QTKT.A46.7.2

Phiên bản: 2.0

Ngày hiệu lực: 02/06/2025

	Họ tên	Chức vụ	Chữ ký
Soạn thảo	Hà Thị Phương	Nhân viên Trung tâm Tế bào gốc	
Xem xét	Nguyễn Thanh Bình	Phụ trách Trung tâm Tế bào gốc	
Phê duyệt	Cao Việt Tùng	Phó Giám đốc Bệnh viện	

Hà Nội – 2025



	BỘ Y TẾ	Trang 2 trên 7
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.7.2
	Quy trình kỹ thuật giảm thể tích khối tế bào gốc máu ngoại vi để bảo quản đông lạnh	02/06/2025

Lịch sử thay đổi tài liệu

Phiên bản	Ngày hiệu lực	Sửa đổi
1.0	01/06/2023	Phiên bản mới
1.0	02/01/2024	Soát xét định kỳ không thay đổi nội dung
2.0	02/06/2025	Thay đổi mã tài liệu

Phân phối

Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc: 01 bản

	BỘ Y TẾ	Trang 3 trên 7
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.7.2
	Quy trình kỹ thuật giảm thể tích khối tế bào gốc máu ngoại vi để bảo quản đông lạnh	02/06/2025

1. MỤC ĐÍCH

- Quy trình này giúp cho nhân viên Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc thực hiện kỹ thuật giảm thể tích khối tế bào gốc máu ngoại vi khi thể tích mẫu sau thu thập lớn không phù hợp với thể tích lưu trữ và thể tích truyền cho bệnh nhân $\leq 20\text{ml/kg}$ (theo nguyên tắc an toàn truyền máu để tránh quá tải tuần hoàn).

2. PHẠM VI ÁP DỤNG

- Áp dụng tại Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc, Bệnh viện Nhi Trung ương.

3. TRÁCH NHIỆM

- Tất cả nhân viên Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc đã được đào tạo có trách nhiệm tuân thủ đúng quy trình khi thực hiện và đề xuất nhu cầu xây dựng mới, sửa đổi/cập nhật, cải tiến và đảm bảo tính hiệu lực của quy trình này.

- Giám đốc/phó giám đốc Bệnh viện Nhi Trung ương có trách nhiệm phê duyệt quy trình.

4. NHỮNG NGƯỜI QUẢN LÝ, GIÁM SÁT TUÂN THỦ QUY TRÌNH NÀY

- Ban Lãnh đạo Trung tâm Tế bào gốc, nhân viên quản lý chất lượng, nhân viên quản lý kỹ thuật chịu trách nhiệm quản lý, giám sát sự tuân thủ quy trình xét nghiệm của nhân viên.

- Nhân viên kiểm soát tài liệu chịu trách nhiệm phân phối tài liệu phiên bản mới nhất, thu hồi phiên bản cũ.

- Tất cả nhân viên Trung tâm Tế bào gốc đã được đào tạo có trách nhiệm áp dụng, tuân thủ việc thực hiện và đề xuất cải tiến quy trình.

5. VIẾT TẮT

TBG: Tế bào gốc

ATSH: An toàn sinh học

CTM: Công thức máu

6. NỘI DUNG

6.1. Đại cương

6.1.1. Nguyên lý của kỹ thuật

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 4 trên 7</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTKT.A46.7.2</i>
	<i>Quy trình kỹ thuật giảm thể tích khối tế bào gốc máu ngoại vi để bảo quản đông lạnh</i>	<i>02/06/2025</i>

Sử dụng máy ly tâm lạnh túi máu, ly tâm phân lớp loại bỏ một phần huyết tương của túi tế bào gốc sau thu thập.

6.1.2. Mục đích của kỹ thuật

Giảm thể tích để đưa khối tế bào gốc về thể tích lưu trữ phù hợp với mục đích:

- + Tiết kiệm không gian lưu trữ;
- + Giảm lượng chất bảo quản DMSO cần dùng (DMSO độc cho bệnh nhân khi quá liều, liều dùng không quá 1 ml/ kg);
- + Giảm thể tích truyền cho bệnh nhân tránh quá tải tuần hoàn.

6.2. Chỉ định

Khối TBG sau thu hoạch từ máu ngoại vi có thể tích lớn cần giảm thể tích để phù hợp với thể tích lưu trữ đông lạnh và thể tích truyền cho bệnh nhân.

6.3. Chống chỉ định

Không áp dụng

6.4. Thận trọng

Tất cả các thao tác hờ đối với mẫu phải thực hiện trong tủ ATSH.

6.5. Chuẩn bị

6.5.1. Người thực hiện

- a) Nhân lực trực tiếp: 01 kỹ thuật y hoặc 01 bác sỹ.
- b) Nhân lực hỗ trợ: 01 kỹ thuật y.

6.5.2. Thuốc

Không áp dụng

6.5.3. Vật tư

STT	Danh mục	Đơn vị	Số lượng
1	Bơm tiêm 5 ml	Cái	02
2	Bơm tiêm 10 ml	Cái	01
3	Kim tiêm 18G	Cái	05
4	Bộ quần áo vô trùng	Bộ	01

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 5 trên 7</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTKT.A46.7.2</i>
	<i>Quy trình kỹ thuật giảm thể tích khối tế bào gốc máu ngoại vi để bảo quản đông lạnh</i>	<i>02/06/2025</i>

5	Khẩu trang vô trùng	Cái	01
6	Bao giấy vô trùng	Đôi	01
7	Mũ vô trùng	Cái	01
8	Găng tay vô trùng	Đôi	01
9	Găng tay y tế	Đôi	01

6.5.4. Trang thiết bị

STT	Danh mục	Đơn vị	Số lượng
1	Phòng thủ thuật đảm bảo vô trùng	Cái	01
2	Tủ an toàn sinh học	Cái	01
3	Máy ly tâm lạnh túi máu	Cái	01
4	Tủ lạnh 4°C	Cái	01
5	Bàn ép túi máu	Cái	01
6	Máy lắc túi máu	Cái	01
7	Máy hàn dây túi máu	Cái	01
8	Máy hàn nối dây túi máu	Cái	01

6.5.5. Người bệnh

Không áp dụng

6.5.6. Hồ sơ bệnh án

Không áp dụng

6.5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật

2 giờ

6.5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng sạch chế biến tế bào - Trung tâm Tế bào gốc.

6.5.9. Kiểm tra hồ sơ

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 6 trên 7</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTKT.A46.7.2</i>
	<i>Quy trình kỹ thuật giám thể tích khối tế bào gốc máu ngoại vi để bảo quản đông lạnh</i>	<i>02/06/2025</i>

- Kiểm tra đúng túi tế bào gốc, đúng bệnh nhân đã lấy tế bào gốc.
- In 04 tem/ barcode chứa thông tin bệnh nhân lấy tế bào gốc.
- Chuẩn bị phiếu xử lý tế bào gốc máu ngoại vi, mã BM1/QTKT.A46.7.2

6.6. Tiến hành quy trình kỹ thuật

6.6.1. Trước khi vào phòng sạch

- Rửa tay theo quy trình vệ sinh tay thường quy mã tài liệu

QTKT.A46.15.2

- Đội mũ, đeo khẩu trang và mặc áo vô trùng (áo phẫu thuật) theo quy định của bệnh viện.

6.6.2. Tiến hành các bước tại phòng sạch

- Vệ sinh bề mặt bàn làm việc, máy ly tâm, bàn ép;
- Khởi động tủ ATSH theo hướng dẫn sử dụng tủ ATSH mã

HDCV.A46.7.2;

- Kiểm tra thông tin túi tế bào gốc sau thu thập, đúng bệnh nhân.
- Dán tem/barcode chứa thông tin bệnh nhân lấy tế bào gốc lên các túi chính và túi chứa huyết tương loại bỏ;
- Kẹp khóa dây giữa túi chứa tế bào gốc và túi rỗng;
- Khối TBG sau khi thu hoạch xong cân khối lượng, tính thể tích V1:

$$V1 = (\text{Khối lượng bộ túi sản phẩm} - \text{khối lượng vỏ túi})/1,05$$

Trong đó:

+ Bộ túi sản phẩm bao gồm 1 túi chứa sản phẩm tế bào, 1 túi rỗng và 1 túi nhỏ có vị trí rút mẫu.

+ Khối lượng vỏ túi bộ kit P1Ya là 72 gram.

- Dùng bơm tiêm kết nối với kim 18G, thông qua vị trí rút mẫu của túi nhỏ đi kèm túi sản phẩm, rút 1 ml mẫu đếm CTM và đếm tế bào gốc CD34+ (thao tác trong tủ ATSH).

- Tính thể tích huyết tương cần loại bỏ:

- Ly tâm các túi TBG sau khi chia ở phía trên tốc độ 850g/10 phút (tăng tốc mức 9, giảm tốc mức 3);

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 7 trên 7</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTKT.A46.7.2</i>
	<i>Quy trình kỹ thuật giảm thể tích khối tế bào gốc máu ngoại vi để bảo quản đông lạnh</i>	<i>02/06/2025</i>

- Nhẹ nhàng lấy các túi TBG treo trên bàn ép, ép từ từ loại huyết tương đưa về thể tích V2 sao cho:

+ Nếu bệnh nhân truyền trong vòng 24h thì khối TBG sau khi loại huyết tương có thể tích sao cho không quá 20 ml/kg bệnh nhân.

+ Nếu lưu túi bảo quản loại 250 thì thể tích V2 < 50 ml (do túi chứa tối đa 70 ml bao gồm cả chất bảo quản).

+ Nếu lưu túi bảo quản loại 500 thì thể tích V2 < 80 ml (do túi chứa tối đa 100 ml bao gồm cả chất bảo quản).

- Trộn đều mẫu sau khi loại huyết tương trên máy lắc trong 5 phút, bảo quản trong tủ lạnh 2-8°C trước khi lưu trữ hoặc khi bệnh nhân chưa truyền ngay.

6.6.3. Kết thúc quy trình

- Hoàn thành phiếu xử lý TBG theo biểu mẫu BM1/QTKT.A46.7.2, in 02 bản, 01 bản trả lâm sàng và 01 bản lưu file “Ghép tế bào gốc” và lưu bản mềm trên máy tính.

- Hoàn thiện thông tin xử lý trên file “Thống kê ghép tế bào gốc”.

- Ghi nhật ký máy ly tâm, tủ ATSH.

6.7. Theo dõi và xử trí tai biến

6.7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Báo cáo lãnh đạo và trưởng nhóm tế bào gốc khi có bất cứ sự cố nào xảy ra;
- Chuyển mẫu sang bộ túi rỗng vô trùng khác nếu có sự cố rò rỉ hoặc vỡ túi.

6.7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Không áp dụng.

6.7.3. Biến chứng muộn

- Không áp dụng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Francesco Zinno, et al., 2011, Processing of hematopoietic stem cells from peripheral blood before cryopreservation: use of a closed automated system, Transfusion.



PHIẾU XỬ LÝ VÀ LƯU TRỮ TẾ BÀO GỐC MÁU NGOẠI VI

I. Thông tin bệnh nhân

Người cho:	Người nhận:
Ngày sinh:	Ngày sinh:
MSBA:	MSBA:
Nhóm máu:	Khoa phòng:
Cân nặng:	Cân nặng: Nhóm máu:

II. Hóa chất và vật tư tiêu hao chính

Tên hóa chất/vật tư	Hãng sản xuất	Lô/Lot	Hạn sử dụng
Túi lưu trữ			
DMSO			
Human albumin 20%			

III. Quá trình xử lý

Thể tích PBSC trước xử lý	
Bạch cầu trước xử lý (G/L)	
Hematocrite trước xử lý (%)	
Tổng số tế bào CD34 x 10^6 (tế bào)	
Phương pháp xử lý	☐ Giảm thể tích; ☐ Loại hồng cầu
Thể tích PBSC sau xử lý (mL)	
HCT sau xử lý (%)	

IV. Thông tin lưu trữ

Lưu trữ	Mã mẫu 1:	Mã mẫu 2:
Tổng thể tích lưu trữ	... ml	... ml
Liều CD34/kg	... x 10^6 /kg	... x 10^6 /kg
DMSO	... ml	... ml
Huyết tương tự thân/ human albumin 5% trong NaCl 0.9%	... ml	... ml
Vị trí lưu mẫu PBSC		
Vị trí lưu cryotube		

Nhân viên xử lý

Ngày ... tháng ... năm 20...

Trung tâm Tế bào gốc

BỘ Y TẾ
BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG



QUY TRÌNH ĐÔNG LẠNH KHỐI TẾ BÀO GỐC
BẢNG HỆ THỐNG HẠ NHIỆT
QTKT.A46.8.2

Phiên bản: 2.0

Ngày hiệu lực: 02/06/2025

	Họ tên	Chức vụ	Chữ ký
Soạn thảo	Hà Thị Phương	Nhân viên Trung tâm Tế bào gốc	
Xem xét	Nguyễn Thanh Bình	Phụ trách Trung tâm Tế bào gốc	
Phê duyệt	Cao Việt Tùng	Phó Giám đốc Bệnh viện	

Hà Nội – 2025

	BỘ Y TẾ	Trang 2 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.8.2
	Quy trình kỹ thuật đông lạnh khối tế bào gốc bằng hệ thống hạ nhiệt	02/06/2025

Lịch sử thay đổi tài liệu

Phiên bản	Ngày hiệu lực	Sửa đổi
1.0	01/06/2023	Phiên bản mới
1.0	02/01/2024	Soát xét định kỳ không thay đổi nội dung
2.0	02/06/2025	Thay đổi mã tài liệu

Phân phối

Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc: 01 bản



1. MỤC ĐÍCH

Quy trình này giúp đông lạnh khối tế bào gốc từ máu ngoại vi, tủy xương hoặc từ máu dây rốn sử dụng hệ thống làm lạnh tự động có kiểm soát Cryomed Freezer đã được cài đặt sẵn để đưa khối tế bào gốc từ nhiệt độ phòng xuống -90°C trước khi lưu trữ lâu dài trong nito lỏng.

2. PHẠM VI ÁP DỤNG

- Áp dụng tại Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc, Bệnh viện Nhi Trung ương.

3. TRÁCH NHIỆM

- Tất cả nhân viên Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc đã được đào tạo có trách nhiệm tuân thủ đúng quy trình khi thực hiện và đề xuất nhu cầu xây dựng mới, sửa đổi/cập nhật, cải tiến và đảm bảo tính hiệu lực của quy trình này.

- Giám đốc/Phó giám đốc Bệnh viện Nhi Trung ương có trách nhiệm phê duyệt quy trình.

4. NHỮNG NGƯỜI QUẢN LÝ, GIÁM SÁT TUÂN THỦ QUY TRÌNH NÀY

- Lãnh đạo Trung tâm Tế bào gốc, kỹ thuật y trường, nhân viên quản lý chất lượng, nhân viên quản lý kỹ thuật chịu trách nhiệm quản lý, giám sát sự tuân thủ quy trình kỹ thuật của nhân viên.

- Nhân viên kiểm soát tài liệu chịu trách nhiệm phân phối tài liệu phiên bản mới nhất, thu hồi phiên bản cũ.

- Tất cả nhân viên Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc đã được đào tạo có trách nhiệm áp dụng, tuân thủ việc thực hiện và đề xuất cải tiến quy trình.

5. VIẾT TẮT

TBG: Tế bào gốc

TNC: Total nucleated cell (tổng tế bào có nhân)

6. NỘI DUNG

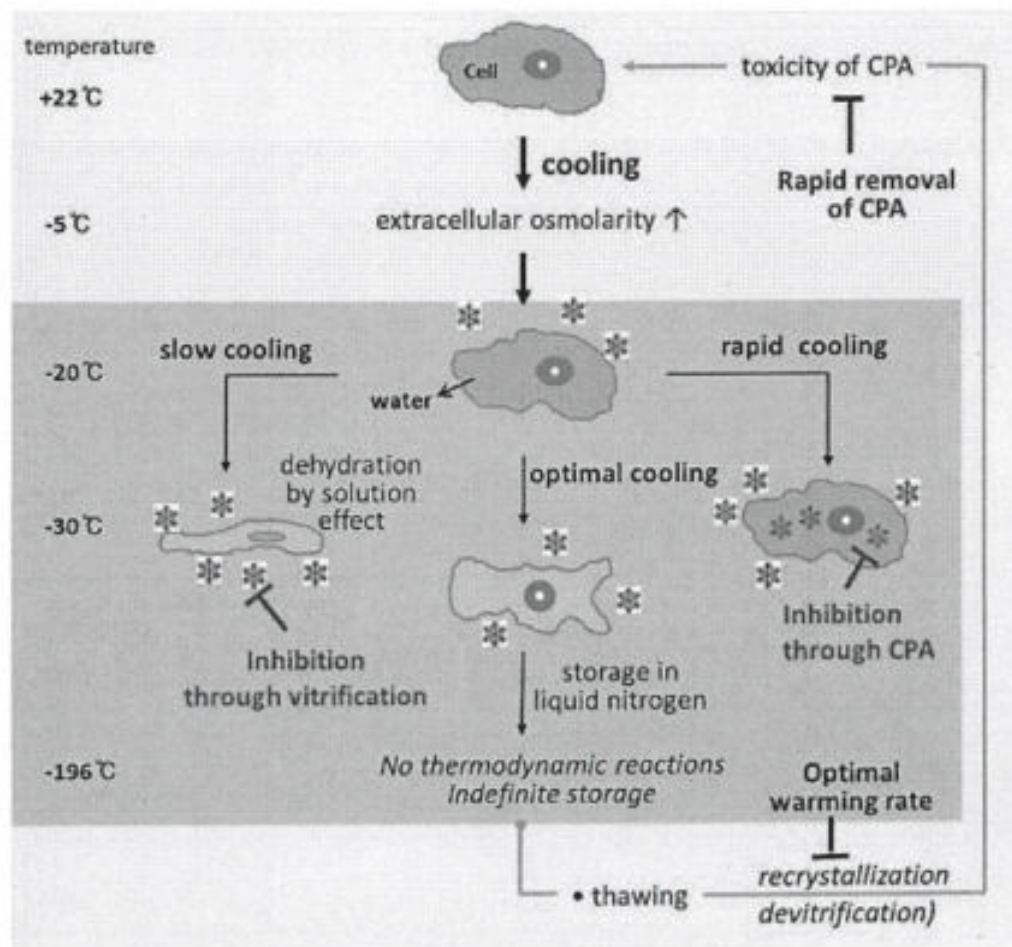
6.1. Đại cương

6.1.1. Nguyên lý kỹ thuật

Trong quá trình đông lạnh, nước ở môi trường bên ngoài tế bào sẽ đóng băng. Tốc độ làm lạnh khác nhau dẫn đến mức độ tế bào co rút khác nhau do



sự mất nước. Áp suất thẩm thấu của môi trường bên ngoài tế bào liên tục tăng lên khi nước hình thành các tinh thể đá. Tốc độ làm lạnh càng chậm thì nước bên trong tế bào thẩm thấu ra ngoài càng lâu. Do đó, làm lạnh rất chậm dẫn đến chết tế bào do mất nước quá nhiều. Làm lạnh nhanh có thể hình thành các tinh thể đá nội bào dẫn đến tế bào bị chết khi được làm ấm. Tốc độ làm lạnh trung bình ($1^{\circ}\text{C}/\text{phút}$), có kiểm soát giúp cân bằng nguy cơ mất nước thẩm thấu và hình thành đá nội bào, mang lại tỉ lệ tế bào sống tối đa (Hình bên dưới).



