BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO BỘ Y TẾ

ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

TRƯƠNG THỊ KIM DUNG

NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG BẢO QUẢN HỒNG CẦU BẰNG KỸ THUẬT ĐÔNG LẠNH VỚI GLYCEROL NỒNG ĐỘ CAO

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

TP. Hồ Chí Minh - Năm 2016

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO BỘ Y TẾ

ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

****

TRƯƠNG THỊ KIM DUNG

NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG BẢO QUẢN HỒNG CẦU BẰNG KỸ THUẬT ĐÔNG LẠNH VỚI GLYCEROL NỒNG ĐỘ CAO

Chuyên ngành: Huyết học và truyền máu

Mã số: 62720151

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

Người hướng dẫn khoa học:

1. TS.BS. Phan Bích Liên
2. PGS.TS. Nguyễn Trường Sơn

TP. Hồ Chí Minh - Năm 2016

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi. Các số liệu, kết quả nêu trong luận án là trung thực và chưa được ai công bố trong bất kỳ công trình nào khác.

Tác giả luận án

Trương Thị Kim Dung

MỤC LỤC

Trang

Trang phụ bìa i
Lời cam đoan.....ii
Mục lục..... iii
Danh mục chữ viết tắt iv
Danh mục các bảng vi
Danh mục các biểu đồ viii
Danh mục sơ đồ..... viii
ĐẶT VẤN ĐỀ.....1
Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU 3
1.1. Hồng cầu.....3
1.2. Truyền hồng cầu 15
Chương 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU 37
2.1. Thiết kế nghiên cứu.....37
Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật mới, mô tả hàng loạt ca 37
2.2. Đối tượng nghiên cứu 37
2.3. Phương pháp nghiên cứu 39
2.4. Phương pháp thu thập và xử lý số liệu 49
2.5. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu.....50
2.6. Sơ đồ nghiên cứu.....52
Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU 53
3.1. Hoàn thiện qui trình xử lý HC để đông lạnh 53
3.2. Hoàn thiện kỹ thuật giải đông – rửa loại bỏ glycerol và đặc điểm của HCĐL sau giải đông 67
3.3. Xác lập các tiêu chuẩn chất lượng của túi hồng cầu lưu trữ đông lạnh trong nghiên cứu. 76
3.4. Kết quả sử dụng HCĐL trong cấp cứu và điều trị.....82
máu hiếm khác để đông lạnh.....89
Chương 4: BÀN LUẬN 90
4.1. Thiết lập và hoàn thiện qui trình kỹ thuật xử lý HC để đông lạnh.....90
4.2. Thiết lập qui trình kỹ thuật HCĐL giải đông–rửa loại bỏ glycerol.....105
4.3. Xác lập các tiêu chuẩn chất lượng của túi hồng cầu lưu trữ đông lạnh trong nghiên cứu. 115
4.4. Hiệu quả sử dụng sản phẩm HCĐL trong điều trị.....122
KẾT LUẬN.....128
KIẾN NGHỊ 130
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU CỦA TÁC GIẢ.....ix
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....x
PHỤ LỤC xx

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

AABB	American Association of Blood Bank (Hiệp hội Ngân hàng máu Mỹ)
ACD	Acid-citrate-dextrose
AML	Acute Myeloid leukemia
ALL	Acute lymphocytic leukemia
ATTM	An toàn truyền máu
ARC	American Red Cross (Hội Chữ thập đỏ Mỹ)
AS	Adenin Solution
AS-1	Adsol
AS-2	Nutricel
AS-3	Nutricel
AS-5	Optisol
BCCDL	Bạch cầu cấp dòng lymphô
BCCDL-B	Bạch cầu cấp dòng lymphô B
BCCDL-T	Bạch cầu cấp dòng lymphô T
BCCDT	Bạch cầu cấp dòng tủy
BHYT	Bảo hiểm y tế
BN	Bệnh nhân
BV	Bệnh viện
BV NDGD	Bệnh viện Nhân Dân Gia Định
BVFV	Bệnh viện Pháp Việt
BVTMHH	Bệnh viện Truyền Máu Huyết Học
CLB	Câu lạc bộ
CML (BCMDT)	Chronic Myeloid leukemia (Bạch cầu mạn dòng tủy)
CLL	Chronic Lymphocytic leukemia
CPD	Citrate-phosphate-dextrose
CPDA1	Citrate- phosphate- dextrose Adenine 1
CPM	Chế phẩm máu
CTĐ	Chữ Thập đỏ
ĐCCP	Khoa Điều chế cấp phát máu
DD	Dung dịch
DMSO	Dimethylsulfoxide
Đv	Đơn vị
ELISA	Kỹ thuật miễn dịch gắn men (Enzym Linked Immuno Sorbent Assay)
FDA	Food and Drug Administration (Cơ quan quản lý thực phẩm và dược phẩm Hoa Kỳ)
GVHD	Graft – Verus – Host – Disease
HBV	Vi rút gây viêm gan B (Hepatitis B virus)

HBsAg	Kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B (Hepatitis B surface Antigen)
Hb	Hemoglobine
HC	Hồng cầu
HCĐL	Hồng cầu đông lạnh
HCL	Hồng cầu lắng
Hct	Hematocrit
HCV	Vi rút gây viêm gan C (Hepatitis C virus)
HES	Hydroxyethyl starch
HIV	Vi rút gây suy giảm miễn dịch ở người *(HumanImmunodeficiency Virus)*
HLA	Human Leuphocyte Antigen
HMTN	Hiến máu tình nguyện
HTLV	Human T lymphoid Lekemia virus
HTĐL	Huyết tương đông lạnh
HST	Huyết sắc tố
ISBT	International Society of Blood Transfusion (Hiệp hội Truyền máu quốc tế)
KHC	Khối hồng cầu
KTV	Kỹ thuật viên
KST	Ký sinh trùng
NB	Người bệnh
NAT	Nucleotide Acide Testing
MCH	Lượng huyết sắc tố trung bình hồng cầu
MCV	Thể tích trung bình hồng cầu
QLCL	Quản lý chất lượng
QT	Qui trình
QT-ĐKMH -ST02.	Qui trình- Đăng ký máu hiếm-số thứ tự 02
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome (hội chứng phản ứng viêm của cơ thể)
SAGM	Sodium chloride Adenine Glucose monohydrate Manitol
SLBC	Số lượng bạch cầu
TP.HCM	Thành phố Hồ Chí Minh
TCĐL	Tiểu cầu đông lạnh
TT HMNĐ	Trung tâm hiến máu nhân đạo
TNHM	Khoa Tiếp nhận hiến máu
TRALI	Transfusion Related Acute Lung Injury (tổn thương phổi cấp tính liên quan đến truyền máu)
VĐHM	Vận động hiến máu
WHO	World Health Organization (Tổ chức y tế thế giới)
XHTT	Xuất huyết tiêu hóa
XN	Xét nghiệm

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 1.1. Giá trị huyết sắc tố bình thường 6
Bảng 1.2. Tần suất các nhóm máu HC ở người Việt Nam 10
Bảng 1.3. Tần suất các kháng nguyên có tính sinh miễn dịch cao 11
Bảng 1.4. Một số chất có trong thành phần dung dịch chống đông và bảo quản có các tác dụng khác nhau 23
Bảng 1.5. Các chất bảo quản và thời gian dự trữ HC 24
Bảng 1.6. So sánh hai phương pháp sử dụng chất bảo quản HC bằng glycerol nồng độ khác nhau 32
Bảng 1.7. Thuận lợi và hạn chế của hồng cầu đông lạnh.....33
Bảng 1.8. Chỉ định truyền HCĐL 36
Bảng 2.1. Lượng dung dịch glycerol vào túi máu với sự tính toán như sau 42
Bảng 3.1. Số lần người hiến máu RhD âm hiến máu để đông lạnh 54
Bảng 3.2. Kiểu hình nhóm máu lấy để đông lạnh.....55
Bảng 3.3. Số lượng túi máu theo thể tích và nhóm máu.....56
Bảng 3. 4. Thể tích và Hct túi HCL 57
Bảng 3. 5. Tổng lượng Hb trong túi HCL.....57
Bảng 3. 6. SLBC túi HCL trước đông lạnh.....58
Bảng 3. 7. Nồng độ K+, pH, Hct, cấy máu túi HCL.....58
Bảng 3. 8. So sánh tham số Hb, Hct và SLBC với tiêu chuẩn của BV TMHH.....59
Bảng 3. 9. Thời gian HCL chờ glycerol hóa.....60
Bảng 3. 10. Thể tích và mức Hct túi HCL glycerol hóa được làm giảm thể tích 61
Bảng 3. 11. Tham số Hb túi HCL Glycerol hóa được làm giảm thể tích 61
Bảng 3. 12. So sánh lượng Hb trong túi HCL trước và sau glycerol hóa 62
Bảng 3. 13. SLBC túi HCL glycerol được làm giảm thể tích trước đông lạnh 62
Bảng 3. 14. So sánh SLBC trước và sau glycerol hóa 63
Bảng 3. 15. Nồng độ K+, pH, Hct túi HCl đã glycerol hóa trước đông lạnh 63
Bảng 3. 16. So sánh nồng độ K+, pH, Hct của túi HCl trước và sau glycerol hóa..64
Bảng 3. 17. Tương quan giữa Hct và trọng lượng 65
Bảng 3. 18. Thời gian HCL đông lạnh đến giải đông.....67
Bảng 3. 19. Kết quả theo tham số thể tích và Hct của túi HCLĐL sau rửa.....68
Bảng 3. 20. Kết quả theo tham số Hb của túi HCLĐL sau rửa.....68

Bảng 3. 21. So sánh Hb của túi HCĐL sau glycerol và sau đông lạnh giải đông –rửa 69
Bảng 3. 22. SLBC túi HCLĐL.....69
Bảng 3. 23. So sánh SLBC của túi HCL sau glycerol và sau đông lạnh giải đông – rửa.....70
Bảng 3. 24. Nồng độ K+, Hct, pH, glycerol của Túi HCL đông lạnh sau rửa.....70
Bảng 3. 25. So sánh các Đặc điểm Nồng độ K+, pH, Hct của túi HCĐL sau glycerol và sau đông lạnh giải đông –rửa 71
Bảng 3. 26. Nồng độ Hb của túi HCĐL, Hct, thể tích túi HCĐL theo thể tích máu lấy ban đầu 71
Bảng 3. 27. Lượng Hb hao hụt sau giải đông và loại bỏ glycerol toàn bộ trong quá trình xử lý 73
Bảng 3. 28. Lượng Hb hao hụt trong quá trình xử lý.....74
Bảng 3. 29. So sánh số lượng bạch cầu toàn bộ trong quá trình xử lý.....75
Bảng 3. 30. So sánh kết quả chỉ số Hct, K^+, và pH của HCĐL 76
Bảng 3. 31. Chỉ số KHC đông lạnh cấp phát 76
Bảng 3. 32. Ảnh hưởng lượng Hb của thời gian HCL chờ được glycerol hóa 77
Bảng 3. 33. Ảnh hưởng Hct của HCL đến lượng Hb hao hụt HCL sau glycerol hóa 78
Bảng 3. 34. Ảnh hưởng thời gian đông lạnh đến lượng Hb hao hụt của HCĐL 79
Bảng 3. 35. Ảnh hưởng chỉ số Hct của túi máu được glycerol hóa đến lượng Hb hao hụt trước và sau đông lạnh loại túi máu 350 ml.....80
Bảng 3. 36. Ảnh hưởng chỉ số Hct của HCL được glycerol hóa đến lượng Hb hao hụt trước và sau đông lạnh loại túi máu 450 ml.....80
Bảng 3. 37. Các bệnh viện sử dụng Hồng cầu đông lạnh 82
Bảng 3. 38. Nhóm bệnh sử dụng Hồng cầu đông lạnh 83
Bảng 3. 39. Độ tuổi của bệnh nhân sử dụng HCLĐL.....84
Bảng 3. 40. Hb bệnh nhân sau truyền 24 giờ. 84
Bảng 3. 41. Hb bệnh nhân sau truyền 48 giờ. 85
Bảng 3. 42. Hb bệnh nhân sau truyền 72giờ. 85
Bảng 3. 43. Tổng hợp hiệu quả truyền HCL sau thời gian truyền 86
Bảng 3. 44. Tác dụng phụ trong và sau truyền HCĐL.....87
Bảng 4. 1. Chất lượng sản phẩm HCĐL đạt tiêu chuân cấp phát 121

DANH MỤC CÁC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 1.1. Biểu diễn độ bão hòa oxy của HST 4
Biểu đồ 3.1. Phân bố theo nguồn tiếp nhận máu để đông lạnh....53
Biểu đồ 3.2. Phân bố theo giới ở người hiến máu RhD âm 54
Biểu đồ 3. 3. Tương quan thể tích glycerol cho vào theo cân nặng túi máu....66
Biểu đồ 3. 4. Nồng độ Hb còn lại sau giải đông rửa loại bỏ glycerol....75
Biểu đồ 3. 5. Hiệu quả truyền HCĐL sau 24 giờ 48 giờ và 72 giờ....86

DANH MỤC SƠ ĐỒ

Sơ đồ 2.1. Quy trình đông lạnh hồng cầu với dung dịch Glycerol 40%....51
Sơ đồ 2.2. Sơ đồ nghiên cứu theo mục tiêu 52
Sơ đồ 3.1. Cung cấp máu Rh D âm của BV.TMHH. 88
Sơ đồ 4.1. Quy trình chuẩn bị HCL trước khi Glycerol hóa hồng cầu 96
Sơ đồ 4.2. Quy trình Glycerol hóa và đông lạnh hồng cầu....104
Sơ đồ 4.3. Quy trình giải đông và rửa loại bỏ glycerol....108

DANH MỤC HÌNH

Hình 1. 1. Cấu trúc màng hồng cầu....8
Hình 1. 2. Lớp màng HC chứa các nhóm máu....9
Hình 1. 3. Bộ lọc bạch cầu tại cơ sở điều trị người bệnh....17
Hình 1. 4. Lọc bạch cầu tại ngân hàng máu....18
Hình 1. 5. Sự tạo thành tinh thể đá trong tế bào khi đông lạnh 27
Hình 1. 6. Thay đổi của hồng cầu với tốc độ đông lạnh 30
Hình 2.1. Máy ACP215 30
Hình 2.2. Sơ đồ lắp ráp bộ Kit vào máy ACP215....45
Hình 2.3. Bồn giải đông 44
Hình 2.4.Tủ trữ đông hồng cầu 45
Hình 2.5. Quy trình glycerol hóa 44
Hình 2.6. Quy trình loại bỏ glycerol 46
Hình 2.7. Nhiệt kế hồng ngoại 44
Hình 2. 8. Túi rỗng 1000 mL 46
Hình 2.9. Máy nối dây vô trùng 45
Hình 2.10. Máy ép huyết tương tự động 46
Hình 3.1. Trước đông lạnh 72
Hình 3.2. Sau đông lạnh....72
Hình 3.3. Sau rửa....72
Hình 3.4. Túi hồng cầu đông lạnh....81
Hình 3.5. Tủ lạnh -80^{O}C lưu trữ hồng cầu đông lạnh 81
Hình 3.6. Nhãn sản phẩm 81
Hình 3. 7. Tổ chức giao lưu và tuyển mộ người hiến máu RhD âm hiến máu định kỳ để đông lạnh 89

ĐẶT VẤN ĐỀ

Hồng cầu là tế bào máu với chức năng chính là chuyên chở oxy và CO_2, giúp trao đổi giữa phế nang và tế bào[6]. Những nghiên cứu nhằm tìm ra các chất có thể thay thế được chức năng của hồng cầu cho đến nay vẫn chưa được áp dụng trên lâm sàng[50], nên hồng cầu nói riêng và máu toàn phần nói chung đều được lấy từ người hiến máu.

Trên hồng cầu của mỗi người có kháng nguyên nhóm máu đa dạng nên việc nhận máu ngẫu nhiên từ những người hiến máu khác nhau có thể dẫn đến các tai biến cấp tính hoặc tai biến muộn do bất đồng nhóm máu, do xung đột miễn dịch giữa máu người cho và người nhận[18],[31],[48]. Nguy cơ lây nhiễm vẫn chưa thể giải quyết hoàn toàn khi truyền máu do các xét nghiệm sàng lọc hiện tại chưa loại bỏ được triệt để các tác nhân gây bệnh ở giai đoạn cửa sổ và cả những tác nhân gây bệnh chưa được phát hiện[54],[88]. Ngoài ra, trong một số trường hợp bệnh nhân có nhóm máu hiếm thì có thể không có máu để cung cấp ngay khi cần sử dụng.

Trong giai đoạn hiện nay, đất nước hòa nhập quốc tế nên việc giao thương và du lịch đang là những ngành mũi nhọn thu hút nhiều khách quốc tế tới Việt Nam. Kháng nguyên nhóm máu khác nhau nhiều giữa các dân tộc trên thế giới nên việc tìm túi máu phù hợp cho người nước ngoài đôi khi gặp rất nhiều khó khăn. Điều này đặt ra những thách thức lớn cho ngân hàng máu là phải có kế hoạch dự trữ một lượng máu hiếm để có thể sử dụng cho người nước ngoài khi cần hoặc dự phòng khi có thảm họa xảy ra [74],[122]. Vì vậy, việc bảo quản máu lâu dài trong nhiều năm sau khi lấy ra khỏi cơ thể người hiến và đảm bảo chức năng sống còn của hồng cầu khi truyền vẫn còn là thách thức cho các nhà khoa học. Hiện nay, có nhiều phương pháp bảo quản hồng cầu ở nhiệt độ 4^oC trong 35 đến 42 ngày hoặc đông lạnh để lưu trữ hồng cầu trong nhiều năm được áp dụng tùy vào phương tiện và mục đích của các ngân hàng máu trên thế giới.

Thông thường, khi máu lấy ra khỏi cơ thể người hiến máu sẽ được lưu trữ trong dung dịch CPDA1, ở nhiệt độ 4^oC với thời gian tối đa là 35 ngày. Nếu thêm dung dịch SAGM trong quá trình điều chế hồng cầu lắng thì hồng cầu có thể bảo

quản được 42 ngày [20],[32]. Các chất bảo quản hồng cầu có tác dụng duy trì toàn bộ quá trình chuyển hóa và chức năng của hồng cầu khi nó được giữ ở ngoài cơ thể trong thời gian dài, đảm bảo 75% hồng cầu sống còn 24 giờ sau truyền[50].

Hồng cầu đông lạnh sẽ lưu trữ được trong thời gian dài có thể lên đến 10 năm, cần thiết cho các trường hợp nhóm máu hiếm như nhóm máu RhD âm, máu phenotype R2R2, $Fy^{(a-b+)}$, lưu trữ máu tự thân hoặc sử dụng trong quân đội [69], [73]. Các nghiên cứu trên thế giới cho thấy sử dụng dung dịch glycerol, ở nhiệt độ -80^0C thì hồng cầu được lưu trữ trong thời gian 10 năm hoặc lâu hơn mà không ảnh hưởng đến chức năng vận chuyển oxy và CO_2 [67],[76],[117]. Ngân hàng máu sử dụng kỹ thuật đông lạnh hồng cầu sẽ có thể lưu trữ được một lượng máu lớn, đặc biệt đối với các nhóm máu hiếm nhằm cung cấp kịp thời và hiệu quả khi có nhu cầu và đây là giải pháp rất hữu hiệu, đáp ứng được công tác đảm bảo an toàn truyền máu và đáp ứng được các yêu cầu của ngân hàng máu hiện đại.

Tại Việt Nam chưa có ngân hàng máu nào trên cả nước tiến hành lưu trữ hồng cầu đông lạnh để phục vụ cho những yêu cầu cấp thiết nêu trên nên chúng tôi thực hiện đề tài "Nghiên cứu ứng dụng bảo quản hồng cầu bằng kỹ thuật đông lạnh với glycerol nồng độ cao" với các mục tiêu sau:

1. Thiết lập qui trình kỹ thuật xử lý HC để đông lạnh
2. Thiết lập qui trình kỹ thuật giải đông, rửa HCĐL loại bỏ glycerol
3. Xác lập các tiêu chuẩn chất lượng của túi hồng cầu lưu trữ đông lạnh sử dụng tại BV.TMHH
4. Đánh giá hiệu quả sử dụng sản phẩm HCĐL trong điều trị và xây dựng qui trình cung cấp HCĐL nhóm máu RhD âm tại BVTMHH.

Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Hồng cầu

1.1.1. Chức năng của hồng cầu

1.1.1.1. Chức năng về hô hấp

Là chức năng chính của hồng cầu, vận chuyển oxy từ phổi đến tế bào và ngược lại lấy một phần khí cacbonic từ tế bào đến phổi[9].

Chức năng này được thực hiện nhờ huyết sắc tố hemoglobin (Hb) chứa trong hồng cầu.

1.1.1.2. Đời sống của Hồng cầu

Đời sống của hồng cầu 120 ngày kể từ khi trưởng thành, chúng tiêu hủy ở lách và các tổ chức liên võng khác.

Số lượng:

Nam: 4.200.000 ± 210.000/ mm^3 máu

Nữ: 3.800.000 ± 160.000/mm^3 máu

Hematocrit:

Nam: 0,38 l/l – 0,47 l/l

Nữ: 0,35 l/l – 0,43 l/l

Nồng độ Huyết sắc tố (Hemoglobin Hb) [21].

Nam: 130g/l-160g/l (Nam 14,6 ± 0,6g/100ml máu)

Nữ: 120g/l-150g/l (Nữ 13,2 ± 0,5g/100ml máu)

Các tế bào HC ở trong máu tuần hoàn không có nhân, nhưng có chứa những chất men cần thiết cho sự dị hoá glucose. Hệ thống chuyển hoá này càng già càng trở nên ít hoạt động hơn. Màng hồng cầu khi già trở nên cứng dòn, dễ bể và bị đào thải khỏi hệ tuần hoàn.

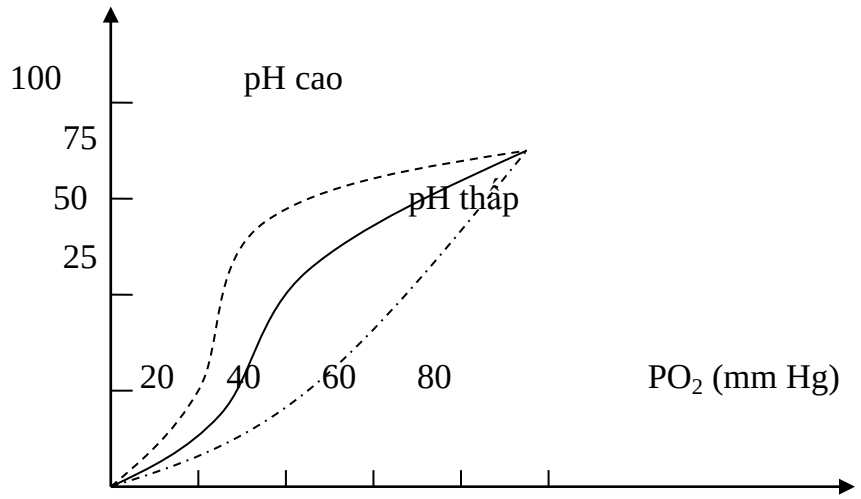
1.1.1.3. Huyết sắc tố (HST) còn gọi là Hemoglobin (Hb)

Huyết sắc tố (HST) là một protein phức hợp có chứa Fe^{++}, làm nhiệm vụ vận chuyển O_2 từ phổi đến tổ chức và vận chuyển CO_2 từ tổ chức về phổi, ngoài ra HST

còn có vai trò làm đệm để trung hòa các H+ do tổ chức giải phóng ra. Hb ở trong hồng cầu và chiếm 33% trọng lượng hồng cầu.

Qua nghiên cứu, người ta thấy ái tính với oxy của huyết sắc tố diễn tiến theo đồ thị hình xích ma, điều đó giúp HST được oxy hóa hoàn toàn ở mao mạch phổi, nơi đó phân áp riêng phần oxy cao (100mm Hg) và giúp HST giải phóng phần lớn oxy ở tổ chức (phân áp oxy = 40mm Hg)

Ngoài ra người ta còn thấy độ bão hòa oxy của HST phụ thuộc vào pH của môi trường (hiệu ứng Bohr). Khi pH thấp, đường bão hòa oxy chuyển phải, giúp giải phóng oxy. Khi pH cao, đường thể hiện bão hòa oxy chuyển trái. Như vậy ở tổ chức chuyển hóa nhiều, pH thấp làm cho HST dễ giải phóng oxy.



Biểu đồ 1.1. Biểu diễn độ bão hòa oxy của HST [6]

1.1.1.4. Chức năng hô hấp của Hemoglobin

Hb vận chuyển oxy từ phổi đến các mô, Hb gắn với O_2 tạo thành oxyhemoglobin (HbO_2). Oxy được gắn với Fe^{++} trong thành phần Hem.

Một phân tử Hb có thể gắn với bốn phân tử O_2. Sự tạo thành và phân ly oxyhemoglobin xảy ra rất nhanh ở hồng cầu tùy thuộc vào phân áp oxy. Khi hồng cầu đến phổi, O_2 từ phổi sẽ di chuyển và kết hợp với Hb. Khi đến mô nơi có nồng độ oxy thấp hơn ở máu, oxy sẽ rời khỏi Hb vào huyết tương, rồi vào mô. Trong kết hợp này, O_2 vẫn ở dạng phân tử, mô dễ hấp thu.

Các yếu tố làm ảnh hưởng lên ái lực của Hb và O_2

- Nhiệt độ tăng, làm Hb giảm ái lực với O_2, Hb giao cho mô dễ dàng hơn.
- Độ pH giảm làm Hb giảm ái lực với O_2 (ví dụ như CO_2 trong mô tăng).
- Chất 2,3 –DPG (2,3-diphosphoglycerat) có nhiều trong hồng cầu làm tăng sự nhả O_2 từ HbO_2

Trong điều kiện sinh lý bình thường, hơn 98% oxy được phóng thích (DO_2) trong cơ thể hoặc đến các mô đặc biệt khác theo vận chuyển của cung lượng tim (CO) và tốc độ máu động mạch (CAO_2)[57].

Để đảm bảo cung cấp oxy một cách hằng định cho tổ chức, có 4 bước cơ bản.

- Oxy vận chuyển từ phổi vào máu.
- Oxy được lưu trữ trong phân tử huyết sắc tố của hồng cầu.
- Oxy được vận chuyển đến các tổ chức thông qua tuần hoàn.
- Oxy được nhả từ máu vào tổ chức để sử dụng

Khả năng cung cấp oxy cho tổ chức phụ thuộc vào: Nồng độ huyết sắc tố, mức độ bão hòa oxy của huyết sắc tố, cung lượng tim

Khoảng giá trị huyết sắc tố bình thường ở người khỏe mạnh có chỉ số về sức khỏe tốt

Tiêu chuẩn có thể thay đổi trên thế giới phụ thuộc vào tuổi, giới, tình trạng thai sản và độ cao so với mực nước biển của nơi cư trú.

Bảng 1.1. Giá trị huyết sắc tố bình thường[57]

Tuổi/giới	Khoảng giá trị huyết sắc tố bình thường (g/dl)	Thiếu máu nếu Hb dưới: (g/dl)
Sơ sinh (đủ tháng)	13,5-18,5	13,5 (Hct 34,5)
Trẻ em 2-6 tháng	9,5-13,5	9,5 (Hct 28,5)
Trẻ em 6 tháng-6 tuổi	11,0-14,0	11,0 (Hct 33,0)
Trẻ em 6-12 tuổi	11,5-15,5	11,5 (Hct 34,5)
Nam giới trưởng thành	13,0-17,0	13,0 (Hct 39,0)
Nữ giới trưởng thành không có thai	12,0-15,0	12,0 (Hct 36,0)
Nữ giới trưởng thành có thai		
3 tháng đầu của thai kỳ: 0-12 tuần	11,0-14,0	11,0 (Hct 33,0)
3 tháng giữa của thai kỳ: 13-18 tuần	10,5-14,0	10,5 (Hct 31,5)
3 tháng cuối của thai kỳ: 29 tuần- khi sinh	11,0-14,0	11,0 (Hct 33,0)

Giá trị hemoglobin dưới mức nêu trên cho phép xác định tình trạng thiếu máu. Các giá trị này thường được coi là giá trị ngưỡng để xét nghiệm và điều trị nhưng không nhất thiết phải truyền máu. Tốc độ tiến triển của thiếu máu xác định mức độ của biểu hiện lâm sàng. Thiếu máu trung bình có thể không có biểu hiện lâm sàng, nhất là các trường hợp bệnh lý mãn tính. Tuy nhiên, nó cũng làm giảm khả năng tự điều chỉnh của bệnh nhân khi họ có thêm một bệnh cấp tính, như chảy máu, nhiễm trùng hoặc sản khoa. Thiếu máu nặng dù cấp hay mãn tính, đều gây giảm khả năng cung cấp oxy đến mức độ nguy hiểm. Trong trường hợp này, việc điều trị cấp cứu là cần thiết và cần xem xét khả năng truyền máu.

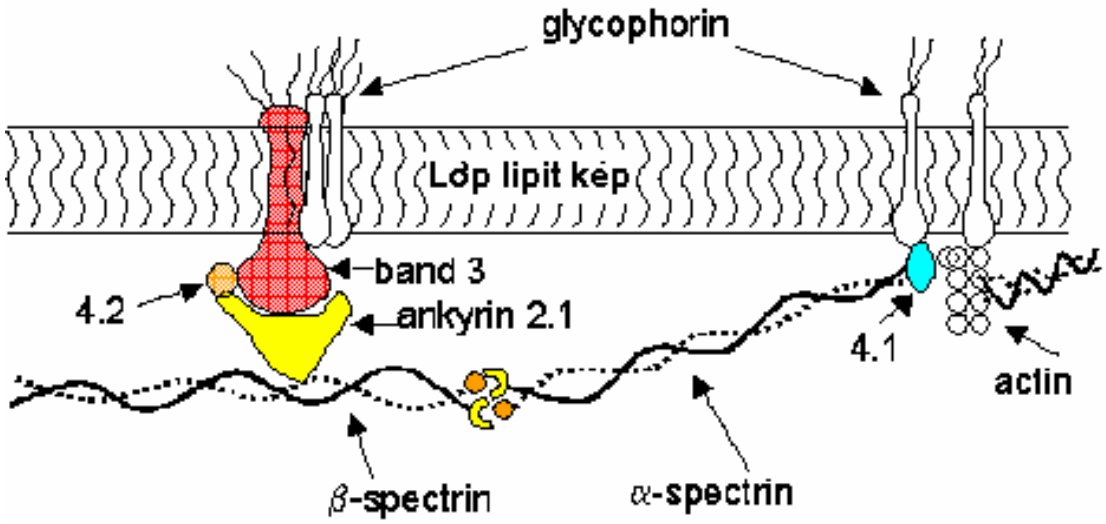
1.1.2. Màng hồng cầu

Nồng độ Hemoglobin (Hb) trong hồng cầu: Mỗi hồng cầu có khoảng 34,6 đến 35 microgam hemoglobin. Hemoglobin được màng hồng cầu bảo vệ, trong những trường hợp bệnh lý, sức bền màng hồng cầu giảm, hồng cầu bị bể trong lòng mạch máu, hemoglobin giải phóng vào huyết tương, không còn bảo đảm được chức năng vận chuyển khí[6].

Cấu tạo cơ bản của màng hồng cầu được cấu tạo bởi 3 thành phần cơ bản. Lớp lipid màng: Thành phần chủ yếu của lớp này là phospholipit, được xếp thành 2 lớp tạo thành màng lưới bảo vệ tính mềm dẻo của màng. Lớp protein màng: Protein xuyên màng: protein band 3 đóng vai trò vận chuyển các anion: K^+, Na^+, đường, tham gia vào chuyển hoá glucose và glycophorin có vai trò trong hoạt động của nhóm máu, nhận diện, truyền tin. Lớp Protein: ngoài là fibronectin, bên trong là 4 protein quan trọng: actin, spectrin, ankyrin và band 3, các protein này lát bên trong màng hồng cầu. Nhờ vậy hồng cầu có hình đĩa và uốn mình khi di chuyển xuyên qua hệ thống vi mạch. Lớp carbohydrate: Liên kết với lipid tạo thành glycolipid và với protein tạo thành glycoprotein phủ trên mặt ngoài hồng cầu, có vai trò quyết định các nhóm máu.

Nhờ có cấu trúc nói trên, màng HC có đặc điểm sau:

Màng hồng cầu không cho phép các protein (dạng keo) và các chất hoà tan trong nước đi qua, nhưng cho các chất khí hoà tan trong mỡ như O_2, CO_2 chuyển qua dễ dàng. Màng hồng cầu duy trì chênh lệch áp lực thẩm thấu của các muối khoáng giữa bên trong và bên ngoài tế bào, giữ ổn định sự chênh lệch này nhờ hoạt động của bơm natri. Màng hồng cầu có tính mềm dẻo do đó có thể vẫn chuyển oxy tới tận tổ chức. Hồng cầu cần năng lượng cho hoạt động của HST và bơm natri do đó chuyển hóa glucose trong HC rất quan trọng. Hoạt động của HC có thể tạo ra các gốc tự do làm tổn thương chức năng của HC.



