

Nghiên cứu xây dựng ngân hàng tế bào gốc máu dây rốn của người hiến tặng tại ngân hàng tế bào gốc Mekostem

Lê Văn Đông^{*}; Đặng Thị Kim Lan^{**} và CS

TÓM TẮT

Xây dựng ngân hàng tế bào gốc (TBG) máu dây rốn là quy trình quan trọng trong quá trình sử dụng TBG từ máu dây rốn để cấy ghép TBG điều trị nhiều bệnh về cơ quan tạo máu, bệnh lý di truyền bẩm sinh và suy giảm miễn dịch. Nghiên cứu này tiến hành xây dựng cơ sở hạ tầng và các quy trình kỹ thuật, sau đó thu thập và xử lý mẫu máu dây rốn được sản phụ hiến tặng, nhằm tạo ra một ngân hàng TBG máu dây rốn công tại Ngân hàng Tế bào gốc MekoStem theo tiêu chuẩn của Net-Cord và Asia-Cord. Kết quả: đã xây dựng được cơ sở hạ tầng theo tiêu chuẩn GMP; các quy trình vận hành và phần mềm quản lý; thu thập, xử lý thành công và đang lưu giữ tại Ngân hàng Tế bào gốc MekoStem 153 mẫu TBG máu dây rốn với đầy đủ các thông số xét nghiệm, bao gồm cả xét nghiệm HLA, sẵn sàng cho việc tuyển chọn để cấy ghép cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị bằng ghép TBG máu dây rốn.

* Từ khoá: Tế bào gốc; Ngân hàng tế bào gốc; Máu dây rốn.

Establishment of a donated public umbilical cord blood stem cell bank at Mekostem

SUMMARY

Establishment of umbilical cord blood stem cell bank is a essential step in cord blood stem cell transplantation for the treatment of various diseases of the blood forming system, genetic diseases and immunodeficiency diseases. This research was carried out to set up infrastructure and technical protocols then collect and process the donated cord blood samples to form a public cord blood stem cell bank at MekoStem stem cell bank followed the Net-Cord and Asia-Cord standards. GMP standard laboratories and technical procedures have been setted up then 153 cord blood stem cell units have been successfully processed and cryo-stored with full technical parameters, including HLA typing, ready for matching and grafting to patients who need cord blood stem cell transplantation.

* Key words: Stem cell; Stem cell bank; Umbilical cord blood.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Tế bào gốc là tế bào có khả năng biệt hoá thành nhiều loại tế bào khác để thay thế cho các tế bào bị mất đi do già và chết tự nhiên, hay do chấn thương vì nhiều

nguyên nhân khác nhau, vì vậy có thể sử dụng TBG để tạo ra các tế bào mới thay thế cho các tế bào bị tổn thương hoặc mất chức năng, đem lại triển vọng trong điều trị nhiều bệnh nan y. Ghép TBG từ tuỷ xương,

* Học viện Quân y

** Ngân hàng Tế bào gốc Mekostem

Phản biện khoa học: PGS. TS. Hoàng Văn Lương
từ máu ngoại vi hay từ máu dây rốn đã được tiến hành để chữa thành công nhiều

bệnh về cơ quan tạo máu, bệnh chuyển hoá và suy giảm miễn dịch bẩm sinh [1, 2, 6].

Dây rốn và nhau thai nối thai nhi với hệ thống tuần hoàn của người mẹ, có chức năng đảm bảo quá trình trao đổi chất giữa thai nhi và cơ thể mẹ. Nhiều nghiên cứu về TBG cho thấy: dây rốn có các loại TBG, bao gồm TBG tạo máu, TBG biểu mô, TBG trung mô, TBG nội mô chứa trong máu dây rốn, trong lớp gel Wharton (Wharton's jelly) hay trong lớp màng bao dây rốn. Những TBG này có thể dùng ngay để chữa bệnh hay làm nguyên liệu để nghiên cứu biệt hoá tạo ra các chế phẩm tế bào phục vụ cho chữa bệnh hoặc phát triển thuốc [1, 2]. TBG máu dây rốn có thể dùng để điều trị cho chính đứa trẻ có dây rốn đó, anh chị em ruột, người thân trong gia đình hoặc BN là người ngoài có đặc điểm hòa hợp mô phù hợp với mẫu TBG dây rốn được lưu giữ. Từ những lợi ích này, nhiều quốc gia trên thế giới đã lập ngân hàng để thu thập và bảo quản đông lạnh máu dây rốn [6].