Chương trình hạ nhiệt có thể chọn chương trình 4 hoặc chương trình 6:

- Chương trình 4:

Bước 1: Chờ đến 20°C

Bước 2: $1^{\circ}\text{C}/\text{phút}$ đến -6°C

Bước 3: $25^{\circ}\text{C}/\text{phút}$ đến -50°C

Bước 4: $10^{\circ}\text{C}/\text{phút}$ đến -14°C

Bước 5: $1^{\circ}\text{C}/\text{phút}$ đến -45°C

Bước 6: $10^{\circ}\text{C}/\text{phút}$ đến -90°C



Bước 7: Kết thúc

- Chương trình 6:

Bước 1: Chờ đến 4°C

Bước 2: 1°C/ phút đến -4°C

Bước 3: 20°C/ phút to -45°C

Bước 4: 10°C/ phút đến -10°C

Bước 5: 0,5°C/ phút đến -20°C

Bước 6: 1°C/ phút đến -80°C

Bước 7: Kết thúc

6.1.2. Mục đích của kỹ thuật

- Bổ sung chất bảo quản DMSO là chất bảo quản nội bào, giúp ngăn ngừa hình thành tinh thể đá nội bào, giảm điểm đóng băng, làm tăng tỷ lệ sống của tế bào sau bảo quản đông lạnh.

- Hạ nhiệt độ khối tế bào gốc sau xử lý từ nhiệt độ phòng về -90°C, để tránh làm tổn thương và chết tế bào trước khi lưu giữ lâu dài trong nitơ lỏng.

6.2. Chỉ định

- Các loại tế bào gốc trước khi lưu bảo quản ở điều kiện nitơ lỏng.

6.3. Chống chỉ định

- Không có chống chỉ định.

6.4. Thận trọng

- Thận trọng khi tiếp xúc với nitơ lỏng, luôn đeo găng tay bảo vệ lạnh khi tiếp xúc với nitơ lỏng.

- Kết nối máy hạ nhiệt với bộ lưu điện để tránh bị gián đoạn quy trình khi mất điện đột ngột.

6.5. Chuẩn bị

6.5.1. Người thực hiện

a) Nhân lực trực tiếp: 1 kỹ thuật viên hoặc bác sĩ.

b) Nhân lực hỗ trợ (nếu có): 1 kỹ thuật viên.

6.5.2. Thuốc/ hóa chất

- 01 lọ DMSO (Dimethyl sulfoxide);

- 01 lọ Human albumin 20% hoặc Dextran T40 hoặc huyết tương tự thân;

	BỘ Y TẾ	Trang 6 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.8.2
	Quy trình kỹ thuật đông lạnh khối tế bào gốc bằng hệ thống hạ nhiệt	02/06/2025

- 01 chai NaCl 0,9% 100 ml;
- Nguồn nitơ lỏng cho hạ lạnh và lưu trữ tế bào.

6.5.3. Vật tư

STT	Danh mục	Đơn vị tính	Số lượng
1	Bình cấp nitơ lỏng cho máy hạ nhiệt độ và tủ lưu mẫu nitơ lỏng	Bình	02
2	Khung/ giá cài chứa hộp bảo vệ mẫu (7 vị trí/ khung)	Cái	01
3	Hộp bảo quản đông lạnh/ canister loại 25, 50, 250, 500 tùy thể tích	Cái	01
4	Bộ túi bảo quản đông lạnh loại 25, 250, 500 tùy thể tích, kèm túi bao ngoài	Cái	01
5	Xi lanh 1 ml	Cái	01
6	Xi lanh 5 ml	Cái	02
7	Xi lanh 20 ml	Cái	02
8	Xi lanh 50 ml	Cái	02
9	Kim 18G	Cái	06
10	Găng tay vô trùng	Đôi	02
11	Ống bảo quản đông lạnh (cryotube) 1,5- 2 ml	Cái	02
12	Quần áo vô trùng	Bộ	01
13	Khẩu trang vô trùng	Cái	01
14	Mũ vô trùng	Cái	01
15	Giấy vô trùng	Cái	01

6.5.4. Trang thiết bị

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

STT	Danh mục	Đơn vị tính	Số lượng
1	Phòng sạch đảm bảo vô trùng	Cái	01
2	Tủ an toàn sinh học cấp II	Cái	01
3	Tủ lạnh 4°C	Cái	01
4	Máy lắc túi máu	Cái	01
5	Máy hàn dây túi máu	Cái	01
6	Máy hàn nối dây túi máu vô trùng	Cái	01
7	Máy hàn túi plastic có hút chân không	Cái	01
8	Máy hạ lạnh theo chương trình có kết nối máy tính	Cái	01
9	Bình lưu trữ chứa nitơ lỏng	Bình	01
10	Bộ dụng cụ cờ lê, mỏ lết	Bộ	01
11	Găng tay bảo vệ lạnh	Đôi	01
12	Bộ lưu điện (UPS)	Cái	01

6.5.5. Người bệnh

Không áp dụng

6.5.6. Hồ sơ bệnh án

Không áp dụng

6.5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật

3 giờ

6.5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng xử lý/ chế biến tế bào và phòng lưu trữ TBG - Trung tâm Tế bào gốc.

6.5.9. Kiểm tra hồ sơ

Chuẩn bị các biểu mẫu:

BMI/QTKT.A46.5

	BỘ Y TẾ	Trang 8 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.8.2
	Quy trình kỹ thuật đông lạnh khối tế bào gốc bằng hệ thống hạ nhiệt	02/06/2025

BM1/QTKT.A46.6

BM1/QTKT.A46.7

BM1/QTKT.A46.16

6.6. Tiến hành quy trình kỹ thuật

6.6.1. Chuẩn bị khối tế bào gốc và dung dịch bảo quản

- Khối TBG từ máu ngoại vi hoặc tủy xương sau khi xử lý theo quy trình QTKT.A42.5/6/7;

- Chuẩn bị dung dịch bảo quản chứa 5-10% DMSO và huyết tương tự thân (nếu phù hợp nhóm máu với người nhận) hoặc human albumin 5% pha trong NaCl 0,9% theo tỉ lệ 1:3 vào bơm tiêm.

Lưu ý: Tỉ lệ mẫu với DMSO và huyết tương tự thân (hoặc human albumin 5%) tối ưu là 1:1:3. Tuy nhiên với một số mẫu TBG lưu thể tích nhỏ, không thể bổ sung chất bảo quản theo tỉ lệ này thì cũng có thể giảm bớt huyết tương hoặc pha trộn chất bảo quản chứa 10% DMSO và 10% Dextran T40 mà không có huyết tương.

- Kết nối xi lanh chứa chất bảo quản với túi TBG, giữ lạnh 2-8°C trong 30 phút trước khi bơm trộn với chất bảo quản;

- Chuẩn bị túi lưu trữ: ghi tên và dán nhãn/ code, mã đơn vị TBG, thể tích;

- Chuẩn bị hộp bảo quản: ghi tên và dán nhãn/ code, mã đơn vị TBG, thể tích;

6.6.2. Trộn tế bào gốc với dung dịch bảo quản

- Lấy mẫu TBG đã kết nối với dung dịch chất bảo quản, kẹp túi TBG vào giữa 2 gel lạnh (gel đã để lạnh 4°C ít nhất 30 phút) đặt trên máy lắc và đặt bơm DMSO ở 4°C;

- Mở khóa van giữ túi TBG và chất bảo quản, bật máy lắc, khởi động máy tiêm đã gắn xi lanh chứa chất bảo quản đông lạnh;

+ Bơm dung dịch bảo quản vào túi tế bào gốc tốc độ 24ml/h đối với máu dây rốn và mẫu TBG thể tích thấp mà chất bảo quản chỉ chứa 10% DMSO và 10% Dextran;

+ Bơm trong khoảng 10 phút đối với khối TBG thể tích lớn và chất bảo quản đã được pha loãng với tỉ lệ DMSO: Huyết tương/ human albumin là 1:3;

- Loại bọt khí ở túi sản phẩm;

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 9 trên 11</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTKT.A46.8.2</i>
	<i>Quy trình kỹ thuật đông lạnh khối tế bào gốc bằng hệ thống hạ nhiệt</i>	<i>02/06/2025</i>

- Rút 0,5 ml mẫu lưu cryotube (ống lưu mẫu đông lạnh), cấy máu 1 ml;
- Hàn đoạn dây của túi đông lạnh cách miệng túi 0,5-1 cm, đoạn dây tiếp theo 2 cm và đoạn dây cuối 5 cm;
- Cho túi đông lạnh vào túi bao ngoài, hàn túi hút chân không;
- Đưa mẫu vào hộp bảo quản đã viết mã mẫu và dán barcode;
- Đặt mẫu vào tủ lạnh 4°C khi chưa chuyển vào máy hạ nhiệt theo chương trình.

6.6.3. Làm lạnh khối tế bào gốc bằng máy hạ nhiệt theo chương trình có kiểm soát

6.6.3.1. Chuẩn bị máy

- Kiểm tra áp suất bình cấp nitơ lỏng khoảng 20-30 psi đảm bảo mức nitơ còn đủ cho quá trình hạ nhiệt (ít nhất 1/4 bình), kết nối với máy hạ nhiệt CryoMed Freezer;
- Mở khóa bình nitơ mức tối đa;
- Kiểm tra kết nối máy hạ nhiệt với bộ lưu điện;
- Bật máy hạ nhiệt độ, khởi động phần mềm chạy chương trình hạ nhiệt có kiểm soát trên màn hình;
- Chọn chương trình hạ nhiệt độ khối TBG: program 4 hoặc program 6 cho khối tế bào gốc tạo máu/ Enter.

6.6.3.2. Chuyển mẫu vào buồng hạ nhiệt

- Mẫu và buồng hạ nhiệt nên đạt đến nhiệt độ ban đầu của mẫu trước khi bắt đầu hạ lạnh tự động.
- Đặt hộp bảo vệ chứa mẫu tế bào gốc và ống mẫu đi kèm lên giá đỡ của buồng hạ nhiệt độ sao cho hộp bảo vệ chứa mẫu đặt trên bề mặt bằng phẳng nằm ngang, ống mẫu đặt thẳng đứng;
- Đặt đầu cảm ứng nhiệt độ của mẫu tiếp xúc với khối tế bào gốc;
- Đóng cửa của buồng hạ nhiệt độ;
- Nhấn nút “Run” để chạy chương trình.

6.6.3.3. Thực hiện và theo dõi trong quá trình chạy máy

- Thực hiện chu trình hạ nhiệt theo các bước từ 1-7;

	BỘ Y TẾ	Trang 10 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.8.2
	Quy trình kỹ thuật đông lạnh khối tế bào gốc bằng hệ thống hạ nhiệt	02/06/2025

- Theo dõi các bất thường trong quá trình chạy (cảnh báo bằng còi báo động và sơ đồ hạ nhiệt được hiển thị);

- Kết thúc chạy máy màn hình hiển thị Step 7 “End”;

- Nhấn nút “Back” trên máy hạ nhiệt độ và khóa van cấp nitơ cho máy.

6.6.3.4. Chuyển mẫu lưu giữ đông lạnh

- Mở buồng hạ nhiệt độ của máy;

- Lấy hộp bảo vệ chứa mẫu tế bào gốc đã đông lạnh đặt vào vị trí trên khung/ giá cài (7 vị trí);

- Đặt giá cài hộp bảo vệ chứa mẫu vào hệ thống bình lưu trữ ở nhiệt độ < -150°C;

6.6.3.5. Hoàn thiện hồ sơ và thu dọn dụng cụ

- Lưu file và in biểu đồ nhiệt chạy máy lưu hồ sơ;

- Thoát chương trình và tắt máy.

- Vệ sinh máy và thu dọn dụng cụ.

6.6.3.6. Kết thúc quy trình

- Kết thúc quy trình hạ lạnh, chuyển mẫu vào bình lưu giữ;

- Hoàn thiện hồ sơ lưu trữ mẫu;

- Điền đầy đủ thông tin vào phiếu xử lý TBG:

+ BM1/QTKT.A46.5

+ BM1/QTKT.A46.6

+ BM1/QTKT.A46.7

- In biểu đồ nhiệt hạ lạnh mẫu tế bào gốc, lưu hồ sơ.

- Lưu thông tin vị trí mẫu TBG và ống cryotube trên file “Danh sách mẫu lưu đông lạnh và danh sách mẫu cryotube”.

- Ghi lại tất cả sự cố (nếu có) vào sổ “Nhật ký sự không phù hợp” và báo cáo lãnh đạo Trung tâm.

6.7. Theo dõi và xử trí tai biến

6.7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

Máy lỗi/ hỏng khi đang thực hiện chương trình hạ nhiệt: chuyển sang hạ nhiệt bằng phương pháp thủ công, mã tài liệu QTKT.A46.16

	BỘ Y TẾ	Trang 11 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.8.2
	Quy trình kỹ thuật đông lạnh khối tế bào gốc bằng hệ thống hạ nhiệt	02/06/2025

Hoàn thiện biểu mẫu tiến trình làm lạnh khối TBG bằng phương pháp thủ công mã tài liệu BM1/QTKT.A46.16

6.7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

Không có

6.7.3. Biến chứng muộn

Không có

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ y tế, 2017, “Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Huyết học-Truyền máu-Miễn dịch-Di truyền-Sinh học phân tử”.
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. CryoMed Controlled Rate Freezer Operating and Maintenance Manual 7007452 Rev.11.



BỘ Y TẾ
BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG



QUY TRÌNH BẢO QUẢN KHỐI TẾ BÀO GỐC
ĐÔNG LẠNH BẰNG BÌNH CHỨA NITO LỎNG
QTKT.A46.9.2

Phiên bản: 2.0

Ngày hiệu lực: 02/06/2025

	Họ tên	Chức vụ	Chữ ký
Soạn thảo	Hà Thị Phương	Nhân viên Trung tâm Tế bào gốc	
Xem xét	Nguyễn Thanh Bình	Phụ trách Trung tâm Tế bào gốc	
Phê duyệt	Cao Việt Tùng	Phó Giám đốc Bệnh viện	

Hà Nội – 2025



	BỘ Y TẾ	Trang 2 trên 8
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.9.2
	Quy trình bảo quản khối tế bào gốc đông lạnh bằng bình chứa nitơ lỏng	02/06/2025

Lịch sử thay đổi tài liệu

Phiên bản	Ngày hiệu lực	Sửa đổi
1.0	01/06/2023	Phiên bản mới
1.0	02/01/2024	Soát xét định kỳ không thay đổi nội dung
2.0	02/06/2025	Thay đổi mã tài liệu

Phân phối

Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc: 01 bản

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đồng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	<i>Trang 3 trên 8</i>
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.9.2
	Quy trình bảo quản khối tế bào gốc đông lạnh bằng bình chứa nitơ lỏng	02/06/2025

1. MỤC ĐÍCH

- Quy trình này giúp cho nhân viên Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc thực hiện kỹ thuật bảo quản khối tế bào gốc đông lạnh bằng bình chứa Nitơ lỏng.

- Lưu giữ khối tế bào gốc có chất bảo quản DMSO trong môi trường nitơ lỏng (-150°C đến -196°C) giúp tế bào gốc bảo tồn đầy đủ chức năng trong thời gian lưu trữ lâu dài.

2. PHẠM VI ÁP DỤNG

- Áp dụng tại Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc, Bệnh viện Nhi Trung ương.

3. TRÁCH NHIỆM

- Tất cả nhân viên Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc – Trung tâm Tế bào gốc đã được đào tạo có trách nhiệm tuân thủ đúng quy trình khi thực hiện và đề xuất nhu cầu xây dựng mới, sửa đổi/cập nhật, cải tiến và, đảm bảo tính hiệu lực của quy trình này.

- Giám đốc/Phó giám đốc Bệnh viện Nhi Trung ương có trách nhiệm phê duyệt quy trình.

4. NHỮNG NGƯỜI QUẢN LÝ, GIÁM SÁT TUÂN THỦ QUY TRÌNH NÀY

- Lãnh đạo Trung tâm Tế bào gốc, kỹ thuật y trường, nhân viên quản lý chất lượng, nhân viên quản lý kỹ thuật chịu trách nhiệm quản lý, giám sát sự tuân thủ quy trình kỹ thuật của nhân viên.

- Nhân viên kiểm soát tài liệu chịu trách nhiệm phân phối tài liệu phiên bản mới nhất, thu hồi phiên bản cũ.

- Tất cả nhân viên Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc đã được đào tạo có trách nhiệm áp dụng, tuân thủ việc thực hiện và đề xuất cải tiến quy trình.

5. VIẾT TẮT

TBG: Tế bào gốc

6. NỘI DUNG

6.1. Đại cương

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 4 trên 8
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.9.2
	Quy trình bảo quản khối tế bào gốc đông lạnh bằng bình chứa nito lỏng	02/06/2025

- Quá trình đông lạnh liên quan chặt chẽ đến quá trình thủy tinh hóa của nước. Thủy tinh hóa là một quá trình chất lỏng chuyển sang trạng thái rắn trong quá trình làm lạnh mà tại đó các phân tử mất đi sự chuyển động tịnh tiến và quay do đó không có thay đổi đáng kể nào về nhiệt động học phân tử. Nhiệt độ thủy tinh hóa của nước là khoảng -120°C ($\pm 10^{\circ}\text{C}$). Mặc dù sự khuếch tán thực tế không tồn tại dưới nhiệt độ chuyển thủy tinh, nhưng những chuyển động cục bộ nhỏ của các phân tử sẽ ảnh hưởng không tốt đối với bảo quản sinh học lạnh. Đặc biệt, quá trình tạo mầm băng trong dung dịch thủy tinh hóa siêu lạnh xảy ra với tốc độ đáng kể cho đến khi nhiệt độ thấp hơn nhiệt độ chuyển thủy tinh ít nhất 15°C . Vì vậy nhiệt độ bảo quản phải được duy trì ổn định dưới -135°C và nên duy trì từ -150°C đến -196°C để hiệu quả bảo quản lâu dài.

6.2. Chỉ định

- Lưu trữ đông lạnh dài ngày khối tế bào gốc;

6.3. Chống chỉ định

- Không áp dụng

6.4. Thận trọng

- Thận trọng khi tiếp xúc với nito lỏng
- Luôn mang găng tay chuyên dụng khi tiếp xúc với nito lỏng
- Đảm bảo bình bảo quản mẫu luôn được cung cấp điện (nguồn điện ưu tiên) và nito đầy đủ.
- Cần nhẹ nhàng và cẩn thận khi thao tác với mẫu đã đông lạnh.

6.5. Chuẩn bị

6.5.1. Người thực hiện

a) Nhân lực trực tiếp: 01 Kỹ thuật viên

b) Nhân lực hỗ trợ: nhân viên phụ trách an toàn sinh học, thủ kho quản lý bình lưu trữ mẫu đông lạnh.