Hình 1. 1. Cấu trúc màng hồng cầu

"Nguồn: *Sinh lý học*, Nhà xuất bản Y học, 1999" [9]

1.1.3. Vai trò của hồng cầu trong hệ thống miễn dịch

Hồng cầu của những người khác nhau có những đặc tính kháng nguyên rất đa dạng, kháng thể tự nhiên hoặc miễn dịch xuất hiện trong huyết tương của người này có thể phản ứng với kháng nguyên trên bề mặt hồng cầu của người khác dẫn đến những tai biến trầm trọng có thể tử vong. Vì vậy máu người này có thể không phù hợp với máu người khác. Tuy nhiên, người ta có thể xác định trước kháng nguyên và kháng thể tương ứng trong máu người cho và người nhận, để tránh tai biến trong truyền máu[29].

1.1.3.1. Khái niệm nhóm máu hệ hồng cầu và miễn dịch chống hồng cầu trong truyền máu

Kháng nguyên nhóm máu

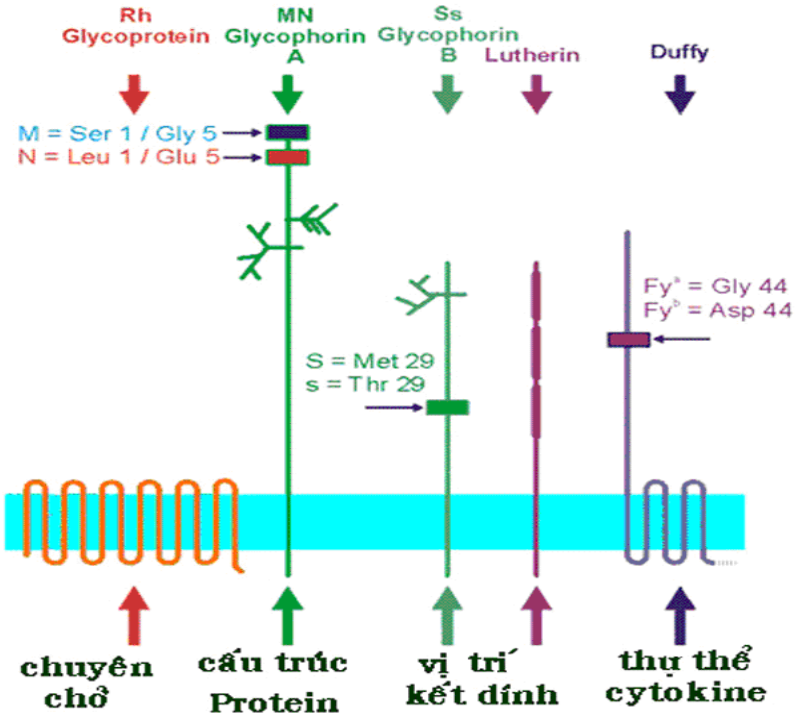
Nhóm máu là sự phân loại máu dựa trên sự có mặt hay vắng mặt của các kháng nguyên mang đặc tính di truyền trên bề mặt hồng cầu. Các kháng nguyên này có thể là protein, carbohydrate, glycoprotein hay glycolipid. Kháng nguyên nhóm máu không chỉ có trên bề mặt hồng cầu mà còn có cả trên bề mặt tiểu cầu, bạch cầu và một số loại tế bào của các mô khác[86].

Kháng nguyên nhóm máu nằm ở bất cứ vị trí nào trên màng HC, cấu trúc hóa học và là tính chất của di truyền. Những gen di truyền sẽ cho ra cấu trúc hệ thống nhóm máu khác nhau, vd: ABO, Rh,... Hiện diện của những gen thay thế ở những

locus dẫn đến những sản phẩm kháng nguyên khác nhau. Những allen khác nhau ở những locus gen đặc trưng xuất hiện những sự biến đổi gen, xảy ra một cách tự nhiên. Cơ chế này sẽ sản sinh ra những cấu trúc kháng nguyên hồng cầu đa dạng.

Gen nhóm máu thông qua RNA thông tin, tập hợp trực tiếp các protein hoặc các enzym màng hồng cầu, để cho ra những sản phẩm là lớp carbohydrate đặc trưng của màng HC, có vai trò quyết định nhóm máu.

Ngày nay người ta đã phát hiện được khoảng trên 250 kháng nguyên khác nhau của hơn 32 hệ thống nhóm máu chính với hơn 50 kháng nguyên cá biệt. Với số lượng kháng nguyên như vậy người ta ước tính bình quân cứ 150.000 người đến 200.000 người mới có thể có hai người có genotype hồng cầu giống nhau[48].



Hình 1. 2. Lớp màng HC chứa các nhóm máu

"Nguồn: Daniels G., Bromilow I., 2010" [48]

Bảng 1.2. Tần suất các nhóm máu HC ở người Việt Nam[**5**]

Hệ thống nhóm máu	**phenotype**	**Tần xuất %**
Rh	R1R1 R1R2 R1r R2R2 R1Rz R2r R2Rz RoRo r,r, rr	58,94 24,16 9,39 2,53 1,88 2,29 0,16 0,72 0,08 0,16
MN	MNs Ns Ms MNSs MNs MSs NSs	37,68 16,85 2,63 66,00 16,18 1,00 1,00
Kidd	Jk(a+b-) Jk (a-b+) Jk (a+ b+)	22,74 34,85 42,41
Duffy	Fy (a+b-) Fy (a+b+) Fy a- b+	86,36 12,99 0,65

Các kháng thể nhóm máu hồng cầu

Kháng thể của các hệ nhóm máu hồng cầu có thể có bản chất là kháng thể tự nhiên (IgM) như kháng thể của hệ nhóm máu ABO, MNS, P1PK, I… hoặc có bản chất là kháng thể miễn dịch (IgG) như kháng thể của hệ nhóm máu Rh, Kell, Duffy, Kidd... Một số kháng thể nhóm máu khác còn có bản chất là IgA[48].

Kháng thể nhóm máu có bản chất IgM là những kháng thể được hình thành một cách tự nhiên không qua một quá trình miễn dịch và nhiệt độ hoạt động thích hợp là 22°C, các kháng thể này có thể gây ngưng kết trực tiếp hồng cầu có các kháng nguyên tương ứng trên bề mặt trong môi trường nước muối. Các kháng thể nhóm máu có bản chất IgG là các kháng thể được hình thành qua một quá trình miễn dịch, hoạt động thích hợp ở 37°C và đòi hỏi phải có môi trường điện ly hoặc kháng globulin người để tạo thành ngưng kết.

Các hệ thống nhóm máu có tính sinh miễn dịch cao.

Các tai biến trong miễn dịch truyền máu là do các kháng thể miễn dịch IgG có ý nghĩa lâm sàng gây ra. Sở dĩ các kháng thể này xuất hiện một phần lớn là do khả năng sinh miễn dịch cao ở một số kháng nguyên hồng cầu người cho máu. Đó là những kháng thể được tạo thành thông qua sự miễn dịch.

Hầu hết chúng đều có khả năng sinh miễn dịch. Khi hồng cầu được đưa vào cơ thể mang một hay nhiều kháng nguyên mà cơ thể đó không có thì kháng nguyên lạ (một hay nhiều) đó có thể kích thích cơ thể tạo kháng thể (một hay nhiều) tương ứng (chủ yếu do truyền máu và mang thai bất thuận hợp). Mức độ sinh miễn dịch được sắp xếp từ mạnh đến yếu như sau: đối với người da trắng kháng nguyên D (hệ Rh), K (Kell), C và E (Rh), Fy^a (DufFy), Jk^a (Kidd) đến S và s (MNSs)[102]. Ở người Việt Nam dựa trên tần suất khác nhau của một số kháng nguyên có khả năng sinh kháng mạnh như Rh (D, C, C^w, c, E, e), MNSs (Ss), Kidd (Jk^a, Jk^b), Duffy (Fy^a, Fy^b) Ngoài KN D mang tính sinh kháng mạnh nhất, các KN Ee, Cc đều có khả năng gây miễn dịch tạo kháng thể tương ứng[31].

Bảng 1.3. Tần suất các kháng nguyên có tính sinh miễn dịch cao[5]

Kháng nguyên	Tần số %	Cơ hội gặp	Ý nghĩa lâm sàng
Kháng D	99,96	Rất ít gặp	Có
Kháng C	89,28	Rất ít gặp	Có
Kháng C^w	0	Không gặp	Không
Kháng c	58,11	Có nhiều khả năng gặp	Có
Kháng e	95,28	Ít gặp	Có
Kháng Fy^a	30,86	Nhiều khả năng gặp	Có
Kháng Fy^b	3,14	Ít khả năng gặp	Có
Kháng Jk^a	48,84	Nhiều khả năng gặp	Có
Kháng Jk^b	51,16	Nhiều khả năng gặp	Có
Kháng S	8,13	Có khả năng gặp	Có
Kháng s	91,87	Hiếm gặp	Không có

1.1.3.2. Ý nghĩa lâm sàng của nhóm máu hồng cầu

a. Đảm bảo truyền máu an toàn

Nhóm máu hệ hồng cầu có vai trò rất quan trọng trong thực hành truyền máu, ngày nay với việc phát hiện ra các nhóm máu hệ hồng cầu và ý nghĩa của chúng, người ta đã đề ra các biện pháp, kỹ thuật để phát hiện sự không phù hợp nhóm máu giữa người cho và người nhận, do vậy hầu như đã hạn chế được các tai biến truyền máu, đặc biệt ở các nước đã phát triển[20].

Để bảo đảm an toàn truyền máu về mặt miễn dịch cho bệnh nhân thì ngoài sự hòa hợp của nhóm máu hệ ABO và Rh giữa người cho và người nhận thì đảm bảo sự hòa hợp của các hệ nhóm máu khác là rất quan trọng để thực hiện việc truyền máu an toàn và có hiệu quả cho bệnh nhân. Hiện nay có nhiều biện pháp kỹ thuật đã được bổ sung để đảm bảo có thể lựa chọn được người cho phù hợp nhất với bệnh nhân như: Kỹ thuật sàng lọc, định danh KTBT, phản ứng hòa hợp có sử dụng kháng globulin người, thực hiện truyền máu hòa hợp phenotype cho bệnh nhân[16].

b. Ý nghĩa trong phòng bệnh

Khi chỉ định truyền máu, bác sỹ điều trị cần cân nhắc kỹ và máu chỉ được truyền khi nó sẽ mang lại lợi ích cho bệnh nhân, đặc biệt là đối với những bệnh nhân được tiên lượng sẽ phải truyền máu nhiều lần trong quá trình điều trị. Truyền máu cần lựa chọn được máu phù hợp nhất, tốt nhất là truyền máu hòa hợp phenotype để phòng ngừa sự tạo ra các kháng thể do bất đồng miễn dịch và sẽ gây ra các tai biến truyền máu hoặc truyền máu không hiệu quả ở những lần truyền máu tiếp theo[1],[14],[45].

1.1.3.3. Nhóm máu hiếm

a. Khái niệm về máu hiếm

Máu hiếm là gì?

Theo quy định của Hội Truyền máu Quốc tế và Hiệp Hội ngân hàng máu Mỹ, khi tần suất xuất hiện hoặc không xuất hiện của một kháng nguyên nhóm máu nào đó dưới 0,1% được gọi là nhóm máu hiếm và dưới 0,01% được gọi là nhóm máu rất hiếm. Đồng thời, những cá thể mà vắng mặt nhiều kháng nguyên trên hồng

cầu, hoặc có kháng nguyên xuất hiện với tần suất thấp, hoặc không có kháng nguyên xuất hiện với tần suất cao, hoặc những cá thể có nhóm máu A yếu, B yếu được coi là những người có nhóm máu hiếm[70].

Khi cần tìm nhóm máu hiếm dựa vào các yếu tố sau[32]:

Nhóm máu hiếm không chỉ bao gồm những đơn vị máu có tỷ lệ KN (-) cao mà còn là sự kết hợp kháng nguyên nhóm máu thông thường. Khi bệnh nhân có đa kháng thể, nó có thể hữu ích khả năng tìm được một người hiến máu tình cờ phù hợp.

Tính toán nhóm máu hiếm: Tần suất nhóm máu ở người hiến máu tình cờ cho một loại KN (-) có được bằng cấp số nhân tần suất của mỗi loại kháng nguyên âm tính

Ví dụ : Nếu huyết thanh chứa Anti –c, -Fya, và –S. Tần suất 18% c -, 34% Fy^{a-} , và 45% S-. Tần suất của người hiến máu tình cờ có được là: 0,18 x 0,34 x 0,45 = 0,028. Nếu bệnh nhân nhóm O tỷ lệ sẽ là : 0,028 x 0,45 x100 = 1,3% (tỷ lệ nhóm máu là 45%). Có 1,3% người cho máu tình cờ có thể phù hợp với máu của bệnh nhân này.

b. Cung cấp nhóm máu hiếm

Chương trình máu hiếm các nước trên thế giới

Từ năm những năm 1960, ISBT đã đề cập tới việc xây dựng ngân hàng người hiến máu hiếm, đến nay vẫn tiếp tục được duy trì và đã phát triển được trên 4.000 người hiến máu tại 60 ngân hàng máu ở 26 quốc gia. Chương trình ngân hàng máu hiếm cũng được thực hiện tại Mỹ, Nhật, Trung Quốc, Nam Phi và một số nước thuộc khu vực Châu Âu. Tại Nhật Bản người ta đã cung cấp nhiều đơn vị máu hiếm và rất hiếm cho ISBT như: Di(a+b-); Jr (a-); Ko và D-/D-[89].

Tại Mỹ, từ đầu những năm 1960 đã có hai chương trình nghiên cứu và xác định những người cho nhóm máu hiếm của ARC và AABB, đến năm 1998 hai chương trình này được hợp nhất thành một và có tên là Chương trình người hiến máu hiếm Mỹ[55], [90].

Tại Isarel, phòng xét nghiệm tham chiếu quốc gia của Israel đã bắt đầu thực hiện việc xác định người nhóm máu hiếm từ đầu những năm 70 của thế kỷ trước, với sự tham gia của tất cả 22 ngân hàng máu ở Israel. Đến năm 2006, đã có 566 người đăng ký hiến máu hiếm với một số nhóm máu chỉ duy nhất ở đây có và hơn 1.200 đơn vị máu hiếm đã được đông lạnh, lưu trữ dài ngày ở -80^{o}C bằng glycerol[123].

Tại Nam Phi, ngân hàng máu hiếm được thiết lập từ năm 1977. Những nhóm máu hiếm được xác định tại Nam Phi là nhóm máu Bombay O_h; k-; Kp(a+b-), Lu(b). Có một trung tâm bảo quản đông lạnh các đơn vị máu hiếm với 22 loại nhóm máu hiếm của 18 hệ thống nhóm máu. Nhóm máu hiếm được cung cấp theo yêu cầu. Họ duy trì ngân hàng máu hiếm bằng việc sàng lọc những người hiến máu hiện tại để lựa chọn ra những người có nhóm máu hiếm[74].

Tại Trung Quốc một trung tâm lưu trữ máu đông lạnh cũng được thành lập tại Thượng Hải và cũng đã thành lập một ngân hàng dữ liệu đặc biệt để lưu giữ thông tin về những người có nhóm máu RhD âm và một ngân hàng máu hiếm để đảm bảo cung cấp những đơn vị máu hiếm cho bệnh nhân cần truyền máu trong thời gian diễn ra Thế vận hội Olympic tại Bắc Kinh năm 2008[79],[126].

c. Máu đông lạnh

Những năm gần đây nhiều quốc gia ở Châu Âu, Mỹ và Châu Á đã thiết lập Ngân hàng máu đông lạnh lưu trữ các túi máu hiến có nhóm máu hiếm[95],[100]. Nhưng chưa có một hệ thống quốc tế để điều phối và cung cấp máu đông lạnh dự trữ giữa các quốc gia. Phần lớn máu đông lạnh được lưu giữ chỉ để sử dụng cho từng quốc gia vì thời gian để lưu chuyển máu giữa các nước có khi mất rất nhiều giờ và chỉ những trung tâm nhận máu có đủ điều kiện trang thiết bị mới có khả năng bảo quản và sử dụng tốt máu lưu trữ trong glycerol nồng độ cao và vận chuyển bằng việc sử dụng đioxit carbon rắn với mức lạnh trung bình[122].

Quản lý HCĐL có thể có ích trong các trường hợp khẩn cấp, HCĐL có thể phục vụ cho nhu cầu cần thiết do thiếu hụt ngắn hạn hồng cầu, (trữ hồng cầu cho các bệnh viện cấp cứu, hoặc hỗ trợ máu cho các trung tâm mới thiết lập). Mặc dù

mức độ phức tạp và chi phí cao để thực hiện và duy trì HCĐL, nhưng HCĐL vẫn có ích nhiều hơn là bất lợi[52],[53]

Cung cấp máu hiếm tại Việt Nam

Tại Việt Nam, Quy chế Truyền máu và thông tư 26/2013 của BYT bắt buộc xét nghiệm nhóm máu Rh(D) với tất cả những người bệnh nhận máu[7]. Đồng thời với sự mở rộng thông thương quốc tế nên ngày càng có nhiều người nước ngoài đến làm việc, sinh sống và du lịch cũng đã làm tăng nhu cầu nhóm máu RhD âm cung cấp cho cấp cứu và điều trị bệnh nhân.

Từ năm 2004 đến 2007, Viện Huyết học – Truyền máu TW đã phát hiện được 119 người RhD âm, thành lập câu lạc bộ người có nhóm máu hiếm và cung cấp kịp thời 225 đơn vị máu RhD âm cho cấp cứu và điều trị bệnh nhân [23],[24].

Ở Thành phố Hồ Chí Minh cũng có câu lạc bộ nhóm máu hiếm chủ yếu là những người có nhóm máu RhD âm với số lượng 150 người hiến máu tình nguyện hàng năm cung cấp trên 300 đơn vị máu hiếm.

Mặc dù đã có một số nghiên cứu về nhóm máu hiếm và thành lập được Câu lạc bộ người có nhóm máu hiếm nhưng cho đến nay Việt Nam vẫn chưa có chương trình máu hiếm quốc gia để thực hiện việc sàng lọc, xác định, quản lý, lưu trữ cũng như hợp tác quốc tế nhằm đảm bảo cung cấp máu hiếm kịp thời cho bệnh nhân. Do vậy việc xây dựng ngân hàng người hiến máu có nhóm máu hiếm tại Việt Nam là rất cần thiết đồng thời có một ngân hàng máu hiếm đông lạnh nhằm cung cấp máu kịp thời khi chưa có người hiến máu hoặc cần một số lượng máu hiếm trong cùng một thời điểm là rất cần thiết và cấp bách.

1.2. Truyền hồng cầu

1.2.1. Chỉ định

Chỉ định truyền HC: Cần làm gia tăng vận chuyển oxy mà không cần tăng thể tích tuần hoàn.

Ngưỡng truyền HC: tuỳ thuộc tình trạng bệnh, thường nồng độ Hb của bệnh nhân <7g/dl– 9g/dl[3].

Liều lượng: 1 đơn vị hồng cầu lắng (200ml) sẽ làm tăng 1g/dl – 1,5g/ dl hoặc làm tăng 3% - 5% Hct của bệnh nhân.

Có thể tính theo công thức

V ml hồng cầu cần truyền = Kg (Bn) x Hb cần tăng x 3 hoặc 4[127]

1.2.2. Một số sản phẩm hồng cầu

1.2.2.1. Hồng cầu lắng

Mô tả sản phẩm:

Hồng cầu lắng: Được điều chế từ máu toàn phần của một người cho máu bằng hệ thống túi đôi, túi ba, quay ly tâm rút bớt 80 - 90% huyết tương. Khối hồng cầu có lượng Hb >20g/100ml, có Hct 65 -75%. Bảo quản ở tủ lạnh chuyên dụng có kiểm soát nhiệt độ ở 1-6^{0}C. Thời gian bảo quản lưu trữ khối hồng cầu là 35 ngày. Hồng cầu lắng có thêm dung dịch nuôi dưỡng: Là sản phẩm hồng cầu lắng có thêm dung dịch bảo quản hồng cầu có lượng Hb>15g/100ml, có Hct 50 - 70%. Bảo quản ở tủ lạnh chuyên dụng có kiểm soát nhiệt độ ở 1-6^{0}C. Thời gian bảo quản lưu trữ hồng cầu là 42 ngày[28]

Ưu điểm của hồng cầu lắng so với máu toàn phần là giảm nguy cơ quá tải thể tích, giảm lượng citrate, ammonia và các acid hữu cơ, giảm nguy cơ bệnh miễn dịch (allo immunization) nhờ chứa ít kháng nguyên. Hồng cầu lắng làm tăng nhanh khả năng chuyên chở oxygen ở người bệnh bị chảy máu cấp hay mãn.

Chỉ định truyền hồng cầu lắng[57],[66].

- Thay thế hồng cầu trên bệnh nhân thiếu máu.
- Chỉ định truyền máu tùy thuộc vào nguyên nhân, tốc độ thiếu máu và khả năng bù của cơ thể. Việc này đòi hỏi đánh giá chi tiết từng bệnh nhân.

Liều lượng và cách sử dụng:

- Công thức tính: ml hồng cầu cần truyền = Kg (Bn) x Hb cần tăng x 3 hoặc 4. Mỗi đơn vị hồng cầu lắng có thể tích 250 ml, có Hct 70%, sẽ làm tăng hemoglobin lên 1g/dL hay 3% Hct. Sau khi truyền, có 70% hồng cầu sống sau 24 giờ và những hồng cầu này có đời sống sinh học bình thường.

1.2.2.2. Hồng cầu lắng loại bỏ bạch cầu

Mức loại bỏ bạch cầu, tiểu cầu tùy thuộc kỹ thuật sử dụng. Lọc bạch cầu bằng bộ lọc bạch cầu là phương pháp có hiệu quả cao nhất hiện nay. Khối hồng cầu giảm bạch cầu điều chế bằng phương pháp ly tâm: Loại bỏ được 70% bạch cầu có trong đơn vị máu toàn phần ban đầu và có SLBC tồn dư tối đa không quá $0,27x10^9$/túi máu. Khối hồng cầu giảm bạch cầu điều chế bằng phương pháp lọc bạch cầu: Sử dụng bộ lọc bạch cầu tại Ngân hàng máu, số lượng bạch cầu còn lại ít hơn $0,12x10^6$/túi máu. Thời gian bảo quản ở nhiệt độ 1 - 6^0C, có hạn sử dụng tương tự như các chế phẩm từ trước khi lọc bạch cầu, khi được điều chế trong hệ thống kín và vô trùng hoặc hạn sử dụng trong 24 giờ sau điều chế trong hệ thống hở[28].

Có thể sử dụng phương pháp lọc bạch cầu trực tiếp khi truyền máu cho người bệnh truyền thông qua bộ lọc bạch cầu gọi là bộ lọc bạch cầu tại gường người bệnh. hình 1.3

Chỉ định truyền khối hồng cầu giảm bạch cầu*:*

Điều trị mất máu, các chứng bệnh thiếu máu. Khối hồng cầu loại bỏ bạch cầu, tiểu cầu có thể làm giảm các tai biến truyền máu dạng sốt, rét run, mẩn ngứa, mề đay, buồn nôn, nôn… xảy ra trong vòng 8 giờ sau truyền máu. Phòng ngừa nguy cơ gây miễn dịch hệ HLA, phòng ngừa bệnh lý ghép chống chủ ở bệnh nhân ghép cơ quan, tổ chức và các tình trạng suy giảm miễn dịch[82], phòng ngừa một số tình trạng bệnh lý do truyền qua bạch cầu như lây truyền virus CMV, nhiễm trùng vi khuẩn Yersinia[35], trên những bệnh nhân truyền máu nhiều lần, sinh đẻ nhiều lần.

Hình 1. 3. Bộ lọc bạch cầu tại cơ sở điều trị người bệnh

"Nguồn: Sản phẩm sử dụng tại BV.TMHH do công ty Turemo (Teruflex®) cung cấp"

Hình 1. 4. Lọc bạch cầu tại ngân hàng máu

"Nguồn: Sản phẩm sử dụng tại BVTMHH do công ty Macopharma cung cấp"

1.2.2.3. Khối Hồng cầu rửa

Mô tả sản phẩm:

Được làm từ hồng cầu lắng. Rửa hồng cầu bằng nước muối sinh lý, loại bỏ hầu hết huyết tương, một số bạch cầu và tiểu cầu và sau đó bổ sung dung dịch nước muối sinh lý để hòa loãng. Điều kiện bảo quản hồng cầu rửa ở 4^0C phải được truyền trong 24 giờ vì nguy cơ nhiễm vi khuẩn trong quá trình rửa nếu sử dụng hệ thống rửa hở và đã loại bỏ hầu hết các chất nuôi dưỡng hồng cầu[28].

Chỉ định:

Bệnh nhân có chỉ định truyền HCL, có kháng lipoprotein huyết tương đặc biệt IgA trên những bệnh nhân có phản ứng dị ứng sau truyền máu. IgA là thành phần có thể thiếu hụt bẩm sinh gặp ở một số người bình thường khi có tiếp xúc với những thành phần thuốc, dịch truyền có lẫn IgA có thể sinh kháng thể chống IgA. Các kháng thể này thường gây phản ứng dị ứng dạng phản vệ khi truyền máu có chứa IgA. Truyền khối hồng cầu rửa có thể tránh được tai biến nguy hiểm này.

Bệnh nhân có chất kháng đông chống yếu tố VIII, IX, bệnh nhân đái huyết sắc tố kịch phát ban đêm, bệnh thiếu máu tan máu tự miễn[66].

1.2.2.4. Khối Hồng cầu Phenotype

Mô tả sản phẩm:

Khối hồng cầu được phù hợp hệ thống nhóm máu ABO, còn phù hợp thêm 5 hệ thống nhóm máu Rh, Kell, Kidd, Duffy, MNSs[14].

Sử dụng cho những bệnh nhân truyền máu nhiều lần.

1.2.3. Tai biến truyền máu

1.2.3.1. Các tai biến miễn dịch

Phản ứng truyền máu tán huyết cấp tính, thường gặp do kháng thể nhóm máu ABO loại IgM có đặc tính kết hợp bổ thể

Phản ứng truyền máu tán huyết xảy ra muộn do kháng thể loại IgG thuộc loại không kết hợp bộ thể (thường gặp ở các nhóm máu Rh, Kidd, Duffy). Phản ứng truyền máu tán huyết gây sốt nguyên nhân chung do phản ứng ngưng kết giữa kháng thể chống bạch cầu (kháng thể hệ HLA) của bệnh nhân với bạch cầu của đơn vị máu truyền, hoặc cũng có thể do cytokin của huyết tương túi máu được tích lũy lại trong quá trình lưu trữ máu. Phản ứng dị ứng liên quan đến protein huyết tương, huyết thanh kháng IgA hiện diện ở người nhận máu thiếu hụt IgA, phản ứng với IgA của túi máu người cho[71]. Tổn thương phổi cấp tính 90% liên quan đến ngưng kết bạch cầu thụ động (ở người cho) ảnh hưởng đến bạch cầu người nhận, các ngưng kết bạch cầu bị ứ đọng ở mạch máu phổi và phóng thích cytokin, gây sốt, rét run làm tụt huyết áp có thể kèm theo khó thở và giảm oxy não hội chứng TRALI[51],[117].

1.2.3.2. Lây truyền bệnh nhiễm

Phần lớn những tác nhân gây nhiễm có thể phát hiện bằng xét nghiệm máu người cho. Tuy nhiên các thử nghiệm bệnh truyền nhiễm không đảm bảo đạt được 0% (zero risk) nguy cơ[84].

Bởi vì giữa thời điểm nhiễm trùng đến thời điểm có thể phát hiện kháng thể hay kháng nguyên cần phải có một khoảng thời gian dài ngắn khác nhau của từng loại virus gọi là giai đoạn cửa sổ, trong khoảng giai đoạn các xét nghiệm sàng lọc thường không phát hiện được tác nhân gây bệnh. Với các tác nhân gây bệnh đã biết

có thể xuất hiện các hiện tượng đột biến mới do đó các thử nghiệm hiện hành đôi khi không phát hiện được. Có một vài tác nhân gây bệnh hiện nay chưa biết cũng có thể truyền bệnh.Tác nhân này chỉ được nhận biết khi có các xét nghiệm phát hiện mới.

Năm 1971, xét nghiệm sàng lọc kháng nguyên bề mặt của virus viêm gan B (HBsAg) cho người hiến máu bắt đầu được thực hiện, việc sàng lọc HBsAg đã ngăn ngừa một cách hiệu quả việc lây truyền HBsAg từ người hiến máu sang người nhận máu.

Năm 1984, HIV được biết là nguyên nhân gây hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải ở người (AIDS). Năm 1985, xét nghiệm phát hiện HIV đầu tiên được cấp phép tại Mỹ và xét nghiệm này đã nhanh chóng được các ngân hàng máu đưa vào sàng lọc HIV cho người hiến máu để đảm bảo ATTM phòng lây nhiễm HIV qua đường truyền máu.

Năm 1996, xét nghiệm phát hiện kháng nguyên HIV p24 đã được bổ sung vào để sàng lọc cho người hiến máu nhằm rút ngắn giai đoạn cửa sổ của nhiễm HIV. Năm 1999, kỹ thuật xét nghiệm khuyếch đại acid nucleic (Nucleic Acid Amplification Test –NAT) đã được bổ sung để sàng lọc cho người hiến máu tại nhiều nước trên thế giới nhằm rút ngắn hơn nữa giai đoạn cửa sổ của nhiễm HIV, HBV và HCV. Việc triển khai thêm các xét nghiệm này đã góp phần bảo đảm an toàn truyền máu và giảm tới mức thấp nhất tỷ lệ lây truyền HIV, HBV, HCV qua đường truyền máu.

Năm 2002, virus West Nile (WNV) đã được chứng minh là virus truyền qua đường truyền máu. Cũng vào năm này, xét nghiệm NAT để sàng lọc HIV và HCV đã được tổ chức FDA của Mỹ cấp phép[125].

Năm 1992, Bộ Y tế ban hành "Điều lệnh truyền máu", đây là một văn bản pháp lý hướng dẫn thực hiện các hoạt động của ngành Truyền máu Việt Nam, "Điều lệnh truyền máu" cũng đã ban hành việc sàng lọc HIV, HBV, HCV cho Ngân hàng máu là bắt buộc, nhờ vậy đã ngăn chặn một cách hiệu quả việc lây truyền HIV, HBV, HCV qua đường truyền máu[30].

- Ngày 19 tháng 1 năm 2007, Bộ Y tế có quyết định số 06/2007/QĐ-BYT đã phê duyệt "Quy chế truyền máu". Đây là một bước tiến mới mang tính pháp lý và quy định cụ thể cho các hoạt động chuyên môn về truyền máu của nước ta để đảm bảo ATTM, tiếp theo là thông tư 26/2013/BYT[7].

- Hiện nay tần suất lây truyền do virus sau truyền máu với HCV và HBV 1/ 60.000 đến 1/100.000 và HIV là 1/680.000. Nguy cơ chung lây nhiễm một loại virus sau truyền máu là 1/34.000. Ngày nay việc đưa vào sử dụng kỹ thuật NAT (Nucleic Acide testing) trong sàng lọc đã làm giảm tỷ lệ lây nhiễm đáng kể sau truyền máu và tỷ lệ còn 1/2.000.000 đối với HCV, HIV[8].

1.3. Dự trữ bảo quản hồng cầu

1.3.1. Nguyên tắc

Nguyên tắc của bảo quản hồng cầu là cung cấp khả năng sống còn và chức năng hồng cầu cho những bệnh nhân được truyền máu. Khả năng tồn tại của hồng cầu là khả năng sống còn của hồng cầu khi hồng cầu truyền vào cơ thể người bệnh. Do hồng cầu phải lưu trữ từ khi lấy máu ra khỏi cơ thể người hiến máu cho đến khi truyền máu vào cơ thể người bệnh, đời sống của hồng cầu phải được duy trì trong suốt thời gian dự trữ, và khi được truyền vào cơ thể người bệnh 75% tế bào hồng cầu phải được duy trì tối thiểu 24 giờ. Tiêu chí này được sử dụng để đánh giá các giải pháp mới về bảo quản và lưu trữ hồng cầu. Việc đo lường được thực hiện với tế bào hồng cầu được lấy từ người khỏe mạnh, dự trữ sau đó gắn đồng vị phóng xạ từ ban đầu khi lấy máu ra từ người hiến cho đến 24 giờ sau truyền máu[38].