Từ những cơ sở lý luận và thực tiễn trên, đề tài này được triển khai nhằm mục tiêu: *Xây dựng cơ sở hạ tầng kỹ thuật và thu thập, xử lý mẫu máu dây rốn được sản phụ hiến tặng để xây dựng Ngân hàng TBG máu dây rốn của người hiến tặng tại Ngân hàng Tế bào gốc MekoStem, Công ty Cổ phần Hoá dược phẩm Mekophar.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu.

264 sản phụ sinh con tại Bệnh viện Từ Dũ, tình nguyện hiến dây rốn của con mình để lưu giữ TBG dây rốn tại Ngân hàng Tế bào gốc Mekostem từ 5 - 2009 đến 12 - 2009 và mẫu máu dây rốn do những sản phụ này sinh ra.

2. Phương pháp nghiên cứu.

* Xây dựng cơ sở hạ tầng kỹ thuật:

Xây dựng cơ sở hạ tầng phòng thí nghiệm theo hướng dẫn của FDA cho phòng thí nghiệm thao tác xử lý TBG để điều trị cho người [10]. Các quy trình vận hành và phần mềm quản lý ngân hàng xây dựng theo hướng dẫn của Hiệp hội Ngân hàng TBG máu dây rốn Quốc tế (NetCord), Hiệp hội Ngân hàng TBG máu dây rốn châu Á (Asia cord) [4, 7].

* Tuyển chọn và sàng lọc sản phụ:

Tuyển chọn và sàng lọc sản phụ theo hướng dẫn truyền máu - huyết học của NetCord, AsiaCord và khuyến cáo từ những nghiên cứu trước của Bệnh viện Truyền máu - Huyết học TP.HCM [1, 4, 7].

- Tiêu chuẩn tuyển chọn: > 18 tuổi, tại thời điểm thụ thai, có tiền sử bản thân và gia đình khỏe mạnh, vợ và chồng không có tiền sử mại dâm hoặc nghiện chích ma túy, diễn biến lần mang thai này bình thường, tình nguyện hiến dây rốn và mẫu máu tĩnh mạch của mình để làm xét nghiệm và mẫu lưu đối chứng để xây dựng Ngân hàng TBG dây rốn.

- Tiêu chuẩn loại trừ: có kết quả xét nghiệm dương tính trong số những xét nghiệm HBsAg, anti-HBcAg, anti-HCV, HIV (kháng nguyên và kháng thể), anti-HTLV1/2, IgM anti-CMV và huyết thanh giang mai. Sản phụ sốt > 38°C trong khi sinh hoặc có tai biến sản khoa.

* Tuyển chọn và sàng lọc trẻ hiến dây rốn:

Ngay tại thời điểm sinh, trẻ sơ sinh hiến máu và mô dây rốn được tuyển chọn và sàng lọc theo hướng dẫn của NetCord và AsiaCord [4, 7]:

- Thai một.
- Tuổi thai > 36 tuần.

- Không có tai biến trong quá trình sinh đẻ.
- Thời gian vỡ ối < 24 giờ.
- Cân nặng của trẻ > 2.600 gam.
- Không có bất thường về huyết sắc tố.