6.5.2. Thuốc

Không áp dụng.

6.5.3. Vật tư

- 01 Khung/ giá chứa hộp bảo quản (canister) mẫu tế bào gốc
- Giỏ chứa khung lưu mẫu (6-7 khung/ giỏ)

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 5 trên 8
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.9.2
	Quy trình bảo quản khối tế bào gốc đông lạnh bằng bình chứa nito lỏng	02/06/2025

- 01 Khung/ giá chứa hộp lưu ống bảo quản đông lạnh
- 01 Hộp lưu mẫu đông lạnh 81 vị trí

6.5.4. Trang thiết bị

- 01 Bình lưu trữ mẫu chứa nito lỏng
- 01 Bình cấp nito chuyên dụng chứa nito lỏng
- 01 Găng tay chịu lạnh chuyên dụng
- 01 Thiết bị đo nhiệt độ lạnh sâu
- 01 Thước đo mức nito lỏng

6.5.5. Người bệnh

- Không áp dụng.

6.5.6. Hồ sơ bệnh án

- Không áp dụng.

6.5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật

2 giờ/ ngày

6.5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng lưu trữ TBG, Trung tâm Tế bào gốc.

6.5.9. Kiểm tra hồ sơ

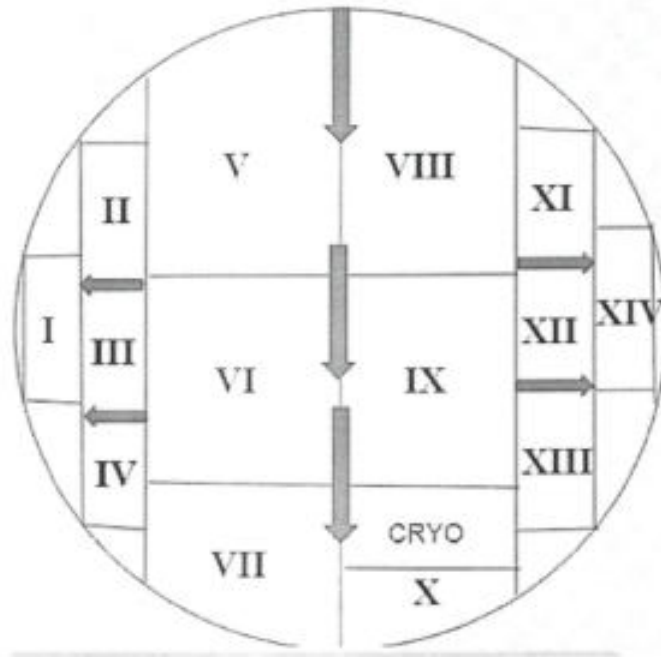
Chuẩn bị các biểu mẫu theo dõi nhiệt độ bình lưu trữ theo **HDCV.A42.9** và **HDCV.A42.10**

6.6. Tiến hành quy trình kỹ thuật

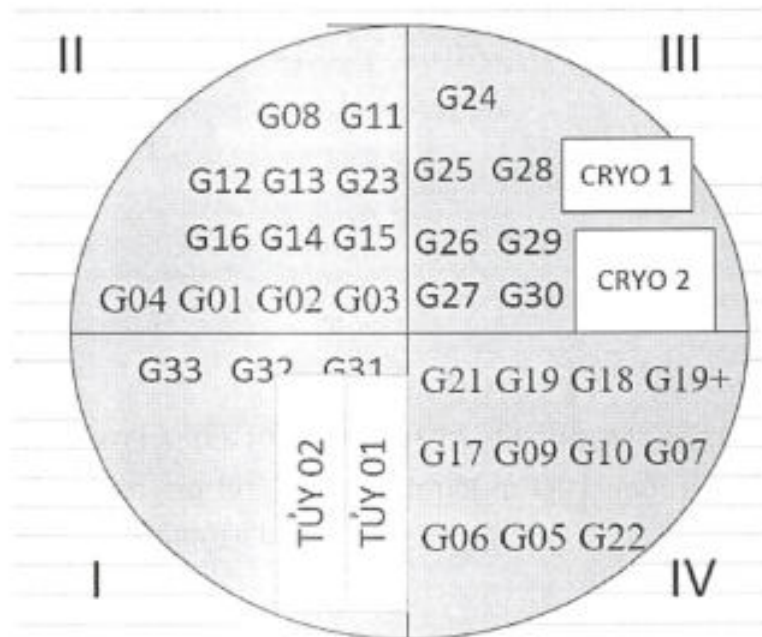
6.6.1. Chuẩn bị bình lưu trữ, khung lưu, hộp lưu mẫu

6.6.1.1. Vị trí trong bình lưu mẫu

- Bình lưu mẫu Cryoplus 3 - Thermo Scientific: chia thành 14 ngăn chứa khung và hộp lưu mẫu cryotube như hình vẽ bên dưới.



- Bình lưu mẫu HECO 1500-190 hăng MVE: chia thành 4 ngăn, mỗi ngăn chứa khung lưu mẫu và các giỏ lưu mẫu, đánh mã từ G01, mỗi giỏ chứa 6-7 khung lưu mẫu máu dây rốn (hình vẽ bên dưới).



6.6.1.2. Mã khung lưu trữ

- Đối với mẫu máu dây rốn hoặc mẫu lưu trong túi lưu trữ loại 25 ml:

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 7 trên 8
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.9.2
	Quy trình bảo quản khối tế bào gốc đông lạnh bằng bình chứa nito lỏng	02/06/2025

+ Khung lưu 7 vị trí, được đánh mã khung theo nguyên tắc số khung tăng dần bắt đầu từ khung N01. Ví dụ: N01, N02,...

+ Vị trí lưu mẫu được đánh mã theo quy định: mã khung lưu - vị trí lưu. Vị trí lưu được đánh số từ dưới lên trên của khung lưu từ 01 đến 07 Ví dụ: N01-01 (mẫu lưu tại khung N01, vị trí 1)

- Đối với mẫu tế bào gốc từ máu ngoại vi hoặc tủy xương, lưu trong túi lưu trữ loại 250 hoặc 500:

+ Khung lưu trữ được đánh số khung tăng dần, bắt đầu từ H1. Ví dụ H1, H2,... Mỗi khung bao gồm 4 tầng từ dưới lên trên (tầng 1 đến tầng 4), mỗi tầng 5 vị trí lưu mẫu trái qua phải (từ 01 đến 05). Ví dụ: H1-T1-01 (mẫu lưu tại khung vị trí 1, tầng 1, khung H1)

6.6.1.3. Mã hộp lưu trữ

Hộp lưu mẫu đông lạnh là loại hộp 81 vị trí lưu cryotube. Hộp được đánh số từ nhỏ đến lớn, bắt đầu từ hộp 01. Vị trí mẫu trong hộp được quy định: hàng ngang từ 01 đến 09, hàng dọc từ A đến I theo bảng chữ cái. Ví dụ: Hộp 01-A01 (mẫu cryotube ở vị trí đầu tiên bên trái của hộp số 01)

Các hộp lưu trữ được xếp vào giá như hình bên dưới:

CRYO 1	CRYO 2	CRYO 3	CRYO 4
30	46	48	66
29	34	49	65
47	33	50	64
26	36	51	63
23	45	52	62
25	37	53	61
24	39	54	60
27	41	55	59
31	42	19	58
32	43	21	57
35	44	20	56
22	38		
28	40		

6.6.2. Chuyển mẫu sau khi đông lạnh ở -80°C hoặc -90°C vào nito lỏng

- Sau khi hạ lạnh đến nhiệt độ -90°C theo quy trình QTKT.A42.8 hoặc -80°C theo quy trình QTKT.A42.16 chuyển mẫu vào vị trí trên khung lưu trữ đặt vào bình lưu trữ trong nito lỏng;

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 8 trên 8
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.9.2
	Quy trình bảo quản khối tế bào gốc đông lạnh bằng bình chứa nito lỏng	02/06/2025

- Ghi lại vị trí lưu mẫu vào phiếu xử lý và file Danh sách mẫu lưu đông lạnh trên Google Drive của Trung tâm.

6.6.3. Theo dõi nhiệt độ và mức nito hàng ngày

- Theo dõi nhiệt độ và mức nito của các bình lưu trữ mẫu theo **HDCV.A42.9** và **HDCV.A42.10** và điền thông tin vào phiếu theo dõi của từng bình lưu trữ.

- Cuối tháng nhân viên an toàn tổng kết và đánh giá các bình lưu trữ mẫu đông lạnh và báo cáo ban lãnh đạo Trung tâm.

6.6.4. Kết thúc quy trình

- Lưu phiếu theo dõi nhiệt độ và mức nito của từng bình lưu trữ và phiếu báo cáo tháng.

- Ghi lại tất cả các sự cố (nếu có) vào sổ “Nhật ký sự không phù hợp” trong Google drive Trung tâm.

- Thủ kho cập nhật vị trí lưu mẫu tế bào định kỳ hàng tháng từ Google drive vào file “Danh sách mẫu lưu đông lạnh” bảo mật, file này chỉ thủ kho mới có quyền truy cập.

- Thủ kho lưu phiếu xuất kho và lịch sử thay đổi vị trí hoặc xuất mẫu trên file Danh sách mẫu lưu đông lạnh.

6.7. Theo dõi và xử trí tai biến

- Không áp dụng

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Huyết học - Truyền máu - Miễn dịch - Di truyền - Sinh học phân tử, số 2017/QĐ-BYT ngày 09/06/2014, trang 323-325.
2. Hal E. Broxmeyer, Cord blood: biology, transplantation, banking, and regulation, AABB, 2011.
3. Brian Wowk, Thermodynamic aspects of vitrification, Cryobiology, Volume 60, Issue 1, February 2010, Pages 11-22.

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

SƠ ĐỒ LƯU MẪU CRYOTUBE

Hộp số: Vị trí lưu hộp:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A									
B									
C									
D									
E									
F									
G									
H									
I									

Ghi chú lịch sử thay đổi:

SƠ ĐỒ LƯU MẪU MÁU DÂY RÓN

MÃ HỘP LƯU:

VỊ TRÍ HỘP:

Mã khung	Vị trí số 1	Vị trí số 2	Vị trí số 3	Vị trí số 4	Vị trí số 5	Vị trí số 6	Vị trí số 7	Ghi chú



BỘ Y TẾ
BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG



QUY TRÌNH RÃ ĐÔNG KHỐI TẾ BÀO GỐC
ĐÔNG LẠNH BẰNG BÌNH CÁCH THỦY
QTKT.A46.10.2

Phiên bản: 2.0

Ngày hiệu lực: 02/06/2025

	Họ tên	Chức vụ	Chữ ký
Soạn thảo	Hà Thị Phương	Nhân viên Trung tâm Tế bào gốc	
Xem xét	Nguyễn Thanh Bình	Phụ trách Trung tâm Tế bào gốc	
Phê duyệt	Cao Việt Tùng	Phó Giám đốc Bệnh viện	

Hà Nội – 2025



	BỘ Y TẾ	Trang 2 trên 8
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.10.2
	Quy trình kỹ thuật rửa đông khối tế bào gốc đông lạnh bằng bình cách thủy	02/06/2025

Lịch sử thay đổi tài liệu

Phiên bản	Ngày hiệu lực	Sửa đổi
1.0	01/06/2023	Phiên bản mới
1.0	02/01/2024	Soát xét định kỳ không thay đổi nội dung
2.0	02/06/2025	Thay đổi mã tài liệu

Phân phối

Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc: 01 bản

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 3 trên 8</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTKT.A46.10.2</i>
	<i>Quy trình kỹ thuật rã đông khối tế bào gốc đông lạnh bằng bình cách thủy</i>	<i>02/06/2025</i>

1. MỤC ĐÍCH

- Nhằm hướng dẫn nhân viên Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc nắm được và thực hiện được quy trình rã đông khối tế bào gốc bằng bình cách thủy, đảm bảo hiệu quả, an toàn, chất lượng.

2. PHẠM VI ÁP DỤNG

- Áp dụng quy trình rã đông khối tế bào gốc đông lạnh bằng bình cách thủy tại Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc và tại phòng ghép tế bào gốc.

3. TRÁCH NHIỆM

- Tất cả nhân viên Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc – Trung tâm Tế bào gốc đã được đào tạo có trách nhiệm tuân thủ đúng quy trình khi thực hiện và đề xuất nhu cầu xây dựng mới, sửa đổi/cập nhật, cải tiến và đảm bảo tính hiệu lực của quy trình này.

- Giám đốc/Phó giám đốc Bệnh viện Nhi Trung ương có trách nhiệm phê duyệt quy trình.

4. NHỮNG NGƯỜI QUẢN LÝ, GIÁM SÁT TUÂN THỦ QUY TRÌNH NÀY

- Lãnh đạo Trung tâm Tế bào gốc, kỹ thuật y trưởng, nhân viên quản lý chất lượng, nhân viên quản lý kỹ thuật chịu trách nhiệm quản lý, giám sát sự tuân thủ quy trình kỹ thuật của nhân viên.

- Nhân viên kiểm soát tài liệu chịu trách nhiệm phân phối tài liệu phiên bản mới nhất, thu hồi phiên bản cũ.

- Tất cả nhân viên Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc đã được đào tạo có trách nhiệm áp dụng, tuân thủ việc thực hiện và đề xuất cải tiến quy trình.

5. VIẾT TẮT

- TBG: Tế bào gốc
- PBSC: Tế bào gốc từ máu ngoại vi
- BM: Tế bào gốc từ tủy xương
- MDR: Tế bào gốc từ máu dây rốn

6. NỘI DUNG

6.1. Đại cương

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 4 trên 8</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTKT.A46.10.2</i>
	<i>Quy trình kỹ thuật rã đông khối tế bào gốc đông lạnh bằng bình cách thủy</i>	<i>02/06/2025</i>

6.1.1. Mục đích của kỹ thuật

- Quá trình rã đông tế bào trong bình cách thủy ở 37°C giúp đảm bảo một môi trường rã đông ổn định, từ từ và hiệu quả, tránh gây tổn thương cho tế bào và đảm bảo sự phục hồi tối ưu.

6.1.2. Nguyên lý kỹ thuật

- Nhiệt độ 37°C là nhiệt độ cơ thể người, gần với nhiệt độ tối ưu cho các quá trình sinh lý của tế bào, vì vậy quá trình rã đông diễn ra trong điều kiện thân thiện với tế bào, giúp chúng phục hồi và duy trì sự sống. Bình cách thủy giúp duy trì nhiệt độ ổn định và kiểm soát trong suốt quá trình rã đông, tránh sự thay đổi nhiệt độ đột ngột có thể gây sốc nhiệt hoặc hư hại tế bào. Sau khi rã đông, tế bào có thể nhanh chóng quay lại trạng thái hoạt động bình thường, tái tạo và sinh trưởng nếu được cung cấp các điều kiện nuôi cấy thích hợp.

- Hạn chế sự hình thành tinh thể băng: Một trong những nguy cơ chính khi rã đông tế bào là sự hình thành các tinh thể băng trong tế bào, có thể phá vỡ cấu trúc tế bào và gây chết tế bào. Khi tế bào đông lạnh, nước trong tế bào chuyển thành băng và có thể tạo ra các tinh thể băng nếu rã đông quá nhanh hoặc không kiểm soát, từ đó giảm thiểu tổn thương tế bào.

- Các dung dịch bảo vệ tế bào (cryoprotectants) thường được sử dụng trước khi đông lạnh để bảo vệ tế bào khỏi sự phá hủy khi rã đông. Những dung dịch này giúp giảm nguy cơ tổn thương tế bào khi nhiệt độ thay đổi. Trong quá trình rã đông ở 37°C, các dung dịch này vẫn giữ vai trò quan trọng trong việc bảo vệ tế bào.

6.2. Chỉ định

Khối tế bào được bảo quản đông lạnh trước khi sử dụng, bao gồm:

- Khối tế bào gốc từ máu ngoại vi, dịch tủy xương, máu dây rốn;
- Các sản phẩm tế bào trị liệu.

6.3. Chống chỉ định

Không áp dụng

6.4. Thận trọng

Khối tế bào gốc hoặc tế bào trị liệu sau khi bảo quản đông lạnh ở trong nito lỏng cần phải thao tác nhẹ nhàng, cẩn thận, tránh va chạm mạnh.

6.5. Chuẩn bị

6.5.1. Người thực hiện

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 5 trên 8</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	QTKT.A46.10.2
	<i>Quy trình kỹ thuật rã đông khối tế bào gốc đông lạnh bằng bình cách thủy</i>	<i>02/06/2025</i>

a) *Nhân lực trực tiếp*: 01 kỹ thuật y đã được đào tạo chuyên môn.

b) *Nhân lực hỗ trợ*: nhân viên thủ kho quản lý tank nito hỗ trợ việc xuất mẫu ra khỏi tank lưu trữ.

6.5.2. Thuốc

Không áp dụng

6.5.3. Vật tư và hóa chất

STT	Tên vật tư/ hóa chất	Đơn vị tính	Số lượng	Ghi chú
1	Áo phẫu thuật	Cái	01	
2	Mũ giấy	Cái	01	
3	Giày phẫu thuật/ dép sạch	Đôi	01	
4	Găng tay y tế	Đôi	02	
5	Nước cất	Lít	10	

6.5.4. Trang thiết bị

STT	Tên trang thiết bị	Đơn vị	Số lượng	Ghi chú
1	Bình cách thủy	Cái	01	
2	Găng tay bảo vệ lạnh	Đôi	01	
3	Bình vận chuyển mẫu đông lạnh	Cái	01	
4	Túi gel mát (gel để ngăn mát tủ lạnh 2-8°C)	Cái	02	
5	Pank, kẹp gấp mẫu	Cái	01	
6	Kéo	Cái	01	

6.5.5. Người bệnh

- Không áp dụng

6.5.6. Hồ sơ bệnh án

- Chuẩn bị phiếu truyền tế bào gốc, mã tài liệu BM1/QTKT.A46.10.2

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 6 trên 8</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTKT.A46.10.2</i>
	<i>Quy trình kỹ thuật rã đông khối tế bào gốc đông lạnh bằng bình cách thủy</i>	<i>02/06/2025</i>

- Chuẩn bị phiếu xuất mẫu lưu đông lạnh, mã tài liệu BM2/QTKT.A42.10.2
- Chuẩn bị phiếu rã đông tế bào gốc, mã tài liệu BM3/QTKT.A46.10.2
- Chuẩn bị biên bản bàn giao mẫu, mã tài liệu BM2/QTQL.A46.3

6.5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật

1 giờ

6.5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Rã đông Trung tâm Tế bào gốc hoặc tại phòng ghép tế bào gốc.

6.5.9. Kiểm tra hồ sơ

a) Kiểm tra người bệnh

- Kiểm tra thông tin bệnh nhân cần truyền tế bào gốc.
- Đối chiếu thông tin người cho, người nhận tế bào gốc với thông tin mẫu tế bào gốc đang lưu trữ.

b) Kiểm tra hồ sơ lưu mẫu tế bào gốc

- Kiểm tra thông tin mẫu tế bào gốc dự kiến rã đông trên phiếu xử lý tế bào gốc: vị trí lưu mẫu PBSC, BM, cryotube.
- Đối chiếu vị trí lưu mẫu trên phiếu xử lý tế bào gốc/ phiếu thông tin mẫu TBG và sơ đồ lưu mẫu (google drive hoặc file lưu).