1.3.2. Dự trữ và bảo quản hồng cầu ở 2 - 6^0C

1.3.2.1. Các chất chống đông và bảo quản hồng cầu.

Mục đích của các chất chống đông là hỗ trợ các hoạt động chuyển hoá của HC, duy trì tình trạng chống đông máu và giảm thiểu mức thấp sự thoái biến trong thời gian dự trữ.

Dựa vào sinh lý chuyển hóa của hồng cầu, các chất chống đông và bảo quản hồng cầu cũng nhằm mục đích duy trì môi trường dự trữ của hồng cầu sao cho đảm bảo về các hoạt động sống của nó.

Trong quá trình bảo quản hồng cầu, lượng ATP trong hồng cầu giảm sút làm giảm dần khả năng sống của hồng cầu bảo quản. Thời hạn bảo quản hồng cầu được xác định là thời gian bảo quản tối đa còn duy trì khả năng sống tối thiểu cho 75% hồng cầu (tương đương tối thiểu 75% hồng cầu truyền vào còn lưu hành trong tuần hoàn của người nhận máu) sau truyền máu 24 giờ. Ngoài ra, khả năng phân ly oxy của hemoglobin giảm trong quá trình bảo quản hồng cầu làm giảm chức năng vận chuyển oxy của hồng cầu ảnh hưởng đến khả năng của hồng cầu giải phóng oxy cho tổ chức. Thay đổi này chủ yếu là do giảm lượng 2,3-diphosphoglycerat (2,3-DPG) và giảm pH trong bảo quản. Lượng 2,3-DPG giảm khá nhanh trong quá trình bảo quản (còn 75% sau 1 tuần, 20% sau 2 tuần, dưới 10% vào cuối thời gian bảo quản). Để hạn chế các hậu quả này cần bảo quản hồng cầu ở nhiệt độ lạnh (2-6^{o}C) để làm giảm quá trình tiêu đường, sử dụng năng lượng của tế bào và làm chậm quá trình axít hóa máu. Sau khi truyền vào cơ thể, các hồng cầu có thể hồi phục lượng ATP, 2,3-DPG do đó duy trì khả năng sống cũng như hồi phục chức năng vận chuyển oxy. Sau khi vào cơ thể 3-8 giờ hồng cầu có thể hồi phục 50% lượng 2,3-DPG và hồi phục hoàn toàn sau 24 giờ[39].

Axít xitric và natri xitrat có vai trò cố định các ion canxi ngăn ngừa một số giai đoạn trong quá trình hoạt hóa đông máu trong dung dịch chống đông. Dextrose mục đích duy trì ATP và nuôi dưỡng tế bào. Thêm Adenin nền tảng cho hồng cầu tổng hợp ATP làm cải thiện chức năng, khả năng của hồng cầu. Sodium biphosphate hoạt động phòng chống sự thiếu hụt pH trong thời gian dự trữ.

Một vài chất chống đông bảo quản HC được FDA công nhận để dự trữ máu và các thành phần máu. Bao gồm Citrate, phosphate, và Dextrose (CPD) và CP2D, dự trữ HC ở 2-6^{0}C trong 21 ngày**.** Nếu có thêm Adenin (CPDA-1) máu có thể dự trữ 35 ngày ở 1- 6^{0}C[58].

Tỉ lệ chất chống đông 1:10 theo tiêu chuẩn thể tích.

63 ml = 450 ml máu toàn phần ± 10%ml

Nguyên tắc: 14 ml dd chống đông được 100ml máu

Công thức: (số lượng máu cần lấy: 100) x 14 = số lượng DD chống đông

Ví dụ: (Số lượng máu cần 200: 100) x 14 = 28ml DD chống đông

1.3.2.2. Thời gian lưu trữ hồng cầu ở 1 – 6^0C

Bảng 1.4. Một số chất có trong thành phần dung dịch chống đông và bảo quản có các tác dụng khác nhau[22]

Hoạt chất	Dung dịch chống đông	Dung dịch bảo quản	Tác dụng
A.xitric	(ACD, CPD, CPDA)	-	Chống đông, giảm pH dung dịch.
Natri xitrat	(ACD, CPD,CPDA)	-	Chống đông. Làm chậm quá trình tiêu đường
Glucoza	(ACD, CPD, CPDA)	(SAG, SAGM, SAGMAM, MAP, AS)	Cung cấp năng lượng, tổng hợp ATP. Cung cấp 2,3-DPG
Natri dihydrogen Photphat	(CPD, CPDA)	(MAP, BAGPM)	Chức năng đệm pH
Adenin	(CPDA)	(SAG, SAGM, SAGMAM, MAP, AS)	Cung cấp cơ chất tổng hợp
Mannitol	-	(SAGM, SAGMAM, MAP, AS)	Giảm vỡ hồng cầu
Natri clorua	-	(SAG, SAGM, SAGMAM, MAP, AS)	Duy trì tính đẳng trương của dung dịch
Thời gian bảo quản ở 2-6^0C	21 ngày:ACD, CPD 35 ngày:CPD A	35 - 42 ngày	

Bảng 1.5. Các chất bảo quản và thời gian dự trữ HC[32]

Tên dung dịch	Tên viết tắt	Thời gian dự trữ (ngày)
Acid-citrate-dextrose	ACD	21
Citrate-phosphate-dextrose	CPD	21
	CPDA-1	35
Adsol(AS-1)	AS-1	42
Nutricel (AS-2)	AS-2	35
Nutricel (AS-3)	AS-3	42
Optisol	AS-5	42
	SAGM	42

1.3.3. Dự trữ bảo quản hồng cầu ở nhiệt độ đông lạnh.

1.3.3.1. Lịch sử

Đông lạnh hồng cầu được thực hiện vào thập niên 1950 trong cuộc chiến tranh Việt nam, mục đích là cần một lượng máu dự trữ lớn và ngăn ngừa việc lây nhiễm viêm gan siêu vi B của chính phủ Mỹ. Ngoài ra đông lạnh HC lúc đó còn có mục đích là sử dụng thay cho sử dụng lọc bạch cầu[83].

Năm 1956, Ngân hàng máu đông lạnh đầu tiên được thành lập tại Bệnh viện Chelsea, Boston để thẩm định tính khả thi của sản phẩm máu đông lạnh trên các tàu Hải quân Hoa Kỳ. Từ đó, tế bào hồng cầu bảo quản đông lạnh (Red blood cells - RBCs), còn được gọi là tế bào hồng cầu đông lạnh (Frozen RBC - FRBCs) hay gọi là HCĐL, đã được xác định là một sản phẩm đặc biệt phù hợp cho các hoạt động dự phòng quân sự, nơi có thể cần một lượng máu rất lớn và lượng máu thu nhận nhiều với điều kiện lưu trữ thông thường thì không đảm bảo sử dụng khi cần thiết. Năm 1966 các nghiên cứu lâm sàng về sự an toàn và hiệu quả của HCĐL đầu tiên được tiến hành ở bệnh viện Hải quân Hoa Kỳ, tại Đà Nẵng, miền Nam Việt Nam, 307 đơn vị HCĐL đã được truyền cho thương binh. Kiểm tra Hemoglobin sau truyền, số lượng tiểu cầu, Hb nước tiểu, bilirubin và nồng độ creatinin huyết thanh kết quả tương tự với các bệnh nhân truyền HC thường, Hb tăng, không có bằng chứng của

suy thận. Các tác giả kết luận rằng việc sử dụng HCĐL trong quân sự khả thi và chấp nhận sử dụng lâm sàng và kỹ thuật lưu trữ HC mới được khẳng định[60],[87],[111].

Trước 2001, quá trình đông lạnh và loại bỏ glycerol hồng cầu được thực hiện trong hệ thống hở. Quá trình này thực hiện trong phòng xét nghiệm, yêu cầu kỹ thuật cao và chỉ cho phép lưu trữ hồng cầu sau rửa không quá 24 giờ ở nhiệt độ 1°C đến 6°C. Đến năm 2001, FDA công nhận hệ thống ACP215, với hệ thống này, quá trình glycerol hóa hồng cầu có thể thực hiện đối với túi hồng cầu trong vòng 6 ngày sau lấy máu mà không cần bổ sung bất kỳ chất nuôi dưỡng nào. Sau giải đông, loại glycerol bổ sung AS-3 hồng cầu có thể được lưu trữ trong 14 ngày ở nhiệt 1°C đến 6°C [67]. Năm 2003, Bộ Quốc phòng Mỹ bắt đầu mua hệ thống ACP215 sử dụng trên toàn thế giới[113].

HCĐL mang lại nhiều lợi ích cho Ngân hàng máu, giải pháp giải quyết máu dư, máu hiếm[95],[100]. Dữ liệu đã chứng minh rằng FRBCs còn đầy đủ tính chất, chức năng sau khi rã đông và loại glycerol như trước khi đông lạnh, ngoài ra, trong quá trình đông lạnh, giải đông, rửa đã loại rất nhiều bạch cầu, protein và kháng thể có thể gây ra tai biến truyền máu. Và FDA đã phê duyệt HCĐL có bổ sung chất nuôi dưỡng (SAGM, AS-3, AS-5)[115].

Mặc dù việc điều chế HCĐL ở ngưỡng bước đầu thực hiện, nó đã được kết luận rằng sử dụng bảo quản đông lạnh HC đã là một kỹ thuật khả thi và được chấp thuận trong cuộc chiến. Khoa học đang cải tiến và việc ra đời hệ thống kép kín vào năm 2002 đã làm cho HCĐL trở thành 1 sản phẩm được sử dụng nhiều hơn máu bảo quản thông thường trong hoạt động quân sự[65],[78],[101],[113]. Người Hà Lan đã sử dụng HCĐL, HTĐL và TCĐL trong quân sự với sự thành công lớn[68],[77],[78]. Trong giai đoạn 2006-2012 tổng cộng 2.175 đơn vị HCĐL đã được truyền ở Afghanistan mà không có bất cứ sự thiếu hụt hoặc các báo cáo về các phản ứng truyền máu[91]. Do đó NHM quân sự ở Hà Lan chỉ sử dụng HCĐL nhóm O đã được lọc bạch cầu để nâng cao hiệu quả và giảm khả năng không phù hợp nhóm máu ABO. Không có phản ứng truyền máu do có liên quan đến bạch cầu, và

HC được đông lạnh trong 24h sau hiến[65]. HCĐL được vận chuyển đến các đơn vị khu vực chiến đấu trong các hộp cách nhiệt chứa đá khô, túi HCĐL đựng ở trong làn túi nhựa PVC và 1 lớp túi được hút chân không niêm phong và lưu trữ trong các hộp catton, mục đích tránh bị vỡ, nứt khi vận chuyển[91]. Sau đó được lưu trữ, giải đông và rửa ở môi trường kiểm soát nhiệt độ. Giải đông và rửa thêm DD AS-3 và lưu trữ ở tủ lạnh ở 1-6^{O}C tối đa 14 ngày.

Ngày nay khi nghiên cứu đông lạnh HC nhằm mục đích cải thiện các qui trình giải đông rửa hồng cầu loại các tế bào vỡ, bạch cầu cytokin và Hb tự do. Nếu giải đông rửa theo hệ thống hở, HC phải sử dụng trong vòng 24 giờ. Nếu hệ thống kín thời gian dự trữ HC có thể đến 7 ngày, nếu cho thêm dd nuôi dưỡng hồng cầu (AS-3) thì có thể lưu trữ HC đến 15 ngày[112]

1.3.3.2. Nguyên tắc đông lạnh

Để trữ tế bào sống trong thời gian dài thì tất cả hoạt động chức năng bên trong tế bào phải ngừng lại. Ở nhiệt độ đông lạnh sâu -80^{0}C, -196^{0}C (nitơ lỏng), hầu hết mọi phản ứng hóa học đều không xảy ra, tồn trữ lạnh đã khóa bằng nhiệt độ lạnh toàn bộ hệ thống men hoạt động của tế bào, mục tiêu này đạt càng tốt khi nhiệt độ càng thấp. Thời gian như ngừng trôi đối với các tế bào được trữ đông lạnh. Nguy cơ cho tế bào ở 2 giai đoạn đông lạnh và giải đông (là sự thay đổi trạng thái lỏng đặc) tạo nước đá trong quá trình đông lạnh làm tổn thương tế bào[27],[32].

Khi tốc độ làm lạnh nhanh, các tinh thể nước đá được tạo thành bên trong tế bào, nhất là bên trong các bào quan, làm xé rách màng và cấu trúc gây chết nhanh chóng tế bào. Khi tốc độ làm lạnh chậm, các tinh thể nước đá sẽ tạo ra chính yếu ở bên ngoài tế bào hậu quả làm tăng áp lực thẩm thấu do nước tinh khiết bị lôi vào tinh thể nước đá. Hiện tượng mất nước tinh khiết có hậu quả: Áp lực thấm thấu bên ngoài tế bào tăng làm các ion không thể tự do di chuyển xuyên qua màng tế bào, độ ưu trương tăng cao, tế bào tổn thương do mất nước. Trong trường hợp tốc độ làm lạnh đủ chậm, nước di chuyển từ bên trong tế bào ra ngoài để góp phần vào tạo thêm tinh thể nước đá.

Hình 1. 5. Sự tạo thành tinh thể đá trong tế bào khi đông lạnh

"Nguồn: Pegg DE., *Cryobiology, 2010"* [94]

Nồng độ tế bào

Tồn trữ đông lạnh khi có nồng độ tế bào cao sẽ có nguy cơ mất mát tế bào nhiều hơn khi giải đông, nguyên do là giảm thiểu số lượng tương đối của thể tích phần dung dịch không đông đặc so với phần đã tạo nước đá và làm kết chụm các tế bào. Các công trình nghiên cứu về đông lạnh khi nồng độ tế bào cao cho đến nay chưa khảo sát hết vấn đề này[63],[103].

Tồn trữ các tế bào đông lạnh: sau khi đã xử lý, các tế bào được chứa trong các túi chuyên dùng làm bằng nhựa đặc biệt chịu được nhiệt độ đông lạnh sâu[72].

Tốc độ làm lạnh, giải đông và tồn trữ tế bào.

Hiện tượng trao đổi nhiệt là một hiện tượng vật lý, không phải sinh học, vì thế các loại tế bào khác nhau có nhu cầu tốc độ làm lạnh khác nhau và tốc độ này lại tuỳ thuộc vào bản chất và nồng độ của các chất bảo vệ lạnh. Nồng độ càng cao thì tốc độ làm lạnh tối ưu càng chậm. Đa số các trung tâm sử dụng các máy làm lạnh kiểm soát điện tử để có tốc độ thích hợp. Cũng có thể dùng cách đặt túi vào môi trường có nhiệt độ -80^0C, các túi được để giữa các lớp bọt điều lạnh (styro-foam).

Tốc độ giải đông cũng đặt nhiều vấn đề. Nếu lúc đầu, tốc độ làm lạnh nhanh có nước đá tạo ra bên trong tế bào, nếu giải đông chậm thì khối nước đá sẽ tăng thể tích do kết tinh lại. Nếu sử dụng tốc độ đông lạnh chậm, thì sẽ hạn chế tạo nước đá

bên trong tế bào, khi giải đông nhanh sẽ không làm rách cấu trúc tế bào do kết tinh lại. Thông thường người ta sử dụng tốc độ giải đông nhanh hơn tốc độ đông lạnh.

Qua trình bày trên thì trang thiết bị phải có khả năng làm lạnh chậm và giải đông nhanh, để tránh các tổn thương cơ học và do mất nước, do việc tạo và tăng cường các tinh thể nước đá[64].

1.3.3.3. Các chất bảo vệ tế bào ở độ đông lạnh sâu

Nhờ sự phát triển ra các chất bảo vệ tế bào ở nhiệt độ lạnh là những chất đã phòng ngừa được hiện tượng tổn thương do mất nước bằng cách kết dính các phân tử nước và làm chậm sự liên kết với hạt nước đá đã làm giảm thiểu sự gia tăng nồng độ của các chất hòa tan trong phần dung dịch còn bên ngoài tế bào trong quá trình tạo tinh thể nước đá, do đó làm giảm số lượng nước hấp thu vào tinh thể nước đá ở một nhiệt độ xác định.

Chất bảo vệ tế bào ở độ đông sâu được chia làm hai loại: Loại thâm nhập (penetrating) và loại không thâm nhập.

Loại thâm nhập như glycerol (1949) và DMSO (dimethyl sulfoxide 1959) là chất có phân tử lượng nhỏ nó có thể tự do băng qua màng tế bào vào bào tương. Ở bên trong tế bào chất bảo vệ này cung cấp áp lực thẩm thấu phòng chống nước từ bên ngoài tế bào xâm nhập vào. Chất bảo vệ tế bào ở độ đậm đặc cao ngăn ngừa được sự tạo thành tinh thể đá mà tinh thể này có thể phá huỷ màng hồng cầu[59].

Loại không thâm nhập như HES (hydroxyethyl starch) là chất có phân tử lượng lớn không đi vào tế bào, chất này bảo vệ tế bào bằng cách tạo ra xung quanh tế bào thể kết tinh gọi là thuỷ tinh hóa (vitrification), phòng chống sự mất nước ở bên trong tế bào[94],[104].

- **Dimethyl-sulfoxid (DMSO)**

DMSO tinh khiết là một chất lỏng không màu, gần như không mùi (tỉ trọng 1.108, trọng lượng phân tử 78,13g/mol). Sau khi tiêm vào cơ thể, ½ đời sống trong huyết thanh là khoảng 20 giờ, thải ra đường thận bằng chất $DMSO_2$ trong vòng 72 giờ. Nồng độ DMSO sử dụng trong tồn trữ lạnh là 5-10%[4].

- **Bột Hydroxyethyl (HYDROXYETHYL-STARCH: HES)**

HES là một chất trùng kết chứa nhiều chuỗi và có nhiều trọng lượng phân tử khác nhau. Lúc đầu được sử dụng để bảo vệ lạnh cho tồn trữ HC, sau đó được chứng minh là có hiệu quả bảo vệ cho nhiều loại tế bào. Các chất bảo vệ lạnh đại phân tử có thể sử dụng đơn độc, tuy nhiên những khảo cứu trong tồn trữ lạnh tế bào gốc cho thấy nên kết hợp các chất bảo vệ ngoại bào và xuyên bào.

- **Protein**

Các protein của huyết tương có tính chất bảo vệ lạnh. Có thể do làm thay đổi độ nhớt hay nhiệt độ trung gian kết tinh T'g của dung dịch bảo vệ. Người ta nhận thấy nếu thêm các protein của huyết tương vào các dung dịch bảo vệ thì cải thiện được sự sống của tế bào.

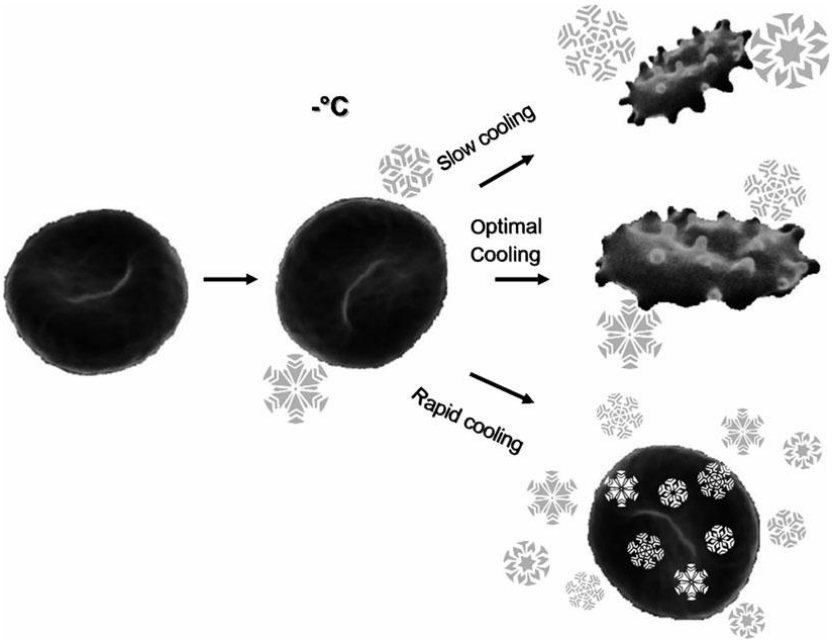
Hiện nay các dung dịch bảo vệ lạnh đang sử dụng đều được thêm protein huyết tương vào như là thành phần của chất bảo vệ. Nguồn gốc các protein sử dụng thay đổi, huyết thanh phôi thai bò không còn sử dụng nữa. Việc sử dụng dung dịch albumin hiện nay được ưa chuộng vì có thể ấn định một nồng độ xác định và tránh bị lẫn với hạt mỡ, các mảnh tế bào, các chất chống đông và tránh được các globulin lạnh khi sử dụng các huyết tương tự thân hay của người cho[72].

- **Các thành phần muối và đường**

Người ta dùng muối làm dung dịch pha loãng cho DMSO hay để điều chỉnh nồng độ các tế bào trước khi đông lạnh. Khi đã được đông lạnh các tế bào không còn hoạt động biến dưỡng, nên dung dịch đông lạnh không cần chứa các môi trường nuôi phức tạp, như sử dụng để nuôi tế bào bên ngoài cơ thể. Hiện nay, các dung dịch muối thương mại đã được sử dụng tốt trong đông lạnh.

Một số các chất đường có chức năng trong bảo vệ lạnh. Nhưng trong các môi trường này, đường có mặt ở nồng độ quá nhỏ, không đáng kể so với nhu cầu trong vai trò bảo vệ lạnh. Các chất đường không có khả năng di chuyển tự do vào bên trong tế bào và tác động như một chất bảo vệ ngoại bào. Đường chủ yếu dùng để ổn định màng tế bào trong quá trình đông lạnh và mất nước. Ngoài ra đường còn bảo vệ tế bào chống lại độc tính của nồng độ cao DMSO[4].

Glycerol: là một loại rượu đường chế biến từ mỡ đặc, cầu trúc giống như chất ethylene glycol có trong nước chống đông lạnh (antifreeze). Vì là chất hữu cơ (organic) nên glycol dĩ nhiên là an toàn. Các loại glycerol chống đông lạnh đã được phép sử dụng trên lâm sàng[61],[62].



Hình 1. 6. Thay đổi của hồng cầu với tốc độ đông lạnh

"Nguồn: International Society of Blood Transfusion ©2014, *Vox Sanguinis 2014*" [70]

1.3.3.4. Các phương pháp đông lạnh hồng cầu

Có 3 phương pháp được sử dụng để đông lạnh hồng cầu trong 60 năm qua.

Phương pháp 1:

Nghiên cứu sử dụng chất bảo quản đông lạnh ngoài tế bào là HES (Hydroxyethyl starch) nồng độ 14%. Hồng cầu được đông lạnh ở trong DD nitơ lỏng -196^{0}C và HC được bảo quản ở nhiệt độ thực là –150^{0}C. PP này không cần phải rửa loại chất bảo quản sau khi giải đông[108].

Phương pháp 2:

Sử dụng glycerol nồng độ thấp 20%. Hồng cầu được đông lạnh trong dung dịch nitơ lỏng -196^{o}C HC dự trữ -150^{o}C. Yêu cầu rửa loại bỏ glycerol trong sản phẩm sau cùng trước khi truyền cho bệnh nhân[32],[42].

Phương pháp 3:

Sử dụng glycerol nồng độ cao 40% dự trữ hồng cầu ở -80^{o}C. Sau giải đông loại bỏ glycerol, nồng độ Glycerol còn lại <1g% trong sản phẩm sau cùng[32],[42].

Với phương pháp đầu tiên không cần thiết phải loại bỏ chất bảo quản nhưng vẫn còn có một số câu hỏi về sự an toàn và ảnh hưởng đến điều trị.

Một số ngân hàng máu sử dụng chất bảo quản hồng cầu là glycerol nồng độ thấp vì qui trình kỹ thuật ngắn dễ thực hiện và có thể đông lạnh ở -150^{0}C nhưng dụng cụ đông lạnh phức tạp, chi phí cao do phải duy trì ở nhiệt độ -196^{0}C (nitơ lỏng).

Đông lạnh HC dùng chất bảo quản là glycerol nồng độ cao được thực hiện với qui trình kỹ thuật phức tạp, và thời gian lưu trữ ngắn hơn, nhưng trang thiết bị dùng đơn giản (có thể lưu trữ ở tủ đông lạnh -80^{0}C)[83].

Trong những nghiên cứu mới đây báo cáo rằng, sản phẩm đông lạnh hồng cầu với glycerol nồng độ cao dự trữ ở –80^{0} C có thể đến 10 năm mà chức năng và cấu trúc của hồng cầu không thay đổi[76].

Bảng 1.6. So sánh hai phương pháp sử dụng chất bảo quản HC bằng glycerol nồng độ khác nhau[66]

Lý do	Glycerol nồng độ cao	Glycerol nồng độ thấp
Nồng độ Glycerol	40%	20%
Nhiệt độ đông lạnh	-80^0 C	-196^0 C
Tốc độ lạnh	Chậm	Nhanh
Kiểm soát tốc độ lạnh	Không	Có
Loại tủ dự trữ	Tủ lạnh	Nitơ lỏng
Nhiệt độ dự trữ tối thiểu	-65^0 C	-120^0 C
Thay đổi nhiệt độ dự trữ	Có thể giải đông và đông lạnh trở lại	Không được
Loại túi dự trữ	Túi nhựa	Túi nhựa
Vận chuyển	Đá khô	Thùng chứa Nitơ lỏng
Rửa HC loại bỏ glycerol, cần máy rửa	Có	Không
Thời gian giải đông và rửa loại bỏ glycerol	60 phút	30 phút
Hematocrit	50 -70%	50 -70%
Bạch cầu mất đi	94-99%	95%

1.3.3.5. Phương pháp đông lạnh hồng cầu bằng DD glycerol nồng độ cao

a. Dung dịch ĐLHC hiện nay đang sử dụng

Glycerol là 1 chất Alcohol trihydric không màu vị ngọt dịch giống xirô, dung dịch của glycerol thì tương đối ổn định. DD Glycerol nồng độ cao có: 57% glycerol; 1,6% sodiumlactate; 0,03% KCL; 0,0517% Na_2HPO4; 0,124% NaH2PO4; PH 6,8 (hãng Baxter).

b. Kỹ thuật thực hiện

Tiến trình đông lạnh hồng cầu phức tạp đòi hỏi đảm bảo về mặt kỹ thuật. Hồng cầu được cho glycerol sau khi đã lấy ra khỏi cơ thể người hiến máu dự trữ không quá 6 ngày. Glycerol được cho vào với sự lắc liên tục để đảm bảo glycerol thấm vào các tế bào hồng cầu. Sau đó các tế bào này được đông lạnh nhanh ở tủ lạnh tối thiểu là < -65^0C. Truyền hồng cầu đông lạnh phải được rửa loại bỏ glycerol, tiến trình này phải thực hiện sao cho tránh tình trạng nhược trương của sản phẩm ảnh hưởng đến màng hồng cầu và sẽ làm hồng cầu bị bể. Quá trình này theo dõi

nồng độ Hb của nước rửa, độ thẩm thấu của sản phẩm để theo dõi tình trạng tán huyết của sản phẩm.

Sản phẩm sau cùng được loại bỏ hầu hết bạch cầu, tiểu cầu và lượng huyết tương không cần thiết, giảm nồng độ K^+ và Hb tự do[33],[80]. Glycerol được lấy ra khỏi sản phẩm sau cùng ở mức độ < 1g% bằng cách đo áp suất thẩm thấu khoảng 420mOsm (tối đa 500mOsm), hoặc thước đo cầm tay[119].

Bảng 1.7. Thuận lợi và hạn chế của hồng cầu đông lạnh[50]

Thuận lợi	Hạn chế
Thời gian dự trữ kéo dài (10 năm)	Tốn thời gian thực hiện kỹ thuật đông lạnh giải đông và rửa
Duy trì được khả năng sống còn và chức năng của hồng cầu	Trang bị các trang thiết bị dụng cụ và hóa chất chuyên dụng.
Sản phẩm được lấy đi hầu hết bạch cầu và tiểu cầu	Yêu cầu dự trữ ở tủ đông lạnh -80^{O}C (<-65^{O}C)
Lấy đi hết số lượng huyết tương không cần thiết	Giá thành sản phẩm cao

1.3.3.6. Tình hình nghiên cứu trên thế giới

Cho đến nay FDA công nhận ĐLHC dự trữ nitơ lỏng bằng dung dịch HES hoặc dung dịch glycerol 20%, thời gian dự trữ 21 năm[117]. ĐLHC với dung dịch glycerol 40%, dự trữ bằng tủ đông -80^{0}C trong 10 năm[76].

Các nghiên cứu đang thực hiện lưu trữ HC bằng DD glycerol nồng độ cao ở -80^{0}C trong 21 năm[117], và nghiên cứu lưu trữ HC bằng DD glycerol nồng độ cao ở -80^{0}C trong 37 năm[114].

FDA công nhận sau giải đông, rửa loại bỏ glycerol, sản phẩm được sử dụng ngay trong vòng 24 giờ. Các nghiên cứu đang thực hiện và đã được công bố thời gian dự trữ HC sau giai đoạn rửa có thể kéo dài 15 ngày[112].

Một nghiên cứu khác dùng máu toàn phần của 20 người tình nguyện. Sau khi lấy máu, máu toàn phần được lọc qua bộ lọc bạch cầu, và sau đó trộn chung với 5 đơn vị máu với nhau. Quay ly tâm chiết tách huyết tương và hồng cầu. Hồng cầu được đông lạnh bằng hệ thống máy ACP215, Haemonetics dự trữ ở -80^{0}C với glycerol nồng độ cao hoặc -196^{0}C với glycerol nồng độ thấp. Tiến trình thực hiện

mất 65 ± 7 phút. Sau khi giải đông HC được cho thêm chất bảo quản SAGM và dự trữ 21 ngày ở 4^0C. Nồng độ Hb còn lại trung bình là 54 ± 4g[40].

Viện nghiên cứu máu của Hải Quân Mỹ đã có kết quả rất hài lòng với máy ACP215 có chức năng tự động cho glycerol để đông lạnh và giải đông loại bỏ glycerol trước khi truyền. Khi cho thêm dung dịch AS–5, sản phẩm có thể dự trữ được 15 ngày sau khi giải đông và rửa với khả năng hồi phục của hồng cầu 77% ± 9%. FDA công nhận hệ thống máy ACP215 của hãng Haemonetics có thể sử dụng đông lạnh hồng cầu, giải đông, rửa loại bỏ glycerol, sản phẩm sau đó được truyền ngay trong vòng 24 giờ hoặc 2 tuần sau[113].

Ngày nay ở Mỹ ĐLHC thường sử dụng glycerol nồng độ cao 40% dự trữ ở –80^{o}C, trước khi truyền phải giải đông và rửa loại bỏ glycerol để nồng độ glycerol còn lại trong sản phẩm <1g%.

1.3.3.7. Tình hình nghiên cứu tại Việt Nam

Nghiên cứu được thực hiện bởi chính nhóm tác giả, kỹ thuật thực hiện thủ công, đông lạnh hồng cầu bằng glycerol nồng độ 40% cho 46 đơn vị máu, thời gian lưu trữ đông lạnh trung bình là 146 ngày, kỹ thuật glycerol hóa và giải đông – rửa glycerol của túi HCĐL được thực hiện với hệ thống hở, thời gian thực hiện qui trình đông lạnh hoặc giải đông và rửa hơn 3 giờ, sau rửa sản phẩm phải sử dụng trong vòng 6-8 giờ. Kết quả sản phẩm có chất lượng không đều[12].

Chưa chuẩn hóa được các giai đoạn sản xuất HCL để đông lạnh, chưa chuẩn hóa được kỹ thuật glycerol hóa và làm giảm thể tích ở túi HCL, chưa chuẩn hóa được kỹ thuật đông lạnh và giải đông – rửa HCĐL. Thời gian thực hiện kỹ thuật lâu nên chưa đáp ứng được tiêu chí nhanh chóng cung cấp máu cho người bệnh cần truyền máu.

Với các mặt tồn tại của nghiên cứu thử nghiệm trước, nhóm nghiên cứu thực hiện nghiên cứu này với số mẫu lớn hơn, thực hiện các kỹ thuật đông lạnh hồng cầu trên máy tự động với giai đoạn glycerol hóa và rửa loại bỏ glycerol, thời gian sau khi giải đông - rửa được lưu trữ trong 24 giờ đến 3 ngày ở nhiệt độ 1-6^{o}C. Nghiên

cứu này sẽ đáp ứng được yêu cầu về kỹ thuật cũng như đáp ứng việc cung cấp nhóm máu hiếm kịp thời cho người bệnh.