** Thu thập và bảo quản máu dây rốn:*

Thu thập máu dây rốn bằng kỹ thuật thu thập trước xoắn nhau cho những trường hợp sinh thường theo đường tự nhiên và kỹ thuật sau xoắn nhau cho trường hợp phẫu thuật lấy thai. Sau khi thu thập, chuyển ngay mẫu máu dây rốn về phòng thí nghiệm, bảo quản ở nhiệt độ 20 - 22°C và xử lý trong vòng 24 giờ kể từ thời điểm thu thập.

** Xử lý máu dây rốn tách TBG gốc máu dây rốn:*

Tách TBG từ máu dây rốn theo phương pháp tự động bằng hệ thống AXP theo quy trình hướng dẫn của nhà sản xuất. Đưa máu dây rốn vào thiết bị AXP, sau đó ly tâm 2 thì: thì 1 với tốc độ 1.400G trong 20 phút, làm cho tế bào máu dây rốn có xu hướng phân bố theo tỷ trọng thành các lớp: hồng cầu, tế bào có nhân, huyết tương. Thì 2, với tốc độ 80G trong 10 phút. Trong thì này, hệ thống van sẽ đóng mở định hướng tế bào hồng cầu chuyển qua túi đựng khác nhau, trong đó tế bào có nhân (bao gồm các TBG) chuyển qua túi đựng TBG cài đặt ở mức thu hoạch 20 mL. Hiệu suất tách chiết, thu thập tế bào tính theo công thức:

$$\text{Hiệu suất} = \frac{\text{Tổng số tế bào thu được sau xử lý}}{\text{Tổng số tế bào có trước xử lý}} \times 100\%$$

** Đánh giá chất lượng mẫu TBG máu dây rốn:*

- Tính số lượng và tỷ lệ các loại tế bào có nhân, tế bào đơn nhân, hồng cầu dựa vào kết quả phân tích huyết học tự động Coulter A^C-T diff2 và thể tích thực của túi TBG máu dây rốn mà hệ thống thu hoạch.

- Xác định tỷ lệ và số lượng tuyệt đối TBG tạo máu CD34⁺/CD45^{dim} bằng kỹ thuật flowcytometry trên hệ thống Facscalibur với kit định lượng và phần mềm phân tích CellQuest Pro đồng bộ do hãng BD Bioscience (Mỹ) cung cấp.

- Xác định số lượng TBG tạo máu tạo bào lạc bằng thử nghiệm nuôi cấy tạo bào lạc với môi trường Methocellulose (MethoCult GF H4434V) do hãng StemCell Technologies (Canada) cung cấp. Nuôi tế bào ở nhiệt độ 37°C, 5% CO₂, độ ẩm cao và đọc kết quả sau 14 ngày nuôi cấy liên tục.

- Kiểm tra nhiễm vi khuẩn và vi nấm các mẫu máu dây rốn trước và sau xử lý bằng xét nghiệm cấy máu với chai cấy máu nhi khoa và thiết bị đọc kết quả tự động Bactec 9000 (BD Bioscience, Mỹ) theo công nghệ chuyển màu cơ chất phát huỳnh quang. Mẫu được khẳng định âm tính khi lưu giữ liên tục trong hệ thống sau 7 ngày vẫn cho kết quả âm tính.

- Huyết sắc tố của mẫu máu dây rốn và của em bé hiến máu dây rốn khi 1 tuổi được phân tích bằng kỹ thuật HPLC với phần mềm chuyên dụng của hãng Bio-Rad (Mỹ).

- Phân tích HLA của mẫu máu dây rốn phân tích bằng kỹ thuật PCR-SSP với kit và phần mềm phân tích do hãng OneLambda (Mỹ) cung cấp. Kết quả xét nghiệm nhập vào cơ sở dữ liệu của phần mềm tìm kiếm mẫu tế bào có HLA phù hợp với BN cần cấy ghép TBG.