6.6. Tiến hành quy trình kỹ thuật

6.6.1. Chuẩn bị

a) Chuẩn bị bình cách thủy

- Vệ sinh sạch bình cách thủy.
- Đổ nước cất vào bình sao cho mực nước đạt 1/2-2/3 bình.
- Kết nối bình cách thủy với nguồn điện, bật bình cách thủy và cài đặt nhiệt độ 37°C, chờ nhiệt độ bình ổn định ở 37°C.
- Nếu rã đông tại phòng ghép tế bào gốc thì các bước chuẩn bị bình cách thủy sẽ chuẩn bị tại khoa lâm sàng và phòng ghép tế bào gốc.

b) Chuẩn bị các biểu mẫu

- Điền thông tin vào phiếu truyền tế bào gốc, phiếu rã đông, phiếu xuất mẫu tế bào gốc và biên bản bàn giao mẫu.

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 7 trên 8</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTKT.A46.10.2</i>
	<i>Quy trình kỹ thuật rã đông khối tế bào gốc đông lạnh bằng bình cách thủy</i>	<i>02/06/2025</i>

6.6.2. Vận chuyển khối tế bào gốc đông lạnh tới địa điểm rã đông

- Xuất mẫu tế bào gốc cần rã đông theo quy trình xuất khối tế bào gốc lưu trữ, mã tài liệu QTQL.A42.3.

+ Xác định vị trí lưu mẫu trên sơ đồ lưu mẫu đông lạnh.

+ Đeo găng tay bảo vệ lạnh.

+ Lấy sản phẩm đông lạnh ra khỏi tank lưu trữ, chuyển vào hộp vận chuyển hoặc bình vận chuyển chứa nito lỏng (trong trường hợp phòng rã đông xa phòng lưu trữ hoặc rã đông tại phòng ghép TBG). Bước này cần nhân viên được phân công phụ trách rã đông đối chiếu thông tin mẫu và vị trí với thủ kho, sau đó thủ kho ký xác nhận vào phiếu xuất kho mã tài liệu BM2/QTKT.A46.10.2

+ Đối chiếu thông tin mẫu, kiểm tra sự toàn vẹn của khối tế bào gốc.

- Các bước vận chuyển mẫu thực hiện theo quy trình vận chuyển khối tế bào gốc đến đơn vị sử dụng, mã tài liệu QTKT.A46.17.1

6.6.3. Rã đông mẫu tế bào gốc

- Nhân viên thực hiện rã đông mặc đồ bảo hộ: mặc áo vô trùng khi vào phòng ghép TBG.

- Đặt mẫu đông lạnh vào bình cách thủy, nhẹ nhàng tháo hộp bảo vệ (canister) khỏi khối TBG, thực hiện rã đông nhanh (khoảng 1-5 phút tùy thuộc vào thể tích khối tế bào gốc), lấy khối tế bào gốc ra khỏi bình cách thủy khi vẫn còn 1 ít đá.

- Sử dụng dây máu hoặc cryotube của khối tế bào gốc sau tan đông để đánh giá tỉ lệ sống, chết của tế bào.

- Sử dụng gạc vô trùng lau khô nước bám ngoài túi tế bào gốc.

- Dùng kéo cắt túi bao ngoài của túi TBG.

- Đối chiếu thông tin trên túi TBG với phiếu truyền và bệnh nhân cần truyền TBG.

- Bàn giao khối TBG và tình trạng của khối TBG sau rã đông cho điều dưỡng/ bác sĩ phụ trách truyền TBG cho bệnh nhân, hai bên ký xác nhận vào biên bản bàn giao mẫu, mã tài liệu BM2/QTQL.A46.3

* Trường hợp rã đông tại Trung tâm TBG:

- Sau khi đối chiếu thông tin giữa phiếu truyền TBG, khối TBG sau rã đông, biên bản bàn giao và thông tin bệnh nhân truyền TBG thì chuyển khối tế

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 8 trên 8</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTKT.A46.10.2</i>
	<i>Quy trình kỹ thuật rã đông khối tế bào gốc đông lạnh bằng bình cách thủy</i>	<i>02/06/2025</i>

bào gốc vào hộp vận chuyển và kẹp giữa 2 tấm gel lạnh 2-8°C.

- Vận chuyển khối tế bào gốc cùng với phiếu rã đông, phiếu truyền tế bào gốc, biên bản bàn giao khối TBG đến phòng ghép TBG.

6.6.4. Kết thúc quy trình

- Theo dõi quá trình truyền khối TBG cho bệnh nhân. Phối hợp cùng với điều dưỡng và bác sĩ lâm sàng xử trí các vấn đề liên quan đến khối tế bào gốc vừa cấp phát khi cần.

- Hoàn thiện đầy đủ các biểu mẫu đi kèm.

- Lưu hồ sơ gồm: phiếu xuất kho, biên bản bàn giao mẫu TBG đã đủ thông tin và ký xác nhận.

- Ghi lại thông tin mã khối tế bào gốc, ngày truyền và liều truyền tế bào vào file “thống kê ghép tế bào gốc”.

6.7. Theo dõi và xử trí tai biến

6.7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật: Không áp dụng

6.7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật: Không áp dụng

6.7.3. Biến chứng muộn: Không áp dụng

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Meghan Delaney, Richard L.Haspel, Thawing and infusing cellular therapy products, *Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation*. Bethesda, MD: AABB, 2009, chapter 31, p.375 – 396.

2. Radovan Vrhovac, Zinaida Peri, Silvana Jurenec, Post-thaw Viability of Cryopreserved Hematopoietic Progenitor Cell Grafts: Does It Matter?



PHIẾU TRUYỀN KHỐI TẾ BÀO GỐC

Phần 1: Thông tin người bệnh

Họ và tên người bệnh: Mã số BN:.....

Ngày sinh: Giới:

Khoa/phòng:Số giường:

Chẩn đoán:.....

Nhóm máu ABO, Rh của người bệnh:Cân nặng:

Phần 2: Thông tin mẫu tế bào gốc

Mã số mẫu Tế bào gốc	Loại mẫu	Thể tích (ml)	Thể tích DMSO (ml)	Nhóm máu ABO Rh	Ngày thu thập	Ngày rã đông	Liều truyền
							CD34 ⁺ : x10 ⁶ /kg CD3 ⁺ CD45RO ⁺x10 ⁶ /kg CD3 ⁺ :.....x10 ⁴ /kg TNC:x10 ⁸ /kg
							CD34 ⁺ :x10 ⁶ /kg CD3 ⁺ CD45RO ⁺x10 ⁶ /kg CD3 ⁺ :..... x10 ⁴ /kg TNC:x10 ⁸ /kg

Hồi giờ.....ngày.....thángnăm 20....

Người nhận mẫu tế bào gốc
(Ký ghi rõ họ tên)

Người phát mẫu tế bào gốc
(Ký ghi rõ họ tên)

Phần 3: Theo dõi truyền khối tế bào gốc

Bắt đầu truyền hồi:giờ.....ngày.....tháng.....năm 20.....

Thời gian	Tốc độ truyền (Giọt/phút)	Màu sắc niêm mạc	Nhịp thở (lần/phút)	Mạch (lần/phút)	Huyết áp (mmHg)	Thân nhiệt	Những diễn biến khác

Ngừng truyền hồi:giờ.....ngày.....tháng.....năm 20.....

Thể tích khối tế bào gốc thực tế đã truyền:mL

Nhận xét quá trình truyền khối tế bào gốc:

.....

.....

.....

.....

.....

Bác sĩ điều trị
(ký và ghi rõ họ tên)

Điều dưỡng truyền máu
(ký và ghi rõ họ tên)

PHIẾU XUẤT MẪU LƯU ĐỘNG LẠNH

STT	NGÀY XUẤT	MÃ TẾ BÀO GÓC	LOẠI TBG	THỂ TÍCH	TÌNH TRẠNG MẪU	NHÂN VIÊN	THỦ KHO
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14							
15							



PHIẾU RÃ ĐÔNG KHỐI TẾ BÀO GỐC

Phần 1: Thông tin người bệnh

Họ và tên người bệnh:Mã số BN:.....

Ngày sinh:Giới:

Khoa/phòng:Số giường:.....

Chẩn đoán:.....

Nhóm máu ABO, Rh của người bệnh:

Phần 2: Thông tin mẫu tế bào gốc

STT	Mã số mẫu Tế bào gốc	Loại mẫu	Thể tích (ml)	Thời gian rã đông	Ghi chú
				Từ ... giờ ... phút Đến ... giờ ... phút Ngày ... tháng ... năm ...	
				Từ ... giờ ... phút Đến ... giờ ... phút Ngày ... tháng ... năm ...	

Hời giờ.....ngày.....thángnăm 20....

Nhân viên rã đông mẫu tế bào gốc
(Ký ghi rõ họ tên)

BỘ Y TẾ
BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG



QUY TRÌNH CHỌN LỌC TẾ BÀO CD34+ BẰNG
HỆ THỐNG MÁY CLINIMACS
QTKT.A46.11.2

Phiên bản: 2.0

Ngày hiệu lực: 02/06/2025

	Họ tên	Chức vụ	Chữ ký
Soạn thảo	Nguyễn Bảo Ngọc	KTY trưởng Trung tâm	
Xem xét	Nguyễn Thanh Bình	Phụ trách Trung tâm Tế bào gốc	
Phê duyệt	Cao Việt Tùng	Phó giám đốc Bệnh viện	



Hà Nội – Năm 2025

	BỘ Y TẾ	Trang 2 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.11.2
	Quy trình chọn lọc các tế bào CD34+ sử dụng hệ thống CliniMACS	02/06/2025

Lịch sử thay đổi tài liệu

Phiên bản	Ngày hiệu lực	Sửa đổi
1.0	01/06/2023	Phiên bản mới
1.0	02/01/2024	Soát xét định kỳ không thay đổi nội dung
2.0	02/06/2025	Thay đổi mã tài liệu

Phân phối

Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc: 01 bản

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 3 trên 11</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTKT.A46.11.2</i>
	<i>Quy trình chọn lọc các tế bào CD34+ sử dụng hệ thống CliniMACS</i>	<i>02/06/2025</i>

1. MỤC ĐÍCH

- Mô tả quy trình tinh khiết tế bào gốc mang dấu ấn CD34+ bằng phương pháp lọc từ tính sử dụng bộ kit tách CD34 enrichment trên máy CliniMacs, tại Trung tâm Tế bào gốc, Bệnh viện Nhi trung ương.

- Mục đích của quy trình để nhân viên hiểu và thao tác đúng quy trình xử lý TBG.

2. PHẠM VI ÁP DỤNG

- Áp dụng cho quy trình tách tế bào gốc bằng máy CliniMacs tại Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc và tại phòng ghép tế bào gốc.

3. TRÁCH NHIỆM

- Phụ trách Trung tâm Tế bào gốc: xác định, đề xuất nhu cầu xây dựng mới, sửa đổi/cập nhật, cải tiến và tổ chức phổ biến, thực hiện đảm bảo tính hiệu lực của quy trình này.

- Lãnh đạo Bệnh viện có trách nhiệm phê duyệt quy trình.

- Tất cả nhân viên Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc đã được đào tạo có trách nhiệm tuân thủ đúng quy trình khi thực hiện.

4. NHỮNG NGƯỜI QUẢN LÝ, GIÁM SÁT TUÂN THỦ QUY TRÌNH NÀY

- Lãnh đạo Trung tâm Tế bào gốc, KTY trưởng, QLCL, QLKT chịu trách nhiệm quản lý, giám sát sự tuân thủ quy trình xét nghiệm của nhân viên.

- Nhân viên quản lý tài liệu chịu trách nhiệm phân phối tài liệu phiên bản mới nhất, thu hồi phiên bản cũ.

- Tất cả nhân viên Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc đã được đào tạo có trách nhiệm áp dụng, tuân thủ việc thực hiện và đề xuất cải tiến quy trình.

5. VIẾT TẮT

- PBSC: Tế bào gốc từ máu ngoại vi
- HC: Hồng cầu
- BC: Bạch cầu
- TBG: Tế bào gốc
- CTM: Công thức máu
- HT: Huyết tương

	BỘ Y TẾ	Trang 4 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.11.2
	Quy trình chọn lọc các tế bào CD34+ sử dụng hệ thống CliniMACS	02/06/2025

- GVHD: Bệnh mảnh ghép chống chủ

6. NỘI DUNG

6.1. Đại cương

- Tế bào gốc là tế bào có khả năng tự đổi mới, tăng sinh và phát triển biệt hóa thành các loại tế bào chuyên biệt để thực hiện chức năng trong một mô cụ thể.

- Ghép tế bào gốc là các tế bào gốc tạo máu khỏe mạnh được truyền vào cơ thể bệnh nhân thông qua ven tĩnh mạch. Tùy theo chẩn đoán bệnh và lựa chọn nguồn TBG, có 3 phương pháp ghép TBG hiện nay: ghép tự thân, ghép đồng loài, ghép nửa thuận hợp.

- Trong ghép nửa thuận hợp, khi người cho và người nhận không phù hợp hệ kháng nguyên HLA sẽ dễ gây ra hội chứng GVHD cho bệnh nhân do đó cần loại bỏ tế bào khác không cần thiết và giữ lại tế bào gốc tạo máu mang dấu ấn CD34+.

- Trong bộ kit CD34+ Enrichment, các tế bào khác sẽ được loại bỏ, sản phẩm cuối cùng chỉ còn những tế bào gốc tạo máu mang dấu ấn CD34+.

6.2. Chỉ định

- Các bệnh nhân suy giảm miễn dịch, bạch cầu cấp, suy tủy, Thalassemia... không tìm được người cho phù hợp HLA.

6.3 Chống chỉ định

- Các bệnh nhân có tình trạng nhiễm khuẩn hoặc nhiễm vi rút.

6.4. Chuẩn bị

6.4.1. Người thực hiện

- Nhân lực trực tiếp: 01 bác sĩ, 02 kỹ thuật viên.
- Nhân lực hỗ trợ: 02 kỹ thuật viên.

6.5.2. Thuốc:

- Human Albumin (HSA 20%)

6.5.3. Hóa chất, vật tư tiêu hao

- Đệm PBS/EDTA
- CD34 Reagent
- DMSO và Dextran
- Kẹp nhựa xanh

	BỘ Y TẾ	Trang 5 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.11.2
	Quy trình chọn lọc các tế bào CD34+ sử dụng hệ thống CliniMACS	02/06/2025

- Túi Transfer Bag 600mL
- Plasma transfer set
- Sampling site coupler
- Tubing set
- Pre filter system
- Kim 20G
- Bơm tiêm 1, 5, 10, 20, 50 mL
- Túi lưu trữ đông lạnh

6.5.4. Trang thiết bị

- Máy CliniMACS
- Máy ly tâm (sử dụng máy ly tâm Kobuta – khoa Truyền Máu)
- Máy hàn nối ống vô trùng tự động TSCD
- Tủ an toàn sinh học cấp II
- Máy hàn dây túi máu
- Máy lắc (có tốc độ lắc khoảng 25-30 v/p)
- Bàn ép huyết tương
- Cân điện tử

6.5.5. Người bệnh: Không áp dụng

6.5.6. Hồ sơ bệnh án: Không áp dụng

6.5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 8-10 tiếng

6.5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Trung tâm Tế bào gốc .

6.5.9. Kiểm tra hồ sơ:

- Kiểm tra mẫu: Đánh giá tính chính xác của mẫu .

6.6. Các bước tiến hành

6.6.1. Những lưu ý trước khi thực hiện

- Sau khi thu thập TBG, rút mẫu đếm CTM, CD34, để tính toán hóa chất và tubing sử dụng trong quy trình tách tế bào.

WBC	$\leq 60 \times 10^9$ (quy mô thường)	$\leq 120 \times 10^9$ (quy mô lớn)
CD34+	$\leq 0.6 \times 10^9$	$\leq 1.2 \times 10^9$
Số lượng CD34 reagent	1	2
Tubing set	TS 161-01	LS 162-01

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 6 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.11.2
	Quy trình chọn lọc các tế bào CD34+ sử dụng hệ thống ClinMACS	02/06/2025

- Dung dịch đệm PBS/EDTA và sản phẩm Leukapheresis Product để ở nhiệt độ phòng để đạt hiệu suất xử lý tế bào cao nhất.

- Tất cả thao tác với túi hờ sẽ được thực hiện trong tủ ATSH cấp 2.

- Sử dụng TSCD để kết nối các túi.

6.6.2. Các bước thực hiện quy trình xử lý

- Pha đệm PBS trong tủ ATSH: 25 mL HSA 20% trong 1L dung dịch đệm PBS/EDTA.

- Cân trọng lượng túi rỗng. Đặt túi lên bàn cân (không bao gồm đoạn dây), kèm 1 sampling site và kẹp xanh nhỏ. Ghi lại trọng lượng túi. Quy đổi 1g = 1mL. Ghi nhãn túi Cell preparation (CP): ngày giờ, tên bệnh nhân. V_B

- Dùng TSCD chuyển sản phẩm gạn tách sang túi CP. Cân túi, ghi lại trọng lượng (V_1) Chú ý khi hàn túi: hàn 3 đoạn sát nhau và ngắt ở đoạn giữa để tránh rò rỉ, hàn cách đầu túi 1 đoạn 15 - 20 cm.

Trọng lượng thực túi thực (V_2) = $V_1 - V_B$

- Tính thể tích đệm thêm vào mỗi túi.

Đệm thêm vào túi CP $V_4 = 550 - V_3$

Ví dụ: Thể tích cần đạt được là 550, bì túi là 34g. Tổng trọng lượng cần đạt là: $550 + 34 = 584$ g. Đặt túi CP lên bàn cân bơm đệm cho đến khi đạt trọng lượng 584g.

- Kết nối 1 đầu của Plasma Transfer set vào túi đệm vừa pha trong tủ ATSH. Sử dụng TSCD kết nối 1 đầu còn lại của transfer với túi CP.

- Chuyển lượng đệm đã tính toán sang túi CP. Sau đó cân lại trọng lượng thực của túi CP (V_5)

- Dùng TSCD kết nối túi CP với 1 túi rỗng 600mL. Ghi nhãn túi rỗng là Plasma Waste.

- Ly tâm với tốc độ 200G trong 15p không phanh, 20°C (Với máy ly tâm Kobuta-khoa Truyền máu đặt tốc độ phanh 3).

- Sau khi ly tâm, ép bỏ huyết tương tối đa ở túi CP. Lắc trộn đều túi. Chú ý: huyền phù thật kỹ túi để gắn kháng thể từ tốt hơn.

- Thêm dung dịch đệm vào túi CP để đạt thể tích như sau:

$V = 95\text{ml}$ (Quy mô thường)

$V = 190\text{ml}$ (quy mô lớn)

- Cân lại thể tích thực của túi CP (V_6)

- Ủ mẫu với hóa chất CD34 reagent: kiểm tra lại hóa chất, ghi lại hạn sử dụng và LOT.