Mục đích lưu trữ HCĐL ngày nay là

- Truyền máu tự thân cho những cuộc phẫu thuật đã biết trước[69],[73]
- Truyền máu tự thân có tiềm năng sử dụng trong tương lai[56].
- Nhóm máu O RhD âm hoặc O RhD dương túi máu bị trì hoãn cấp phát được giữ đông lạnh chờ kiểm tra các xét nghiệm sàng lọc các tác nhân lây nhiễm lại sau 6 tháng, nếu xét nghiệm người cho âm tính thì túi máu được sử dụng[97].
- Lưu trữ những nhóm máu hiếm.
- Những bệnh nhân có thiếu hụt IgA[126].
- Đông lạnh hồng cầu được thực hiện trên những bệnh nhân hoặc những công dân có nhu cầu trữ đông để sử dụng khi cần thiết.
- Ngân hàng máu quân đội[91],[101].

1.3.3.8. Chỉ định sử dụng hồng cầu đông lạnh

Việc sử dụng HCĐL trong dân sự chưa được quan tâm, còn nhiều hạn chế vì lo ngại về chi phí, tính sẵn sàng, thời hạn sử dụng ngắn sau khi rã đông, rửa. Nhưng với hệ thống ACP215 đã đơn giản hóa và đẩy nhanh quá trình điều chế và có thể được lưu trữ lên đến 14 ngày sau khi loại glycerol.

Chưa có nhiều dữ liệu thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên để so sánh giữa truyền FRBCs với hồng cầu thường. Dữ liệu in vivo khi truyền HCĐL còn hạn chế. Có một nghiên cứu mới được tài trợ bởi Không quân Hoa kỳ về hiệu quả và an toàn sau khi truyền HCĐL cho các bệnh nhân chấn thương (trauma patients), cho thấy truyền HCĐL sẽ cho những thông số sinh lý, sinh hóa và lâm sàng tốt hơn so với truyền hồng cầu cũ, và truyền HCĐL sẽ không thua kém so với truyền hồng cầu còn mới[52],[53].

a. Chỉ định:

HCĐL chỉ định sử dụng trong trường hợp thay thế hồng cầu, nên sử dụng trong các trường hợp đặc biệt sau:

- Một số người hiến máu có nghi ngờ nhiễm bệnh túi máu được đông lạnh, nếu sau 6 tháng kết quả kiểm tra sàng lọc vẫn âm tính, túi máu đông lạnh này được coi như an toàn để sử dụng (phòng tránh lây lan virut ở giai đoạn cửa sổ).

- HCĐLgiảm SLBC trong đơn vị máu, sản phẩm sau cùng có SLBC là $1x10^6$ đến $4x10^7$. Rửa HCĐL loại bỏ glycerol không những giảm SLBC mà còn loại bỏ các dung dịch chứa pyruvate, ion, phosphate và adenin được sử dụng để bảo quản HC mà một số nghiên cứu cho thấy nó có ảnh hưởng đến người nhận.

- Chỉ định cho bệnh nhân có nhóm máu hiếm, nhiều kháng thể miễn dịch (multiple alloantibodies)[126].

- Chỉ định cho truyền máu tự thân[69],[73].

b. Lưu ý khi sử dụng HCĐL:

- Tương tự như HCL, HCĐL cần phải thử hòa hợp trước truyền.

- Trong quá trình điều chế HCĐL nguy cơ nhiễm khuẩn tăng, cần cảnh giác trong suốt quá trình truyền.

Bảng 1.8. Chỉ định truyền HCĐL[123]

XN hòa hợp miễn dịch:	Yêu cầu thực hiện
Thể tích:	200 mL
Hạn sử dụng	24 giờ sau rửa hoặc 3 ngày nếu có DD nuôi dưỡng hồng cầu
Điều kiện lưu trữ:	1-6°C tủ lạnh có kiểm soát nhiệt độ
Thời gian chuẩn bị tối thiểu:	12-24 giờ. Thời gian có thể kéo dài hơn nếu được yêu cầu vào ban đêm hoặc cuối tuần
Liều lượng ở người lớn: 1 đơn vị làm tăng 1g Hb	
Liều lượng ở người trẻ em: 5-15 mL/kg cân nặng	
Mô tả: Đơn vị HCL được đông lạnh bằng glycerol và được yêu cầu giải đông, rửa loại bỏ glycerol và sử dụng trong ngày nếu không có DD bảo quản hoặc sử dụng hệ thống rửa hở.	
Chỉ dẫn: Cung cấp cho những bệnh nhân có nhóm máu hiếm, người bệnh có phản ứng sốt lạnh run trong truyền máu, hoặc người bệnh cần giảm bạch cầu trong túi máu cần truyền.	

Chương 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật mới, mô tả hàng loạt ca

2.2. Đối tượng nghiên cứu

2.2.1. Dân số mục tiêu

Các đơn vị máu được hiến tặng từ người hiến máu tình nguyện tại Trung tâm Hiến máu nhân đạo hội Chữ Thập đỏ TP HCM và BV.TMHH

2.2.2. Dân số chọn mẫu

Bao gồm các đơn vị máu toàn phần được tiếp nhận từ người hiến máu tình nguyện hiến tặng, theo tiêu chuẩn qui định.

Các người bệnh có chỉ định truyền hồng cầu lắng đông lạnh ở các bệnh viện trong thành phố từ tháng 10 năm 2010 đến tháng 6 năm 2014.

2.2.3. Cỡ mẫu nghiên cứu

Từ tháng 10 năm 2010 đến tháng 6 năm 2014 dựa trên điều kiện và khả năng thực hiện và nhu cầu sử dụng máu của các bệnh viện trong TP. HCM chúng tôi ước lượng khoảng:

Số đơn vị máu thu thập và đông lạnh: 210 túi

Số đơn vị máu giải đông rửa và sử dụng: 210 túi

2.2.4. Tiêu chuẩn chọn mẫu

2.2.4.1. Người hiến máu

- Người hiến máu tình nguyện hiến máu tại Trung tâm Hiến máu nhân đạo hội Chữ Thập đỏ TP HCM và Bệnh viện Truyền máu - Huyết học.

- Đảm bảo các tiêu chuẩn hiến máu, không có tiền sử bệnh mãn tính và nguy cơ nhiễm các tác nhân lây qua đường truyền máu.

- Ưu tiên người hiến máu lập lại.

- Người hiến máu đã biết nhóm máu của mình.

2.2.4.2. Nhóm máu và thể tích túi máu

- Nhóm máu ưu tiên chọn để đông lạnh:
    - Nhóm máu O RhD âm, nhóm máu A RhD âm, nhóm máu B RhD âm, nhóm máu AB RhD âm, nhóm máu O RhD dương, nhóm máu A RhD dương, B RhD dương, nhóm máu AB RhD dương.
    - Ngoài ra nhóm nghiên cứu cũng sẽ đưa vào tiêu chuẩn chọn mẫu nhóm máu Rh có phenotype R2R2 tần suất gặp ở người Việt Nam là 2,53%. Nhóm máu Duffy có phenotype Fy (a-b+) tần suất gặp ở người Việt Nam là 0,65%.
- Thể tích túi máu:

Hiện tại có 3 loại thể tích túi máu đang được sử dụng cho người hiến máu ở Việt Nam đó là loại thể tích túi máu 250ml, loại thể tích 350ml và loại 450ml. Tùy thuộc vào cân nặng của người hiến máu mà có thể lấy lượng thể tích máu phù hợp theo qui định. Do đó trong nghiên cứu này chúng tôi cũng đưa vào 3 loại thể tích túi máu vào nghiên cứu vì nhóm máu hiếm rất ít người hiến máu, đặc biệt hiến máu cho đông lạnh, và chúng tôi chọn 3 loại thể tích để có thể thấy trên 3 nhóm thể tích này sau khi được đông lạnh sự hao hụt hồng cầu ở 3 loại túi máu có khác biệt hay không.

Thể tích túi máu đưa vào đông lạnh là: Loại túi máu toàn phần thể tích 450 ml ± 10 ml, túi máu toàn phần thể tích 350 ml ± 10 ml và túi máu toàn phần thể tích 250 ml ± 10 ml

2.2.4.3. Xét nghiệm sàng lọc vi rút, vi trùng, ký sinh trùng.

- Các xét nghiệm sàng lọc vi rút, vi trùng: HBsAg, anti IgM HBc, anti HCV, anti $HIV_{1,2}$, anti HTLV1, Sốt rét, Giang mai đều âm tính.

2.2.5. Tiêu chuẩn loại trừ

- Túi máu có thể tích < 250ml
- Một trong các xét nghiệm sàng lọc vi rút, vi trùng, ký sinh trùng có kết quả dương tính.

- Do là nhóm máu hiếm nên ưu tiên nếu có người bệnh có nhu cầu sử dụng túi máu ngay tại thời điểm chuẩn bị đông lạnh thì không đông lạnh và chuyển cho sử dụng nếu nhóm máu của túi máu phù hợp với người bệnh.

2.2.6. Người bệnh sử dụng hồng cầu đông lạnh

Người bệnh sử dụng HCĐL phải thỏa 3 điều kiện sau:

- Bệnh nhân ở mọi lứa tuổi có chỉ định sử dụng HCL cần nhóm máu phù hợp về mặt miễn dịch
- Không có người hiến máu có nhóm máu phù hợp về mặt miễn dịch với người bệnh ngay lúc cần truyền máu.
- Các phản ứng thuận hợp giữa túi HCĐL và máu người nhận máu theo qui định đều âm tính.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp tiến hành

2.3.1.1. Giai đoạn chọn nhóm máu và điều chế hồng cầu để đông lạnh

➢ ***Lựa chọn và vận động người hiến máu hiếm***

- Vận động, tư vấn người có nhóm máu hiếm tham gia hiến máu tình nguyện thường xuyên (để đông lạnh) và hiến máu cho cấp cứu bệnh (đột xuất).
- Quản lý những người có nhóm máu hiếm bao gồm: Họ và tên, mã số, số chứng minh nhân dân, địa chỉ liên lạc, điện thoại, email... qua hệ thống sổ và phần mềm quản lý người cho máu.
- Quản lý thông tin về sức khỏe và tình trạng hiến máu.
- Tổ chức liên lạc và duy trì liên lạc qua điện thoại, email với các thành viên Câu lạc bộ người nhóm máu hiếm.
- Liên hệ, mời gọi hiến máu theo kế hoạch và hiến máu khẩn cấp.
- Các thông tin về người hiến máu được bảo quản theo đúng qui định của Ngân hàng máu và của Bộ Y tế qui định.

➢ ***Khám tuyển chọn lấy máu.***

Tất cả những đối tượng hiến máu TTHM nhân đạo và BV.TMHH từ 01/10/2010 đến 30/12/2013.

Tất cả người hiến máu tham gia hiến máu đều được tư vấn hiến máu tình nguyện hiến máu, trả lời đầy đủ các câu hỏi trong bảng câu hỏi về hiến máu và về lịch sử y khoa của mình.

Và được lựa chọn khi đủ tiêu chuẩn hiến máu về mặt hành chính, lâm sàng và xét nghiệm theo qui định.

➢ ***Lấy máu toàn phần***

- Dùng túi nhựa loại túi đôi có chất chống đông CPDA1, thể tích máu toàn phần được lấy 250ml, hoặc 350ml, hoặc 450ml.
- Sát trùng vùng tĩnh mạch cánh tay của người hiến máu, nhẹ nhàng chích, dòng máu chảy nhanh, thời gian lấy không quá 10 phút.

➢ ***Điều chế Hồng cầu lắng***

- Quay ly tâm túi máu toàn phần tốc độ 3000 vòng/phút trong 20 phút ở nhiệt độ 22^oC (để ở chế độ tự động không dừng đột ngột).
- Lấy túi máu ra khỏi máy ly tâm, dùng máy ép huyết tương để ép huyết tương sang túi khác. Túi HCL có Hct 75 ± 5%.
- Bảo quản túi HCL ở tủ lạnh chuyên dùng 4^0C, chờ các kết quả xét nghiệm sàng lọc và tiến hành đông lạnh.

➢ ***Xét nghiệm sàng lọc túi máu:***

- Túi máu được thực hiện các xét nghiệm sàng lọc vi rút, vi trùng, ký sinh trùng nhằm loại bỏ các tác nhân gây bệnh, đảm bảo an toàn về lây lan bệnh khi người bệnh được truyền máu. Các xét nghiệm được thực hiện bằng kỹ thuật ELISA hoàn toàn tự động.
- Xét nghiệm HBsAg, HCV, HIV, IgMHBc, HTLV, Giang mai, Sốt rét.
- Định danh nhóm máu ABO, Rh hồng cầu.

2.3.1.2. Giai đoạn thực hiện kỹ thuật đông lạnh để bảo quản hồng cầu.

a. Nguyên tắc thực hiện kỹ thuật đông lạnh hồng cầu.

Xác định kỹ thuật thực hiện:

Chọn lựa kỹ thuật bảo quản hồng cầu ở đông lạnh nhiệt độ âm sâu -80^{o}C, chất bảo vệ hồng cầu là dung dịch glycerol nồng độ 40%.

Việc chọn lựa kỹ thuật này là phù hợp với tình hình thực tế ở Ngân hàng máu thành phố Hồ Chí Minh hiện nay và ở Việt Nam vì.

Trang thiết bị như tủ đông lạnh -80^{0}C đã được trang bị tại Ngân hàng máu.

Máy ACP215 đã có tại Ngân hàng máu TP.HCM

Kỹ thuật đông lạnh không cần dùng hệ thống kiểm soát giảm nhiệt như kỹ thuật dùng glycerol nồng độ thấp bảo quản ở - 150^{0}C

Sử dụng hệ thống kit của máy ACP215 ở giai đoạn glycerol hóa và giai đoạn rửa hồng cầu loại bỏ glycerol và các mảnh vụn của tế bào.

Sau rửa hồng cầu, sản phẩm HCĐL được thêm dung dịch bảo quản hồng cầu và được lưu trữ ở tủ lạnh chuyên dụng 4^{0}C trong vòng 3 ngày sẵn sàng sử dụng.

b. Thiết bị và dụng cụ đông lạnh hồng cầu

- Tủ đông lạnh -80^{o}C.
- Máy ACP215 với hệ thống Kit chuyên dùng:
  - Bộ Kit glycerol hóa;
  - Bộ Kit rửa loại bỏ glycerol và các chất sinh học.
- Bể ổn nhiệt (Water bath) EMUB20.
- Nhiệt kế hồng ngoại TFI 650.
- Máy nối dây tiệt trùng.
- Túi rỗng 1000ml Teruflex.
- Bàn ép huyết tương (Manual)
- Máy hàn dây túi máu.

c. Hóa chất sử dụng (công ty Baxter)

+ ***Hóa chất glycerol hóa***

– Dung dịch Glycerol 57,1% (S.A.L.F): Glycerin: 571g; Sodium lactate: 26,67g; Potassium chloride: 0,3g; Sodium phosphate monohydrate: 0,86g; Sodium phosphate dodecahydrate: 2,27g; Osmolarity: 6525,5; pH: 6,6 – 7,0.

+ ***Hóa chất rửa***

– NaCl 12% (Bioluz): Sodium Chloride: 12g

– Dung dịch rửa: NaCl 0.9%, Glucose 0,2% (Bioluz): Sodium Chloride: 0,9g, Glucose (monohydrate):0,2g, Sodium Phosphate dihydrate: 0,034g, Sodium Phosphate dodecahydrate: 0,209g

– Chất nuôi dưỡng SAGM: Sodium Chloride: 8,77g; Adenine: 0,169g; Glucose monohydrate: 9,0g; Mannitol: 5,25g.

d. Kỹ thuật thực hiện

➢ **Giai đoạn glycerol hóa**

Chuẩn bị túi HCL

- Lấy túi máu ra khỏi tủ lạnh dự trữ, làm ấm túi máu ở 37^0C/10 phút
- Chai glycerol lấy ra để ở nhiệt độ phòng trong 10 phút.
- Dùng nhiệt kế hồng ngoại đo nhiệt độ túi đạt từ 20 – 30^0C.

** Yêu cầu nhiệt độ túi HCL và dung dịch glycerol trước khi glycerol hóa từ 20 – 30^0C.*

Cho glycerol vào túi HCL với tỷ lệ:

Tổng thể tích glycerol cho vào túi HCL được tính toán theo tỷ lệ thuận với cân nặng của túi HCL, túi HCL được chia thành 3 mức tương đương với 3 mức thể tích glycerol cho vào sao cho chai glycerol tối đa được đóng gói là 500ml.

Bảng 2.1. Lượng dung dịch glycerol vào túi máu với sự tính toán như sau

Cân thực tế đơn vị HCL (gr)	Thêm glycerol lần 1 (ml)	Thêm glycerol lần 2 (ml)	Thêm glycerol lần 3 (ml)	Tổng glycerol thêm vào
151 – 200	50	50	250	350
201 – 240	50	50	350	450
241 – 350	50	50	400	500

(Nguồn: *AABB Technical Manual 17th* [32])

Thực hiện kỹ thuật:

- Thực hiện trên máy ACP215 với bộ Kit chuyên dùng. Qui trình thực hiện trên máy theo phụ lục 4.
- Hàn dây và cắt rời túi HC-glycerol ra khỏi bộ Kit.
- Sau khi đã cho dung dịch glycerol vào túi HCL theo cân nặng túi HCL, túi HCL được làm giảm thể tích bằng cách loại bớt dung dịch glycerol ra.

Loại bớt DD glycerol của túi HCL được glycerol hóa

- Ly tâm túi hồng cầu đã glycerol hóa 2000 vòng/ phút x 6 phút ở 22^0C trong (chú ý phần tốc độ tăng lên 7, thắng 0).

** Chú ý: Chế độ thắng của máy ly tâm nên đặt ở mức 0, sẽ giảm thiểu tối đa các tế bào hồng cầu bị trộn lẫn.*

- Loại bớt glycerol trước khi trữ HCL bằng cách túi máu được quay ly tâm lạnh và dùng dụng cụ ép huyết tương bằng tay để ép bớt phần dung dịch glycerol phía trên qua một túi rỗng khác, xác định túi chứa hồng cầu có Hct 60 ± 5 %. Lắc nhẹ và trộn đều túi HC đã glycerol hóa để tạo độ huyền phù cho túi tránh tán huyết trong suốt quá trình đông lạnh.
- Cân trọng lượng, lấy mẫu kiểm tra chất lượng túi sau glycerol.
- Nồng độ glycerol cuối cùng khoảng 40% và lượng hematocrit của túi đã glycerol hóa 60 ± 5%.

➢ ***Giai đoạn bảo quản đông lạnh***

- Dán nhãn và các thông tin cần thiết lên túi máu
- Cho vào hộp bảo vệ cùng các mẫu xét nghiệm (nếu cần)
- Đông lạnh ở -80^0C trong suốt 24 giờ để đảm bảo sự đông lạnh diễn ra chính xác. Sau 24 giờ, có thể xếp các túi vào trong khay.
- Túi HC phải được xếp ngăn nắp sao cho diện tích trao đổi nhiệt lớn nhất và không xếp chồng các túi máu lên nhau.
- Nhập danh sách lưu trữ.
- Túi máu được bảo quản ở tủ đông -80^0C (nhiệt độ giao động -65^0C đến -90^0C)

- Thời gian lưu trữ trong 10 năm.
- Chú ý: Không được để túi máu bên ngoài quá 4 giờ từ lúc lấy túi máu từ tủ 4^0C đến khi được đưa vào tủ đông lạnh -80^0C.
- Theo dõi nhiệt độ tủ lạnh trong suốt thời gian dự trữ. Bảng theo dõi nhiệt độ (Phụ lục 3).

➢ **Giải đông và rửa loại bỏ glycerol của HCĐL**

Giai đoạn giải đông

- Bật công tắc nguồn bồn giải đông để nước ấm lên khoảng 36^0C. Dùng nhiệt kế kiểm tra lại nhiệt độ của nước ổn định ở khoảng 36 ± 1^0C.
- Lấy túi ra khỏi tủ đông. Kiểm tra sự nguyên vẹn của túi máu đông lạnh.
- Ghi nhận thời gian bắt đầu giải đông khi đặt túi HCĐL vào bể ổn nhiệt. Thời gian này được xem như thời gian bắt đầu quá trình loại bỏ glycerol hồng cầu.
- Giải đông bằng cách ngâm vào bồn giải đông, đặt túi xuống đáy bể, đầu túi ở phía trên mặt nước và duy trì trong suốt quá trình giải đông.
- Lấy túi ra khỏi bồn giải đông và kiểm tra nhiệt độ của túi bằng nhiệt kế hồng ngoại, nhiệt độ túi trong khoảng 30 đến 34^0C, và lau khô túi.
- Túi HCĐL sau khi được giải đông đã sẵn sàng cho việc loại bỏ glycerol.

Giai đoạn rửa loại bỏ glycerol

- **Kỹ thuật thực hiện:**

- Thực hiện thao tác kỹ thuật trên máy ACP215, Qui trình thực hiện trên máy theo phụ lục 6

Chú ý: Quy trình giải đông và rửa glycerol phải hoàn thành trong 2 giờ tính từ lúc mang túi HCĐL ra khỏi tủ đông -80^0C, nhiệt độ túi HCĐL sau giải đông từ 30–34^0C.

Quá trình chạy máy lưu ý lượng hồng cầu tràn ở bowl ly tâm nguy cơ mất hồng cầu ra ngoài nước rửa cao, hao hụt hồng cầu sẽ nhiều.

Hình 2.1. Máy ACP215

Hình 2.2. Sơ đồ lắp ráp bộ Kit vào máy ACP215

Hình 2.3. Bồn giải đông

Hình 2.4.Tủ trữ đông hồng cầu

Hình 2.5. Quy trình glycerol hóa

Hình 2.6. Quy trình loại bỏ glycerol

Hình 2.7. Nhiệt kế hồng ngoại

Hình 2. 8. Túi rỗng 1000 mL

Hình 2.9. Máy nối dây vô trùng

Hình 2.10. Máy ép huyết tương tự động

➢ **Bảo quản lưu trữ và cấp phát**

- Túi HCĐL bảo quản ở tủ lạnh chuyên dùng nhiệt độ 4^0C, thời gian tối đa 3 ngày.
- Đánh giá chất lượng sản phẩm
    - Lượng Hb g/túi; Hct; Số lượng bạch cầu/ túi
    - Nồng độ K^+ ngoài tế bào.
    - Số dư glycerol
    - pH túi máu.
    - Đánh giá mức độ nhiễm trùng: Cấy máu.

2.3.1.3. Sử dụng HCĐL cho điều trị

➢ Thời gian đánh giá:

- Đánh giá hiệu quả truyền HCĐL bằng cách đo nồng độ Hb của bệnh nhân trước và sau truyền trong thời gian 24 giờ, 48 giờ, và 72 giờ.

➢ Hiệu quả truyền

- Hiệu quả truyền được tính theo công thức:

- Vml hồng cầu cần truyền = Kg (người bệnh) x Hb cần tăng x 3 hoặc 4[127].
- Hoặc truyền 1 túi máu loại 450ml làm tăng Hb 1g/dl hoặc tăng từ 3-4% Hct[3].

    - Hiệu suất truyền là truyền 1 túi máu toàn phần ban đầu 450ml tăng Hb 1g/dl. Do đó hiệu suất truyền là 100% nếu Hb sau truyền tăng 1g/dl, nếu tăng 0,1g/dl hiệu suất truyền là 10%, tăng 0,2g/dl hiệu suất truyền là 20%, tăng 0,3g/dl hiệu suất truyền là 30%, tăng 0,4g/dl hiệu suất truyền là 40%, tăng 0,5g/dl hiệu suất truyền là 50%, tăng 0,6g/dl hiệu suất truyền là 60%, tăng 0,7g/dl hiệu suất truyền là 70%, tăng 0,8g/dl hiệu suất truyền là 80%, tăng 0,9g/dl hiệu suất truyền là 90% và tăng 1g/dl hiệu suất truyền là 100%.

    - So sánh nồng độ Hb người bệnh trước khi truyền và sau khi truyền 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ với nồng độ Hb cần tăng theo thể tích đơn vị HCĐL được truyền.

- So sánh với mức chuẩn Hb đã tính toán cần tăng trên mỗi bệnh nhân, nếu nồng độ Hb đạt trên bằng ngưỡng yêu cầu thì hiệu quả truyền là 100%, nếu đạt dưới mức yêu cầu được tính hiệu quả chia theo tỷ lệ %.
- Cách tính đưa vào theo 3 mức sau

  Mức 80% đến 100%, Mức 60% đến 80%, và mức <60%

➢ Tác dụng phụ khi truyền hồng cầu đông lạnh

- Theo dõi các phản ứng hoặc các tai biến do truyền hồng cầu đông lạnh trong thời gian 24 giờ, 48 giờ, và 72 giờ: các triệu chứng như sốt lạnh run, nổi mề đay, tụt huyết áp, mạch nhanh, khó thở.

2.3.2. Phương tiện nghiên cứu

2.3.2.1. Thiết bị và dụng cụ lấy máu toàn phần điều chế hồng cầu lắng

a. Lấy máu toàn phần.

- Túi máu đôi, ba loại 250ml, 350ml, hoặc 450ml.
- Máy lắc lấy máu
- Tube nhựa có chất chống đông EDTA; Kìm tuốt dây; Máy hàn dây túi máu

b. Điều chế hồng cầu lắng;

- Máy ly tâm lạnh
- Máy ép huyết tương Compomat G4.
- Tủ lạnh 4^0C.

2.3.2.2. Các phương tiện đánh giá chất lượng sản phẩm

- Máy huyết đồ 18 thông số
- Kính hiển vi
- Máy đo độ khúc xạ cầm tay (hiệu ATAGO UNICON-NE.CAT. no. 2722).
- Máy đo điện giải;
- Máy cấy máu.

Công thức:

Trọng lượng máu = khối lượng túi đã loại bỏ glycerol - khối lượng túi rỗng (30g)

Tỷ trọng của máu sau loại bỏ glycerol = (0,0693 x Hct) + 1,005.

Thể tích túi HCĐL = Trọng lượng máu/ Tỷ trọng.

Khối hồng cầu = Thể tích túi HCĐL x Hct.

Cấy máu

Sử dụng hệ thống máy cấy máu tự động của hãng Bactec. Mẫu được kiểm tra vi khuẩn hiếu khí và kỵ khí.

Đo ion K^+: Đo ion K^+ bằng máy Elite.

Đo độ khúc xạ: Dùng máy đo độ khúc xạ cầm tay

Nhỏ 1 mL mẫu vào đoạn khúc xạ đầu kế của máy, đọc kết quả, xác định độ khúc xạ, nếu giá trị khúc xạ < 1,3335 tương ứng với lượng glycerol còn lại trong túi HCĐL < 1g%.

Tính toán lượng Hb trong túi HCĐL

Hb còn lại = tổng Hb trong túi máu – Hb tự do

2.4. Phương pháp thu thập và xử lý số liệu

2.4.1. Nguồn số liệu

- Thông tin về hành chính từ phiếu đăng ký hiến máu, sổ sách.
- Thông tin về kết quả thu thập, xét nghiệm, cung cấp máu.
- Các số liệu được thu thập vào phiếu thu thập số liệu theo từng giai đoạn.
- Người bệnh có chỉ định sử dụng HCĐL thời gian từ 10/2010 đến tháng 6/2014.

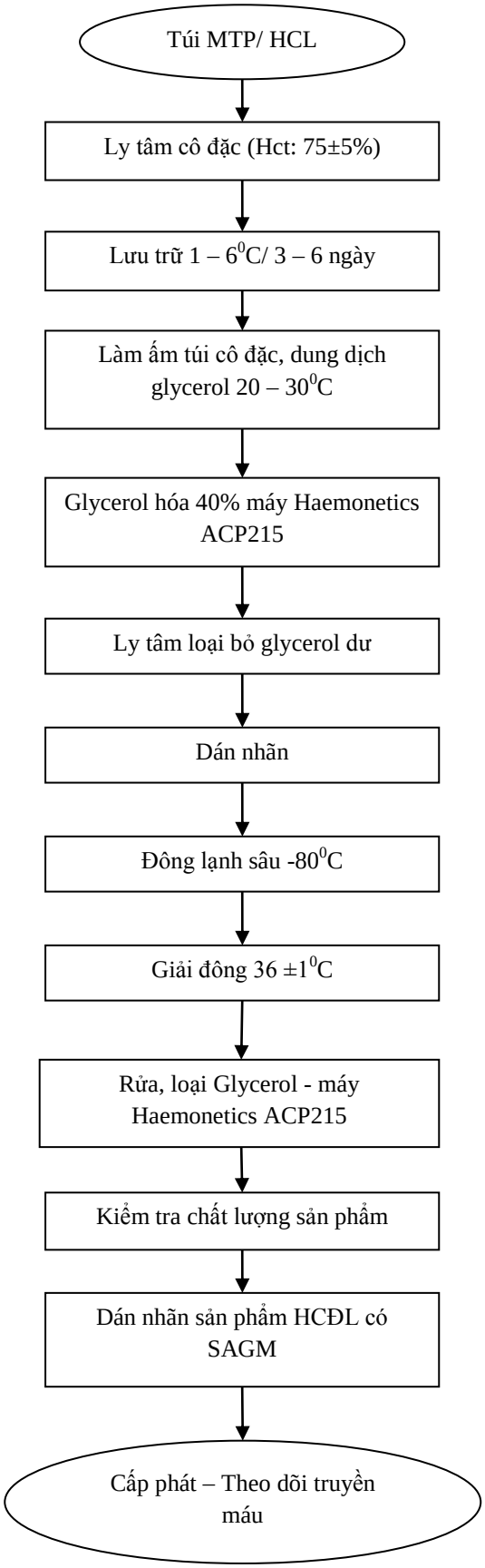
2.4.2. Xử lý thống kê

- Nhập, quản lý và truy xuất thông tin kết quả nghiên cứu.
- Xử lý thông tin theo kết quả nghiên cứu.
- Sử dụng phần mềm thống kê trong y học như STATA và Epi-info 6,04 xử lý số liệu kết quả nghiên cứu.
- Các kết quả được trình bày dưới dạng bảng hoặc biểu đồ.
- Sử dụng phép kiểm chi bình phương (chi square test) so sánh trị số trung bình, các biến số từng giai đoạn xử lý.
- Với độ tin cậy 95%, ngưỡng p = 0,05 được chọn có ý nghĩa thống kê, chỉ số P nếu dưới từ < 1×10^{-3} được ghi là P < 0,001.

2.5. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu

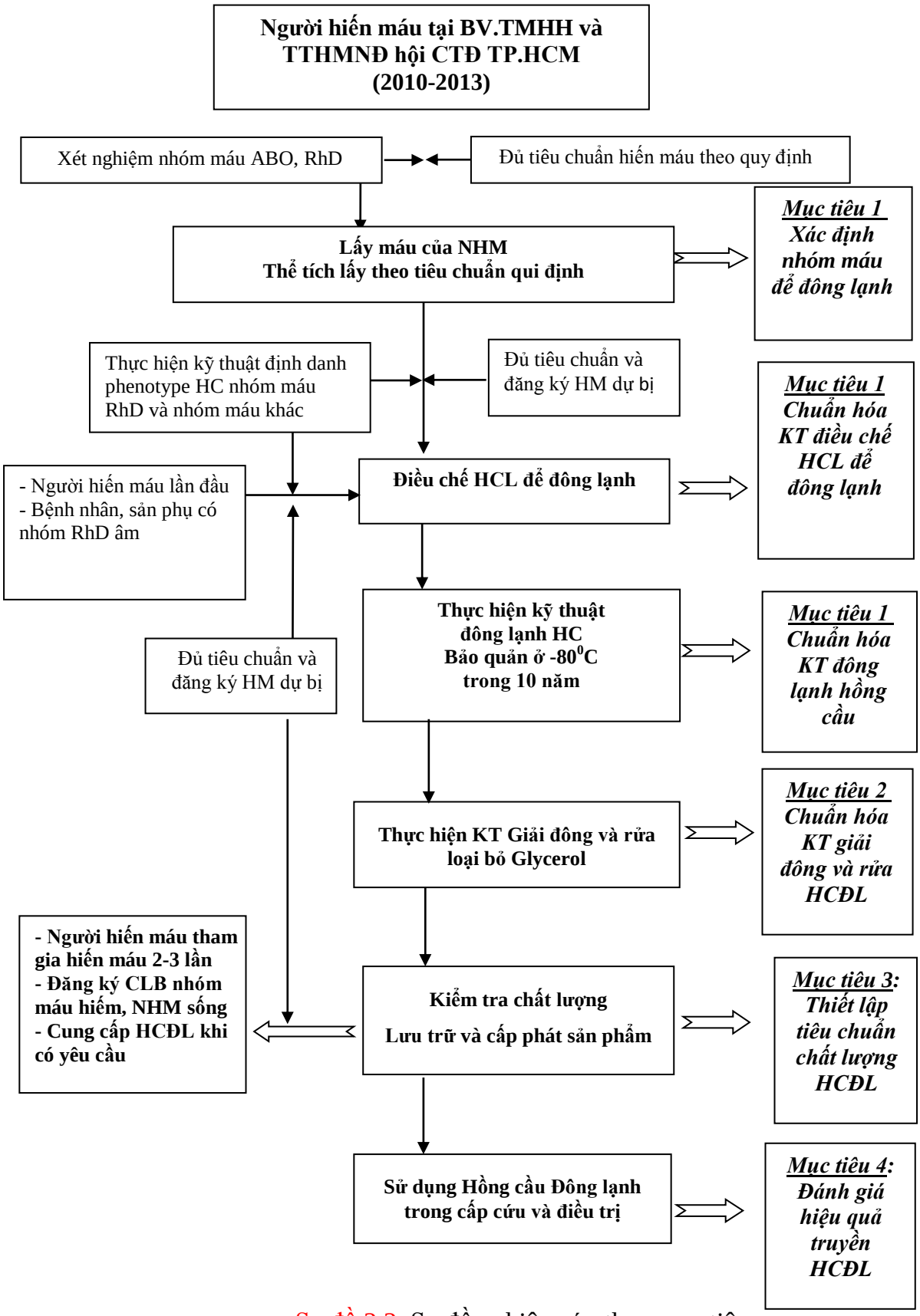
Nghiên cứu thực hiện ở những túi máu được thu thập từ người hiến máu tình nguyện. Người bệnh được truyền máu được giải thích và đồng ý tham gia nghiên cứu. Các túi máu được kiểm tra chất lượng theo tiêu chuẩn của Châu Âu và của Quốc gia. Người bệnh chỉ định truyền HCĐL là người bệnh cần được truyền máu gấp nhưng chưa có người hiến máu đến hiến kịp thời. Các túi HCĐL truyền cho người bệnh đảm bảo phù hợp về miễn dịch, được thực hiện các xét nghiệm trước truyền máu theo đúng qui định của Bộ Y tế.