Hình 1: Sơ đồ các bước tuyển chọn, sàng lọc và xử lý máu dây rốn.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

Đề tài đã xây dựng được cơ sở hạ tầng của phòng thí nghiệm đạt tiêu chuẩn GMP với phòng tiếp nhận mẫu, phân tích mẫu, xử lý tách tế bào, bảo quản đông lạnh tế bào, sắp xếp theo hướng đi một chiều, có áp lực dương từ phòng có yêu cầu độ sạch cao hơn sang phòng có yêu cầu thấp hơn. Không khí cung cấp cho các phòng được lọc qua

màng lọc Hepa và điều hoà kiểm soát nhiệt độ, độ ẩm. Xây dựng và chuẩn hoá các quy trình kỹ thuật và phần mềm quản lý dữ liệu, tìm kiếm mẫu TBG trong ngân hàng.

Bảng 1: Đặc điểm cân nặng, tuổi thai và lượng máu máu dây rốn thu được.

(n = 264)	MEAN ± SD	NHỎ NHẤT	LỚN NHẤT
Tuổi thai (tuần)	38,9 ± 0,9	36	41
Cân nặng thai (g)	3281,4 ± 365,9	2600	4600

Lượng máu thu được (g)	72,7 ± 17,2	30,3	119,8
------------------------	-------------	------	-------

Lượng máu dây rốn trung bình thu được trong nghiên cứu này là 72,7 ± 17,2 gam/mẫu dây rốn, qui đổi theo tỷ trọng máu dây rốn ở nhiệt độ phòng là 1,03 được 70,6 ± 16,7 ml. Kết quả này nằm trong khoảng số

liệu thu được của Armitage S, 1999 (79 ± 15 ml) [3]; Trần Văn Bé và CS, 2004 (59,36 ± 18,62 ml) [1]; Huỳnh Nghĩa, 2007 (81,71 ± 18,98 ml) [2].

Bảng 2: Phân bố lượng máu dây rốn thu được theo tuổi thai, cân nặng của trẻ và phương pháp thu thập.

LƯỢNG MÁU DÂY RỐN ĐƯỢC (gam)	TUỔI THAI		CÂN NẶNG TRẺ		PHƯƠNG PHÁP THU THẬP	
	< 37 tuần	≥ 37 tuần	< 3000 gam	≥ 3000 gam	Trước xổ nhau	Sau xổ nhau
Mean ± SD (n)	63,4 ± 23,2 (6)	71,5 ± 21,1 (258)	62,8 ± 19,8 (50)	73,2 ± 21,0 (214)	70,7 ± 20,5 (254)	86,8 ± 30,9 (10)
p	0,354		0,004		0,018	

Có nhiều yếu tố có thể ảnh hưởng đến lượng máu dây rốn thu được như tuổi thai, cân nặng của trẻ, kỹ thuật thu thập sớm hay muộn, kích thước của bánh nhau và dây rốn [1, 2, 8, 9]. Về tuổi thai, nghiên cứu cho thấy không có sự khác biệt về lượng máu dây rốn thu được ở thai trên > 37 tuần và < 37 tuần tuổi, phù hợp với nghiên cứu của Huỳnh Nghĩa (2007) [2]; Về cân nặng của trẻ sơ sinh: trẻ cân nặng ≥ 3.000 gam cho lượng máu dây rốn thu được cao hơn so với cân nặng < 3.000 gam có ý nghĩa thống kê (p < 0,05).

Bảng 3: Tỷ lệ và nguyên nhân phải loại bỏ mẫu máu dây rốn.

TỔNG SỐ MẪU MÁU DÂY RỐN THU THẬP	SỐ MẪU KHÔNG ĐẠT VỀ LƯỢNG MÁU	MẪU ĐẠT TIÊU CHUẨN VỀ LƯỢNG MÁU			
		Số mẫu loại bỏ sau xét nghiệm			Số mẫu đủ tiêu chuẩn để xử lý
		Máu mẹ	Cấy máu	Hb	
264	59 (22,4%)	48 (18,2%)	4 (1,5%)	0 (0%)	153 (57,9%)
264	111 (42,1%)				153 (57,9%)
264	59 (22,4%)	205 (77,6%)			

Tỷ lệ các mẫu máu dây rốn bị loại do không đủ lượng máu tối thiểu để xử lý là 60 gam chiếm đến 22,4% (59/264). Tỷ lệ này tương tự với kết quả thu thập mẫu máu dây rốn trước đây tại Bệnh viện Phụ sản Hùng Vương của Huỳnh Nghĩa (21,8%; 324/1489) [2].