- Dùng xi lanh hút cạn lọ hóa chất CD34 Reagent rồi từ từ bơm vào túi CP. Để trên máy lắc trộn đều, bấm luôn thời gian ủ 30 phút. Lưu ý: hút thật cạn lọ hóa chất, bọc túi CP trong toan để ủ trên máy lắc.

	BỘ Y TẾ	Trang 7 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.11.2
	Quy trình chọn lọc các tế bào CD34+ sử dụng hệ thống CliniMACS	02/06/2025

- Bỏ sung đệm để đạt thể tích 550mL. Kết nối túi CP với 1 túi rỗng 600 mL. Ghi nhãn túi rỗng Wash Waste. Cân bằng bộ túi.

- Ly tâm với tốc độ 200G trong 15p không phanh, 20⁰C (Với máy ly tâm Kobuta-khoa Truyền máu đặt tốc độ phanh 3).

- Loại bỏ tối đa dịch nổi, lắc trộn đều túi.

- Bỏ sung thêm đệm PBS: Thêm đệm sao cho thể tích đạt : 50mL (quy mô thường) hoặc 275mL (quy mô lớn).

- Cân lại thể tích thực của 2 túi (V7).

- Rút mẫu 1mL: 0,5mL cấy máu, 0,5mL đếm CMT, Flow.

6.6.3. Cài đặt và chạy máy CliniMACS

- Bật máy, chọn chương trình **CD34 SELECTION 1/2**. Ấn **ENT**

Muốn di chuyển lên hoặc xuống ấn 0 hoặc 8

CD34 selection1: quy mô thường

CD34 selection 2: quy mô lớn

- Màn hình **CONFIRMATION** hiện lên đã chọn hiện lên

Kiểm tra lại nếu chính xác ấn **ENT**.

Nếu không chính xác ấn **Undo**

- Nhập số **REF** của bộ Tubing set và Reagent. Ấn **ENT**

- Lấy bộ tubing set, ghi lại HSD và số LOT. Mở tubing set trong tủ ATSH cấp 2. Kiểm tra các đầu nối, vặn lại các đầu nối thật chặt để tránh rò rỉ mẫu.

- Sử dụng 1 túi 150mL làm túi Cell collection bag, ghi lại trọng lượng túi. Nối Luer/spike với túi Cell collection bag, sau đó kết nối với đầu Luer/spike của bộ tubing set.

- Treo túi Priming waste bag lên trên cột ngoài cùng bên phải, chỉnh lại độ cao cột treo túi nếu cần. Dùng tay giữ đầu trên và dưới của cột precolumn, gắn cột vào vị trí. Ấn **ENT**.

- Cầm 2 đầu cột tách tế bào bằng ngón cái và ngón trỏ đặt cột vào vị trí. Ấn **ENT**

- Lắp các van 1,2,3,4. Nối hệ thống dây vào các van theo hướng dẫn. Kiểm tra dây đã khớp hoàn toàn vào van, kiểm tra thật kỹ các đoạn dây, tránh dây bị gấp xoắn. Lắp đoạn dây trên van số 2 vào phần cảm biến chất lỏng. Đảm bảo rằng các đoạn dây và cảm biến chất lỏng thật khô. Ấn **ENT**

- Mở nắp bơm. Quay bơm theo chiều kim đồng hồ và lắp đoạn dây vào. Chèn 2 đầu đường ống vào 2 cạnh của bơm. Xoay bơm kiểm tra lại đường ống. Đóng nắp bơm. Ấn **ENT**.

Trong quá trình chạy, bất kỳ khi nào nắp bơm mở, chương trình sẽ tự động dừng. Nếu bơm mở quá 600s máy sẽ hủy bỏ chương trình chạy.

- Lắp dây vào các van 7,8. Ấn **ENT**.

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 8 trên 11</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTKT.A46.11.2</i>
	<i>Quy trình chọn lọc các tế bào CD34+ sử dụng hệ thống CliniMACS</i>	<i>02/06/2025</i>

- Lắp dây vào các van 6,9,10,11. Đặt túi Negative fraction và Buffer waste bag vào khoang để túi. Ấn **ENT**.

- Màn hình hiện lên yêu cầu kiểm tra lại hệ thống van: đảm bảo hệ thống dây lắp đúng van, không có đoạn dây nào bị gấp, xoắn, trùng. Ấn **ENT**.

- Máy sẽ chạy thử hoạt động của các van, bắt đầu từ van số 1 đến 11. Nghe và quan sát hoạt động của van. Đến phần kiểm tra từ tính của cột từ, dùng kéo sắt đặt vào kiểm tra hoạt động của nam châm. Ấn **ENT**.

- Sử dụng kỹ thuật vô trùng gắn Buffer vào đầu nối với bộ tubing set. Treo buffer lên cột ngoài cùng bên trái. Điều chỉnh độ cao cho phù hợp. Ấn **ENT**.

- Máy bắt đầu môi. Ấn **RUN**.

- Trong bước môi, bộ ống dây sẽ được bơm đầy bởi CliniMACS PBS/EDTA Buffer. Đệm sẽ tuần hoàn trên toàn bộ ống dây bao gồm cả cột pre column, cột tách, buffer waste bag và Priming waste bag. Chu trình môi sẽ tiếp tục, lặp lại một loạt các bước. Bước môi sẽ mất khoảng 1 phút.

- Trong quá trình môi kiểm tra bộ ống dây có bị rò rỉ nước hay không. Nếu có rò rỉ, ấn **STOP**, người vận hành máy sẽ có 600s để khắc phục sự cố. Nếu không khắc phục được phải thay thế bằng bộ tubing set khác.

- Kiểm tra lại lần cuối .

- Dung dịch đệm sẽ xuất hiện ở tất cả các phần của bộ dây trừ phần dây phía trên van 2 và 3.

- Không có khí trong đoạn dây.

- Có dịch ở túi Bufer Waste Bag, và Priming waste bag.

- Không có dịch ở túi Cell collection bag, Negative fraction bag.

- Ấn 9 để kiểm tra phần trên. Ấn **RUN**.

- Quan sát kết nối phần trên và bơm, dùng khăn giấy kiểm tra xem có bất kỳ rò rỉ nào không.

- Ấn 6 để kiểm tra phần dưới. Ấn **RUN**. Quan sát kết nối phần dưới, dùng khăn giấy kiểm tra xem có bất kỳ rò rỉ nào không. Ấn **ENT**.

- Nối túi Cell collection bag.

- Kết nối Pre system filter với đầu nối của tubing set.

- Kết nối Pre system filter với luer/spike.

- Kết nối đầu còn lại của luer/spike với túi Cell preparation bag.

- Kiểm tra lại kết nối giữa các phần, treo túi Cell preparation lên trên giá.

- Ấn **ENT**.

- Dán băng dính y tế để cố định liquid senser. Ấn **ENT**.

- Kiểm tra lại lần cuối tất cả các phần. Bắt đầu chạy chương trình ấn **RUN**.

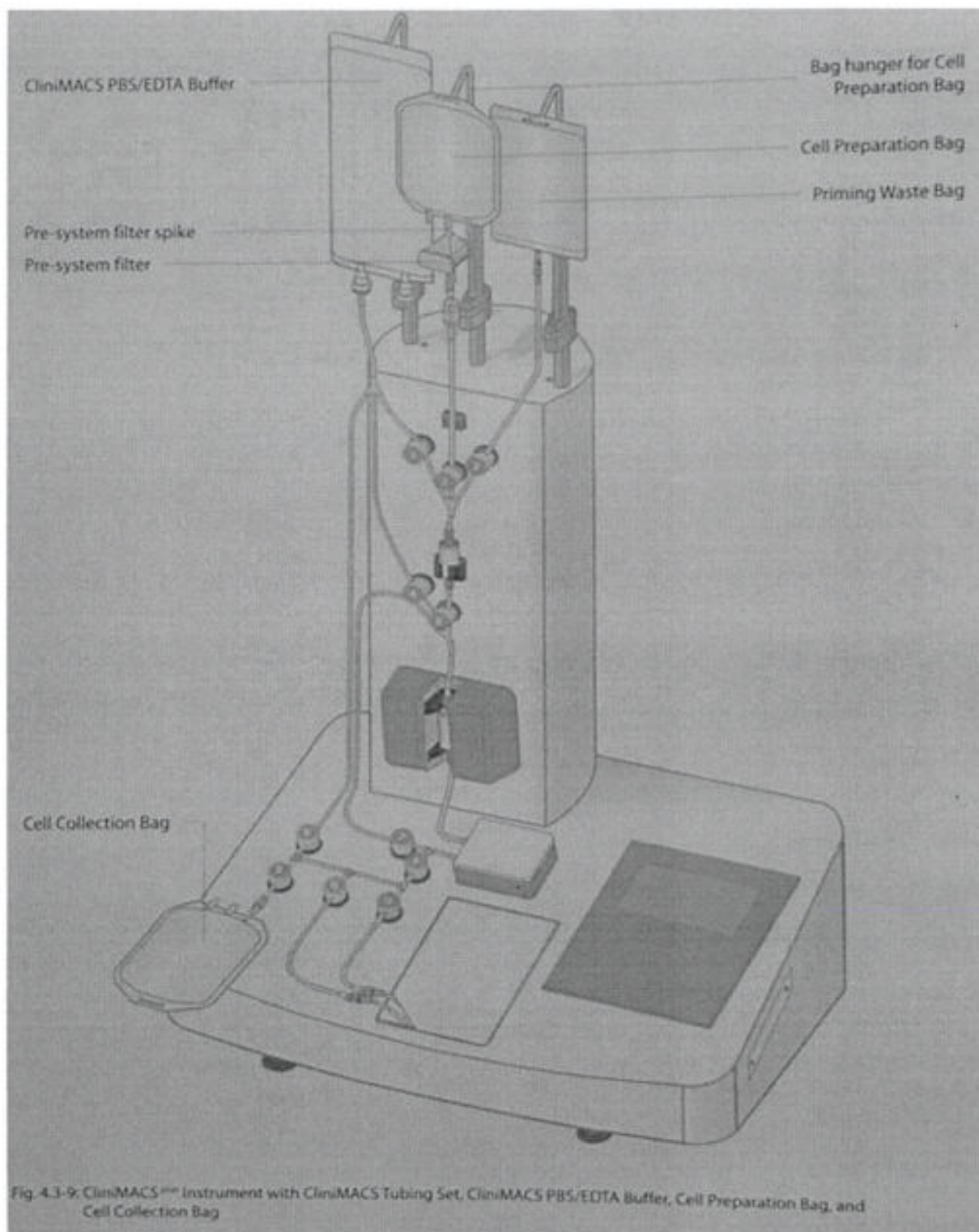
	BỘ Y TẾ	Trang 9 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.11.2
	Quy trình chọn lọc các tế bào CD34+ sử dụng hệ thống CliniMACS	02/06/2025

- Trên màn hình sẽ hiện lên thời gian chạy, từng bước của quy trình chạy cũng được hiển thị trên màn hình. Theo dõi và quan sát quá trình chạy.

6.6.4. Kết thúc chương trình chạy máy

- Khi máy báo quá trình kết thúc. Ghi lại mã quá trình chạy. Khóa và hàn túi Cell collection bag. Cân túi (theo nhà SX bì túi là 32g)
- Trộn đều túi sản phẩm, rút 1mL để cấy máu và đếm tế bào
- Giữ lại toàn bộ túi waste trong quá trình rửa cũng như các túi của bộ tubing set cho đến khi có kết quả cuối cùng.
- Tháo bộ tubing set và tắt máy.

	BỘ Y TẾ	Trang 10 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.11.2
	Quy trình chọn lọc các tế bào CD34+ sử dụng hệ thống CliniMACS	02/06/2025



Hình 1: Sơ đồ bộ kit chọn lọc tế bào CD34+

6.7. Theo dõi và xử trí tai biến

6.7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật: Không áp dụng

6.7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật: Không áp dụng

6.7.3. Biến chứng muộn: Không áp dụng

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 11 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.11.2
	Quy trình chọn lọc các tế bào CD34+ sử dụng hệ thống CliniMACS	02/06/2025

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Huyết Học – Truyền Máu-
Miễn dịch – Di Truyền – Sinh học phân tử (ban hành kèm theo quyết định số :
3336/ QĐ-BYT ngày 20 tháng 7 năm 2017 của Bộ trưởng Bộ Y tế)
2. Clini MACS Plus manual – Miltenyi biotec
3. Characteristics of CliniMACS® System CD34-Enriched T Cell-Depleted
Grafts in a Multicenter Trial for Acute Myeloid Leukemia-Blood and Marrow
Transplant Clinical Trials Network (BMT CTN) Protocol 0303, Biology of
Blood and Marrow Transplantation Volume 18, Issue 5, May 2012, 690-697



BỘ Y TẾ
BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG



QUY TRÌNH LOẠI TẾ BÀO CD3+
VÀ TẾ BÀO CD45RA+ BẰNG MÁY CLINIMACS
QTKT.A46.13.2

Phiên bản: 2.0

Ngày hiệu lực: 02/06/2025

	Họ tên	Chức vụ	Chữ ký
Soạn thảo	Nguyễn Bảo Ngọc	KTY trưởng Trung tâm	
Xem xét	Nguyễn Thanh Bình	Phụ trách Trung tâm Tế bào gốc	
Phê duyệt	Cao Việt Tùng	Phó giám đốc Bệnh viện	

Hà Nội – Năm 2025



	BỘ Y TẾ	Trang 2 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.13.1
	Quy trình loại tế bào CD3+ và tế bào CD45RA+ bằng máy CliniMACS	02/06/2025

Lịch sử thay đổi tài liệu

Phiên bản	Ngày hiệu lực	Sửa đổi
1.0	01/06/2023	Cập nhật mã Đơn vị Ngân hàng Tế bào gốc
1.0	02/01/2024	Soát xét định kỳ không thay đổi nội dung
2.0	02/06/2025	Thay đổi mã tài liệu

Phân phối

Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc: 01 bản

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 3 trên 11</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTKT.A46.13.1</i>
	<i>Quy trình loại tế bào CD3+ và tế bào CD45RA+ bằng máy CliniMACS</i>	<i>02/06/2025</i>

1. MỤC ĐÍCH

- Mô tả quy trình loại bỏ các tế bào mang dấu ấn CD3+, CD45RA+ bằng phương pháp lọc từ tính sử dụng bộ kit tách CD3 Depletion và CD45RA Depletion trên máy CliniMacs, tại Trung tâm Tế bào gốc, Bệnh viện Nhi trung ương.

- Mục đích của quy trình để nhân viên hiểu và thao tác đúng quy trình xử lý TBG.

2. PHẠM VI ÁP DỤNG

- Áp dụng cho quy trình loại tế bào Lympho T (CD3+) và các tế bào CD45RA+ bằng máy CliniMacs tại Trung tâm Tế bào gốc – Bệnh viện Nhi trung ương.

3. TRÁCH NHIỆM

- Phụ trách Trung tâm Tế bào gốc: xác định, đề xuất nhu cầu xây dựng mới, sửa đổi/cập nhật, cải tiến và tổ chức phổ biến, thực hiện đảm bảo tính hiệu lực của quy trình này.

- Lãnh đạo Bệnh viện có trách nhiệm phê duyệt quy trình.

- Tất cả nhân viên Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc đã được đào tạo có trách nhiệm tuân thủ đúng qui trình khi thực hiện.

4. NHỮNG NGƯỜI QUẢN LÝ, GIÁM SÁT TUÂN THỦ QUY TRÌNH NÀY

- Lãnh đạo Trung tâm Tế bào gốc, KTY trưởng, QLCL, QLKT chịu trách nhiệm quản lý, giám sát sự tuân thủ quy trình xét nghiệm của nhân viên

- Nhân viên quản lý tài liệu chịu trách nhiệm phân phối tài liệu phiên bản mới nhất, thu hồi phiên bản cũ

- Tất cả nhân viên Trung tâm Tế bào gốc đã được đào tạo có trách nhiệm áp dụng, tuân thủ việc thực hiện và đề xuất cải tiến quy trình.

5. VIẾT TẮT

- PBSC: Tế bào gốc từ máu ngoại vi
- HC: Hồng cầu
- BC: Bạch cầu
- TBG: Tế bào gốc
- CTM: Công thức máu

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 4 trên 11</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTKT.A46.13.1</i>
	<i>Quy trình loại tế bào CD3+ và tế bào CD45RA+ bằng máy CliniMACS</i>	<i>02/06/2025</i>

- HT: Huyết tương
- GVHD: Bệnh mảnh ghép chống chủ

6. NỘI DUNG

6.1. Đại cương

- Tế bào gốc là tế bào có khả năng tự đổi mới, tăng sinh và phát triển biệt hóa thành các loại tế bào chuyên biệt để thực hiện chức năng trong một mô cụ thể.

- Ghép tế bào gốc là các tế bào gốc tạo máu khỏe mạnh được truyền vào cơ thể bệnh nhân thông qua ven tĩnh mạch. Tùy theo chẩn đoán bệnh và lựa chọn nguồn TBG, có 3 phương pháp ghép TBG hiện nay: ghép tự thân, ghép đồng loài, ghép nửa thuận hợp.

- Trong ghép nửa thuận hợp, khi người cho và người nhận không phù hợp hệ kháng nguyên HLA sẽ dễ gây ra hội chứng GVHD cho bệnh nhân. Trong đó tế bào CD3+ là nguyên nhân chính gây GVHD. Bên cạnh đó bệnh nhân ghép tế bào gốc cần những tế bào ghi nhớ miễn dịch CD45RO để tránh được các bệnh nhiễm trùng hay gặp.

- Trong bộ kit CD3 Depletion, các tế bào Lympho CD3+ sẽ được loại bỏ, các tế bào khác sẽ được giữ lại để truyền cho bệnh nhân. Trong bộ kit CD45RA Depletion, các tế bào CD45RA sẽ loại bỏ, các tế bào ghi nhớ miễn dịch CD45RO được giữ lại để truyền cho bệnh nhân.

6.2. Chỉ định

- Các bệnh nhân suy giảm miễn dịch, bạch cầu cấp, suy tủy, Thalassemia... không tìm được người cho phù hợp HLA.