Hội đồng đạo đức của BV.TMHH thông qua đề tài nghiên cứu.



Sơ đồ 2.1. Qui trình đông lạnh hồng cầu với dung dịch glycerol 40%

2.6. Sơ đồ nghiên cứu



Sơ đồ 2.2. Sơ đồ nghiên cứu theo mục tiêu

Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Từ tháng 10 năm 2010 đến tháng 6 năm 2014 chúng tôi tiến hành thực hiện nghiên cứu với kết quả được trình bày như sau.

Tổng số mẫu thu nhận là 442 túi máu, đông lạnh là 442 túi máu

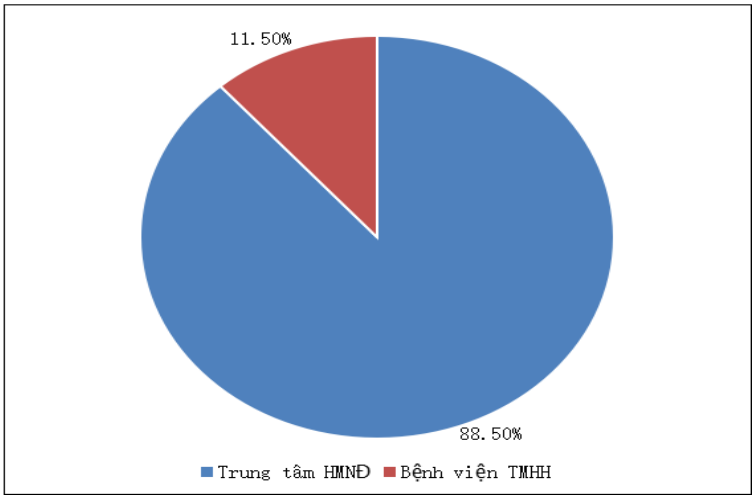
Xử lý và đưa vào sử dụng là 210 túi hồng cầu đông lạnh nên số mẫu đưa vào nghiên cứu là 210 túi. Tất cả các mẫu được đông lạnh và giải đông cấp phát theo nhu cầu cấp cứu và điều trị bệnh cho các bệnh viện.

3.1. Hoàn thiện qui trình xử lý HC để đông lạnh

3.1.1. Đặc điểm nguồn máu để đông lạnh

3.1.1.1. Nguồn máu được tiếp nhận

Trong 210 túi máu đông lạnh của nghiên cứu này có nguồn tiếp nhận từ TTHMNĐ hội CTĐ TP là 186 túi và từ BV.TMHH là 24 túi.



Biểu đồ 3.1. Phân bố theo nguồn tiếp nhận máu để đông lạnh

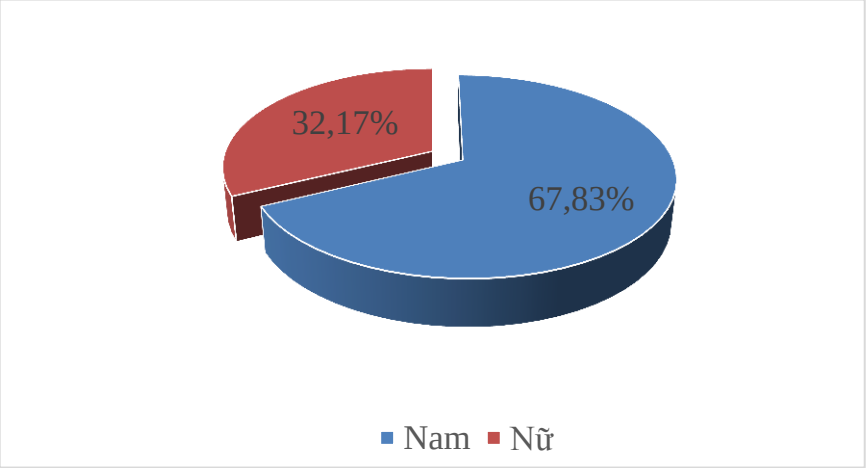
Nhận xét:

Kết quả ở biểu đồ 3.1 cho thấy trong số 210 túi máu đưa và đông lạnh có nguồn tiếp nhận chủ yếu từ TTHMNĐ hội CTĐ TP chiếm 88,5%.

3.1.1.2. Người hiến máu

a. Giới tính

Số mẫu trong nghiên cứu nhận từ 177 người hiến máu trong đó từ 120 người nam (67,79%) và từ 57 người nữ (32,21%). Người hiến máu RhD âm chiếm đa số như biểu đồ 3.2



Biểu đồ 3.2. Phân bố theo giới ở người hiến máu RhD âm

Nhận xét:

Trong 143 người hiến máu RhD âm có 97 nam, chiếm tỷ lệ 67,83 % và 46 nữ chiếm tỷ lệ 32,17 %.

b. Số lần hiến máu cho đông lạnh

Bảng 3.1. Số lần người hiến máu RhD âm hiến máu để đông lạnh

Số lần hiến Tổng số người hiến	1 lần	2 lần	3 lần	4 lần
143	118	19	4	2
%	82,51	13,28	2,79	1,39

Nhận xét:

Đa số người hiến máu chỉ hiến 1 lần chiếm tỷ lệ 82,51 %, hiếm người hiến 3 lần (2,79%) hoặc hiến 4 lần (1,39%)

3.1.1.3. Đặc điểm kiểu hình nhóm máu tiếp nhận để đông lạnh

Bảng 3.2. Kiểu hình nhóm máu lấy để đông lạnh

Số mẫu HC Đông lạnh (%)	Nhóm máu/ Kiểu hình	Phenotype Nhóm máu Rhesus	Số mẫu	Mức độ hiếm gặp
50 (23,81%)	A, Rh(D) âm	Rr	42	*Hiếm*
		r'r	7	*Rất hiếm*
		r'r'	1	*Rất hiếm*
21 (10,00%)	B, RhD âm	Rr	18	*Hiếm*
		r'r	3	*Rất hiếm*
		r'r'	0	*Hiếm*
99 (47,15%)	O, RhD âm	Rr	79	*Hiếm*
		r'r	19	*Rất hiếm*
		r'r'	1	*Hiếm*
7 (3,33%)	AB, RhD âm	Rr	4	*Rất hiếm*
		r'r	3	*Rất hiếm*
28 (13,33%)	O, RhD dương	R1R1	23	*Thông thường*
		R1R0	2	*Rất hiếm*
		R1R2	1	*Rất hiếm*
		R2R2	1	*Rất hiếm*
		R2R0	1	*Rất hiếm*
1 (0,48%)	A, RhD dương	R2R2	1	*Rất hiếm*
4 (1,90%)	AB, RhD dương	R1R1	4	*Thông thường*
100%	Tổng cộng		210	

Nhận xét:

Nhóm máu được ưu tiên đưa vào đông lạnh và sử dụng là nhóm máu RhD âm, trong đó nhóm máu O, RhD âm có 99 túi chiếm cao nhất 47,15%. Các nhóm máu RhD dương được đông lạnh có kiểu hình hiếm như R2R2, R2R0, R1R2, R1R0 chỉ có 1 đến 2 túi. Loại nhóm máu với R1R1 được đông lạnh với 23 túi máu nhóm O và 4 túi nhóm máu AB.

3.1.1.4. Thể tích máu lấy để đông lạnh

Bảng 3.3. Số lượng túi máu theo thể tích và nhóm máu

Loại thể tích		Nhóm máu							Tổng cộng
		O-	A-	B-	AB-	O+	A+	AB+	
250 mL (nhóm 1)	Số lượng	9	3	4	0	0	0	0	16
	%	4,28	1,42	1,90	/	/	/	/	7,60
350 mL (nhóm 2)	Số lượng	68	39	8	7	9	0	0	131
	%	32,39	18,58	3,81	3,33	4,29	/	/	62,40
450 mL (nhóm 3)	Số lượng	22	8	9	0	19	1	4	63
	%	10,48	3,81	4,29	/	9,05	0,48	1,90	30,00
Tổng cộng	Số lượng	99	50	21	7	28	1	4	210
	% theo nhóm máu	47,15	23,81	10,00	3,33%	13,33	0,48	1,90	100

Nhận xét:

Có 3 loại thể tích máu lấy là loại 250ml, 350ml, và 450ml với tỷ lệ tương ứng là 7,60%, 62,40% và 30%, trong đó loại thể tích máu 350ml của nhóm máu O RhD âm chiếm tỷ lệ cao nhất (32,39%).

3.1.2. Giai đoạn điều chế HCL để đông lạnh.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng máy ly tâm lạnh chuyên dụng để ly tâm túi máu toàn phần và chiết tách huyết tương điều chế hồng cầu lắng.

3.1.2.1. Kết quả đặc điểm của túi HCL điều chế để đông lạnh

Các túi HCL sau điều chế sử dụng cho đông lạnh được đánh giá các đặc điểm như thể tích, các thành phần tế bào máu, K^+, pH theo các bảng từ 3.4 đến 3.7 như sau

Bảng 3. 4. Thể tích và Hct túi HCL

Thể tích máu toàn phần	Thể tích túi HCL (ml)	Hct túi HCL (%)				Số mẫu
		Trung bình	Độ lệch chuẩn	Thấp nhất	Cao nhất	
250ml (Nhóm 1)	152,00 ± 10,10	73,81	±4,15	66,2	83,6	16
350ml (Nhóm 2)	210,12 ± 10.34	73,56	±5,01	65,4	83,8	131
450ml (Nhóm 3)	280,25 ± 12,85	75,31	±4,39	70,3	84,5	63

Nhận xét:

Thể tích túi HCL tăng dần theo thể tích túi máu lấy ban đầu. Thể tích HCL của nhóm 1, nhóm 2 và nhóm 3 sau điều chế lần lượt là 152ml, 210ml và 280ml tuy nhiên Hct giữa các nhóm có trung bình từ 73,8% đến 75,3%, không dao động nhiều.

Bảng 3. 5. Tổng lượng Hb trong túi HCL

Thể tích MTP	Thể tích Hồng cầu lắng (ml)	Lượng Hb (g/túi)			
		Trung bình	Độ lệch chuẩn	Thấp nhất	Cao nhất
250ml	152,00 ± 10,10	28.55	± 2,08	26,3	32,2
350ml	210,12 ± 10,34	44.20	± 2,40	36,5	48,2
450ml	280,25 ± 12,85	55.82	± 3,60	48,2	63,4

Nhận xét: Nồng độ Hb của túi HCL tăng theo thể tích túi máu toàn phần ban đầu cao nhất là 55,8 ± 3,6g /túi và thấp nhất là 28,6 ± 2,08g /túi.

Bảng 3. 6. SLBC túi HCL trước đông lạnh

Thể tích MTP	SLBC ($x10^8$)			
	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Thấp nhất	Cao nhất
250ml	6,14	± 0,73	4,9	7,2
350ml	7,12	± 1,15	5,2	11,2
450ml	7,64	± 0,93	4,8	10

Nhận xét:

SLBC trung bình trong túi HCL tăng theo thể tích túi máu, thấp nhất ở túi máu loại thể tích 250ml là (6,14 ± 0,73x10^8) và cao nhất ở túi máu loại thể tích 450ml (7,64 ± 0,93 x10^8).

Bảng 3. 7. Nồng độ K^+, pH, trung bình Hct, và tình trạnh cấy máu của các túi HCL

Đặc điểm	Trung bình	Độ lệch chuẩn
Hct (%)	74,11	± 4,82
Nồng độ K^+ ngoại bào (mEq/L)	4,29	± 1,12
Độ pH	7,1	± 0,2
Cấy máu	Âm tính	

Nhận xét:

Hct trung bình của các túi máu là 74,11 ± 4,82 %, nồng độ K^+ ngoại bào là 4,29 mEq/L, độ pH trong giới hạn cho phép và tất cả các túi máu đều có cấy máu âm tính.

3.1.2.2. So sánh HCL điều chế để đông lạnh với HCL thông thường theo tiêu chuẩn của BV.TMHH

Ngân hàng máu BV.TMHH là nơi cung cấp máu cho các bệnh viện tại thành phố Hồ Chí Minh (ngoại trừ TTTMKV Chợ Rẫy), các tiêu chuẩn của túi HCL đạt tiêu chuẩn quốc gia, vì vậy các đặc điểm của túi HCL trong nghiên cứu được so sánh với tiêu chuẩn túi HCL của BV.TMHH theo bảng sau.

Bảng 3. 8. So sánh tham số Hb, Hct và SLBC với tiêu chuẩn của BV.TMHH

	Thể tích máu lấy ban đầu	Kết quả mẫu chọn để đông lạnh	Tiêu chuẩn của BV.TMHH
Nồng độ Hb (g/túi)	250ml	28,55 ± 2,08	≥ 25
	350ml	44,20 ± 2,40	≥ 35
	450ml	55,82 ± 3,60	≥ 45
Hct %	250ml	73,81 ± 4,15	50-70
	350ml	73,56 ± 5,01	
	450ml	75,31 ± 4,39	
Số lượng Bạch cầu ($x10^8$)	250ml	6,14 ± 0,73	<1,2 $x10^9$
	350ml	7,12 ± 1,15	
	450ml	7,64 ± 0,93	

Nhận xét:

Các tiêu chuẩn về lượng Hb, SLBC đạt chất lượng so với tiêu chuẩn của BV.TMHH đề ra. Về mức Hct thì kết quả trong nghiên cứu này cao hơn tiêu chuẩn Hct thường dùng tại bệnh viện.

3.1.3. Thiết lập qui trình kỹ thuật glycerol hóa túi HCL để đông lạnh

3.1.3.1. Thời gian túi HCL chờ được glycerol hóa

Thời gian chờ đông lạnh là do phải có kết quả sàng lọc để quyết định chọn túi máu vào đông lạnh. Ngoài ra, một số trường hợp dự trù máu RhD âm nhưng không sử dụng nên chúng tôi cũng chọn vào đông lạnh

Bảng 3. 9. Thời gian HCL chờ glycerol hóa

Số ngày chờ	Số lượng theo từng loại thể tích			Tổng số	Tỷ lệ
	250 ml	350ml	450ml		
≤ 6 ngày	11	112	47	170	80,95
> 6 ngày đến 11 ngày	5	19	16	40	19,05
Tổng cộng	16	131	63	210	100%

Nhận xét:

Thời gian chờ đông lạnh với số ngày ≤ 6 ngày là 170 mẫu và > 6 ngày là 40 mẫu.

3.1.3.2. HCL được glycerol hóa và làm giảm thể tích trước khi đông lạnh

Các túi HCL đạt tiêu chuẩn sẽ được chọn vào để tiến hành glycerol hóa trên máy ACP215 theo phụ lục 4. Lượng dung dịch glycerol cho vào túi HCL được điều chỉnh theo bảng 2.1. Sau đó túi HCL sẽ được tiến hành bước làm giảm thể tích để tiến hành bước lưu trữ đông lạnh, quy trình thực hiện làm giảm thể tích túi HCL glycerol hóa theo phụ lục 5. Trong quá trình glycerol hóa và làm giảm thể tích, các thông số của túi HCL có sự thay đổi so với trước glycerol hóa theo các bảng từ 3.10 đến 3.16 như sau:

Bảng 3. 10. Thể tích và mức Hct của túi HCL glycerol hóa được làm giảm thể tích

Thể tích máu toàn phần	Thể tích HCL (ml)	Hct (%)/ túi HCL				Số mẫu
		Trung bình	Độ lệch chuẩn	Thấp nhất	Cao nhất	
250ml	213,19 ± 11,98	57,80	± 2,94	51,7	63,6	16
350ml	257,42 ± 16,40	59,80	± 4,46	51,2	72,9	131
450ml	352,71 ± 16,17	59,95	± 5,68	51,6	72,7	63

Nhận xét:

Túi máu toàn phần sau khi điều chế HCL cho glycerol vào và được làm giảm thể tích có thể tích trung bình từ 213,19 ml đến 352,71 ml.

Bảng 3. 11. Tham số Hb của túi HCL sau glycerol hóa

Thể tích máu toàn phần	Lượng Hb túi HCL đã cho glycerol (g/túi)				Số mẫu	Tỷ lệ %
	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Thấp nhất	Cao nhất		
250ml	27,93	± 2,09	25,2	31,6	16	7,60
350ml	43,58	± 2,41	35,8	47,8	131	62,40
450m	55,13	± 3,64	47,5	62,5	63	30

Nhận xét:

Lượng Hb của túi HCL glycerol hóa và được làm giảm thể tích là 27,93 ± 2,09g/túi, đến 55,13 ± 3,64g/túi.

Bảng 3. 12. So sánh lượng Hb trong túi HCL trước và sau glycerol hóa

Thể tích MTP ban đầu	**Hb toàn bộ (g/túi)**				
	Trước glycerol hóa	Sau glycerol hóa	Hao hụt	Tỷ lệ %	P
250ml	28,55 ± 2,08	27,93 ± 2,09	0,62 ± 0,29	2,16	P = 0,40
350ml	44,20 ± 2,40	43,58 ± 2,41	0,62 ± 0,24	1,40	P = 0,30
450ml	55,82 ± 3,60	55,13 ± 3,64	0,70 ± 0,26	1,25	P = 0,28

Nhận xét:

Có sự hao hụt Hb của túi HCL trước và sau glycerol hóa, sự hao hụt này không có ý nghĩa thống kê ở cả 3 nhóm thể tích.

Bảng 3. 13. SLBC của túi HCL sau glycerol hóa

Thể tích MTP	**SLBC túi HCL (x10^8)**			
	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Thấp nhất	Cao nhất
250ml	5,42	± 1,79	2,3	7,2
350ml	6,52	± 2,00	2,1	11,1
450ml	6,97	± 2,17	2,1	9,8

Nhận xét:

SLBC trong túi HCL sau glycerol hóa từ 5,42 ± 1,79 (x10^8) đến 6,97 ± 2,17 (x10^8)

Bảng 3. 14. So sánh SLBC trước và sau glycerol hóa

Thể tích MTP ban đầu	**SLBC toàn bộ (x10^8/túi)**			
	Trước glycerol hóa	Sau glycerol hóa	Hao hụt (%)	P
250ml	6,14 ± 0,73	5,43 ± 1,79	0,72 ± 1,37 (11,70)	P < 0,01
350ml	7,12 ± 1,15	6,52 ± 2,00	0,60 ± 1,30 (8,44)	P < 0,003
450ml	7,64 ± 0,93	6,97 ± 2,17	0,63 ± 1,63 (8,76)	P < 0,02

Nhận xét:

SLBC ở túi HCL sau glycerol hóa thấp hơn so với SLBC trước glycerol hóa. Sự giảm này chiếm tỷ lệ từ 8,44% đến 11,70%.

Bảng 3. 15. Nồng độ K^+, pH, Hct túi HCL sau glycerol hóa trước đông lạnh

Đặc điểm túi máu	**Trung bình**	**Độ lệch chuẩn**
Hct (%)	59,69	± 4,78
Nồng độ K+ ngoại bào (mEq/L)	5,02	± 0,85
Độ pH/ túi	7,0	± 0,2
Cấy máu	Âm tính	

Nhận xét:

Túi HCL sau glycerol hóa có đặc điểm trung bình Hct là 59,69 ± 4,78%, nồng độ K^+ ngoại bào 5,02 mEq/L, và độ pH là 7,0. Tất cả các túi HCL đều có cấy máu âm tính.

Bảng 3. 16. So sánh nồng độ K^+, pH, Hct của túi HCL trước và sau glycerol hóa

Đặc điểm túi máu	**Trước glycerol hóa**	**Sau Glycerol hóa**	**P**
Hct (%)	74,11 ± 4,82	59,69 ± 4,78	Thay đổi
Nồng độ K^+ ngoại bào (mEq/L)	4,29 ± 1,12	5,02 ± 0,85	P > 0,05
Độ pH/ túi	7,1 ± 0,2	7,0 ± 0,2	P > 0,05
Cấy máu		Âm tính	

Nhận xét:

Túi HCL trước glycerol và sau glycerol có độ pH không thay đổi. Nồng độ K^+ cao hơn ở túi HCL sau glycerol chứng tỏ có sự tán huyết nội bào. Mức Hct thấp sau glycerol hóa.

3.1.3.3. Các yếu tố liên quan đến lượng Hb của túi HCL sau khi được glycerol hóa.

a. Tương quan tỷ lệ Hct với cân nặng của túi HCL

Bảng 3. 17. Tương quan giữa Hct và trọng lượng HCL trước glycerol hóa

Thể tích MTP	Thể tích túi HCL	Trọng lượng (g)	Nồng độ Hct túi HCL	Nồng độ Hb túi HCL (g/túi)	V Glycerol sử dụng	Hệ số tương quan giữa trọng lượng và Hct	Hệ số tương quan giữa trọng lượng và lượng Glycerol sử dụng	Hệ số tương quan Hct và lượng Glycerol sử dụng
250 ml	152,00 ± 10,10	167,2	73,81 ± 4,15	28,55 ± 2,08	305	R = -0,70	R = 0,61	R = -0,52
350 ml	210,12 ± 10,34	231,1	73,56 ± 5,01	44,20 ± 2,40	356	R = -0,71	R = 0,71	R = -0,55
450 ml	280,25 ± 12,85	308,2	75,31 ± 4,39	55,82 ± 3,60	400	R = -0,69	R = 0,65	R = -0,56
						Tương quan tỷ lệ nghịch (Hct thấp cân nặng túi máu cao)	Tương quan tỷ lệ thuận (cân nặng cao thì sử dụng nhiều glycerol)	Tương quan tỷ lệ nghịch (Hct thấp sử dụng glycerol nhiều)

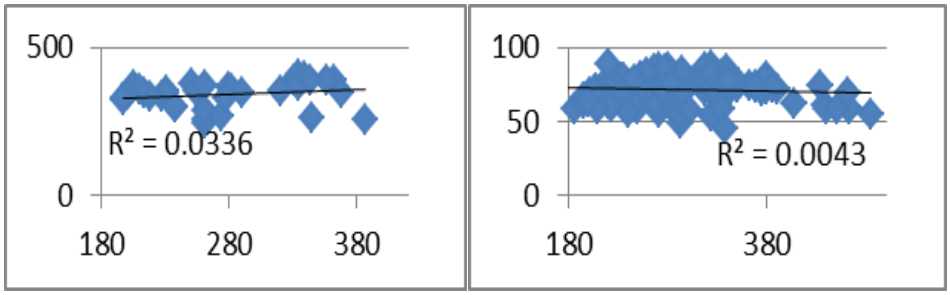
* Ghi chú: R > 0: tương quan thuận

R < 0: tương quan nghịch

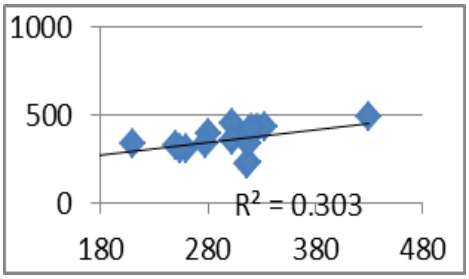
Nhận xét :

Có mối tương quan tỷ lệ nghịch giữa Hct với cân nặng túi máu với hệ số lần lượt là -0,70, -0,71 và -0,69 (P = 0,015 < 0,05). Như vậy Hct thấp thì cân nặng túi máu tăng và ngược lại Hct cao thì cân nặng giảm.

b. Tương quan cân nặng túi máu với thể tích glycerol cho vào



Túi máu loại thể tích 450ml Túi máu loại thể tích 350ml



Túi máu loại thể tích 250ml

Biểu đồ 3. 3. Tương quan thể tích glycerol cho vào theo cân nặng túi máu.

Nhận xét:

Có mối tương quan tỷ lệ thuận giữa thể tích glycerol sử dụng với cân nặng túi máu ($p < 0,05$) với hệ số tương quan $R > 0$. Như vậy, túi máu có Hct thấp thì cân nặng tăng và cân nặng tỷ lệ thuận với thể tích glycerol.

3.1.4. Bảo quản đông lạnh hồng cầu

Tất cả 210 túi HCL đủ tiêu chuẩn sau khi glycerol hóa, loại bỏ bớt glycerol được dán nhãn "**Hồng cầu đông lạnh**" và lưu trữ ở -80^0C trong hệ thống tủ lạnh chuyên dụng, thời gian bảo quản túi máu trung bình là 10 năm.

3.2. Hoàn thiện kỹ thuật giải đông – rửa loại bỏ glycerol và đặc điểm của HCĐL sau giải đông

3.2.1. Thời gian đông lạnh hồng cầu

Đến thời điểm kết thúc nghiên cứu toàn bộ 210 túi HCĐL đã được giải đông ở nhiệt độ 36 ± 1^0C trong bồn giải đông với thời gian trung bình là 10 phút. Thời gian đông lạnh của các túi HC theo bảng 3.18

Bảng 3. 18. Thời gian lưu trữ HCĐL đến lúc giải đông

Thời gian	Số lượng đơn vị HCL đông lạnh	Tỷ lệ	Trung bình
>3-6 tháng	99	47,14%	15,18±1,05 tháng (455 ngày)
>6-12 tháng	63	30,00%	
>12-18 tháng	34	16,19%	
>24 tháng	9	4,29%	
đến 32 tháng	5	2,38%	
Tổng cộng	210	100%	

Nhận xét:

Thời gian lưu trữ trung bình là: 15,18 ± 1,05 tháng (455 ngày). Lưu trữ và bảo quản đông lạnh lâu nhất là 32 tháng (995ngày).

3.2.2. Tiến hành rửa túi HCĐL đã được giải đông

Sau khi được giải đông, tất cả các túi HCĐL trong nghiên cứu đều được rửa bằng hệ thống máy ACP215. Quy trình thực hiện rửa HCĐL được mô tả chi tiết theo phụ lục 6

3.2.3. Kết quả sản phẩm HCĐL sau rửa glycerol

Qua quá trình đông lạnh, giải đông và rửa loại bỏ glycerol các thông số của túi HCĐL sau rửa sẽ có sự thay đổi so với túi HCL sau glycerol hóa. Các đặc điểm này được mô tả trong các bảng kết quả sau.

Bảng 3. 19. Kết quả theo tham số thể tích và Hct của túi HCĐL sau rửa

Thể tích MTP	Thể tích HCĐL	Hct (%) Trung bình	Mức Hct (%)		Số mẫu
			Thấp nhất	Cao nhất	
250ml	172,29 ± 10,79	60,55 ± 2,91	57,1	64,7	16
350ml	232,27 ± 10,94	60,94 ± 2,31	55,5	65	131
450ml	330,41 ± 10,12	61,20 ± 2,88	55,6	64,8	63

Nhận xét:

HCĐL sau rửa loại bỏ glycerol có thể tích tăng dần theo thể tích túi máu lấy ban đầu tuy nhiên Hct trung bình không khác nhau.

Bảng 3. 20. Kết quả theo tham số Hb của túi HCĐL sau rửa

Thể tích MTP	Lượng Hb của túi HCL (g/túi)			
	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Thấp nhất	Cao nhất
250ml	25,18	± 1,92	23,3	28,1
350ml	40,62	± 2,43	32,3	45,6
450ml	52,05	± 3,66	41,8	58,7

Nhận xét:

Lượng Hb trung bình của túi HCĐL sau rửa tăng dần theo thể tích máu lấy ban đầu, cao nhất là 52,05 g/túi đối với loại thể tích 450ml.

Bảng 3. 21. So sánh Hb của túi HCĐL sau glycerol và sau giải đông – rửa

Thể tích MTP	**Lượng Hb (g/túi)**			**P**
	HCL sau glycerol hóa	HCL sau đông lạnh giải đông - rửa	Hao hụt **%**	
250ml	27,93 ± 2,09	25,18 ± 1,92	2,75 ± 0,41 (9,85)	P < 0,001
350ml	43,58 ± 2,41	40,62 ± 2,43	2,96 ± 0,59 (6,79)	P < 0,001
450ml	55,13 ± 3,64	52,05 ± 3,66	3,08 ± 0,66 (5,58)	P < 0,001

Nhận xét:

Mức Hb của túi HCĐL sau giải đông – rửa so với Hb trước đông lạnh có giảm, mức ở túi máu có thể tích nhỏ như loại 250ml là 9,85%, cao hơn túi máu 350ml và 450ml. Mức hao hụt Hb của túi HCĐL khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Bảng 3. 22. SLBC của túi HCĐL

Thể tích MTP	**SLBC (x10^8)/** túi HCL			
	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Thấp nhất	Cao nhất
250ml	0,39	± 0,34	0,01	0,73
350ml	0,37	± 0,35	0,01	0,74
450ml	0,42	± 0,36	0,01	0,74
Trung bình	0,39	± 0,35	0,01	0,74

Nhận xét:

SLBC trong túi HCĐL cao nhất là 0,74x10^8/túi, và thấp nhất 0,01x10^8/túi. Trung bình SLBC là từ 0,39 ± 0,35 (x10^8)/túi. Có sự dao động nhiều về SLBC trong các túi HCĐL.

Bảng 3. 23. So sánh SLBC của HCĐL sau glycerol hóa và sau giải đông –rửa

Thể tích MTP ban đầu	**SLBC toàn bộ/túi (x10^8/)**				
	HCL sau glycerol hóa	HCL sau giải đông - rửa	Hao hụt	Tỷ lệ %	P
250ml	5,43 ± 1,79	0,39 ± 0,34	5,04 ± 1,53	92,90	P < 0,001
350ml	6,52 ± 2,00	0,37 ± 0,35	6,15 ± 1,79	94,33	P < 0,001
450ml	6,97 ± 2,17	0,42 ± 0,36	6,54 ± 2,00	93,85	P < 0,001

Nhận xét:

SLBC của túi HCĐL sau giải đông và rửa so với HC sau glycerol hóa đã giảm đến ≥ 92.90%.

Bảng 3. 24. Nồng độ K+, Hct, pH, glycerol của túi HCĐL giải đông -rửa

Đặc điểm	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Thấp nhất	Cao nhất
Tỉ lệ Hct túi máu (%)	60,99	± 2,54	55,5	65,0
Độ pH	6,90	± 0,10	6,8	7,1
Nồng độ K^+ ngoại bào (mEq/L)	1,23	± 0,65	0,5	1,8
Nồng độ glycerol còn lại	1,3335	0,00001	1,3335	1,3335
Cấy máu	Âm tính			

Nhận xét:

Mức Hct của túi máu là 60,99 ± 2,54%, nồng độ K^+ ngoại bào là 1,23 ± 0,65 mEq/l, độ pH 6,90 ± 0,10, cấy máu âm tính trên 210 mẫu, nồng độ glycerol còn lại 1,3335 tương đương <1g%.

Bảng 3. 25. So sánh đặc điểm nồng độ K^+, pH, Hct của túi HCĐL sau glycerol và sau giải đông – rửa

Tham số	**Hct %**	**K^+ ngoại bào (mEq/L)**	**pH**	**Cấy máu**
N	210			
HCL sau glycerol hóa	59,69 ± 4,78	5,02 ± 0,85	7,00 ± 0,20	Âm tính
HCL sau giải đông- rửa	60,99 ± 2,54	1,23 ± 0,65	6,90 ± 0,10	Âm tính
P	P > 0,05	P < 0,001	P > 0,05	

Nhận xét:

Đặc điểm chung của túi HCĐL được giải đông và rửa có mức Hct và độ pH không thay đổi, nhưng nồng độ K^+ ngoại bào giảm nhiều từ 5,02 ± 0,85 mEq/L xuống còn 1,23 ± 0,65 mEq/L.