Nhiễm trùng trong quá trình thu thập máu dây rốn là điều không mong muốn nhưng cũng thường xảy ra. Trong nghiên cứu này, tần suất cấy máu dây rốn cho kết quả dương tính là 4/264 trường hợp (1,5%), thấp hơn so với nghiên cứu của Trần Văn Bé

(5,9%) và của Huỳnh Nghĩa (2,6%) [1, 2], cùng thao tác kỹ thuật thuần thục của người thấp có thể do cách thu thập trước lẫn nhau thu thập mẫu.

Qua các bước sàng lọc với chỉ tiêu về lượng máu dây rốn thu được, về xét nghiệm máu sản phụ và cấy máu, chỉ còn 153 mẫu máu dây rốn đạt tiêu chuẩn để xử lý tách và bảo quản tế bào.

Bảng 4: Kết quả xử lý tách TBG máu dây rốn.

n = 153	ĐƠN VỊ MÁU DÂY RỐN TRƯỚC XỬ LÝ (PRE)			ĐƠN VỊ TBG MÁU DÂY RỐN SAU XỬ LÝ (POST)					Hiệu suất thu hoạch tế bào có nhân (%)	Hiệu suất thu hoạch tế bào đơn nhân (%)
	Thể tích (ml)	Tổng số tế bào có nhân ($\times 10^6$)	Tổng số tế bào đơn nhân ($\times 10^6$)	Thể tích (mL)	Tổng số tế bào có nhân ($\times 10^6$)	Tổng số tế bào đơn nhân ($\times 10^6$)	Tổng số TBG tạo máu CD34 ⁺ ($\times 10^6$)*	Tổng số TBG tạo bào lạc ($\times 10^4$)**		
Mean \pm	90,98 \pm	1131,13 \pm	610,56 \pm	22,08 \pm	886,86 \pm	510,51 \pm	2,92 \pm	60,27 \pm	78,84 \pm	83,41 \pm
SD	16,65	445,64	285,90	0,47	367,32	240,45	2,06	37,64	9,35	10,39

(Ghi chú: * Số mẫu thống kê kết quả xét nghiệm số lượng TBG tạo máu CD34⁺ là 132, sau khi đã loại bỏ những mẫu cho kết quả ngoài giá trị Mean + 2SD.

** Số mẫu tiến hành xét nghiệm số lượng TBG tạo bào lạc là 146)

Thể tích trung bình một đơn vị máu dây rốn bao gồm cả chất chống đông trước xử lý ($90,98 \pm 16,65$ mL/đơn vị), sau xử lý ($22,08 \pm 0,47$ ml/đơn vị). Như vậy, thể tích đơn vị TBG máu dây rốn cần lưu trữ đã giảm 4,12 lần so với đơn vị máu thu thập. Điều này đã được nhiều tác giả mô tả vừa có ý nghĩa tiết kiệm hoá chất bảo quản, không gian của thiết bị bảo quản, lượng nitơ lỏng cần duy trì nhiệt độ trong quá trình bảo quản và giảm bớt cả tỷ lệ tế bào bị tổn thương trong quá trình giải đông lạnh sau bảo quản [1, 2, 6].