6.3 Chống chỉ định

- Các bệnh nhân có tình trạng nhiễm khuẩn hoặc nhiễm vi rút

6.4. Chuẩn bị

6.4.1. Người thực hiện

- Nhân lực trực tiếp: 01 bác sĩ, 02 kỹ thuật viên
- Nhân lực hỗ trợ: 02 kỹ thuật viên

6.5.2. Thuốc:

- Human Albumin (HSA 20%)

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 5 trên 11</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTKT.A46.13.1</i>
	<i>Quy trình loại tế bào CD3+ và tế bào CD45RA+ bằng máy CliniMACS</i>	<i>02/06/2025</i>

6.5.3. Hóa chất, vật tư tiêu hao

- Đệm PBS/EDTA
- CD3 Reagent, CD45RA Reagent
- DMSO và Dextran
- Kẹp nhựa xanh
- Túi Transfer Bag 600mL
- Plasma transfer set
- Sampling site coupler
- Tubing set
- Pre filter system
- Kim 20G
- Bơm tiêm 1, 5, 10, 20, 50 mL
- Túi lưu trữ đông lạnh

6.5.4. Trang thiết bị

- Máy CliniMACS
- Máy ly tâm (sử dụng máy ly tâm Kobuta – khoa Truyền Máu)
- Máy hàn nối ống vô trùng tự động TSCD
- Tủ an toàn sinh học cấp II
- Máy hàn dây túi máu
- Máy lắc (có tốc độ lắc khoảng 25-30 v/p)
- Bàn ép huyết tương
- Cân điện tử

6.5.5. Người bệnh: Không áp dụng

6.5.6. Hồ sơ bệnh án: Không áp dụng

6.5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 6-8 tiếng

6.5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Trung tâm Tế bào gốc

6.5.9. Kiểm tra hồ sơ:

- Kiểm tra mẫu: Đánh giá tính chính xác của mẫu

6.6. Các bước tiến hành

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 6 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.13.1
	Quy trình loại tế bào CD3+ và tế bào CD45RA+ bằng máy CliniMACS	02/06/2025

6.6.1. Những lưu ý trước khi thực hiện

- Sau khi thu thập TBG, rút mẫu đếm CTM, CD34, CD3, CD45RA để tính toán hóa chất và tubing sử dụng trong quy trình tách tế bào

WBC	$\leq 40 \times 10^9$ (quy mô nhỏ)	$\leq 80 \times 10^9$ (quy mô lớn)
CD3	$\leq 15 \times 10^9$	$15 - 30 \times 10^9$
Số lượng CD3 reagent	1	2
Số lượng PBS/EDTA buffer	2	2

- Đối với CD45RA tối đa WBC: 50×10^9 , CD45RA: 20×10^9 tế bào.
- Dung dịch đệm PBS/EDTA và sản phẩm Leukapheresis Product để ở nhiệt độ phòng để đạt hiệu suất xử lý tế bào cao nhất.
- Tất cả thao tác với túi hờ sẽ được thực hiện trong tủ ATSH cấp 2.
- Sử dụng TSCD để kết nối các túi.

6.6.2. Các bước thực hiện quy trình xử lý

- Pha đệm PBS trong tủ ATSH
- 25 mL HSA trong 1L dung dịch đệm PBS/EDTA
- Cân trọng lượng túi rỗng. Đặt túi lên bàn cân (không bao gồm đoạn dây), kèm 1 sampling site và kẹp xanh nhỏ. Ghi lại trọng lượng túi. Quy đổi $1g = 1mL$. Ghi nhãn túi Cell preparation (CP): ngày giờ, tên bệnh nhân. V_B

- Dùng TSCD chuyển sản phẩm gạn tách sang túi CP. Cân túi, ghi lại trọng lượng (V_1) Chú ý khi hàn túi: hàn 3 đoạn sát nhau và ngắt ở đoạn giữa để tránh rò rỉ, hàn cách đầu túi 1 đoạn 15 - 20 cm.

$$\text{Trọng lượng thực túi thực (V2)} = V_1 - V_B$$

- Chia túi thành 2 phần. 1 túi 9/10 thể tích để xử lý loại CD3 (CP CD3), 1 túi 1/10 thể tích loại CD45RA (CP CD45RA). Cân lại từng túi và ghi lại thể tích sau khi đã trừ bì (V_3, V_4).

- Tính thể tích đệm thêm vào mỗi túi.

$$\text{Đệm thêm vào túi CD3} = 550 - V_3$$

$$\text{CD45RA} = 550 - V_4$$

	BỘ Y TẾ	Trang 7 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.13.1
	Quy trình loại tế bào CD3+ và tế bào CD45RA+ bằng máy CliniMACS	02/06/2025

VD: Thể tích cần đạt được là 550, bì túi là 34g. Tổng trọng lượng cần đạt là: $550 + 34 = 584$ g. Đặt túi CP lên bàn cân bơm đệm cho đến khi đạt trọng lượng 584g.

- Kết nối 1 đầu của Plasma Transfer set vào túi đệm vừa pha trong tủ ATSH. Sử dụng TSCD kết nối 1 đầu còn lại của transfer với túi CP CD3 và CP CD45RA.

- Chuyển lượng đệm đã tính toán sang 2 túi CP. Sau đó cân lại trọng lượng thực của túi CP (V5, V6).

- Dùng TSCD kết nối túi CP với 1 túi rỗng 600mL. Ghi nhãn túi rỗng là Plasma Waste.

- Ly tâm 2 túi với tốc độ 200G trong 15p không phanh, 20°C (Với máy ly tâm Kobuta-khoa Truyền máu đặt tốc độ phanh 3).

- Sau khi ly tâm, ép bỏ huyết tương tối đa ở cả 2 túi. Lắc trộn đều 2 túi.

Chú ý: huyền phù thật kỹ 2 túi để gắn kháng thể từ tốt hơn

- Thêm dung dịch đệm vào 2 túi để đạt thể tích như sau:

CD3: V=190ml (nếu sử dụng 2 lọ CD3 reagent)

CD45RA: V= 90mL

- Cân lại thể tích thực của 2 túi CP (V7, V8)

- Ủ mẫu với hóa chất CD3 reagent và CD45 reagent: kiểm tra lại hóa chất, ghi lại hạn sử dụng và LOT.

- CD3: Dùng xi lanh hút cạn 2 lọ hóa chất CD3Reagent rồi từ từ bơm vào túi CP CD3. Để trên máy lắc trộn đều, bấm luôn thời gian ủ 30 phút.

- CD45RA: Dùng xi lanh hút cạn 1 lọ hóa chất CD45RA Reagent rồi từ từ bơm vào túi CP CD45RA. Để trên máy lắc trộn đều, bấm luôn thời gian ủ 30 phút.

Lưu ý: hút thật cạn 2 lọ hóa chất, bọc 2 túi CP trong toan để ủ trên máy lắc.

- Bỏ sung đệm để đạt thể tích 550mL. Kết nối 2 túi CP với 1 túi rỗng 600 mL. Ghi nhãn túi rỗng Wash Waste. Cân bằng 2 bộ túi.

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 8 trên 11</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTKT.A46.13.1</i>
	<i>Quy trình loại tế bào CD3+ và tế bào CD45RA+ bằng máy CliniMACS</i>	<i>02/06/2025</i>

- Ly tâm 2 túi với tốc độ 300G trong 15p không phanh, 20⁰C (Với máy ly tâm Kobuta-khoa Truyền máu đặt tốc độ phanh 3).

- Loại bỏ tối đa dịch nổi, lắc trộn đều 2 túi .

- Bổ sung thêm đệm PBS.

- Túi CD3: thêm đệm sao cho thể tích đạt 280mL (nếu sử dụng 2 lọ Reagent).

- Túi CD45RA: thêm đệm sao cho thể tích đạt 125mL.

Cân lại thể tích thực của 2 túi (V9, V10).

- Rút mẫu 1mL: 0,5mL cấy máu, 0,5mL đếm CMT, Flow.

Cân lại thể tích thực 2 túi (V11, V12).

Túi CD45RA rút mẫu 2mL .

6.6.3. Cài đặt và chạy máy CliniMACS

- Bật máy, chọn chương trình **DEPLETION 3.1**. Ấn **ENT**

Muốn di chuyển lên hoặc xuống ấn 0 hoặc 8

- Màn hình hiện lên dòng chữ: **CliniMACS DTS, REF: 261-01**

Kiểm tra lại nếu chính xác ấn **ENT**.

Nếu không chính xác ấn **Undo**

- Màn hình **CONFIRMATION** hiện lên. Kiểm tra lại chắc chắn đang sử dụng chương trình **Depletion 3.1** và Tubing set **CliniMACS DTS**. Ấn **ENT**

- Nhập số **REF** của bộ Tubing set. Ấn **ENT**

- Nhập các thông số của mẫu: Mật độ WBC ($\times 10^6$.mL), % Tế bào đánh dấu (CD3 hoặc CD45RA) thể tích mẫu (nhập V11 và V12) Ấn **ENT**.

- Dải chấp nhận được hiển thị trên hộp thoại phía dưới bên trái. Việc nhập các thông số sai có thể dẫn đến xử lý mẫu không tối ưu và có thể làm tăng nguy cơ, giảm hiệu quả loại bỏ tế bào.

Chú ý: Thông số nhập vào máy có thể là thông số ban đầu của sản phẩm Leukemia Product hoặc thông số mẫu sau khi rửa và ủ kháng thể.

- Phần mềm sẽ tự tính toán tổng số lượng tế bào được đánh dấu. Dựa vào số liệu đó, 1 trong 2 màn hình sẽ xuất hiện:

- Nếu số lượng tế bào đánh dấu nằm trong khả năng lọc của máy, máy chỉ yêu cầu kiểm tra lại số liệu. Nếu đúng ấn **ENT**.

- Nếu số lượng tế bào đánh dấu nằm ngoài khả năng lọc của máy, máy sẽ hiện lên số lượng tế bào tối đa có thể lọc được. Nếu vẫn tiếp tục thực hiện quy trình ấn **ENT**. Nếu không muốn thực hiện ấn **UNDO**.

	BỘ Y TẾ	Trang 9 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.13.1
	Quy trình loại tế bào CD3+ và tế bào CD45RA+ bằng máy CliniMACS	02/06/2025

Chú ý: Nếu không muốn làm quá tải thiết bị, chia mẫu thành các phần nhỏ và thực hiện lại các bước.

- Phần mềm tính toán số lượng các bước tách, lượng đệm cần thiết cho cả quá trình loại bỏ và thể tích dung dịch cần thiết sẽ thu lại trong Cell Collection Bag, Non-Target Cell Bag, Bufer Waste Bag, và Reapplication Bag.

- Nếu thể tích vượt quá giá trị chuẩn của máy, 1 màn hình sẽ hiện lên thông báo về lượng chất lỏng ở trong các túi. Nếu cần thiết sẽ thay thế các túi trong bộ kit bằng loại túi đủ thể tích theo như máy khuyến cáo. Sử dụng đầu nối luer/spike để nối các túi.

- Xác nhận lượng đệm bắt buộc sẵn có. Không gần quá ba lít đệm trên giá treo túi. **Ấn ENT**

- Lấy bộ tubing set, ghi lại HSD và số LOT. Mở tubing set trong tủ ATSH cấp 2. Kiểm tra các đầu nối, vặn lại các đầu nối thật chặt để tránh rò rỉ mẫu.

- Treo túi Non-Target cell và Reapplication lên trên cột ngoài cùng bên phải. Dùng tay giữ đầu trên và dưới của cột lọc, gắn cột vào vị trí. **Ấn ENT.**

- Lắp các van 1,2,3,4 và 5. Nối hệ thống dây vào các van theo hướng dẫn. Kiểm tra dây đã khớp hoàn toàn vào van, kiểm tra thật kỹ các đoạn dây, tránh dây bị gập xoắn. Lắp đoạn dây trên van số 2 vào phần cảm biến chất lỏng. Đảm bảo rằng các đoạn dây và cảm biến chất lỏng thật khô. **Ấn ENT**

- Mở nắp bơm. Quay bơm theo chiều kim đồng hồ và lắp đoạn dây vào. Chèn 2 đầu đường ống vào 2 cạnh của bơm. Xoay bơm kiểm tra lại đường ống. Đóng nắp bơm. **Ấn ENT.**

Trong quá trình chạy, bất kỳ khi nào nắp bơm mở, chương trình sẽ tự động dừng. Nếu bơm mở quá 600s máy sẽ hủy bỏ chương trình chạy.

- Lắp dây vào các van 6,7,8,9 và 10. Đặt buffer waste bag vào vị trí. **Ấn ENT**

- Màn hình hiện lên yêu cầu kiểm tra lại hệ thống van: đảm bảo hệ thống dây lắp đúng van, không có đoạn dây nào bị gập, xoắn, trùng. **Ấn ENT**

- Máy sẽ chạy thử hoạt động của các van, bắt đầu từ van số 1 đến 10. Nghe và quan sát hoạt động của van. Đến phần kiểm tra từ tính của cột từ, dùng kéo sắt đặt vào kiểm tra hoạt động của nam châm. **Ấn ENT**

- Sử dụng kỹ thuật vô trùng gắn Buffer vào đầu nối với bộ tubing set. Treo buffer lên cột ngoài cùng bên trái. Điều chỉnh độ cao cho phù hợp. **Ấn ENT.**

- Máy bắt đầu môi. **Ấn RUN**

- Trong bước môi, bộ ống dây sẽ được bơm đầy bởi CliniMACS PBS/EDTA Buffer. Đệm sẽ tuần hoàn trên toàn bộ ống dây bao gồm cả cột tách. Chu trình môi sẽ tiếp tục, lặp lại một loạt các bước. Bước môi sẽ mất khoảng 2,5 phút.

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 10 trên 11</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTKT.A46.13.1</i>
	<i>Quy trình loại tế bào CD3+ và tế bào CD45RA+ bằng máy CliniMACS</i>	<i>02/06/2025</i>

- Trong quá trình mỗi kiểm tra bộ ống dây có bị rò rỉ nước hay không. Nếu có rò rỉ, ấn **STOP**, người vận hành máy sẽ có 600s để khắc phục sự cố. Nếu không khắc phục được phải thay thế bằng bộ tubing set khác.

- Kiểm tra lại lần cuối

- Dung dịch đệm sẽ xuất hiện ở tất cả các phần của bộ dây trừ phần dây phía trên van 2 và 3.

- Không có khí trong đoạn dây.

- Có dịch ở túi Bufer Waste Bag, Reapplication Bag và Non- Target Cell Bag

- Không có dịch ở túi Cell collection bag

- Kiểm tra tính toàn vẹn của hệ thống

- Ấn 9 để kiểm tra phần trên

- Dùng kẹp xanh khóa phần dây nối với Non targer cell. Ấn **RUN**

- Quan sát kết nối phần trên và bơm, dùng khăn giấy kiểm tra xem có bất kỳ rò rỉ nào không.

- Ấn 6 để kiểm tra phần dưới. Ấn **RUN**. Quan sát kết nối phần dưới, dùng khăn giấy kiểm tra xem có bất kỳ rò rỉ nào không.

- Gỡ kẹp khóa ở túi Non target cell. Ấn **ENT**

- Kết nối túi Cell collection bag (lưu ý kỹ thuật vô trùng khi thực hiện thao tác)

- Kết nối Pre system filter với đầu nối của tubing set

- Kết nối Pre system filter với luer/spike

- Kết nối đầu còn lại của luer/spike với túi Cell preparation bag

- Kiểm tra lại kết nối giữa các phần, treo túi Cell preparation lên trên giá

- Vị trí treo túi như sau:

+ Cao nhất: Túi buffer

+ Ở giữa: Non target cell bag và Reapplication

+ Thấp nhất: Túi Cell preparatioon bag

- Ấn **ENT**

- Dán băng dính y tế để cố định liquid senser. Ấn **ENT**

- Kiểm tra lại lần cuối tất cả các phần. Bắt đầu chạy chương trình ấn **RUN**

- Trên màn hình sẽ hiện lên thời gian chạy, từng bước của quy trình chạy cũng được hiển thị trên màn hình. Theo dõi và quan sát quá trình chạy.

6.6.4. Kết thúc chương trình chạy máy

- Khi máy báo quá trình kết thúc. Ghi lại mã quá trình chạy. Khóa và hàn túi Cell collection bag. Cân túi (theo nhà SX bì túi là 32g)

- Trộn đều túi sản phẩm, rút 1mL để cấy máu và đếm tế bào

	BỘ Y TẾ	Trang 11 trên 11
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.13.1
	Quy trình loại tế bào CD3+ và tế bào CD45RA+ bằng máy CliniMACS	02/06/2025

- Giữ lại toàn bộ túi waste trong quá trình rửa cũng như các túi của bộ tubing set cho đến khi có kết quả cuối cùng.

- Tháo bộ tubing set và tắt máy

6.7. Theo dõi và xử trí tai biến

6.7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật: Không áp dụng

6.7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật: Không áp dụng

6.7.3. Biến chứng muộn: Không áp dụng

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Huyết Học – Truyền Máu-Miễn dịch – Di Truyền – Sinh học phân tử (ban hành kèm theo quyết định số : 3336/ QĐ-BYT ngày 20 tháng 7 năm 2017 của Bộ trưởng Bộ Y tế)

2. Clini MACS Plus manual – Miltenyi biotec

3. Characteristics of CliniMACS® System CD34-Enriched T Cell-Depleted Grafts in a Multicenter Trial for Acute Myeloid Leukemia-Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network (BMT CTN) Protocol 0303, Biology of Blood and Marrow Transplantation Volume 18, Issue 5, May 2012, 690-697

BỘ Y TẾ
BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG



QUY TRÌNH ĐÔNG LẠNH KHỐI TẾ BÀO GỐC
BẰNG PHƯƠNG PHÁP THỦ CÔNG
QTKT.A46.16.2

Phiên bản: 2.0

Ngày hiệu lực: 02/06/2025

	Họ tên	Chức vụ	Chữ ký
Soạn thảo	Hà Thị Phương	Nhân viên Trung tâm Tế bào gốc	
Xem xét	Nguyễn Thanh Bình	Phụ trách Trung tâm Tế bào gốc	
Phê duyệt	Cao Việt Tùng	Phó Giám đốc Bệnh viện	



Hà Nội – 2025

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 2 trên 6</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTKT.A46.16.2</i>
	<i>Quy trình kỹ thuật đông lạnh khối tế bào gốc bằng phương pháp thủ công</i>	<i>02/06/2025</i>

Lịch sử thay đổi tài liệu

Phiên bản	Ngày hiệu lực	Sửa đổi
1.0	02/01/2024	Phiên bản mới
2.0	02/06/2025	Thay đổi mã tài liệu

Phân phối

Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc: 01 bản

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 3 trên 6</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTKT.A46.16.2</i>
	<i>Quy trình kỹ thuật đông lạnh khối tế bào gốc bằng phương pháp thủ công</i>	<i>02/06/2025</i>

1. MỤC ĐÍCH

- Quy trình giúp đông lạnh khối tế bào gốc tạo máu đến -80°C trước khi lưu lâu dài trong nito lỏng khi không có máy hạ nhiệt độ theo chương trình có kiểm soát.

2. PHẠM VI ÁP DỤNG

- Áp dụng tại Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc và tại phòng ghép tế bào gốc.

3. TRÁCH NHIỆM

- Tất cả nhân viên Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc đã được đào tạo có trách nhiệm tuân thủ đúng quy trình khi thực hiện và đề xuất nhu cầu xây dựng mới, sửa đổi/cập nhật, cải tiến và, đảm bảo tính hiệu lực của quy trình này.

- Giám đốc/Phó giám đốc Bệnh viện có trách nhiệm phê duyệt quy trình.

4. NHỮNG NGƯỜI QUẢN LÝ, GIÁM SÁT TUÂN THỦ QUY TRÌNH NÀY

- Lãnh đạo Trung tâm Tế bào gốc, kỹ thuật y trường, nhân viên quản lý chất lượng, nhân viên quản lý kỹ thuật chịu trách nhiệm quản lý, giám sát sự tuân thủ quy trình kỹ thuật của nhân viên.

- Nhân viên kiểm soát tài liệu chịu trách nhiệm phân phối tài liệu phiên bản mới nhất, thu hồi phiên bản cũ.