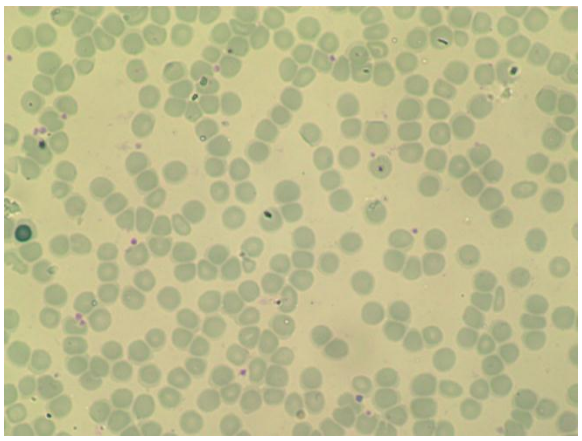
Bảng 3. 26. Lượng Hb, Hct, thể tích túi HCĐL theo thể tích máu lấy ban đầu

Loại chế phẩm	HCĐL		
	Chỉ số Hb (g/túi)	Hct	Thể tích túi máu
HCL điều chế từ MTP 250 mL	≥ 22	0,55-0,65	172,29±10,79
HCL điều chế từ MTP 350 mL	≥ 31	0,55-0,65	232,27±10,94
HCL điều chế từ MTP 450 mL	≥ 40	0,55-0,65	330,41±10,12

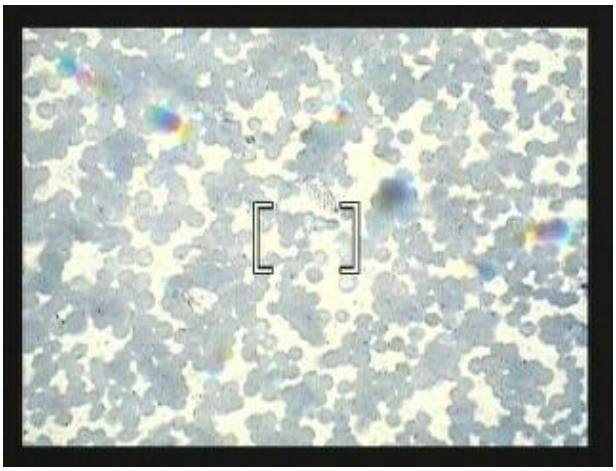
Nhận xét:

HCL được điều chế từ thể tích máu toàn phần (MTP) sau giải đông - rửa có mức Hb dao động từ ≥ 22g đến ≥ 40g/túi. Có Hct trung bình từ 55% đến 65% và thể tích túi máu từ 172,29 ml đến 330,41ml.

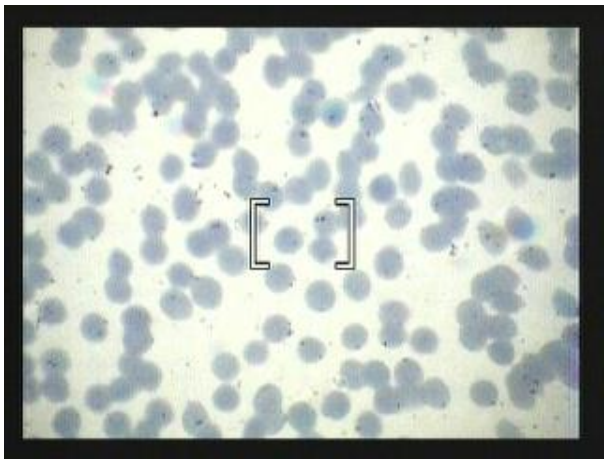
Hình hồng cầu trước, trong bảo quản đông lạnh và sau rửa



Hình 3.1. Trước đông lạnh



Hình 3.2. Sau đông lạnh



Hình 3.3. Sau rửa

Nhận xét: Hồng cầu có hình dạng bình thường trước, sau đông lạnh và sau rửa.

3.2.4. So sánh các tham số trong quá trình xử lý đông lạnh hồng cầu

Bảng 3. 27. Lượng Hb hao hụt sau giải đông rửa so với trước glycerol hóa của túi HCĐL

Thể tích MTP ban đầu	**Hb toàn bộ (g/túi)**			
	Hb trước glycerol hóa	Hb sau giải đông và rửa	Hao hụt toàn bộ	**P**
250ml	28,55 ± 2,08	25,18 ± 1,92	3,37 ± 0,38	P < 0,001
350ml	44,20 ± 2,40	40,62 ± 2,43	3,58 ± 0,60	P < 0,001
450ml	55,82 ± 3,60	52,05 ± 3,66	3,77 ± 0,66	P < 0,001

Nhận xét:

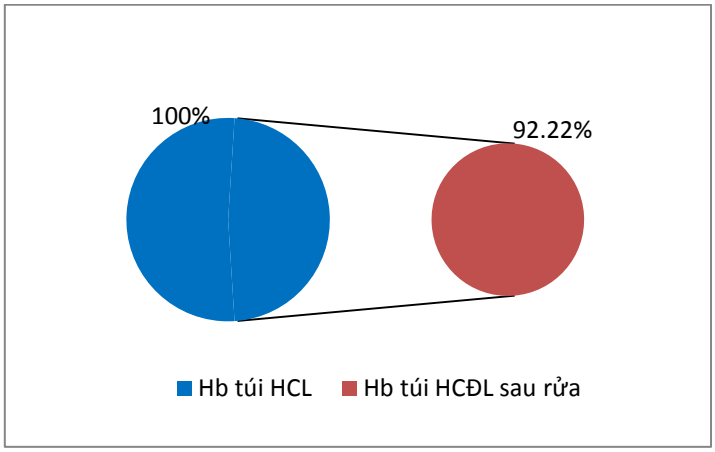
Lượng Hb hao hụt sau giải đông và rửa so với trước glycerol hóa của túi máu loại thể tích 250 ml (nhóm 1) là 3,37 ± 0,38g/túi, túi máu loại thể tích 350 ml (nhóm 2) là 3,58 ± 0,60g/túi và cao nhất đối với túi máu loại thể tích 450 ml (nhóm 3) là 3,77 ± 0,66g/ túi.

Bảng 3. 28. Lượng Hb hao hụt trong toàn bộ quá trình xử lý

Tham số túi HCL		**Hb hao hụt (g/túi)**			P
		250ml (1)	350ml (2)	450ml (3)	
HCL trước và sau Glycerol hóa	Hb (g/túi) (%)	0,61 ± 0,29 (2,16)	0,62 ± 0,24 (1,40)	0,70 ± 0,26 (1,25)	(1) và (2) P = 0,95 (2) và (3) P = 0,30 (1) và (3) P = 0,21
HCL trước và sau giải đông- rửa	Hb (g/túi) (%)	2,75 ± 0,41 (9,85)	2,96 ± 0,59 (6,79)	3,08 ± 0,66 (5,58)	(1) và (2) P = 0,83 (2) và (3) P = 0,86 (1) và (3) P = 0,76
Hb mất đi trong toàn bộ quá trình xử lý	Hb (g/túi) (%)	3,37 ± 0,38 (11,8)	3,58 ± 0,60 (8,09)	3,77 ± 0,66 (6,76)	(1) và (2) P = 0,82 (2) và (3) P = 0,25 (1) và (3) P = 0,38
Tỷ lệ % Hb còn lại sau cùng		88,2	91,91	93,24	P < 0,05
Lượng Hb hao hụt trung bình (g/túi)		3,62g/túi			
Tỷ lệ % Hb hao hụt		7,78%			
Tỷ lệ % Hb còn lại		92,22%			

Nhận xét:

Mặc dù lượng Hb hao hụt nhiều ở túi máu có thể tích 450ml nhưng tỷ lệ % Hb hao hụt trong các giai đoạn của toàn bộ quá trình xử lý lại thấp nhất ở túi máu thể tích 450ml và cao nhất ở túi máu thể tích 250ml. Do đó lượng Hb còn lại trong túi máu thể tích 450ml có tỷ lệ cao nhất, và thấp nhất lại ở túi máu thể tích 250ml. Hao hụt Hb trung bình là 3,62g/túi chiếm 7,78%, % Hb còn lại là 92,22%. Lượng Hb hao hụt giữa các nhóm trong cùng giai đoạn không có sự khác biệt.



Biểu đồ 3. 4. Tỷ lệ Hb còn lại sau giải đông rửa loại bỏ glycerol của HCĐL

Nhận xét: tỷ lệ Hb còn lại của sản phẩm đạt 92,22%.

Bảng 3. 29. So sánh SLBC qua các giai đoạn của quá trình xử lý

Tham số	**SLBC toàn bộ/túi (x10^8/)**					
	Loại thể tích 250ml		Loại thể tích 350ml		Loại thể tích 450ml	
Trước glycerol hóa	6,14 ± 0,73	P < 0,05	7,12 ± 1,15	P < 0,05	7,64 ± 0,93	P < 0,05
Sau glycerol hóa	5,43 ± 1,79	P < 0,05	6,52 ± 2,0	P < 0,05	6,97 ± 2,17	P < 0,05
Sau giải đông và rửa	0,39 ± 0,34	P < 0,05	0,37 ± 0,35	P < 0,05	0,42 ± 0,36	P < 0,05
% mất đi sau cùng	93,73		94,81		94,39	
% SLBC trung bình mất đi	94,60%					
SLBC còn lại	0,39 ± 0,35 (x10^8)/túi					

Nhận xét:

Số lượng bạch cầu giảm theo từng giai đoạn của quá trình đông lạnh hồng cầu. Giai đoạn rửa loại được hầu hết bạch cầu, trong túi máu còn lại 0,39±0,35x10^8 /túi.

Bảng 3. 30. So sánh kết quả chỉ số Hct, K^+, và pH của HCĐL

	Hct %	**K^+ ngoại bào (mEq/L)**	**pH**	**Cấy máu**
N		210		
HCL trước glycerol hóa	74,11 ± 4,82	4,29 ± 1,12	7,1 ± 0,2	Âm tính
HCL sau giải đông-rửa	60,99 ± 2,54	1,23 ± 0,65	6,9 ± 0,1	Âm tính
P	P < 0,005	P < 0,005	P > 0,05	

Nhận xét:

Nồng độ K^+ ngoài tế bào sau rửa giảm so với trước glycerol hóa, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với P < 0,005. Không có sự thay đổi độ pH túi HCĐL trước sau giải đông - rửa HC, Hct của túi máu có thay đổi giải từ 74.11 ± 4,82% xuống còn 60,99 ± 2,54% sau giải đông – rửa.

3.3. Xác lập các tiêu chuẩn chất lượng của túi hồng cầu lưu trữ đông lạnh trong nghiên cứu.

3.3.1. Các chỉ số của HCĐL đạt được trong nghiên cứu này.

Bảng 3. 31. Chỉ số HCĐL khi cấp phát

Tham số thực hiện	**Kết quả đạt được (N=210)**
% Hb còn lại	92,22%
K^+ (mEq/L)	1,23 ± 0,65
pH	6,9 ± 0,1
SLBC ($x10^8$)	0,39 ± 0,35
Độ khúc xạ (nD) <1,3335 (<1g %)	100%
Cấy máu	Âm tính

Nhận xét:

Kết quả nồng độ K^+ ở huyết tương của sản phẩm là 1,23 ± 0,65 mEq/L

Độ pH theo dõi sự chuyển hoá của hồng cầu có kết quả là 6,9 ± 0,1

Nồng độ glycerol còn lại trong túi HCĐL sau xử lý được đo bằng phương pháp độ khúc xạ cầm tay. Kết quả 100% số túi máu có độ khúc xạ <1,3335, tương đương với nồng độ glycerol còn lại trong túi HCĐL <1g%.

SLBC còn lại trong túi HCĐL là 0,39 ± 0,35 ($x10^8$), đạt tiêu chuẩn như trường hợp sử dụng bộ lọc bạch cầu (SLBC trong đơn vị máu từ $1x10^6$ đến $<1x10^7$).

Theo kết quả cấy máu cho thấy qui trình kỹ thuật đảm bảo vô trùng, không ghi nhận trường hợp cấy dương tính nào.

Các tham số kiểm tra sản phẩm trước khi cấp phát đảm bảo về lượng Hb, số dư glycerol <1g%, cấy máu (âm tính), nồng độ K^+ ngoài tế bào và độ pH được kiểm tra.

3.3.2. Khảo sát mối tương quan ảnh hưởng đến lượng Hb của sản phẩm.

3.3.2.1. Tương quan với thời gian túi máu chờ để đông lạnh.

Bảng 3. 32. Ảnh hưởng thời gian chờ của túi HCL được glycerol hóa trên lượng Hb

Số ngày chờ	Hb	**Hb toàn bộ (g/túi)**					
		250ml (Nhóm 1)		350ml (Nhóm 2)		450ml (Nhóm 3)	
≤ 6 ngày	Trước glycerol	28,42±1,94	P<0,001	44,16±2,39	P<0,001	55,87±3,80	P<0,001
	Sau glycerol	27,97±1,99		43,61±2,41		55,27±3,82	
	Hao hụt	0,44±0,11		0,55±0,15		0,60±0,19	
> 6 ngày	Trước glycerol	28,84±2,57		44,43±2,55		55,7±3,07	
	Sau glycerol	27,84±2,54		43,42±2,46		54,72±3,10	
	Hao hụt	1,00±0,14		1,01±0,32		0,98±0,24	

Nhận xét:

Thời gian túi máu chờ để glycerol hóa có thay đổi về lượng Hb. Thời gian chờ lâu thì túi máu có sự hao hụt Hb nhiều hơn, Từ ngày thứ 7 trở đi, lượng Hb hao hụt có ý nghĩa thống kê (P < 0,001) ở cả 3 nhóm.

3.3.2.2. Ảnh hưởng mức Hct của túi HCL đến lượng Hb sau glycerol hóa

Bảng 3. 33. Ảnh hưởng Hct đến lượng Hb hao hụt sau glycerol hóa

(Túi máu loại thể tích 350ml)

Chỉ số Hct của HCL		Hb trước glycerol hóa (g/túi)	Hb sau glycerol hóa (g/túi)	Lượng Hb hao hụt (g/túi)	P
≤70%	N	96		0,67 ± 0,18	P = 0,08
	Trung bình	44,14	43,47		
	SD	± 2,46	± 2,49		
> 70%	N	35		0,60 ± 0,26	
	Trung bình	44,22	43,62		
	SD	± 2,39	± 2,39		

Nhận xét:

Mức Hct của túi HCL trên hay dưới 70% thì lượng Hb hao hụt không có sự khác biệt ở 2 nhóm Hct này.

3.3.2.3. Thời gian đông lạnh ảnh hưởng đến lượng Hb của túi HCĐL

Bảng 3. 34. Ảnh hưởng thời gian đông lạnh đến lượng Hb hao hụt của HCĐL

Thời gian đông lạnh	Lượng Hb	Hb toàn bộ (g/túi)					
		250ml (Nhóm 1)		350ml (Nhóm 2)		450ml (Nhóm 3)	
≤ 6 tháng	Trước glycerol hóa	28,15 ± 4,17	P=0,50	43,44 ± 2,46	P=0,06	55,54 ± 3,96	P=0,68
	Sau giải đông-rửa	25,08 ± 3,53		40,57 ± 2,47		52,53 ± 4,12	
	Hao hụt	2,35 ± 0,64		2,87 ± 0,59		2,95 ± 0,9	
> 6 tháng - ≤12 tháng	Trước glycerol hóa	28,06 ± 2,03	P=0,50	43,64 ± 2,54	P=0,45	54,25 ± 3,78	P=0,10
	Sau giải đông-rửa	25,28 ± 1,87		40,53 ± 2,62		51,33 ± 3,59	
	Hao hụt	2,90 ± 0,36		3,11 ± 0,57		2,81 ± 0,7	
>12 tháng đến 32 tháng	Trước glycerol hóa	26,93 ± 0,9	P=0,41	43,94 ± 2,09	P=0,39	55,15 ± 3,20	P=0,22
	Sau giải đông-rửa	24,0 ± 0,71		40,95 ± 2,06		51,90 ± 3,16	
	Hao hụt	2,93 ± 0,19		2,99 ± 0,6		3,25 ± 0,58	

Nhận xét:

Lượng Hb của các túi máu có thời gian đông lạnh trên 12 tháng và dưới 12 tháng không có sự khác biệt. Điều này cho thấy thời gian đông lạnh sản phẩm cho đến 32 tháng chưa có ảnh hưởng đến lượng Hb.

3.3.2.4. Ảnh hưởng Hct trong túi HCL đã glycerol hóa đến lượng Hb hao hụt sau giải đông – rửa của HCĐL

Bảng 3. 35. Ảnh hưởng Hct trong túi HCL được glycerol hóa đến lượng Hb hao hụt sau giải đông – rửa với loại túi máu 350 ml

Chỉ số Hct của HCL được Glycerol hóa		Hb sau glycerol hóa (g/túi)	Hb sau giải đông và rửa (g/túi)	Lượng Hb hao hụt (g/túi)	P
≤65%	N	115		2,83 ± 0,48	P < 0,001
	Trung bình	43,40	40,57		
	SD	± 2,43	± 2,52		
> 65%	N	16		3,90 ± 0,44	
	Trung bình	44,95	41,05		
	SD	± 1,84	± 1,82		

Nhận xét:

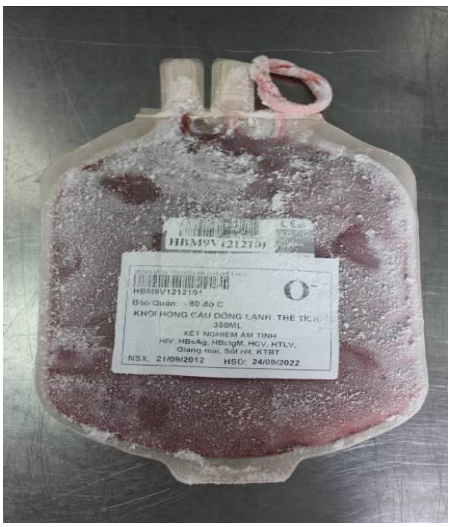
Lượng Hb hao hụt có lý nghĩa thống kê so với Hct của túi HCL sau khi đã được glycerol hóa và làm giảm thể tích. Đối với túi máu 350ml, mức Hct của túi HCL cao sẽ làm hao hụt Hb nhiều hơn

Bảng 3. 36. Ảnh hưởng Hct trong túi HCL được glycerol hóa đến lượng Hb hao hụt sau giải đông – rửa với loại túi máu 450 ml

Chỉ số Hct của HCL được Glycerol hóa		Hb sau glycerol hóa (g/túi)	Hb sau giải đông và rửa (g/túi)	Lượng Hb hao hụt (g/túi)	P
≤65%	N	50		2,86 ± 0,50	P < 0,001
	Trung bình	55,06	52,20		
	SD	± 3,39	± 3,36		
> 65%	N	13		3,92 ± 0,54	
	Trung bình	55,42	51,5		
	SD	± 4,62	± 4,73		

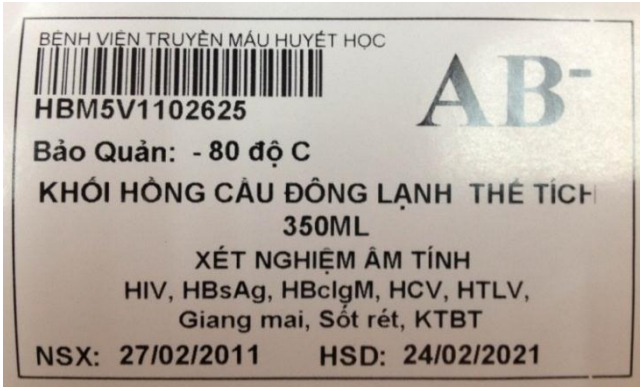
Nhận xét: Lượng Hb hao hụt có liên quan đến Hct của túi HCL sau khi đã được glycerol hóa và làm giảm thể tích, mức Hct của túi HCL cao sẽ làm hao hụt Hb nhiều hơn.

CÁC HÌNH ẢNH CỦA HỒNG CẦU ĐÔNG LẠNH



Hình 3.4. Túi hồng cầu đông lạnh

Hình 3.5. Tủ lạnh -80^{O}C lưu trữ hồng cầu đông lạnh



Hình 3.6. Nhãn sản phẩm

3.4. Kết quả sử dụng HCĐL trong cấp cứu và điều trị

3.4.1. Tình hình sử dụng HCĐL tại các bệnh viện trong TP.HCM

Bảng 3. 37. Các bệnh viện sử dụng HCĐL

Stt	Tên bệnh viện	Số lượng túi máu	Tỷ lệ %
1	BV Truyền máu Huyết học (BV TMHH)	87	41,42
2	Bv. Pháp Việt (BV. FV)	22	10,47
3	BV. Chợ Rẫy	17	8,10
4	BV. Phụ sản Từ Dũ	12	5,72
5	BV. Nhi đồng 1, 2 (BV.NĐ1, 2)	18	8,57
6	BV. Nhân dân Gia Định (NDGĐ)	12	5,72
7	BV. Ung Bướu	6	2,86
8	BV. Bình Dân	5	2,38
9	5 Bv sử dụng 4 túi (BV. Tim Tâm Đức, BV Hùng Vương, BV Thủ đức, BV 115, BV 175)	20	9,52
10	5 BV sử dụng 1 túi: (BV.An sinh, Viện tim, BV.7A, BV. 30/4, BV.Vạn Hạnh)	5	2,38
11	3 BVsử dụng 2 túi (BV.Phạm Ngọc Thạch, BV.Thống Nhất, BV.Trương Vương)	6	2,86
TỔNG CỘNG		**210**	**100%**

Nhận xét:

Có 22 bệnh viện trong TP.HCM sử dụng HCĐL, các bệnh viện thuộc Bộ Y tế như BV Chợ Rẫy (8,10 %). BV.Thống Nhất, các BV Quân đội như BV.175, BV. 7A, BV. 30/4. Các bệnh viện thuộc Sở Y tế TPHCM như BV. Phụ Sản Từ Dũ (5,72 %), BV Nhi đồng 1, 2 (8,57%), BV.TMHH (41,42%). Ngoài ra khối bệnh viện tư như BV.FV cũng sử dụng 22 túi chiếm 10,47 %

Bảng 3. 38. Nhóm bệnh sử dụng HCĐL

Chuyên khoa sử dụng	**Bệnh cảnh lâm sàng**	**Ghi nhận các phản ứng hoặc các tai biến trong và sau khi truyền**
Nhi khoa	Bệnh lý thalassemia, thiếu máu nghi do thiếu sắt, xuất huyết não, mổ và hậu phẫu NB có bướu máu khổng lồ chân trái.	Không ghi nhận có phản ứng truyền máu nào.
Sản khoa	Thiếu máu thai sản, mổ bắt con, sảy thai, thai chết lưu, mổ u xơ tử cung, xuất huyết sau sanh.	Không ghi nhận có phản ứng truyền máu nào.
Ngọai khoa	Mổ chấn thương do tai nạn, xuất huyết não, mổ cầu nối BYPASS, mổ và hậu phẫu thay đoạn quai ĐMC bụng, mổ cắt thùy phải Phổi.	Không ghi nhận có phản ứng truyền máu nào.
Nội khoa	Thiếu máu do các nguyên nhân: Xơ gan, HIV, suy thận, choáng nhiễm trùng, loét hành tá tràng , xuất huyết tiêu hóa, K vú, K tuyền liệt tuyến.	Không ghi nhận có phản ứng truyền máu nào.
Huyết học	Thalassemia, CLL, CMML, AML, CML, Xuất huyết giảm tiểu cầu, Suy tủy.	Không ghi nhận có phản ứng truyền máu nào.

Nhận xét:

Số lượng NB sử dụng 210 đơn vị HCĐL cho điều trị là 82 NB, trong đó 37 nam chiếm tỉ lệ 45,12%, và có 45 nữ chiếm tỉ lệ 54,88%.

Trong 82 NB có 10 NB quốc tịch nước ngoài ở các bệnh viện: BV.Vạn Hạnh, BV. Phạm Ngọc Thạch, BV. FV. Trong các NB sử dụng HCĐL có NB được truyền HCĐL nhiều lần trong bệnh cảnh lâm sàng như ung thư tiền liệt tuyến, suy thận mãn, thalassemia, CML.

Sử dụng HCĐL cho các NB thuộc khối nội, sản, nhi và ngoại khoa: Trong nhi khoa chủ yếu là điều trị bệnh thalassemia, và phẫu thuật. Trong sản khoa chủ

yếu điều trị bệnh lý thiếu máu do mất máu trong sanh, sảy thai, hoặc xuất huyết sau sanh. Trong nội khoa chủ yếu dùng trong điều trị cấp cứu thiếu máu do XHTH, xơ gan, choáng nhiễm trùng, do thiếu máu sau phẫu thuật. Trong huyết học điều trị thiếu máu do thalassemia, AML, CML, suy tủy.

Bảng 3. 39. Độ tuổi của người bệnh sử dụng HCĐL

Tuổi	**Số ca**	**Tỷ lệ**
Nhi (từ 1-6 tuổi)	8	9,76%
Từ >6 đến 15	5	6,10%
Từ >15 đến 50	40	48,78%
Trên 50	29	35,36%
Tổng cộng	82	100%

Nhận xét:

Các NB được truyền HCĐL gồm bệnh nhi khoa chiếm 15,86%, NB trên 50 tuổi chiếm 35,36%. Lứa tuổi 16-50 chiếm 48,78%, là lứa tuổi được sử dụng nhiều nhất do bệnh cảnh lâm sàng khẩn cần truyền máu gấp.

3.4.2. Hiệu quả của truyền HCĐL.

Chúng tôi thực hiện truyền 210 túi HCĐL cho các trường hợp người bệnh yêu cầu với các kết quả như sau.

Bảng 3. 40. Hb của người bệnh sau truyền 24 giờ.

	Hiệu quả đến 24 giờ (n = 82 NB)		
	Đạt 80-100%	Từ 60- 80%	<60%
Số NB	68	8	6
Tỷ lệ (%)	82,93	9,76	7,31

Nhận xét:

Hiệu quả 24 giờ truyền HCĐL cho 82 NB như sau có 82,93% NB có nồng độ Hb sau truyền đạt 80-100%, có 9,76% NB đạt yêu cầu tăng nồng độ Hb sau truyền là 60 -80%, tuy nhiên có 6 NB chỉ đạt <60%.

Bảng 3. 41. Hb của người bệnh sau truyền 48 giờ.

	Hiệu quả sau 48 giờ (n = 65 NB)		
	Đạt 80-100%	Từ 60- 80%	<60%
Số NB	55	5	5
Tỷ lệ (%)	84,62	7,69	7,69

Nhận xét:

Hiệu quả 48 giờ sau truyền trên 65 NB được theo dõi cho thấy có 84,62% tăng nồng độ Hb sau truyền là 80- 100%, có 7,69% NB có Hb sau truyền tăng > 60-80% và vẫn có 7,69% chỉ đạt <60%

Bảng 3. 42. Hb của người bệnh sau truyền 72giờ.

	Hiệu quả sau 72 giờ (n = 35 NB)		
	Đạt 80-100%	Từ 60- 80%	<60%
Số NB	30	2	3
Tỷ lệ (%)	85,71	5,71	8,58

Nhận xét:

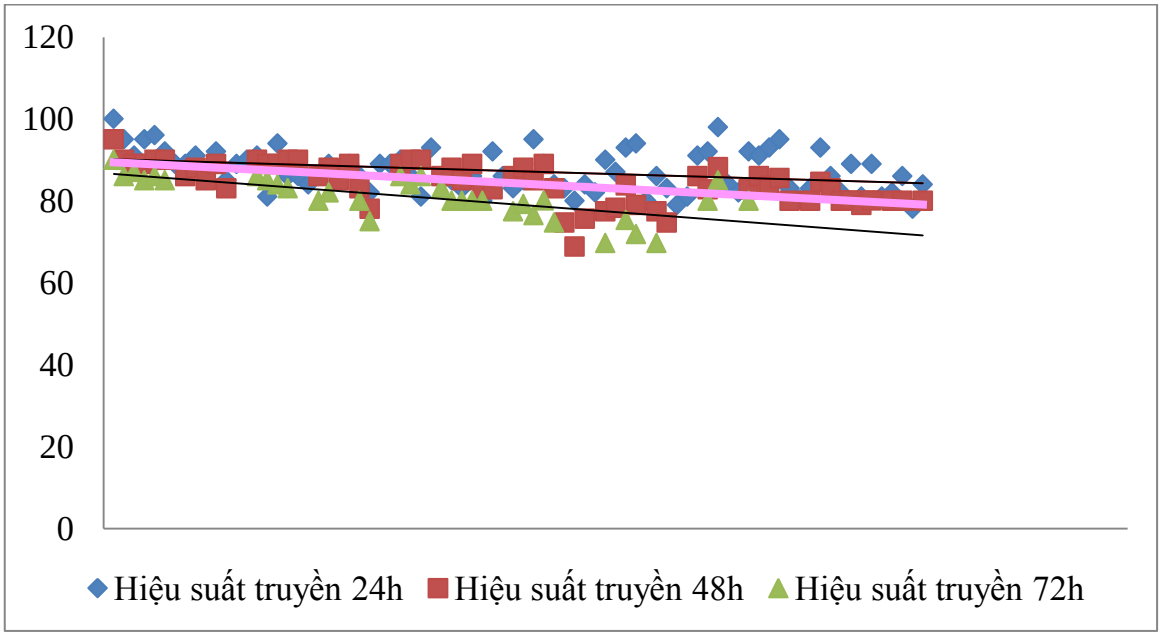
Hiệu quả 72 giờ sau truyền được theo dõi trên 35 NB, cho thấy có 85,71% tăng nồng độ sau truyền là 80-100%, có 5,71% NB tăng Hb sau truyền là 60-80% và còn 8,58% chỉ còn <60% sau truyền.

Bảng 3. 43. Tổng hợp hiệu quả sau truyền HCĐL

Thời gian sau truyền	Kết quả đạt		
	Đạt 80-100%	Từ 60- 80%	<60%
Sau 24 giờ (n=82 NB)	68	8	6
Sau 48 giờ (n=65 NB)	55	5	5
Sau 72 giờ (n=35 NB)	30	2	3
Tỷ lệ	84,07%	8,24%	7,69%

Nhận xét:

Tỷ lệ Hb trung bình sau truyền đạt 80-100% là 84,07%, đạt > 60% là 92,34%, chỉ có 7,69% NB chỉ đạt <60%.



Biểu đồ 3. 5. Hiệu suất truyền HCĐL sau 24 giờ 48 giờ và 72 giờ

Nhận xét:

Chỉ số R 24 giờ sau truyền là 0,251 và R sau 48 giờ truyền là 0,219, độ phân tán rộng, hiệu quả tăng Hb tập trung chủ yếu ở mức > 80-100% cho thấy hồng cầu hồi phục ở tuần hoàn bệnh nhân. HCĐL khi vào cơ thể có khả năng hồi phục, vẫn đảm với lượng Hb thay đổi không đáng kể ở 72 giờ sau truyền.