Tổng số tế bào có nhân trước xử lý là $1131,13 \pm 445,64 \times 10^6$ /đơn vị, sau xử lý ($886,86 \pm 367,32 \times 10^6$ /đơn vị và hiệu suất tách tế bào có nhân đạt $78,84 \pm 9,35\%$. Với liều cho ghép khác gen cùng loài thường dự kiến là 30 triệu tế bào/cân nặng thì các mẫu TBG dây rốn tạo ra trong nghiên cứu này có thể dùng để cấy ghép cho các BN cân nặng khoảng 27 kg. Kết quả này, tương tự như của Trần Văn Bé và CS, 2004 ($86 \pm 4,5 \times 10^7$ tế bào [1]; Huỳnh Nghĩa, (2007) ($84,36 \pm 3,57 \times 10^7$ tế bào [2]; lớn hơn so với của Nakagawa Ryuji và CS (2004) ($64,5 \pm 27,5 \times 10^7$ tế bào [5]; và có phần thấp hơn đôi chút so với kết quả của Solves Pilar và CS (2005) ($104,3 \pm 4,9 \times 10^7$ tế bào [9]. Điều này có thể do yếu tố chủng tộc với đối tượng là người châu Á. Nghiên cứu có kết quả tương tự, còn người phương Tây có thể do kích thước thai nhi và dây rốn của họ lớn, là nguyên nhân khiến lượng máu dây rốn thu được kết hơn và kết quả lượng tế bào thu được cũng lớn hơn.

Hai chỉ tiêu khảo sát chất lượng có tính chất tham khảo đối với mỗi đơn vị TBG máu dây rốn là đếm số lượng TBG tạo máu $CD34^+/CD45^{dim}$ và xét nghiệm số TBG tạo bào lạc (CFU) cũng được thực hiện. Kết quả: số lượng TBG tạo máu $CD34^+$ tiến hành với 148 mẫu TBG máu dây rốn sau xử lý là $4,00 \pm 4,43$ triệu tế bào/đơn vị TBG máu dây rốn. Tuy nhiên, phân tích kỹ hơn kết quả của từng mẫu riêng biệt cho thấy số liệu dao động rất lớn từ 0,2 đến 36,1 triệu tế bào/đơn vị TBG máu dây rốn. Lấy giá trị Mean + SD ($4,00 + 4,43 = 8,43$) làm ngưỡng để loại đi những mẫu có giá trị quá cao, có 16 mẫu có kết quả vượt ngưỡng này. Số liệu trung bình của 132 mẫu sau khi đã loại đi mẫu quá cao là $2,92 \pm 2,06$ triệu tế bào/đơn vị TBG máu dây rốn. Kết quả này cao hơn đôi chút so với số liệu của các tác giả trong và ngoài nước: Solves và CS (2003) ($2,0 \pm 1,3$ triệu) [8]; Nakagawa và CS (2004) $2,28 \pm 1,59$ triệu [5]; Trần Văn Bé và CS (2004): $1,79 \pm 1,4$ triệu [1]; Huỳnh Nghĩa (2007): $2,36 \pm 1,97$ triệu [2].

Tương tự như xét nghiệm số lượng tế bào $CD34^+$, kết quả xét nghiệm số đơn vị tạo bào lạc trong mẫu TBG máu dây rốn cũng dao động rất lớn, từ 2 bào lạc đến 74 bào lạc trên một đĩa nuôi cấy 1 ul chế phẩm TBG máu dây rốn sau xử lý. Tổng số tế bào tạo bào lạc trong mỗi đơn vị TBG máu dây rốn trong nghiên cứu này là $60,27 \pm 37,64 (x 10^4)$ /đơn vị TBG máu dây rốn. Kết quả này thấp hơn so với Solves và CS (2003) ($160,8 \pm 144,8 \times 10^4$) [8] và thấp hơn đôi chút so với Huỳnh Nghĩa (2007) ($74,13 \pm 32,3 \times 10^4$) [2]. Mặc dù vậy, cả xét nghiệm đếm số tế bào $CD34^+$ cũng như nuôi cấy đếm số tế bào tạo bào lạc đều là những xét nghiệm có kết quả dao động rất lớn và cho đến nay vẫn là xét nghiệm tham khảo để tiên lượng thời gian mọc màng ghép, chứ không phải là xét nghiệm sàng lọc để loại bỏ mẫu TBG sau xử lý.