- Tất cả nhân viên Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc đã được đào tạo có trách nhiệm áp dụng, tuân thủ việc thực hiện và đề xuất cải tiến quy trình.

5. VIẾT TẮT

TBG: Tế bào gốc

6. NỘI DUNG

6.1. Đại cương

Trong quá trình đông lạnh, nước ở môi trường bên ngoài tế bào sẽ đóng băng. Tốc độ làm lạnh khác nhau dẫn đến mức độ tế bào co rút khác nhau do sự mất nước. Áp suất thẩm thấu của môi trường bên ngoài tế bào liên tục tăng lên khi nước hình thành các tinh thể đá. Tốc độ làm lạnh càng chậm thì nước bên trong tế bào thẩm thấu ra ngoài càng lâu. Do đó, làm lạnh rất chậm dẫn đến chết

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 4 trên 6</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTKT.A46.16.2</i>
	<i>Quy trình kỹ thuật đông lạnh khối tế bào gốc bằng phương pháp thủ công</i>	<i>02/06/2025</i>

tế bào do mất nước quá nhiều. Làm lạnh nhanh có thể hình thành các tinh thể đá nội bào dẫn đến tế bào bị chết khi được làm ấm. Do đó khi không có máy làm lạnh theo chương trình có kiểm soát thì có thể sử dụng hệ thống tủ lạnh có nhiệt độ giảm dần và theo thời gian đã được tối ưu hoặc sử dụng phương pháp làm lạnh bằng isopropanol để làm lạnh tốc độ $-1^{\circ}\text{C}/\text{phút}$ đến -80°C sau đó đưa tế bào gốc vào nito lỏng để lưu trữ lâu dài.

Phương pháp 1: Đông lạnh bằng hệ thống tủ lạnh có nhiệt độ giảm dần:

30 phút ở $2-8^{\circ}\text{C}$ (tốt nhất là nhiệt độ $2-4^{\circ}\text{C}$)

120 phút ở -20°C

Ít nhất 16-24h ở -80°C

Lưu lâu dài ở $<-135^{\circ}\text{C}$

Phương pháp 2: Đông lạnh bằng thiết bị:

Mẫu được đặt trong thiết bị đông lạnh Mr.Frosty (có sử dụng isopropanol) hoặc coolcell (không sử dụng isopropanol) để làm lạnh $-1^{\circ}\text{C}/\text{phút}$ đối với mẫu tế bào chứa trong ống đông lạnh có kích thước phù hợp.

6.2. Chỉ định

Đối với mẫu tế bào gốc tạo máu hoặc tế bào trị liệu khác cần đông lạnh để bảo quản lâu dài mà không có thiết bị làm lạnh theo chương trình có kiểm soát.

6.3. Chống chỉ định

Không áp dụng

6.4. Thận trọng

Khi sử dụng isopropanol cần thao tác trong tủ hút hóa chất.

6.5. Chuẩn bị

6.5.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp: 01 bác sỹ hoặc 01 kỹ thuật viên.

6.5.2. Thuốc

Không áp dụng

6.5.3. Vật tư

- 01 Giá inox hoặc giá xốp.

6.5.4. Trang thiết bị

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 5 trên 6</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTKT.A46.16.2</i>
	<i>Quy trình kỹ thuật đông lạnh khối tế bào gốc bằng phương pháp thủ công</i>	<i>02/06/2025</i>

a. Phương pháp sử dụng hệ thống tủ lạnh

01 Tủ lạnh thường (có ngăn mát 4°C và ngăn đá -20°C ± 2°C)

01 Tủ lạnh -80°C

b. Phương pháp sử dụng thiết bị làm lạnh (sử dụng cho ống đông lạnh)

01 Thiết bị làm lạnh Coolcell hạ lạnh -1°C/phút

01 Thiết bị đông lạnh Mr. Frosty (sử dụng isopropanol)

6.5.5. Người bệnh

- Không áp dụng.

6.5.6. Hồ sơ bệnh án

- Chuẩn bị phiếu tiến trình làm lạnh khối TBG bằng phương pháp thủ công, mã tài liệu BM1/QTKT.A46.16

6.5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật

- 20 giờ

6.5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Phòng xử lý và lưu trữ tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc.

6.5.9. Kiểm tra hồ sơ

- Kiểm tra thông tin mẫu cần đông lạnh, đúng bệnh nhân/ khách hàng lưu trữ tế bào gốc.

6.6. Tiến hành quy trình kỹ thuật

6.6.1. Phương pháp sử dụng hệ thống tủ lạnh

- Đặt mẫu tế bào gốc đã bổ sung dung dịch bảo quản và được bao ngoài bởi hộp bảo vệ, đảm bảo đặt nằm ngang trên bề mặt bằng phẳng đối với mẫu chứa trong túi lưu trữ, đặt đứng ống vào giá inox hoặc giá xếp đối với mẫu chứa trong ống lưu trữ.

- Đặt vào ngăn mát tủ lạnh 2-8°C (tốt nhất là từ 2-4°C) trong 30 phút.

- Chuyển mẫu sang tủ -20°C trong 2 giờ.

- Chuyển mẫu sang tủ -80°C để ít nhất 16-24 giờ.

- Chuyển mẫu vào bình lưu trữ trong nito lỏng, nhiệt độ < -135°C.

6.6.2. Phương pháp sử dụng thiết bị làm lạnh

Ghi chú: Đây là tài liệu đã được kiểm soát. Bất cứ tài liệu nào không được đóng dấu của bệnh viện phải được kiểm tra trước khi sử dụng và cần được thông báo với nhân viên phụ trách. Lưu hành nội bộ.

	BỘ Y TẾ	Trang 6 trên 6
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.16.2
	Quy trình kỹ thuật đông lạnh khối tế bào gốc bằng phương pháp thủ công	02/06/2025

- Xếp ống lưu mẫu đông lạnh vào hộp Mr. Frosty (đã chứa isopropanol) hoặc coolcell, xoáy nắp chặt, đặt vào tủ -80°C trong 24 giờ (đảm bảo nhiệt độ tủ đạt <-70°C). Sau đó chuyển vào bình lưu trữ trong nito lỏng, nhiệt độ <-135°C lưu lâu dài.

6.6.3. Kết thúc quy trình

- Hoàn thiện phiếu tiến trình làm lạnh khối TBG bằng phương pháp thủ công, mã tài liệu BM1/QTKT.A46.16.2

6.7. Theo dõi và xử trí tai biến

- Không áp dụng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hướng dẫn sử dụng thiết bị làm lạnh Mr. Frosty hãng Thermo Scientific.
2. Hướng dẫn sử dụng thiết bị làm lạnh Coolcell hãng Corning.

TIẾN TRÌNH LÀM LẠNH KHỐI TẾ BÀO GỐC

Mã mẫu MDR/TBG:.....

Thời gian	Nhiệt độ	Tủ lạnh sử dụng	Ghi chú
<u>30 phút</u> Từ... giờ ... phút đến ... giờ ... phút ngày ... / ... / ...	2-8°C	Mã thiết bị:	
<u>2 giờ</u> Từ... giờ ... phút đến ... giờ ... phút ngày ... / ... / ...	-20°C	Mã thiết bị:	
<u>16-24 giờ</u> Từ... giờ ... phút ngày ... / ... / ... đến ... giờ ... phút ngày ... / ... / ...	-80°C	Mã thiết bị:	
<u>Lưu lâu dài</u> Từ... giờ ... phút ngày ... / ... / ...	<-150°C	Mã thiết bị:	

Ngày ... tháng ... năm 202...

Người thực hiện

BỘ Y TẾ
BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG



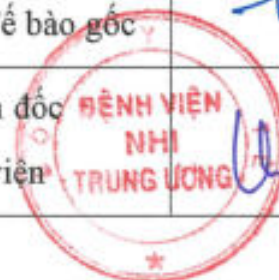
QUY TRÌNH VẬN CHUYỂN KHỐI TẾ BÀO GỐC
ĐẾN ĐƠN VỊ SỬ DỤNG
QTKT.A46.17.2

Phiên bản: 2.0

Ngày hiệu lực: 02/06/2025

	Họ tên	Chức vụ	Chữ ký
Soạn thảo	Hà Thị Phương	Nhân viên Trung tâm Tế bào gốc	
Xem xét	Nguyễn Thanh Bình	Phụ trách Trung tâm Tế bào gốc	
Phê duyệt	Cao Việt Tùng	Phó giám đốc Bệnh viện	

Hà Nội – 2025



	BỘ Y TẾ	Trang 2 trên 8
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.17.2
	Quy trình vận chuyển khối tế bào gốc đến đơn vị sử dụng	02/06/2025

Lịch sử thay đổi tài liệu

Phiên bản	Ngày hiệu lực	Sửa đổi
1.0	02/01/2024	Phiên bản mới
2.0	02/06/2025	Thay đổi mã tài liệu

Phân phối

Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc: 01 bản

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 3 trên 8</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTKT.A46.17.2</i>
	<i>Quy trình vận chuyển khối tế bào gốc đến đơn vị sử dụng</i>	<i>02/06/2025</i>

1. MỤC ĐÍCH

- Quy trình này mô tả các bước bảo quản và vận chuyển khối tế bào gốc từ Trung tâm Tế bào gốc đến đơn vị sử dụng bao gồm: phòng ghép tế bào gốc, phòng bệnh, phòng mổ... đảm bảo an toàn, không làm ảnh hưởng đến chất lượng khối tế bào gốc.

2. PHẠM VI ÁP DỤNG

- Áp dụng tại Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc và tại phòng ghép tế bào gốc.

3. TRÁCH NHIỆM

- Tất cả nhân viên Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc đã được đào tạo có trách nhiệm tuân thủ đúng quy trình khi thực hiện và đề xuất nhu cầu xây dựng mới, sửa đổi/cập nhật, cải tiến và, đảm bảo tính hiệu lực của quy trình này.

- Giám đốc/Phó giám đốc Bệnh viện có trách nhiệm phê duyệt quy trình.

4. NHỮNG NGƯỜI QUẢN LÝ, GIÁM SÁT TUÂN THỦ QUY TRÌNH NÀY

- Lãnh đạo Trung tâm Tế bào gốc, kỹ thuật y trường, nhân viên quản lý chất lượng, nhân viên quản lý kỹ thuật chịu trách nhiệm quản lý, giám sát sự tuân thủ quy trình kỹ thuật của nhân viên.

- Nhân viên kiểm soát tài liệu chịu trách nhiệm phân phối tài liệu phiên bản mới nhất, thu hồi phiên bản cũ.

- Tất cả nhân viên Đơn vị Ngân hàng tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc đã được đào tạo có trách nhiệm áp dụng, tuân thủ việc thực hiện và đề xuất cải tiến quy trình.

5. VIẾT TẮT

TBG: Tế bào gốc

6. NỘI DUNG

6.1. Đại cương

6.1.1. Nguyên lý kỹ thuật

- Khối TBG sau khi xử lý cần được bảo quản và vận chuyển ở điều kiện nhiệt độ thích hợp trong thời gian ngắn nhất để đảm bảo tính toàn vẹn và tỷ lệ sống của tế bào.

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 4 trên 8</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTKT.A46.17.2</i>
	<i>Quy trình vận chuyển khối tế bào gốc đến đơn vị sử dụng</i>	<i>02/06/2025</i>

+ Nhiệt độ thích hợp để vận chuyển khối tế bào gốc sau xử lý (khối tế bào gốc tươi) và khối tế bào gốc sau rã đông là 2-8°C.

+ Nhiệt độ thích hợp để vận chuyển khối tế bào gốc đông lạnh là < -140°C.

6.1.2. Mục đích của kỹ thuật

- Kỹ thuật giúp bảo quản và vận chuyển khối tế bào gốc sau xử lý hoặc sau bảo quản đông lạnh trong nhiệt độ âm sâu từ Trung tâm tế bào gốc đến đơn vị sử dụng, đảm bảo an toàn, chất lượng cho khối tế bào gốc trước khi truyền cho bệnh nhân.

6.2. Chỉ định

- Tất cả các khối tế bào gốc sau xử lý hoặc sau lưu trữ đông lạnh tại Trung tâm Tế bào gốc cần chuyển đến bệnh phòng để truyền cho bệnh nhân.

- Đối với vận chuyển khối TBG đông lạnh thì chỉ vận chuyển mẫu khi bệnh nhân và các điều kiện khác đã sẵn sàng để truyền TBG.

6.3. Chống chỉ định

Không áp dụng.

6.4. Thận trọng

- Thận trọng trong trường hợp vận chuyển khối tế bào gốc đông lạnh do dễ bị vỡ và điều kiện vận chuyển ở nhiệt độ dưới -140°C trong nito lỏng nên luôn thận trọng và mang găng tay chịu lạnh khi tiếp xúc với nito lỏng.

6.5. Chuẩn bị

6.5.1. Người thực hiện

a) *Nhân lực trực tiếp*: 01 kỹ thuật viên.

b) *Nhân lực hỗ trợ*: 01 kỹ thuật viên (trong trường hợp vận chuyển khối TBG đông lạnh).

6.5.2. Thuốc

Không áp dụng.

6.5.3. Vật tư

Các vật tư tiêu hao cần thiết khi vào phòng bệnh/ phòng ghép tế bào gốc/ phòng mổ:

- 01 khẩu trang vô khuẩn.

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 5 trên 8</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTKT.A46.17.2</i>
	<i>Quy trình vận chuyển khối tế bào gốc đến đơn vị sử dụng</i>	<i>02/06/2025</i>

- 01 mũ vô khuẩn.
- 01 bao giày vô khuẩn.

a) Đối với vận chuyển khối TBG tươi sau xử lý hoặc khối TBG sau rã đông:

- 02 gel lạnh 4°C.
- 01 Đôi găng tay y tế.

b) Đối với vận chuyển khối TBG đông lạnh:

- 10 lít nito lỏng.

6.5.4. Trang thiết bị

a) Đối với vận chuyển khối TBG tươi sau xử lý hoặc khối TBG sau rã đông:

- 01 Hộp vận chuyển có dán nhãn.
- 02 Gel lạnh 4°C.
- 01 Đôi găng tay y tế.

b) Đối với vận chuyển khối TBG đông lạnh:

- 01 thiết bị vận chuyển mẫu đông lạnh chuyên dụng.
- 01 Đôi găng tay bảo vệ lạnh chuyên dụng.
- 01 Xe đẩy chuyên dụng.
- 01 Nhiệt kế (loại có thể đo được nhiệt độ âm sâu).

6.5.5. Người bệnh

- Không áp dụng

6.5.6. Hồ sơ bệnh án

- Không áp dụng

6.5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật

- 1 giờ

6.5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Trung tâm Tế bào gốc đến phòng bệnh/ phòng ghép tế bào gốc/ phòng mổ - Bệnh viện Nhi Trung ương.

6.5.9. Kiểm tra hồ sơ

	BỘ Y TẾ	Trang 6 trên 8
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.17.2
	Quy trình vận chuyển khối tế bào gốc đến đơn vị sử dụng	02/06/2025

- Kiểm tra đúng thông tin mã/ tên khối TBG cần vận chuyển: Mã/ tên khối TBG, thể tích, liều tế bào, thể tích chất bảo quản.

- Đối chiếu thông tin trên khối TBG với phiếu truyền TBG và bệnh nhân cần truyền TBG. Thông tin trên phiếu truyền TBG bao gồm: thông tin bệnh nhân, mã đơn vị TBG cần truyền, thể tích TBG, thể tích chất bảo quản, ngày thu thập, ngày truyền, liều tế bào, nhóm máu (đối với trường hợp dị ghép).

6.6. Tiến hành quy trình kỹ thuật

6.6.1. Vận chuyển khối TBG sau xử lý hoặc sau rã đông

a) Đóng gói khối TBG

- Kiểm tra túi chứa TBG đảm bảo không bị rò rỉ mẫu.
- Đóng gói túi TBG vào toan sạch, đặt vào túi zip, khóa chặt túi zip.
- Đặt túi zip chứa khối TBG vào giữa 2 gel 2-8°C trong hộp vận chuyển.
- Đóng nắp hộp vận chuyển, đảm bảo chắc chắn trong khi vận chuyển.

Lưu ý: Nhiệt độ vận chuyển mẫu **không** được dưới 2°C. Do vậy **không** nên sử dụng đá khô để vận chuyển nội viện. Nếu vận chuyển ngoại viện và sử dụng đá khô thì **không** đặt khối TBG tiếp xúc trực tiếp với đá khô.

b) Vận chuyển khối TBG đến đơn vị sử dụng

- Nhẹ nhàng vận chuyển hộp chứa TBG đến phòng ghép TBG/ phòng mổ trong thời gian ngắn nhất.

- Tuân thủ quy định trước khi vào phòng ghép TBG/ phòng mổ: đi bao giày/ thay dép, thay áo phẫu thuật, mang khẩu trang, mũ vô trùng, rửa tay thường quy, sát khuẩn tay và các vật dụng trước khi vào phòng.

c) Bàn giao khối TBG

- Nhân viên phụ trách truyền TBG tại phòng ghép TBG/ phòng mổ (điều dưỡng/ bác sĩ) nhận khối TBG.

- Kiểm tra nhiệt độ bảo quản 2-8°C.

- Đối chiếu thông tin trên khối TBG và phiếu truyền TBG với thông tin bệnh nhân cần truyền TBG.

- Ghi giờ bàn giao khối tế bào gốc tại phòng ghép TBG/ phòng mổ.

- Ký xác nhận giao - nhận mẫu trên phiếu truyền TBG.

6.6.2. Vận chuyển khối TBG đông lạnh

a) Chuẩn bị nito lỏng và bình vận chuyển

- Đặt bình vận chuyển mẫu lên xe đẩy chuyên dụng.

	BỘ Y TẾ	Trang 7 trên 8
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.17.2
	Quy trình vận chuyển khối tế bào gốc đến đơn vị sử dụng	02/06/2025

- Bơm 10 lít nito lỏng vào bình vận chuyển mẫu chuyên dụng, đóng nắp bình.

- Kiểm tra nhiệt độ bình vận chuyển bằng nhiệt kế, nhiệt độ $< -140^{\circ}\text{C}$ là đạt.

b) Xuất khối TBG khỏi bình lưu trữ

- Tuân thủ các bước xuất mẫu theo quy trình xuất khối TBG lưu trữ, mã tài liệu QTQL.A46.3

- Đặt khối TBG đã được đóng gói trong túi bao ngoài và hộp bảo vệ vào bình vận chuyển chứa nito lỏng.

- Đóng nắp bình vận chuyển.

c) Vận chuyển khối TBG đến đơn vị sử dụng

- Nhẹ nhàng vận chuyển bình chứa TBG đến phòng ghép TBG/ phòng mổ trong thời gian ngắn nhất và đảm bảo an toàn.

- Luôn theo dõi nhiệt độ trong bình vận chuyển, nhiệt độ luôn phải đạt $< -140^{\circ}\text{C}$.