3.4.3. Các tác dụng phụ ghi nhận sau truyền hồng cầu đông lạnh [7]

Bảng 3. 44. Tác dụng phụ trong và sau truyền HCĐL

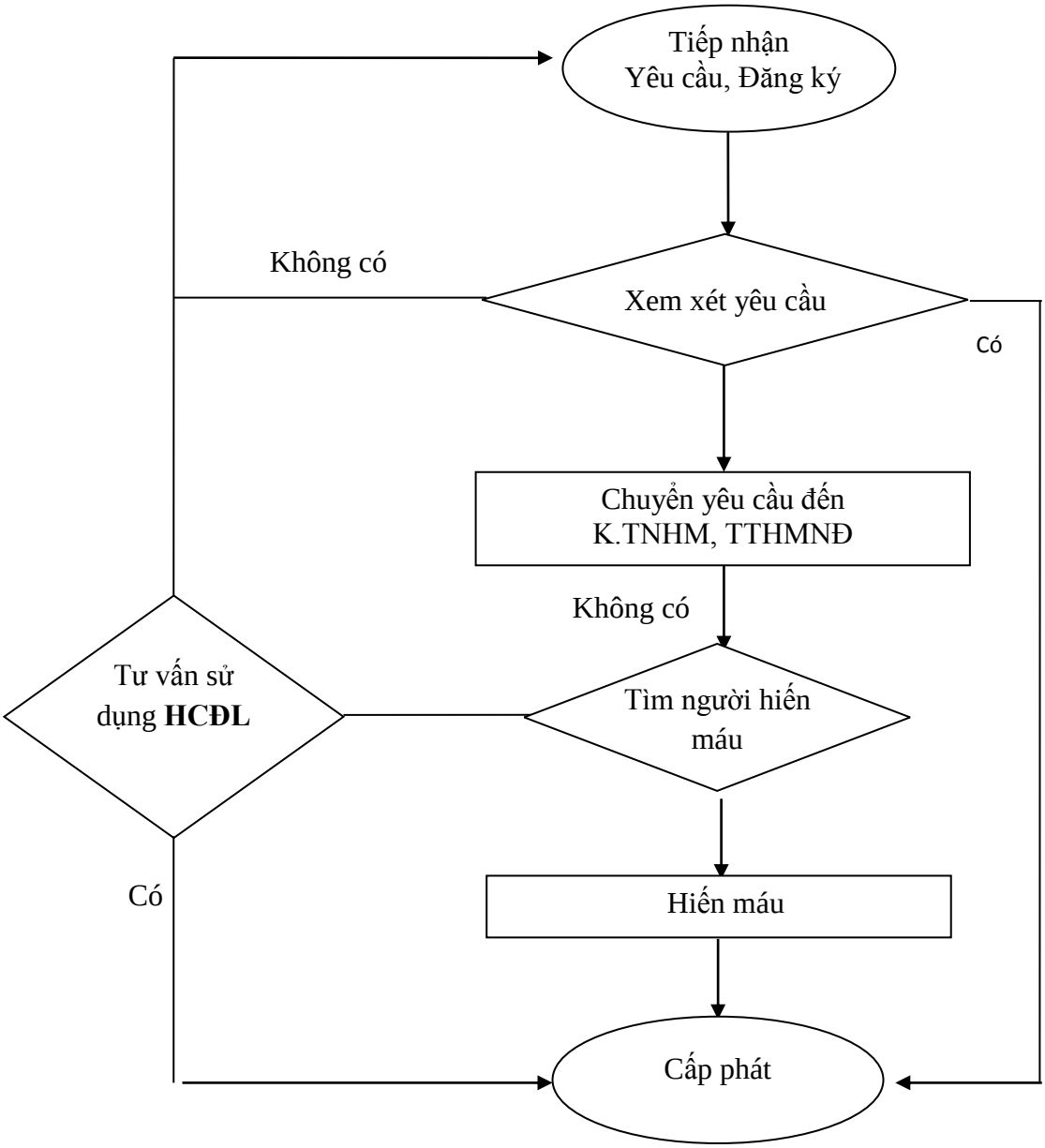
STT	Dấu hiệu theo dõi	Ghi nhận
1	Dị ứng, ngứa, mề đay	Không có trường hợp nào
2	Sốt, rét run	Không có trường hợp nào
3	Nổi mề đay	Không có trường hợp nào
4	Sốc phản vệ	Không có trường hợp nào
5	Tan máu do bất đồng nhóm HC	Không có trường hợp nào
6	Nhiễm khuẩn máu	Không có trường hợp nào
7	Suy hô hấp	Không có trường hợp nào
8	Suy thận cấp	Không có trường hợp nào
9	Tử vong do truyền máu	Không có trường hợp nào
10	Nhiễm do lây truyền qua đường truyền máu	Không có trường hợp nào

Nhận xét:

Trong một số trường hợp bệnh cảnh lâm sàng của NB có thể ảnh hưởng đến hiệu quả truyền máu, như xuất huyết tiêu hóa, phẫu thuật, truyền máu nhiều lần, không ghi nhận có bất cứ biểu hiện tai biến, phản ứng gì trong suốt quá trình truyền cũng như thời gian 72 giờ sau khi truyền HCĐL.

3.4.4. Xây dựng qui trình cung cấp nhóm máu RhD âm cho cấp cứu và điều trị tại BV.TMHH.

3.4.4.1. Sơ đồ cung cấp nhóm máu RhD âm là nhóm máu hiếm khi cần thiết



Sơ đồ 3.1. Cung cấp máu Rh D âm của BV.TMHH.

Nhận xét: Cung cấp HCĐL RhD âm được thực hiện khi không tìm được người cho máu có nhóm máu RhD âm phù hợp.

3.4.4.2. Qui trình cung cấp nhóm máu RhD âm tại BV.TMHH.

Ngân hàng máu BV.TMHH xây dựng qui trình cung cấp nhóm máu RhD âm cho các bệnh viện có nhu cầu sử dụng qui trình được xây dựng tại khoa ĐCCP và được ban hành mang mã số: QT-ĐKMH–ST02. Phụ lục 7

3.4.4.3. Xây dựng tuyển mộ người hiến máu cho máu RhD âm và các nhóm máu hiếm khác để đông lạnh

Hình 3. 7. Tổ chức giao lưu và tuyển mộ người hiến máu RhD âm hiến máu định kỳ để đông lạnh

Chương 4: BÀN LUẬN

Với kết quả nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật đông lạnh hồng cầu trên 210 mẫu HCL đã được trình bày chúng tôi có các bàn luận như sau.

4.1. Thiết lập và hoàn thiện qui trình kỹ thuật xử lý HC để đông lạnh

4.1.1. Tiếp nhận máu hiến để đông lạnh

4.1.1.1. Đặc điểm nguồn người cho máu

Người hiến máu được tuyển chọn theo đúng qui định như tiêu chuẩn quốc gia với nồng độ Hb của người hiến máu >12g/dl, về độ tuổi và cân nặng. Kết quả theo biểu đồ 3.1 cho thấy nguồn người hiến máu từ TT HMNĐ hội CTĐ TP chiếm tỷ lệ 88,5%. Điều này phù hợp với thực tế và các báo cáo về tình hình tiếp nhận máu tại TP HCM. TT HMNĐ hội chữ thập đỏ là nơi vận động hiến máu, quản lý người cho máu, và tiếp nhận máu từ người hiến máu tình nguyện và chuyển đến BV TMHH. Hiện nay, công tác này đã được TT HMNĐ hội CTĐ TP làm rất tốt nên nguồn máu từ người hiến máu tình nguyện đến nay đã chiếm 100%[11]. TT HMNĐ hội CTĐ cũng đã thành lập được CLB nhóm máu hiếm cho những người hiến máu chủ yếu là nhóm máu RhD âm.

Theo biểu đồ 3.2. Người cho máu RhD âm đa số là nam 67,83% và nữ là 32,17%. Tỷ lệ nữ trên nam là 1/3, tỷ lệ nam nữ có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p<0,001$. Người hiến máu lần đầu nam chiếm đa số trong nghiên cứu của chúng tôi có thể được lý giải. Tham gia hiến máu định kỳ và đột xuất cho nhóm máu RhD âm thường là đối tượng nam vì thời gian hiến máu không thuận tiện nên phù hợp với nam nhiều hơn nữ. Lý giải của chúng tôi phù hợp với nhận xét của tác giả Trần Ngọc Quế[23], Trương Thị Kim Dung (2006)[11] khi nghiên cứu ở NHM tình nguyện tại TP Hồ Chí Minh, tuy nhiên với nghiên cứu của Phạm Thị Thu Hương (2003)[15] trên đối tượng cho máu tại Bệnh viện trung ương Quân đội 108 cho kết quả người hiến máu giữa nam và nữ có tỷ lệ tương đương là 59,96% và 60%.

Theo kết quả của bảng 3.1 người hiến máu nhóm máu RhD âm cho máu lần đầu chiếm tỷ lệ cao 82,51%, cho máu lập lại để đông lạnh chiếm tỷ lệ còn thấp

trong đó cho máu lặp lại 2 lần có 19 người, cho máu lập lại 3 là chỉ có 4 người và cho máu lặp lại 4 lần có 2 người chiếm tỷ lệ 1,39%. Việc cho máu lặp lại thấp có thể lý giải, những người hiến máu RhD âm hiến máu khi có bệnh nhân cấp cứu cần máu, họ không hiến máu định kỳ, do đó tùy từng giai đoạn có thể người hiến máu đã tham gia hiến máu cho cấp cứu và điều trị nên không thể tham gia hiến máu cho đông lạnh hồng cầu. Vì vậy đây cũng là điểm cần nghiên cứu để có nguồn máu hiếm đưa vào đông lạnh, cần có chiến lược, kế hoạch cho những người hiến máu, nếu không tham gia hiến máu đột xuất để cho các trường hợp cấp cứu, thì có thể tham gia hiến máu định kỳ để đông lạnh, khi cần chưa có người hiến kịp thời thì có thể HCĐL để cung cấp ngay.

4.1.1.2. Nhóm máu cần đông lạnh

Kết quả bảng 3.2 nhóm máu được đông lạnh và sử dụng chủ yếu là nhóm máu O RhD âm chiếm 47,15%, đây cũng là nhóm máu được đông lạnh và được sử dụng nhiều. Nhóm máu O có tỷ lệ cao 45% trong hệ thống nhóm máu ABO, trong hệ Rh nhóm máu O RhD âm cũng có tỷ lệ tương đương do đó việc sử dụng nhóm máu này cao là hợp lý. Các nhóm máu A RhD âm, B RhD âm, AB RhD âm được đông lạnh và sử dụng phù hợp với các nghiên cứu và các báo cáo về sử dụng nhóm máu[55]. Nhóm máu RhD dương cũng được đông lạnh tham gia nghiên cứu của chúng tôi. Đây là nghiên cứu ứng dụng việc sử dụng nhóm máu RhD dương khi chưa có người máu hiếm cho máu để đông lạnh như nhóm máu O RhD dương và AB RhD dương thông thường với 23 túi R1R1 nhóm O và R1R1 4 túi nhóm máu AB. Ở các Ngân hàng máu thế giới đông lạnh chủ yếu nhóm máu O RhD âm và O RhD dương, hoặc đông lạnh HC nhằm để lưu trữ trong trường hợp người hiến máu cho máu lần đầu, máu chưa được sử dụng ngay do phòng ngừa nguy cơ nhiễm bệnh ở giai đoạn cửa sổ, nếu kết quả hiến máu lần sau âm tính thì máu lần trước đó có thể mang ra sử dụng[97]. Các nhóm máu RhD dương có R1R2, R2R2 và R2R0 là nhóm máu hiếm và rất hiếm cũng được đông lạnh và sử dụng. ở bảng 3.3 Nhóm máu A R2R2 cũng được tham gia sử dụng vì đây là nhóm máu hiếm với số lượng là 1 mẫu chiếm tỷ lệ 0,48%

Các nhóm máu hệ Rhesus hiếm và rất hiếm theo bảng 3.2 đã được đưa vào đông lạnh và sử dụng như r'r, r'r', nhóm máu R1R0, R1R2, R2R2, R2R0. Ngày nay việc định danh phenotype HC đảm bảo an toàn truyền máu nhằm tránh nguy cơ miễn dịch chống HC, sàng lọc KTBT và định danh KTBT trên người bệnh đã được qui định [7]. Do đó truyền máu phù hợp phenotype của người bệnh là hướng đến truyền máu hiện đại. Các nhóm máu cần thiết phải bảo quản lâu dài khi cần có máu sẵn sàng trong Ngân hàng máu cung cấp cho người bệnh.

4.1.1.3. Thể tích máu lấy để đông lạnh.

Theo bảng 3.3 Thể tích loại 350ml chiếm tỷ lệ cao 62,38% điều này phù hợp với các báo cáo hiện nay thể tích máu loại 350ml ở BV.TMHH và TT HMNĐ TP HCM chiếm tỷ lệ từ 60-65%[11]. Theo kết quả bảng 3.28 so sánh lượng Hb mất đi trong quá trình xử lý ở 3 nhóm thể tích máu lấy ban đầu, ở cả 3 nhóm có sự khác biệt nhưng không có ý nghĩa thống kê với P > 0,05, nghĩa là ở cả 3 nhóm thể tích ban đầu đều có mất đi lượng Hb trong túi máu trung bình ở nhóm 1 là 3,37g/túi ở nhóm 2 là 3,58g/túi và nhóm 3 là 3,77g/túi. Hao hụt ở 3 nhóm không có sự khác biệt vì cả 3 nhóm đều thực hiện các thao tác kỹ thuật như nhau do đó sự khác biệt này không quá lớn. Tuy nhiên tính tỷ lệ hao hụt so với thể tích của túi máu lấy ban đầu theo bảng 3,28 thì nhóm 1 là loại thể tích túi máu 250ml lại hao hụt Hb là 11,8%, nhóm 2 là 8,09% và nhóm 3 là loại thể tích 450ml hao hụt so với ban đầu chỉ mất 6,76%. Như vậy nhóm 3 hao hụt so với ban đầu thấp nhất. Theo phân tích trên đây loại thể tích chọn lựa để đông lạnh tốt nhất là 450ml và 350ml, để có hiệu quả về kinh tế, nếu sử dụng loại thể tích 250ml máu lấy ban đầu thì trong quá trình điều chế và xử lý sẽ bị hao hụt, khi người bệnh cần phải truyền từ nhiều túi HCL khác nhau sẽ gây nguy cơ cho người bệnh và chí phí cao hơn.

Thực tế trên thế giới chỉ có một loại thể tích máu hiến toàn phần là loại thể tích 450ml máu[20],[44] chiếm đa số. Việc thực hiện túi máu có thể tích nhỏ như 250ml trong các trường hợp truyền máu tự thân hoặc cho các nhu cầu cần lưu trữ đông lạnh cho các cá nhân có nhu cầu trữ máu lâu dài.

4.1.1.4. Xác định nhóm máu và người hiến máu cho máu để đông lạnh.

Hiện nay người hiến máu có nhóm máu RhD âm đã có CLB nhóm máu hiếm để sinh hoạt trao đổi thông tin và hỗ trợ nhau khi thiếu máu. Ở TP.HCM có 2 CLB do TT HMNĐ hội CTĐ TP và CLB của Trung tâm Truyền máu BVCR. Số lượng người tham gia đăng ký ở CLB của TT HMNĐ là 165 người, Trung tâm Truyền máu BVCR là 150 người. Tuy nhiên do nhóm máu RhD âm hiếm và không phải lúc nào người bệnh cũng có nhu cầu sử dụng nhóm máu này, do đó những người có nhóm máu này được trì hoãn hiến máu cho đến khi nào có nhu cầu từ người bệnh thì họ sẽ đến Ngân hàng máu để hiến máu nhằm tránh tình trạng hiến máu ra không cần sử dụng nhưng khi cần lại không có người hiến. Trên thực tế người hiến máu có nhóm máu RhD âm tham gia hiến máu ít hơn những người có nhóm máu RhD dương bình thường.

Người hiến máu tham gia hiến máu một năm có thể hiến từ 3 đến 4 lần theo qui định của Bộ Y tế[7], nhưng do chưa có nhu cầu cần nhóm máu RhD âm nên người hiến máu có nhóm máu này chỉ hiến trong trường hợp có NB cần sử dụng máu nhóm máu này và được Ngân hàng máu mời đến hiến máu, tuy nhiên do phải hiến đột xuất người hiến máu thường không có kế hoạch trước do họ đi làm ở xa, công việc cá nhân chưa thuận tiện, hoặc đơn giản là trường hợp cho máu ban đêm người hiến máu đến không kịp. Do đó việc hiến máu đột xuất thường gặp khó khăn, máu được hiến phải chờ làm các xét nghiệm sàng lọc, theo thông tư 26/BYT việc xét nghiệm sàng lọc túi máu phải thực hiện bằng các xét nghiệm có độ nhậy và độ đặc hiệu từ ELISA trở lên. Ngoài ra thông tư qui định khi XN sàng lọc huyết thanh học âm tính cần sàng lọc thêm với kỹ thuật NAT cho HBV, HCV và HIV. Do đó việc cung cấp máu cho các trường hợp cấp cứu thường gặp khó khăn. Để tránh tình trạng này vận động người nhóm máu hiếm, tham gia hiến máu định kỳ, khi không sử dụng máu sẽ được sử dụng đông lạnh khi cần nếu không huy động người hiến máu thì NB có thể sử dụng HCĐL ngay.

Để có người nhóm máu hiếm tích cực tham gia hiến máu định kỳ, nhóm nghiên cứu kết hợp Ngân hàng máu BV.TMHH với TTHMNĐ hội CTĐ TP tổ chức

các buổi giao lưu câu lạc bộ nhóm máu hiếm, truyền thông về việc lưu trữ hồng cầu đông lạnh nhóm máu hiếm như hình 3.7.

Qua bàn luận ở trên chúng tôi nhận thấy các nhóm máu cần đông lạnh để lưu trữ lâu dài là nhóm máu O RhD âm >A RhD âm >B RhD âm >AB RhD âm và nhóm máu R2R2. Thể tích máu lấy loại 450ml >350ml >250ml. Cần có kế hoạch xây dựng tuyển mộ người hiến máu RhD âm hiến máu định kỳ khi không tham gia hiến máu đột xuất cho cấp cứu thì tham gia hiến máu để đông lạnh.

4.1.2. Điều chế hồng cầu lắng để đông lạnh.

Máu toàn phần sau khi lấy máu ra khỏi người hiến máu được vận chuyển về NHM và điều chế các sản phẩm máu theo các qui trình kỹ thuật đã được phê duyệt[25].

HCL chuẩn bị đông lạnh được điều chế từ túi máu toàn phần sau khi lấy ra khỏi người hiến máu.

Sau khi quay ly tâm với tốc độ 3000 vòng/20 phút, túi máu được lấy ra và ép phần huyết tương sang một túi khác bằng hệ thống máy ép huyết tương tự động của NHM. Tuy nhiên điều chế HCL giai đoạn này cần kiểm tra chất lượng về:

- Tốc độ và thời gian ly tâm túi máu.
- Kiểm soát kỹ thuật ép huyết tương.
- Xác định tỉ lệ Hct
- Kiểm tra chất lượng sản phẩm HCL[10].

4.1.2.1. Bàn luận về mức Hct của túi HCL chuẩn bị đông lạnh.

Theo bảng 3.4 mức Hct của túi HCL được điều chế từ túi máu toàn phần loại 250ml là 73,8±4,15%, cao nhất là 83,6% và thấp nhất là 66,2%. Ở túi máu loại 350ml có Hct 73,6±5,01%, cao nhất là 83,8% và thấp nhất là 65,4%. Và túi máu loại 450ml có Hct là 75,3±4,39% cao nhất là 84,5% và thấp nhất là 70,3%. Theo bảng 3.7 Hct trung bình của HCL chuẩn bị đông lạnh là 74,11±4,82%. Túi HCL được điều chế có Hct thấp <70% do việc ban đầu HCL được điều chế như túi HCL thông thường dùng dự trữ ở 4^{O}C có Hct 65±5[28], các túi máu được điều chế lưu trữ ở 4^{O}C để sử dụng ngay, nhưng do người bệnh không dùng nên được sử dụng cho

đông lạnh HC. Các túi máu có Hct 70-80% hoặc trên 80% là những túi máu được xác định hiến máu cho đông lạnh, nên Hct được cô đặc ngay khi điều chế HCL.

So sánh với tiêu chuẩn của BV.TMHH theo bảng 3.8, mức Hct của túi máu chuẩn bị đông lạnh cao hơn. Điều này được lý giải vì Hct của túi HCL thấp có trọng lượng sẽ cao do phần huyết tương còn lại trong túi máu nhiều hơn túi có Hct cao, mối tương quan giữa Hct và cân nặng là mối tương quan tỷ lệ nghịch với R <0 (R=-0,69) theo bảng 3.17 Hct thấp thì cân nặng túi máu sẽ cao, cân nặng túi máu cao thì DD glycerol cho vào HCL sẽ nhiều (tương quan tỉ lệ thuận với R >0 (0,65). Theo biểu đồ 3.3 thể tích DD glycerol cho vào túi HCL nhiều nếu cân nặng cao. Như vậy, Hct thấp có cân nặng cao sẽ sử dụng glycerol nhiều. Do đó Hct cao, thể tích glycerol sử dụng sẽ thấp hơn nên tránh lãng phí glycerol. Theo bảng 3.33, mức Hct > 70% thì sự hao hụt lượng Hb so với <70% không có sự khác biệt trong thời gian lưu trữ hồng cầu chờ đông lạnh. Do đó xác định Hct của túi HCL dùng để đông lạnh có Hct trong khoảng 70 - 80% là hợp lý.

4.1.2.2. Bàn luận về lượng Hb của túi HCL.

Theo bảng 3.5. lượng Hb của túi máu theo thể tích máu lấy ban đầu loại 250 ml, 350ml và 450ml lần lượt là 28,6 ± 2,08g/túi, 44,2 ± 2,4g/ và 55,8 ± 3,6g/túi so sách với tiêu chuẩn chất lượng của BV.TMHH và của quốc gia thì lượng Hb của khối HCL điều chế để đông lạnh và khối HCL để lưu trữ $4^{O}C$ là đạt tiêu chuẩn theo bảng 3.8. Điều này cho thấy công tác tuyển chọn người hiến máu và điều chế HCL là đạt yêu cầu. Kỹ thuật điều chế HCL chuẩn bị đông lạnh tuân thủ theo qui trình kỹ thuật đã được thực hiện tại BV.TMMHH theo ISO 9001-2008 mà BV đã đạt được từ năm 2013[25]. Khối HCL được lưu trữ và bảo quản, chờ kết quả sàng lọc vi rút, vi trùng, KST theo qui định, túi máu nếu cần có thể sử dụng được ngay cho người bệnh và hoặc có thể đưa vào đông lạnh khi các kết quả sàng lọc âm tính.

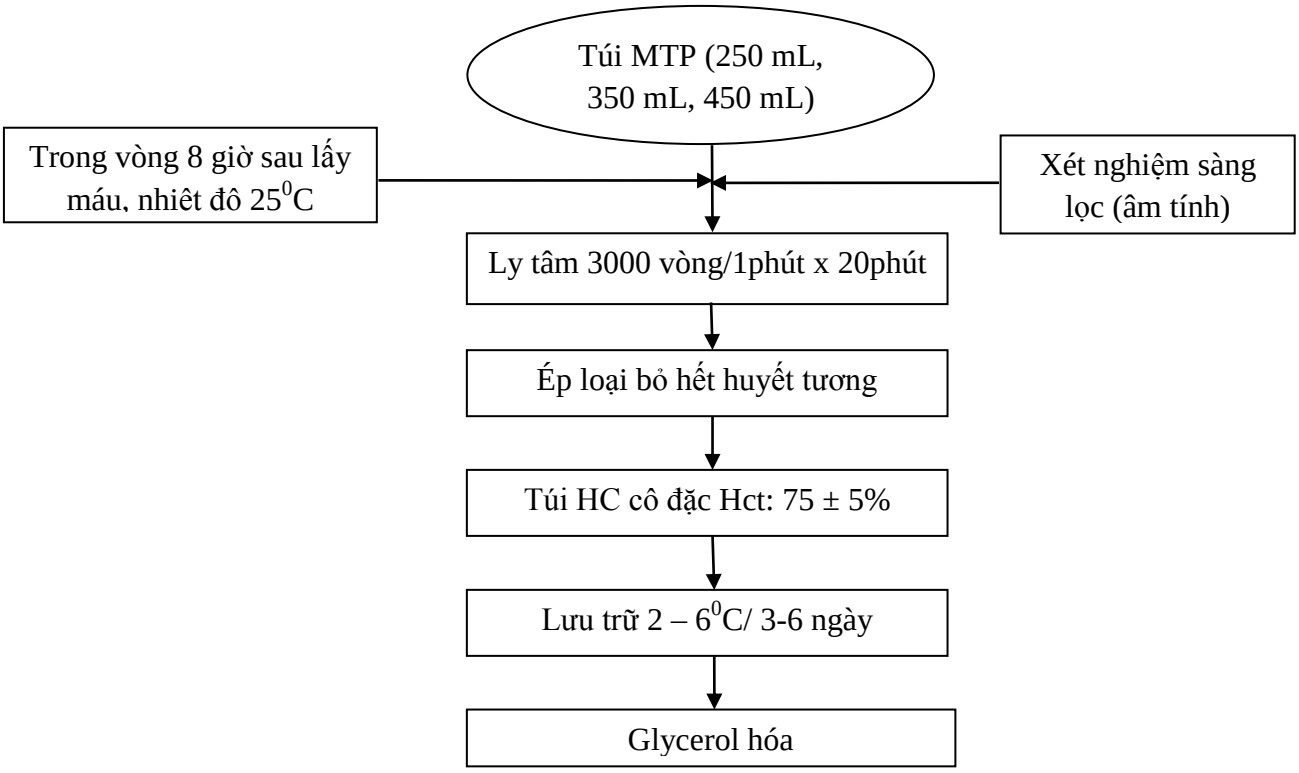
4.1.2.3. Đặc điểm khối HCL chuẩn bị đông lạnh

Bàn luận về đặc điểm sinh học của túi HCL chuẩn bị đông lạnh. Theo bảng 3.7, túi HCL có độ pH 7,1 ± 0,2 và nồng độ K^{+} ngoài tế bào 4,29 ± 1,12mEq/L đều ở giới hạn của túi HCL thông thường[10]. Theo bảng 3.5, lượng Hb đạt tiêu chuẩn

qui định. SLBC ở mức 6,14 ± 0,73 đến 7,64 ± 0,93x10^8/túi máu theo bảng 3.7, cho thấy SLBC trong túi máu hiện chưa sử dụng bộ lọc bạch cầu tại NHM theo hình 1.4. nên SLBC phù hợp với tiêu chuẩn qui định. Trên thực tế hiện nay chỉ sử dụng bộ lọc bạch cầu tại cơ sở điều trị khi người bệnh có chỉ định hình 1.3,

Túi máu chuẩn bị cho đông lạnh có mức Hct là 70% - 80%. Theo tác giả Valeri, Hct của túi máu là 75±5% [118] đạt để đông lạnh, nên kết quả của chúng tôi phù hợp với báo cáo của nước ngoài.

Các túi HCL sử dụng để đông lạnh trước khi glycerol hóa theo sơ đồ 4.1 có đặc điểm lượng Hb theo tiêu chuẩn của BVTMHH, và có Hct từ 70-80%.



Sơ đồ 4.1. Quy trình chuẩn bị HCL trước khi Glycerol hóa hồng cầu

4.1.3. Quy trình kỹ thuật glycerol hóa túi HCL chuẩn bị đông lạnh.

4.1.3.1. Kỹ thuật đông lạnh hồng cầu bằng DD glycerol nồng độ cao.

Kỹ thuật đông lạnh hồng cầu bằng glycerol nồng độ cao bảo quản ở độ lạnh -80^{O}C có chi phí ít hơn so với bảo quản tế bào bằng hệ thống đông lạnh -196^{O}C. Bảo quản hồng cầu bằng glycerol nồng độ thấp bảo quản ở độ lạnh -196^{O}C bằng Nitơ lỏng chi phí cao. Tại BV.TMHH đã lưu trữ tế bào bằng nitơ lỏng[4],[19]. Thực hiện lưu trữ hồng cầu bằng glycerol nồng độ thấp sẽ có nhiều hạn chế trong việc thực hiện kỹ thuật lưu trữ và vận chuyển như bảng 1.6 đã phân tích. Lưu trữ hồng cầu bằng glycerol nồng độ cao ở -80^{0}C dễ thực hiện trong hoàn cảnh thực tế của Việt Nam cũng như tại bệnh viện TMHH vì chi phí phù hợp với điều kiện kinh tế của Việt Nam hiện nay.

Các nghiên cứu đã chứng minh đông lạnh hồng cầu bằng glycerol nồng độ cao tốt hơn so với đông lạnh bằng DD glycerol nồng độ thấp. Trong vi tuần hoàn khả năng tế bào HC biến dạng với kích thước của chúng cho phép các HC thích ứng chui qua mao mạch hẹp, khả năng linh hoạt và phục hồi nhanh chóng hình dạng HC là những yếu tố cần thiết cho việc duy trì mô tưới máu đầy đủ và làm tế bào sống sót[86],[93]. Một số các nghiên cứu đã chứng minh đông lạnh hồng cầu bằng glycerol nồng độ cao không có hại đối với các biến dạng của HC[60]. Đông lạnh hồng cầu bằng glycerol nồng độ cao không nhạy cảm với thay đổi nhiệt độ thậm trí nó được rã đông và đông lạnh trở lại không ảnh hưởng đến thể chất hồng cầu. HCĐL bằng glycerol nồng độ cao được chứng minh là ổn định hơn đông lạnh bằng glycerol nồng độ thấp trong lưu trữ[78].

Việc sử dụng máy ACP215 để thực hiện quá trình glycerol hóa cũng như rửa loại bỏ glycerol sau khi giải đông đã được FDA công nhận là một bước tiến cho kỹ thuật đông lạnh bằng glycerol nồng độ cao nhằm loại bỏ hầu hết glycerol và các chất sinh học không cần thiết ra khỏi túi máu. Thời gian thực hiện qui trình ngắn nên thực hiện trên nhiều túi máu trong cùng một thời điểm[113] do vậy việc điều chế HCĐL sẽ nhanh chóng và thuận tiện.

4.1.3.2. Về qui trình thực hiện giai đoạn glycerol hóa

a. Thời gian hồng cầu lắng chờ để được đông lạnh

Máu được tiếp nhận từ nguồn người hiến máu phải được xét nghiệm sàng lọc các tác nhân lây qua đường truyền máu như HBsAg, HIV, HCV, HTLV, Giang mai và sốt rét[7]. Khi các kết quả sàng lọc vi rút, vi trùng, KST âm tính các túi máu được sử dụng cho đông lạnh hoặc cho sử dụng truyền cho người bệnh có nhu cầu. Tuy nhiên nhóm máu RhD âm là nhóm máu hiếm tỷ lệ 0,04%[5], do đó có những trường hợp túi máu phải chờ lâu hơn 6 ngày theo qui định nếu như không có bệnh nhân cần sử dụng, túi máu đó được dùng cho đông lạnh, do đó có túi máu để lâu hơn 6 ngày với 40 túi tỷ lệ 19,05% theo bảng 3.9. Trong nghiên cứu của chúng tôi theo bảng 3.32, có mối tương quan ảnh hưởng thời gian chờ để đông lạnh sau khi hiến máu, máu được đông lạnh lâu hơn 6 ngày có lượng Hb hao hụt cao hơn nhóm <6 ngày, sự so sánh này có ý nghĩa thống kê ở cả 3 loại thể tích máu với P <0,001.

Xác định thời gian lưu trữ HC trước khi cho glycerol tối đa không quá 6 ngày, hồng cầu được đông lạnh càng sớm càng tốt sau khi hiến, nên có tiêu chuẩn đông lạnh hồng cầu trong vòng 6 ngày sau khi máu được lấy ra khỏi cơ thể người hiến.

b. Qui trình kỹ thuật

Đơn vị HCL glycerol hóa

Thể tích DD glycerol cho vào hồng cầu lắng theo bảng 2.1

Thao tác thực hiện trên máy ACP215 theo phụ lục 4

Thực hiện cần lưu ý đến tầm quan trọng của nhiệt độ đối với DD glycerol và nhiệt độ của túi HCL tại thời điểm thực hiện glycerol hóa, chú ý tốc độ lắc máu, và thời gian nghỉ giữa các lần cho DD glycerol.

Loại bớt glycerol làm giảm thể tích túi HCL

Mục đích loại bớt DD glycerol: Lưu trữ đơn vị HCĐL trong tủ lạnh âm sâu được dễ dàng hơn do không chiếm quá nhiều diện tích trong tủ lưu trữ, giai đoạn rửa loại bỏ glycerol thể tích DD rửa vừa đủ để loại glycerol sao cho nồng độ glycerol trong túi HCĐL còn lại <1g%. Do đó phải có bước thực hiện loại bớt glycerol làm giảm thể tích túi HCĐL trước khi cho tủ trữ đông lạnh là cần thiết.

Việc loại bớt glycerol được kiểm soát sao cho mức Hct của túi máu không quá cao hoặc không quá thấp. Túi HCL cho DD glycerol được quay ly tâm, tốc độ quay ly tâm ở giai đoạn này: 2000 vòng/1 phút x 6 phút, sau khi ép bỏ bớt glycerol túi máu còn lại có Hct 60 ± 5%.

Giai đoạn làm giảm thể tích túi máu sau khi glycerol hóa với độ bão hòa theo tỉ lệ đã được tính toán ở bảng 2.1. Glycerol sau đó được lấy bớt ra, và trong giai đoạn này túi máu được quay ly tâm với tốc độ 2000 vòng/6 phút khuyến cáo không sử dụng thắng của máy ly tâm. Giai đoạn chiết tách phần glycerol dư và các chất nổi sang một túi khác sao cho Hct chỉ còn 60 ± 5%. Đây là giai đoạn thực hiện kỹ thuật dùng dụng cụ thủ công bằng tay, việc xác định kỹ thuật đòi hỏi phải có kinh nghiệm sao cho Hct của túi máu đạt yêu cầu. Kỹ thuật chiết tách được mô tả như sau: Nhẹ nhàng lấy túi máu ra khỏi máy ly tâm tránh tình trạnh túi máu bị sáo trộn phần HC ở bên dưới của túi máu, đặt túi máu lên bàn ép huyết tương bằng tay, mở khóa để túi máu được nối với một túi rỗng, nhẹ nhàng ép phần nước ở bên trên sang túi rỗng cho đến khi đến giải phân cách giữa phần HC đậm đặc ở bên dưới với phần nước ở bên trên cách nhau khoảng 2cm, mở phần cần gạt và đặt túi máu lên bàn cân, bóp lại cho phần nước chảy sang, trả lại túi máu 3g phần nước đã ép ban đầu sao cho túi máu đạt với tỷ lệ Hct là 60 ± 5%. Xây dựng qui trình kỹ thuật loại bỏ glycerol của túi HCL được glycerol hóa, quy trình chi tiết theo phụ lục 5.