Xử lý tách TBG máu dây rốn bằng hệ thống tách tế bào tự động AXP là hệ thống kín với đầu vào là máu dây rốn và đầu ra là 3 túi sản phẩm riêng rẽ, chỉ trải qua duy nhất một lần ly tâm 2 thì, với tổng thời gian ly tâm 30 phút, làm cho quy trình bán tự động trở nên an toàn hơn và nhanh gấp đôi so với phương pháp thủ công dùng HES (60 phút) [1, 6]. Xử lý bằng

hệ thống kín này còn có thêm ưu điểm giảm nguy cơ nhiễm vi khuẩn, vi nấm trong quá trình xử lý do ít công đoạn thao tác bằng tay, không cho thêm bất kỳ chất ngoại lai nào vào trong quá trình xử lý. Kết quả cấy máu không có mẫu TBG máu dây rốn nào bị nhiễm trùng trong quá trình xử lý. Đạt được như vậy một phần do điều kiện phòng thí nghiệm được thiết kế theo tiêu chí GMP, phân tầng, biệt lập, một chiều với hệ thống lọc vô trùng nguồn khí vào và phân tầng cấp độ sạch của phòng xử lý máu dây rốn, tách TBG.

KẾT LUẬN

Chúng tôi đã lựa chọn áp dụng thành công các tiêu chuẩn của FDA, NetCord và AsiaCord vào xây dựng Ngân hàng TBG máu dây rốn của người hiến tặng. Kết quả: đã xây dựng được cơ sở hạ tầng kỹ thuật theo chuẩn GMP, thu thập, xử lý thành công và lưu giữ tại Ngân hàng TBG MekoStem 153 mẫu TBG máu dây rốn với đầy đủ các thông số xét nghiệm, bao gồm cả xét nghiệm HLA, sẵn sàng cho việc tuyển chọn để cấy ghép cho BN có nhu cầu điều trị bằng ghép TBG máu dây rốn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Trần Văn Bé và CS.* Nghiên cứu hoàn thiện kỹ thuật chiết tách TBG tạo máu từ máu cuống rốn để điều trị bệnh lý về máu. Đề tài cấp cơ sở. Sở KH-CN-MT TP.Hồ Chí Minh. 2004, tr.11-14.
2. *Huỳnh Nghĩa.* Nghiên cứu ứng dụng quy trình xử lý TBG máu cuống rốn. Luận án Tiến sỹ Y học. 2007.
3. *Armitage S, Warwick R, et al.* Cord blood banking in London: the first 1,000 collections. Bone marrow transplant. 1999, Vol 24, pp.139-145.
4. *AsiaCord.* International standards for cord blood collection, processing, testing, banking, selection and release. First edition November, 2001.
5. *Nakagawa R, Watababe T, et al.* Analysis of maternal and neonatal factor that influence the nucleated and CD34+ cell yield for cord blood banking. Transfusion. 2004, Vol 44 (2) pp.262-267.
6. *Navarrete C, Contreras M.* Cord blood banking: a historical perspective. Br J Haematol. 2009, 147 (2), pp.236-245.
7. *NETCORD-FACT.* Guidance document to accompany the NETCORD-FACT international standards for cord blood collection, processing, testing, banking, selection and release. Third Edition, 2008.
8. *Solves P, Perales A, et al.* In utero or ex utero cord blood collection: an unresolved question. Transfusion. 2005, Vol 43 (8), pp.1174-1176.
9. *Solves P, Perales A, et al.* Maternal, neonatal and collection factor influencing the haematopoietic content of cord blood unit. Acta Haematol. Vol 113 (4), pp.241-246.
10. *US FDA.* Guidance for Industry: Minimally manipulated, unrelated allogeneic placental/umbilical cord blood intended for hematopoietic reconstitution for specified indications. 2009.