- Tuân thủ quy định trước khi vào phòng ghép TBG/ phòng mổ: đi bao giấy/ thay dép, thay áo phẫu thuật, mang khẩu trang, mũ vô trùng, rửa tay thường quy, sát khuẩn tay và các vật dụng trước khi vào phòng.

c) Bàn giao khối TBG

- Nhân viên phụ trách truyền TBG tại phòng ghép TBG/ phòng mổ (điều dưỡng/ bác sĩ) nhận khối TBG.

- Kiểm tra nhiệt độ bảo quản $< -140^{\circ}\text{C}$

- Đối chiếu thông tin trên khối TBG và phiếu truyền TBG với thông tin bệnh nhân cần truyền TBG.

- Rã đông tại bệnh phòng khi bệnh nhân và các điều kiện khác đã sẵn sàng theo quy trình rã đông khối TBG đông lạnh, mã tài liệu QTKT.A42.10

- Ghi giờ bàn giao khối tế bào gốc tại phòng ghép TBG/ phòng mổ.

- Ký xác nhận giao - nhận mẫu trên phiếu truyền TBG và trên phiếu bàn giao khối TBG.

6.6.3. Kết thúc quy trình

- Theo dõi tình hình truyền TBG cho bệnh nhân. Hỗ trợ kỹ thuật khi có sự cố xảy ra hoặc khi có yêu cầu đối với khối TBG đang truyền.

- Hoàn thiện đầy đủ các phiếu truyền TBG, biên bản bàn giao (nếu có).

- Lưu hồ sơ xuất khối TBG (phiếu truyền TBG, biên bản bàn giao).

	BỘ Y TẾ	Trang 8 trên 8
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTKT.A46.17.2
	Quy trình vận chuyển khối tế bào gốc đến đơn vị sử dụng	02/06/2025

6.7. Theo dõi và xử trí tai biến

6.7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Khi vận chuyển mẫu trong nito lỏng có thể có rủi ro nito lỏng bị rò rỉ làm nhiệt độ trong bình vận chuyển tăng. Cần theo dõi nhiệt độ bình vận chuyển mẫu trong suốt thời gian vận chuyển. Nếu nhiệt độ tăng $>-140^{\circ}\text{C}$ mà chưa đến phòng ghép TBG/ phòng mổ hoặc chưa rã đông ngay để truyền cho bệnh nhân thì cần vận chuyển về Trung tâm TBG nhanh nhất có thể để bổ sung nito lỏng hoặc chuyển khối TBG vào bình lưu trữ tránh làm ảnh hưởng đến mẫu.

6.7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Không áp dụng

6.7.3. Biến chứng muộn

- Không áp dụng

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Anna Sureda, Selim Corbacioglu Rafaella Greco, Nicolaus Kröger Enric Carreras, 2024, EBMT handbook: Hematopoietic stem cell, *Springer*, 179-182.

2. Jan Jansen MD, PhD, Pamela L. Nolan, Margaret I. Reeves, Luke P. Akard, James M. Thompson, Michael J. Dugan, Susan G. Hanks, 2009, Transportation of peripheral blood progenitor cell products: effects of time, temperature and cell concentration, *Cytotherapy*, Volume 11, Issue 1, 79-85.

3. https://www.giftoflife.org/pdfs/wmda_product_transport_guidelines.pdf

BỘ Y TẾ
BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG



QUY TRÌNH QUẢN LÝ
XUẤT KHỐI TẾ BÀO GỐC LƯU TRỮ
QTQL.A46.3.1

Phiên bản: 1.0

Ngày hiệu lực: 02/06/2025



	Họ tên	Chức vụ	Chữ ký
Soạn thảo	Trần Thị Thu Huyền	Nhân viên Trung tâm Tế bào gốc	
	Hà Thị Phương	Nhân viên Trung tâm Tế bào gốc	
Xem xét	Nguyễn Thanh Bình	PGĐ Phụ trách Trung tâm Tế bào gốc	
Phê duyệt	Cao Việt Tùng	Phó giám đốc Bệnh viện	



	BỘ Y TẾ	Trang 2 trên 9
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTQL.A46.3.1
	Quy trình xuất khối tế bào gốc lưu trữ	02/06/2025

Lịch sử thay đổi tài liệu

Phiên bản	Ngày hiệu lực	Sửa đổi
1.0	02/06/2025	Phiên bản mới

Phân phối

Trung tâm Tế bào gốc: 01 bản

	BỘ Y TẾ	Trang 3 trên 9
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTQLA46.3.1
	Quy trình xuất khối tế bào gốc lưu trữ	02/06/2025

1. MỤC ĐÍCH

- Hướng dẫn các bước xuất mẫu tế bào gốc (TBG), đảm bảo tuân thủ quy định, minh bạch, an toàn và đáp ứng yêu cầu chuyên môn.
- Áp dụng cho hai trường hợp:
 - + Xuất mẫu để sử dụng (nội viện và ngoại viện);
 - + Xuất mẫu để hủy.

2. PHẠM VI ÁP DỤNG

- Áp dụng cho toàn bộ khối tế bào gốc được đưa vào lưu trữ tại Trung tâm Tế bào gốc, Bệnh viện Nhi Trung ương.

3. TRÁCH NHIỆM

- Lãnh đạo Trung tâm Tế bào gốc: chịu trách nhiệm xác định và đề xuất nhu cầu xây dựng mới, sửa đổi, cập nhật hoặc cải tiến quy trình; phê duyệt nội dung trước khi ban hành; chỉ đạo tổ chức phổ biến, hướng dẫn triển khai và giám sát việc thực hiện, đảm bảo quy trình được áp dụng nhất quán và hiệu quả trong toàn Trung tâm.
- Lãnh đạo Bệnh viện có trách nhiệm phê duyệt quy trình.
- Tất cả nhân viên Ngân hàng Tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc đã được đào tạo có trách nhiệm tuân thủ đúng quy trình khi thực hiện.

4. NHỮNG NGƯỜI QUẢN LÝ, GIÁM SÁT TUÂN THỦ QUY TRÌNH

- Lãnh đạo phụ trách Ngân hàng Tế bào gốc - Trung tâm Tế bào gốc, kỹ thuật y trưởng, nhân viên quản lý chất lượng chịu trách nhiệm quản lý, giám sát sự tuân thủ quy trình kỹ thuật của nhân viên.

5. KHÁI NIỆM, ĐỊNH NGHĨA, THUẬT NGỮ, VIẾT TẮT

5.1. Khái niệm/ định nghĩa/ thuật ngữ

- Khối tế bào gốc máu dây rốn là tế bào gốc được thu thập từ máu dây rốn và bánh rau tại thời điểm trẻ sơ sinh chào đời, sau khi cắt rốn. Đây là nguồn chứa chủ yếu các tế bào gốc tạo máu và một số tế bào gốc trung mô.
- Khối tế bào gốc từ tủy xương là mẫu được thu thập từ tủy xương, thường từ xương chậu hoặc xương ức, chứa nồng độ cao các tế bào gốc tạo máu và một số tế bào gốc trung mô.
- Khối tế bào gốc từ máu ngoại vi là tế bào gốc được thu thập từ máu ngoại vi của người hiến thông qua kỹ thuật tách tế bào (apheresis) và chứa số lượng lớn tế bào gốc tạo máu.
- Quá trình lưu khối tế bào gốc là quy trình tiếp nhận, xử lý, và bảo quản mẫu tế bào gốc trong môi trường nhiệt độ âm sâu (dưới -140°C) bằng nitơ lỏng, nhằm duy trì khả năng sống và chất lượng lâu dài.

	<i>BỘ Y TẾ</i>	<i>Trang 4 trên 9</i>
	<i>BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG</i>	<i>QTQL.A46.3.1</i>
	<i>Quy trình xuất khối tế bào gốc lưu trữ</i>	<i>02/06/2025</i>

– Quá trình xuất khối tế bào gốc để sử dụng là quy trình lấy mẫu tế bào gốc từ hệ thống bảo quản ở nhiệt độ âm sâu (dưới -140°C) để phục vụ mục đích sử dụng theo yêu cầu. Mẫu được lấy ra đảm bảo đúng quy trình, đúng định danh, và duy trì điều kiện nhiệt độ nghiêm ngặt để tránh mất nhiệt đột ngột, ảnh hưởng đến khả năng sống của tế bào.

– Quá trình xuất khối tế bào gốc để hủy là quy trình lấy mẫu tế bào gốc từ hệ thống bảo quản để tiến hành tiêu hủy theo các tiêu chuẩn an toàn sinh học và quy định pháp luật. Mẫu được đưa ra khỏi môi trường nitơ lỏng và xử lý theo phương pháp tiêu hủy phù hợp.

5.2. Viết tắt

- TBG: Tế bào gốc
- MDR: Máu dây rốn
- MSC: Tế bào gốc trung mô
- HSC: Tế bào gốc tạo máu
- PBSC: Tế bào gốc từ máu ngoại vi
- KTV: Kỹ thuật viên
- NV: Nhân viên
- QLCL: Quản lý chất lượng
- QLKT: Quản lý kỹ thuật
- QLHS: Quản lý hồ sơ.

6. CÁC BƯỚC THỰC HIỆN CỦA QUY TRÌNH

6.1. Đối với trường hợp xuất sử dụng

Bước	Mô tả	Trách nhiệm
Bước 1: Tiếp nhận yêu cầu xuất mẫu	Tiếp nhận và kiểm tra tính hợp lệ của yêu cầu xuất mẫu, sử dụng <i>Bảng kiểm hồ sơ tiếp nhận yêu cầu xuất mẫu</i>. Hồ sơ bao gồm: đơn đề nghị, hợp đồng lưu mẫu (nếu có), giấy tờ tùy thân của người yêu cầu xuất mẫu hợp pháp, xác nhận bác sĩ điều trị (nếu có).	NV được phân công

	BỘ Y TẾ	Trang 5 trên 9
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTQLA46.3.1
	Quy trình xuất khối tế bào gốc lưu trữ	02/06/2025

Bước 2: Kiểm tra hồ sơ lưu tế bào gốc	Đối chiếu và xác minh đầy đủ các tài liệu liên quan, bao gồm: - Hợp đồng lưu trữ (bắt buộc đối với mẫu MDR); - Đơn xin lưu trữ; - Phiếu xử lý mẫu; - Kết quả các xét nghiệm bắt buộc gồm công thức máu, nhóm máu, cấy máu, HIV, HbsAg, HCV, đếm số lượng tế bào gốc CD34+ trước và sau lưu; - Kết quả xét nghiệm khác (nếu có). Thời gian xử lý hồ sơ không quá 03 ngày làm việc.	Trưởng nhóm TBG (trừ MDR), NV QLHS (mẫu MDR)
Bước 3: Xác minh vị trí và số lượng mẫu lưu	Kiểm tra trên sơ đồ kho điện tử (bắt buộc) và tình trạng lưu mẫu thực tế (nếu cần), bao gồm mẫu chính và cryotube phụ. Áp dụng nguyên tắc “4 mắt” khi truy xuất vị trí mẫu.	Thủ kho
Bước 4: Chuẩn bị hồ sơ trình duyệt	Chuẩn hoá hồ sơ theo danh mục mẫu và sao lưu (scan) đầy đủ, bao gồm: - Đơn đề nghị xuất khối TBG để sử dụng; - Hợp đồng lưu trữ (bắt buộc với mẫu MDR); - Với trường hợp xuất mẫu ngoại viện, sao lưu đầy đủ các tài liệu liên quan, gồm phiếu xử lý, xét nghiệm đánh giá mẫu như công thức máu, HbsAg, HCV, HIV, giang mai, CMV, nhóm máu, cấy máu,... và gửi bản sao cho trưởng nhóm TBG.	NV được phân công, NV QLHS
Bước 5: Phê duyệt	Ban Giám đốc Bệnh viện và lãnh đạo Trung tâm xem xét và thực hiện phê duyệt nội bộ đơn đề nghị xuất khối TBG.	Ban giám đốc Bệnh viện và lãnh đạo phụ trách Trung tâm

	BỘ Y TẾ	Trang 6 trên 9
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTOLA.446.3.1
	Quy trình xuất khối tế bào gốc lưu trữ	02/06/2025

Bước 6: Đánh giá chất lượng mẫu (nếu có yêu cầu)	Thực hiện xuất mẫu cryotube để đánh giá số lượng và tỉ lệ sống của tế bào gốc (nếu có yêu cầu từ bác sĩ lâm sàng).	Thủ kho và NV được phân công
Bước 7: Chuẩn bị hồ sơ xuất kho	Lập: - Phiếu xuất kho - Phiếu thông tin mẫu - Biên bản bàn giao mẫu (02 bản) - Tài liệu khác (nếu cần)	Trưởng nhóm TBG, thủ kho
Bước 8: Xác nhận từ lãnh đạo	Lãnh đạo Trung tâm ký xác nhận trên phiếu xuất kho và các tài liệu liên quan trước khi tiến hành bàn giao mẫu.	Lãnh đạo phụ trách Trung tâm
Bước 9: Xuất mẫu khỏi vị trí lưu	Thủ kho thực hiện xuất mẫu cho nhân viên được phân công, ký xác nhận trên biên bản bàn giao mẫu và phiếu xuất kho.	Thủ kho, NV được phân công
Bước 10: Bàn giao mẫu cho đơn vị sử dụng	NV được phân công bàn giao mẫu cho bên tiếp nhận mẫu; hai bên ký biên bản bàn giao và phiếu xuất kho. Mỗi bên giữ 01 bản.	NV được phân công
Bước 11: Lưu hồ sơ	Lưu song song bản cứng và bản mềm của bộ hồ sơ, bao gồm: - Đơn đề nghị xuất mẫu; - Phiếu xuất kho; - Biên bản bàn giao mẫu.	Thủ kho, NV hồ sơ

6.2. Đối với trường hợp xuất hủy

Bước	Mô tả	Trách nhiệm
Bước 1: Tiếp nhận yêu cầu xuất mẫu từ khách hàng	Tiếp nhận và kiểm tra tính hợp lệ của yêu cầu xuất mẫu, sử dụng <i>Bảng kiểm hồ sơ tiếp nhận yêu cầu xuất mẫu</i> . Hồ sơ bao gồm: Đơn xin hủy mẫu lưu trữ TBG, hợp đồng lưu mẫu (nếu có), giấy tờ tùy thân của người yêu cầu xuất mẫu hợp pháp.	NV được phân công

	BỘ Y TẾ	Trang 7 trên 9
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTQL.A46.3.1
	Quy trình xuất khỏi tế bào gốc lưu trữ	02/06/2025

Bước 2: Lập danh sách mẫu hủy	Danh sách mẫu hủy bao gồm: - Mã mẫu TBG; - Tên mẫu TBG; - Lý do hủy; - Vị trí lưu mẫu theo hồ sơ gốc; - Vị trí mới (nếu có).	NV QLHS
Bước 3: Xác minh vị trí và số lượng mẫu lưu	Kiểm tra trên sơ đồ kho điện tử (bắt buộc) và tình trạng lưu mẫu thực tế (nếu cần), bao gồm mẫu chính và cryotube phụ. Áp dụng nguyên tắc “4 mắt” khi truy xuất vị trí mẫu.	Thủ kho, trưởng nhóm TBG
Bước 4: Chính sửa danh sách (nếu cần)	Nhân viên quản lý hồ sơ thực hiện bổ sung hoặc chỉnh lý danh sách mẫu hủy.	NV QLHS
Bước 5: Phê duyệt	Lãnh đạo Trung tâm ký duyệt danh sách mẫu hủy (02 bản).	Lãnh đạo phụ trách Trung tâm
Bước 6: Lập biên bản hủy mẫu	Lập biên bản hủy mẫu và phiếu xuất kho dựa trên danh sách đã được phê duyệt.	Thủ kho, trưởng nhóm TBG
Bước 7: Thực hiện hủy mẫu	Thủ kho và nhân viên được phân công thực hiện xuất mẫu và hủy mẫu theo quy trình. Ký xác nhận trên biên bản hủy mẫu và phiếu xuất kho.	Thủ kho, NV được phân công

	BỘ Y TẾ	Trang 8 trên 9
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTQL.A46.3.1
	Quy trình xuất khối tế bào gốc lưu trữ	02/06/2025

Bước 8: Lưu hồ sơ	Lưu trữ đầy đủ các tài liệu liên quan, bao gồm: - Đơn xin hủy mẫu, bằng chứng yêu cầu hủy, hoặc minh chứng đã thông báo hủy tới khách hàng; - Giấy tờ tùy thân của khách hàng; - Danh sách hủy mẫu đã được phê duyệt; - Biên bản hủy mẫu; - Phiếu xuất kho. Lưu hồ sơ 01 bản và bản giao cho thủ kho 01 bản.	Thủ kho, NV QLHS
--------------------------	--	---------------------

7. BIỂU MẪU, HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC

STT	Tên biểu mẫu, hướng dẫn công việc	Mã tài liệu
1	Đơn đề nghị xuất khối tế bào gốc để sử dụng	BM1/QTQL.A46.3.1
2	Bảng kiểm hồ sơ tiếp nhận yêu cầu xuất mẫu	BM8/QTQL.A46.3.1
3	Biên bản bàn giao mẫu	BM2/QTQL.A46.3.1
4	Phiếu thông tin khối TBG	BM3/QTQL.A46.3.1
5	Phiếu xuất kho	BM4/QTQL.A46.3.1
6	Đơn xin hủy lưu trữ tế bào gốc	BM5/QTQL.A46.3.1
7	Danh sách hủy mẫu TBG	BM6/QTQL.A46.3.1
8	Biên bản hủy mẫu	BM7/QTQL.A46.3.1

8. HỒ SƠ

T T	Tên hồ sơ	Nơi lưu	Thời gian lưu	Phương pháp lưu	Phương pháp hủy
1	Hồ sơ đăng ký lưu mẫu	Hồ sơ hàng năm: Lưu tại phòng lưu trữ hồ sơ của khoa	20 năm	Bản cứng và bản mềm	Cắt xén với bản cứng Xoá file với bản mềm

	BỘ Y TẾ	Trang 9 trên 9
	BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG	QTQL.A46.3.1
	Quy trình xuất khối tế bào gốc lưu trữ	02/06/2025

2	Hồ sơ huỷ mẫu	Hồ sơ hàng năm: Lưu tại phòng lưu trữ hồ sơ của khoa	05 năm	Bản cứng và bản mềm	Cắt xén với bản cứng Xoá file với bản mềm
---	---------------	--	--------	---------------------	--

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Poliwoda, S., Noor, N., Downs, E., Schaaf, A., Cantwell, A., Ganti, L., Kaye, A. D., Mosel, L. I., Carroll, C. B., Viswanath, O., & Urits, I. (2022). Stem cells: a comprehensive review of origins and emerging clinical roles in medical practice. *Orthopedic Reviews*, 14(3). <https://doi.org/10.52965/001c.3749>
2. Edgar, L., Pu, T., Porter, B., Aziz, J. M., La Pointe, C., Asthana, A., & Orlando, G. (2020). Regenerative medicine, organ bioengineering and transplantation. *British Journal of Surgery*, 107(7), 793–800. <https://doi.org/10.1002/bjs.11686>
3. Zakrzewski, W., Dobrzyński, M., Szymonowicz, M., & Rybak, Z. (2019). Stem cells: past, present, and future. *Stem Cell Research & Therapy*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/s13287-019-1165-5>