Đây cũng là điểm cần xác định kiểm tra chất lượng vì sử dụng dụng cụ ép huyết tương thủ công bằng tay và chất lượng của sản phẩm phụ thuộc vào nồng độ Hct của túi máu ở giai đoạn này.

c. Kết quả của túi HCL glycerol hóa.

Mức Hct của túi HCL glycerol hóa

Theo bảng 3.10 có Hct trung bình nhóm 1 là 57,8 ± 2,94% (cao nhất là 63,6% và thấp nhất là 51,7%), nhóm 2 là 59,8 ± 4,46% (cao nhất là 72,9% và thấp nhất là 51,2%), nhóm 3 là 59,95 ± 5,68% (cao nhất là 72,7% và thấp nhất là 51,6%) và theo bảng 3.15 túi máu đã được glycerol hóa và chuẩn bị đông lạnh với mức Hct trung bình của 3 nhóm là 59,69 ± 4,78%.

Mức Hct cao có ảnh hưởng đến hao hụt hồng cầu trong quá trình bảo quản đông lạnh. Theo bảng 3.35 và bảng 3.36, ảnh hưởng của Hct đến hao hụt Hb của nhóm thể tích loại 350ml (nhóm 2) và thể tích loại 450ml (nhóm 3) có tỷ lệ Hct > 65% có sự hao hụt Hb của sản phẩm sau thời gian dự trữ đông lạnh cao hơn có ý nghĩa thống kê với P < 0,001. Điều này được lý giải như sau: Do mức Hct cao ở túi HCL được glycerol hóa và làm giảm thể tích thì tỷ lệ DD glycerol bảo quản HC ít hơn nên không đủ và làm ảnh hưởng đến chức năng bảo vệ HC trong thời gian đông lạnh của sản phẩm, gây ra sự hao hụt Hb cao hơn[103]. Mức Hct của túi máu ở giai đoạn này tốt nhất là 60 ± 5%, để đảm bảo đủ nồng độ glycerol bảo vệ hồng cầu và đảm bảo đủ dung dịch rửa loại bỏ glycerol. Nếu Hct cao ở túi HCL giai đoạn này sẽ ảnh hưởng đến HC nhưng nếu mức Hct thấp sẽ chiếm diện tích của tủ lưu trữ, đồng thời lượng DD glycerol còn nhiều khi rửa sẽ cần những túi nước rửa có thể tích nhiều hoặc sẽ không loại hết glycerol của sản phẩm sau cùng.

Vẫn còn một số túi HCL được glycerol hóa có tỷ lệ Hct cao. Theo bảng 3.10 mức Hct cao ở nhóm 2 và nhóm 3, Hct cao nhất là 72,9%. Giai đoạn này cần xác định tốc độ, thời gian quay ly tâm túi máu, kỹ thuật ép và loại bỏ bớt phần glycerol phía trên.

Lượng Hb của túi HCL glycerol hóa

Theo bảng 3.11 lượng Hb của túi HCL glycerol hóa được làm giảm thể tích cao nhất ở túi máu loại thể tích 450ml là 62.5g/túi và thấp nhất ở túi máu 250ml là 25,2g/túi. So sánh với túi HCL trước glycerol hóa theo bảng 3.12 sự hao hụt này ở cả 3 nhóm thể tích với tỷ lệ hao hụt túi loại thể tích 250ml, 350ml và 450ml lần lượt là 2,16%, 1,40% và 1,25%. Tuy nhiên sự hao hụt trước và sau glycerol hóa của túi HCL không có ý nghĩa thống kê với P > 0,05

SLBC, chỉ số K^+, pH, cấy máu trong túi HCL glycerol hóa

SLBC trong túi HCL sau glycerol hóa theo bảng 3.13 trung bình từ 5,42 ± 1,79x10^8/túi đến 6,97 ± 2,17x10^8/túi. So sánh SLBC với túi HCL trước glycerol hóa có sự thay đổi, hao hụt từ 8,76 đến 11,70% theo bảng 3.14, hao hụt này do trong quá trình xử lý tế bào bạch cầu cũng bị bể và bị loại đi.

Độ pH của túi máu không thay đổi trước và sau glycerol hóa. Nồng độ K^+ ngoại bào tăng hơn so với trước glycerol hóa theo bảng 3.16, điều này cho thấy có sự thoát K^+ nội bào ra ngoại bào, có hiện tượng bể tế bào.

Các thay đổi các chỉ số sinh học của túi HCL trước và sau glycerol do:

- Lưu trữ HC ở 4^0C chờ đông lạnh: Bình thường trong cơ thể người hồng cầu có đời sống là 120 ngày, các tế bào hồng cầu ở trong máu tuần hoàn không có nhân, nhưng có chứa những chất men cần thiết cho sự dị hóa glucoz, những chất khác và sự sử dụng oxy. Hệ thống chuyển hóa này càng già càng trở nên ít hoạt động hơn. Màng hồng cầu khi già trở nên cứng dòn, dễ bể và bị đào thải khỏi hệ tuần hoàn. Hồng cầu hao hụt sinh lý hàng ngày sẽ là 25-50ml máu tương đương 1% HC chết mỗi ngày trong máu ngoại vi và trong lách[2]. Tuy nhiên ở cơ thể người hồng cầu hàng ngày được tủy tăng sinh tạo ra lượng hồng cầu mới bù vào lượng hồng cầu bị phá hủy sinh lý do tới giới hạn của đời sống. Ở máu dự trữ, quá trình chuyển hóa của HC vẫn duy trì khi giữ ở môi trường bên ngoài cơ thể, các chất bảo quản nhằm cung cấp năng lượng để hoạt động chuyển hóa được duy trì và nuôi sống HC[37]. Nồng độ Hb của túi máu giảm xuống trong quá trình lưu trữ với tỉ lệ trung bình là 0,5 - 1% khi máu được lấy ra khỏi cơ thể người hiến. Ở nghiên cứu của chúng tôi theo bảng 3.32, thời gian lưu trữ bảo quản chờ để glycerol hóa túi HCL có mối liên quan đến hao hụt Hb. Nếu thời gian bảo quản <6 ngày hao hụt Hb không có ý nghĩa thống kê với P > 0,05, tuy nhiên thời gian lưu trữ bảo quản hồng cầu 7 ngày đến 11 ngày thì hao hụt Hb có ý nghĩa thống kê. Hồng cầu sau khi lấy ra khỏi cơ thể người hiến máu cần đông lạnh sớm để đảm bảo số lượng hồng cầu tránh tình trạng bể hồng cầu trong quá trình bảo quản lưu trữ [13],[80].

- Tác động của glycerol vào tế bào máu, khi glycerol xâm nhập vào bên trong hồng cầu nhằm bảo vệ tế bào hồng cầu trước sự thủy tinh hóa từ bên trong, thì có tình trạng gây stress tế bào, kết quả tế bào có thể bị bị thiệt hại[78]. Khả năng thẩm thấu của màng hồng cầu phản ánh khả năng duy trì tính toàn vẹn của HC. Mặc dù thực nghiệm kiểm tra tính thẩm thấu của HC chưa thực sự đáng tin cậy trong chuẩn đoán chức năng của HC nhưng nó vẫn là một biện pháp chứng minh tính

nhậy cảm của HC với tác động thẩm thấu khi bị Stress thẩm thấu (Khi làm thử nghiệm về kiểm tra độ thẩm thấu)[96]. Để hạn chế thiệt hại của tế bào khi cho glycerol hóa ở giới hạn nhất định cần kiểm soát một số HC dễ bị bể khi thay đổi môi trường như HC bị bệnh lý hemoglobin thì sức bền HC giảm. Do đó việc lựa chọn người hiến máu cần được lưu ý, tuyển chọn người hiến máu có chất lượng hồng cầu đạt tiêu chuẩn[84],[99],[124].

- Nhiệt độ của túi HCL khi ra khỏi tủ lạnh trong thời gian bảo quản và nhiệt độ của chai glycerol phải đảm bảo tương đồng, tránh tình trạng gây shock nhiệt độ, đây là điểm kiểm tra chất lượng để tình trạng cân bằng nhiệt độ giữa hai môi trường được đảm bảo.

- Theo qui trình kỹ thuật, việc cho glycerol vào túi HCL cần phải kiểm soát tốc độ không quá nhanh, tốc độ lắc túi máu đúng theo chỉ dẫn, và thời gian nghỉ giữa các lần để glycerol được trộn đều với các tế bào hồng cầu. Đây là qui trình thực hiện bằng hệ thống kit và máy tự động do đó đảm bảo tính tuân thủ cao qui trình thực hiện theo phụ lục 4, lượng glycerol cho vào được tính toán đúng theo bảng 2.1.

- Ở giai đoạn quay ly tâm túi máu loại bớt glycerol, tốc độ quay tạo lực ma sát có thể ảnh hưởng đến màng HC gây bể HC, sử dụng qui trình kỹ thuật chuẩn về máy ly tâm, trong đó tốc độ tăng và tốc độ giảm không sử dụng thắng (tốc độ thắng bằng 0) phải được đảm bảo[98].

4.1.3.3. Điểm kiểm soát chất lượng glycerol hóa túi HCL.

- Túi HCL sau khi được điều chế tốt nhất nên glycerol hóa và đông lạnh trong vòng 6 ngày. Kiểm soát tốc độ và thể tích DD glycerol cho vào HCL. Kiểm soát tốc độ máy ly tâm khi ly tâm túi HCL được glycerol hóa và làm giảm thể tích. Kiểm soát kỹ thuật ép bớt DD glycerol ra khỏi túi HCL đảm bảo Hct còn lại là 60 ± 5%. Tủ lạnh lưu trữ túi máu ở -80^{0}C được kiểm soát nhiệt độ trong suốt quá trình bảo quản.
- Thực hiện qui trình theo sơ đồ 4.2
- Dán nhãn và lưu trữ sản phẩm trong tủ -80^{0}C

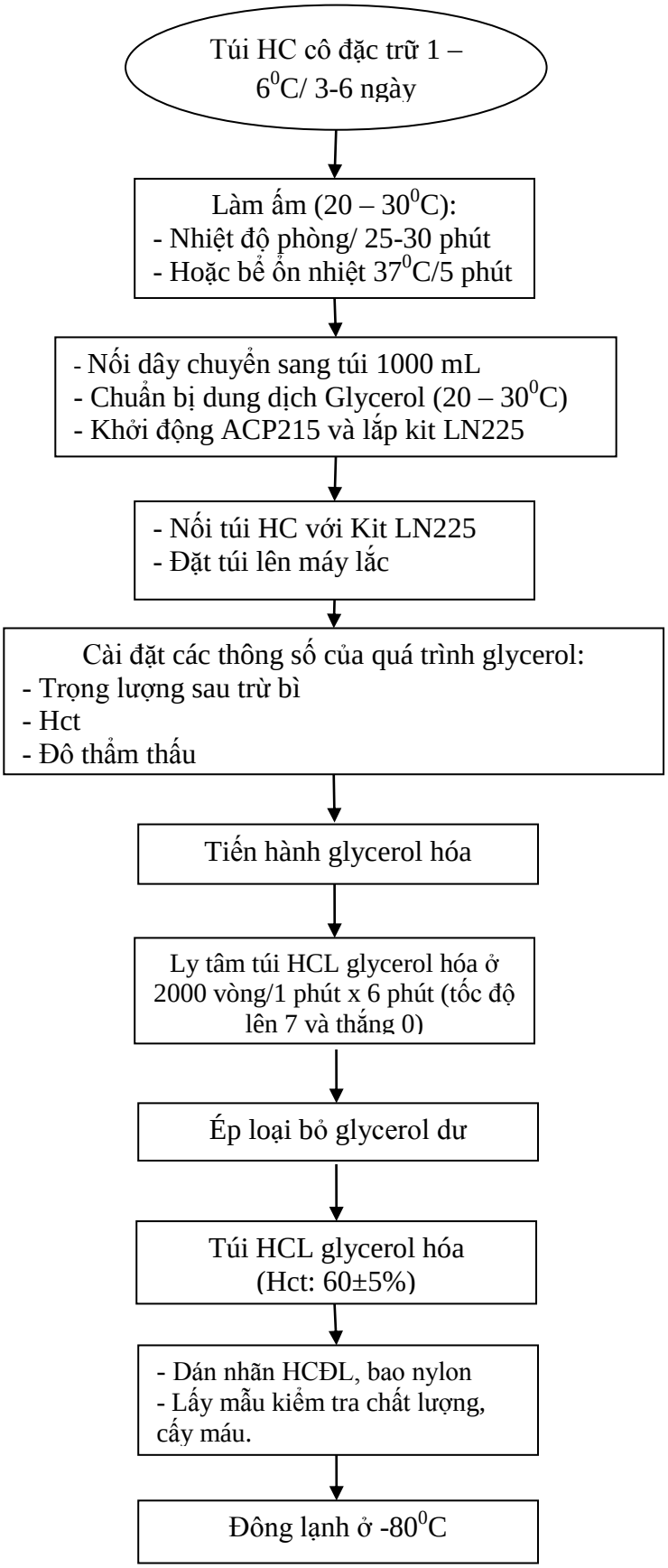
4.1.3.4. Bảo quản túi Hồng cầu Đông lạnh ở -80^{0}C

Tủ lạnh -80^{0}C được kiểm soát nhiệt độ bởi các nhân viên. Kiểm tra nhiệt độ sử dụng bảng chấm nhiệt độ mỗi 6 giờ, theo như bảo quản máu của Ngân hàng máu BV. TMHH để đảm bảo theo dõi nhiệt độ trong suốt thời gian lưu trữ theo phụ lục 3.

Túi máu được bảo quản ở tủ âm sâu -80^{0}C với sơ đồ lưu trữ để đảm bảo nguyên tắc túi nào đông lạnh trước được sử dụng trước.

Túi nhựa bao bọc bên ngoài túi máu để tránh hiện tượng cọ sát gây bể rách túi hồng cầu trong quá trình lưu trữ. Tuy nhiên cần có hộp nhựa nhôm hoặc catton bảo quản túi máu là tốt nhất.

HCĐL được bảo quản và lưu trữ thời gian có thể lên đến 10 năm.



Sơ đồ 4.2. Quy trình glycerol hóa và đông lạnh hồng cầu

4.2. Thiết lập qui trình kỹ thuật HCĐL giải đông–rửa loại bỏ glycerol

Đông lạnh 210 túi HCL trong tủ âm -80^{0}C với thời gian đông lạnh theo bảng 3.18. Các túi máu đã được đông lạnh có thời gian ngắn nhất là 3 tháng và dài nhất là 32 tháng (là 995 ngày). Khi có nhu cầu sử dụng, HCĐL được giải đông loại bỏ glycerol, kiểm tra chất lượng và được sử dụng truyền cho người bệnh.

Thực hiện kỹ thuật giải đông trong bồn giải đông ở nhiệt độ 36 ± 1^{0}C/10-15 phút. Trong quá trình giải đông cần quan sát và thực hiện theo qui trình.

Sau khi giải đông túi HCĐL thực hiện kỹ thuật rửa loại bỏ glycerol bằng máy ACP215 với hệ thống Kit chuyên dụng.

Nghiên cứu của chúng tôi thực hiện trên 210 túi máu. Không có hiện tượng rò rỉ, lủng rách trong quá trình bảo quản, không bể trong quá trình rửa. Qua thực hiện qui trình kỹ thuật giải đông, và rửa chúng tôi có những bàn luận như sau:

4.2.1. Bàn luận về kỹ thuật thực hiện

4.2.1.1. Bàn luận về giải đông sản phẩm

Túi máu được lấy ra khỏi tủ đông lạnh được kiểm tra bề ngoài của túi máu nhằm phát hiện các túi máu bị bể nứt trong quá trình lưu trữ, kiểm tra bằng cách ấn nhẹ các túi đã được bọc trong bông trắng, lau toàn bộ bề mặt túi sau khi đã nhấn nhẹ và kiểm tra bông có vết máu không, loại bỏ tất cả các túi máu có dấu hiệu bị nứt vỡ rò rỉ, bể, nứt trong suốt quá trình điều chế sản phẩm.

Túi máu cho vào bồn giải đông chuyên dụng, có kiểm soát nhiệt độ, nhằm tránh tình trạng nhiệt độ không đảm bảo sẽ làm bể hồng cầu, đảm bảo thời gian giải đông trong vòng 10-15 phút. Kỹ thuật trong quá trình giải đông chú ý túi máu được để thẳng đứng sao cho phần nắp trên túi máu không tiếp xúc với nước trong bồn giải đông. Kiểm tra xem có bất kỳ mẫu nào có hiện tượng tán huyết, rò rỉ, tiến hành cô lập các mẫu nghi ngờ và loại bỏ nếu cần thiết.

4.2.1.2. Bàn luận về rửa HCĐL loại bỏ glycerol.

Xây dựng qui trình lắp đặt và sử dụng máy rửa hồng cầu ACP215 với hệ thống kit của hãng Hemonetic. Thao tác thực hiện theo phụ lục 6

Các KTV và nhóm nghiên cứu đã được tập huấn, được thảo luận về các yếu tố nguy cơ trong quá trình chạy máy. Máy được kiểm tra định kỳ, bảo trì bởi chính hãng.

Giai đoạn này cần lưu ý: kiểm soát nồng độ NaCL 12% theo đúng cân nặng của túi máu. Cài đặt và vận hành máy lưu ý các thông số yêu cầu để loại bỏ glycerol tránh để thất thoát hồng cầu do chạy vào túi rửa đưa đến hao hụt Hb của túi HCL sau cùng.

Thời gian thực hiện qui trình giải đông, và rửa mất 60 ± 7 phút. So với thực hiện bằng phương pháp thủ công như trước đây thời gian thực hiện là 180 phút[12]. Chúng tôi không mất nhiều thời gian để thực hiện qui trình này, cung cấp sản phẩm cho các bệnh viện để điều trị người bệnh nhanh chóng hơn.

4.2.1.3. Kiểm tra trong quá trình thực hiện qui trình

a. Kiểm tra cảm quan

Kiểm tra bằng cách quan sát các mẫu HCĐL rửa loại bỏ glycerol trong và sau quá trình loại bỏ glycerol.

b. *Mẫu nước thải*:

Kiểm tra biểu đồ nước thải được in ra trong suốt quá trình rửa để kiểm tra các dấu hiệu tán huyết quá mức hoặc hồng cầu bị tràn.

Tán huyết tại thời điểm bắt đầu quá trình rửa sẽ có màu hồng nhạt nổi trên bề mặt sau đó phai dần và biến mất sau khoảng 1200 ml dung dịch rửa được sử dụng. Màu của dung dịch nước thải nên nhạt hơn mức 5 trong bảng so màu, nếu dấu hiệu tán huyết vẫn còn, đơn vị hồng cầu phải được tiến hành kiểm tra xem có chắc chắn an toàn để truyền hay không. Tán huyết là kết quả từ quá trình đông lạnh - rã đông gây ra thương tổn hồng cầu hoặc khả năng quản lý không tốt trong suốt quá trình rửa hồng cầu

c. *Tràn hồng cầu*:

Trong quá trình rửa sử dụng dòng chảy ly tâm liên tục, các tế bào hồng cầu còn nguyên vẹn có thể bị cuốn vào dòng nước thải, dòng nước thải xuất hiện các vết đục màu đỏ trong khi quá trình tán huyết xảy ra, dòng nước thải nhìn rõ với vệt màu

hồng. Để phát hiện tượng tán huyết hoặc mất tế bào hồng cầu nguyên vẹn có xuất hiện hay không, nước thải phải được kiểm tra. Nếu có hiện tượng tràn hồng cầu, cần thực hiện các bước sau:

- Tiến hành cô lập túi bị tràn hồng cầu. Những túi này được chấp nhận để truyền máu khi chúng đáp ứng được các tiêu chí đề ra.
- Kiểm tra trọng lượng túi máu.
- Kiểm tra nhãn và thành phần dung dịch rửa, bộ Kit rửa có phù hợp không.

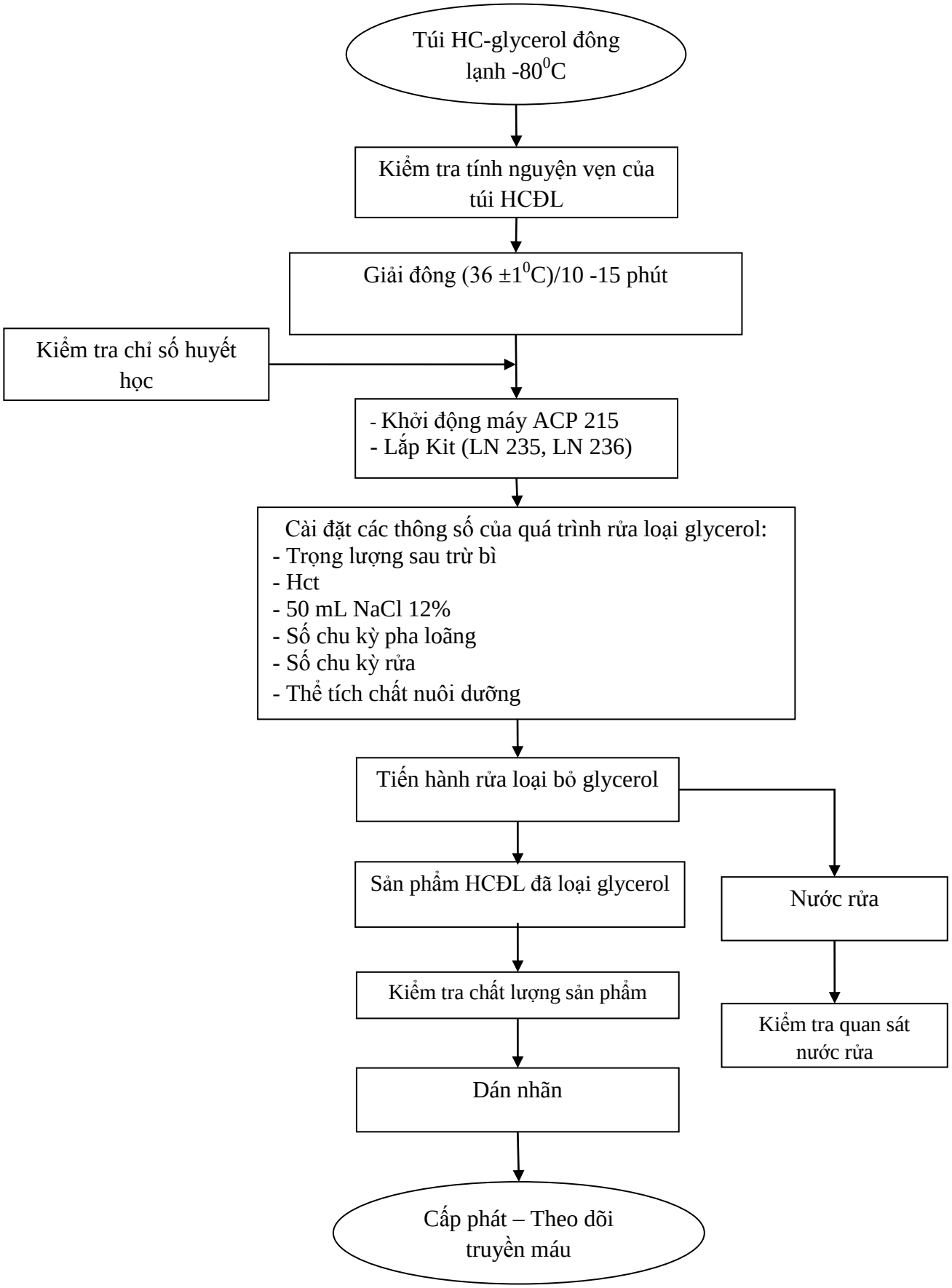
4.2.2. Lưu trữ bảo quản và kiểm tra chất lượng sản phẩm sau rửa và trước khi cấp phát.

Kiểm tra chất lượng sản phẩm bởi phòng QLCL bệnh viện thực hiện[10]. Hồng cầu sau khi rửa xong được dán nhãn theo đúng qui định về mã số, tên sản phẩm, ngày sản xuất, ngày hết hạn, nhiệt độ bảo quản.

Sản phẩm lưu trữ ở 4^0C trong 3 ngày với DD bảo quản là SAGM[118].

Kiểm tra chất lượng

Lượng Hb, Hct, đo độ khúc xạ, Cấy máu, Đo pH, Đo ion đồ của túi máu trước khi cấp phát.



Sơ đồ 4.3. Quy trình giải đông và rửa loại bỏ glycerol

4.2.3. Bàn luận về kết quả sản phẩm sau giải đông rửa loại bỏ glycerol của HCĐL.

4.2.3.1. Lượng Hb còn lại sau đông lạnh, giải đông và rửa

a. Về lượng Hb.

Theo bảng 3.20 lượng Hb của túi máu sau đông lạnh và sau khi rửa loại bỏ glycerol theo thể tích máu lấy ban đầu 250ml, 350ml và 450ml có Hb còn lại lần lượt là 25,18 ± 1,92g/túi (cao nhất là 28,12 g/túi và thấp nhất là 23,3 g/túi), 40,62 ± 2,43g/túi (cao nhất là 45,6 g/túi và thấp nhất là 32,3 g/túi), 52,05 ± 3,66g/túi (cao nhất là 28,12 g/túi và thấp nhất là 23,3 g/túi). So sánh với lượng Hb trước đông lạnh có sự hao hụt theo bảng 3.21 từ 5,58% đến 9,85%.

Hao hụt Hb của túi HCĐL trong toàn bộ quá trình đông lạnh và xử lý có các nguyên nhân như:

Bảo quản lạnh kéo dài tuổi thọ của tế bào tuy nhiên giai đoạn giải đông và rửa làm giảm tuổi thọ của tế bào, các hồng cầu rửa phải đáp ứng nguyên tắc nhất định tránh lực hướng tâm dẫn đến bể tế bào, do đó tốc độ thắng và tốc độ quay của máy ly tâm phải đảm bảo nguyên lý giảm độ ma sát tối đa[32],[44].

Quá trình đóng băng và tan băng của tế bào cũng có thể làm thay đổi cân bằng vật lý của hồng cầu và kết quả là làm sưng phồng tế bào và thay đổi hình dạnh hồng cầu[75],[92]. Tuy nhiên HCĐL có khả năng duy trì tính toàn vẹn sẽ cao hơn hồng cầu tươi và hồng cầu dự trữ ở tủ lạnh thông thường[53],[62].

Kỹ thuật rửa HCĐL, sử dụng máy ACP215 với hệ thống kit rửa, tốc độ quay và trộn các dung dịch đã được chuẩn hóa với các qui trình kiểm tra của hãng Haemonetic. Dung dịch rửa gồm: Dung dịch NaCl 12% là dung dịch ưu trương, việc cho vào ở giai đoạn rửa mục đích là để lấy hết glycerol có trong HC ra môi trường ngoài và được loại bỏ ở phần rửa. Tuy nhiên việc cho dung dịch ưu trương cần kiểm soát để tránh làm hư tổn hồng cầu cần chú ý thời gian và tốc độ khi sử dụng DD NaCl 12%. HC không thay đổi hình dạng khi đặt trong môi trường đẳng trương (tương ứng với dung dịch muối 9‰), trong dung dịch ưu trương nước trong

HC thấm ra ngoài, làm HC teo lại. Trong dung dịch nhược trương nước từ ngoài thấm vào hồng cầu làm trương to lên và cuối cùng vỡ ra gây tan máu[98].

Dung dịch rửa gồm glucose 5% và DD NaCl 0,9% là dung dịch đẳng trương và đảm bảo cung cấp năng lượng, tổng hợp ATP và cung cấp 2,3 DPG cho hồng cầu, NaCl duy trì tính đẳng trương của dung dịch. Thời gian lưu trữ hồng cầu sau giải đông và rửa cũng được đề cập có ảnh hưởng đến tế bào[46],[64],[76]. Tuy nhiên không có phản hồi đặc biệt nào về chức năng hồng cầu sau truyền, hồng cầu được rửa và lưu trữ trong vòng 7 ngày với DD AS-3 và lượng 2,3 DPG sẽ được phục hồi vài giờ sau truyền máu[41].

Về các yếu tố khác như:

- Hoá chất: Hóa chất sử dụng của các hãng uy tín (do hãng Baxter cung cấp với giấy chứng nhận tiêu chuẩn chất lượng của FDA Mỹ), kiểm soát và bảo quản tại kho đạt tiêu chuẩn về kiểm soát nhiệt độ và độ ẩm. Các hóa chất đảm bảo lưu trữ và bảo quản đúng thời gian và điều kiện đã được khuyến cáo. đảm bảo hạn sử dụng khi dùng.

- Nhiệt độ và thời gian giải đông gây bể tế bào nếu không được kiểm tra chặt chẽ (đây cũng là một điểm cần đưa vào tiêu chuẩn kiểm tra chất lượng).

- Tủ đông lạnh: Tủ lưu trữ máu phải được kiểm soát nhiệt độ thường xuyên, nhiệt độ tăng hoặc giảm trong quá trình lưu trữ làm ảnh hưởng đến tế bào và gây vỡ[64]. Tuy nhiên chúng tôi có bảng theo dõi nhiệt độ để kiểm soát yếu tố này theo phụ lục 3 (phiếu theo dõi nhiệt độ tủ âm sâu)

b. Các yếu tố ảnh hưởng đến lượng Hb còn lại sau đông lạnh

Theo biểu đồ 3.4 cho ta thấy Hb còn lại sau cùng là 92,22%, hao hụt chung của 3 nhóm là 7,78%. Theo bảng 3,27, lượng hao hụt Hb trong toàn bộ quá trình xử lý với nhóm 1 là 3,37 ± 0,38g/túi, nhóm 2 là 3,58 ± 0,60g/túi và nhóm 3 là 3,37 ± 0,66g/túi, hao hụt này khác biệt có ý nghĩa thống kê $p < 0,001$ ở cả 3 nhóm theo thể tích máu lấy ban đầu.

- Thời gian đông lạnh.

Trong nghiên cứu của chúng tôi theo bảng 3.18, các túi máu đã được đông lạnh có thời gian nhanh nhất là 3 tháng và lâu nhất là 32 tháng (là 995 ngày). Theo bảng 3.34, thời gian bảo quản đông lạnh không ảnh hưởng đến sự hao hụt Hb của túi HCĐL, hao hụt Hb khác biệt không có ý nghĩa thống kê với P > 0,05 ở các nhóm thời gian khác nhau. Hình ảnh tế bào hồng cầu không có sự thay đổi và khác biệt về hình dạng tế bào trước đông lạnh, sau đông lạnh và sau rửa theo hình 3.1, hình 3.2, hình 3.3. Theo tác giả Valeri thời gian đông lạnh hồng cầu >10 năm không làm thay đổi cấu trúc và hình dáng tế bào hồng cầu[76]. Theo các tác giả khác, đông lạnh hồng cầu bằng glycerol nồng độ 40% có thể lưu trữ đến 21 năm [117]. Hồng cầu đông lạnh lưu trữ 10 năm bằng glycerol nồng độ cao đã được chứng minh ổn định hơn hồng cầu đông lạnh bằng glycerol nồng độ thấp và tốt hơn HC dự trữ thông thường ở 4^0C[60],[86].

- Mức Hct của túi HCL ban đầu.

Các túi máu toàn phần chưa xác định đông lạnh do chờ xét nghiệm được điều chế theo tiêu chuẩn của BV TMHH về Hct (Hct 50-70%), khi được xác định đông lạnh túi máu được cô đặc có tỷ lệ Hct 70-80% như các túi máu được xác định điều chế cho đông lạnh ngay từ đầu chuẩn bị glycerol hóa. Theo bảng 3.28, mức Hct không ảnh hưởng đến lượng Hb hao hụt ở giai đoạn này với P > 0,05.

- Thời gian túi HCL chờ để đông lạnh

Có hao hụt Hb của túi máu sau khi cho glycerol, khi các túi máu này được lưu trữ lâu ở tủ lạnh thông thường, đặc biệt lưu trữ trên 7 ngày trước khi tiến hành đông lạnh thì hao hụt Hb có ý nghĩa thống kê theo bảng 3.32. Do đó theo kết quả của nghiên cứu này chúng tôi khuyến cáo việc lưu trữ máu chờ đông lạnh nên xác định tối đa là 6 ngày. Các nghiên cứu của Châu Âu đề nghị từ 6 đến 7 ngày sau hiến nên tiến hành đông lạnh[92].

- Mức Hct của túi HCL glycerol hóa và được làm giảm thể tích.

Có mối tương quan chặt chẽ giữa lượng Hb còn lại của sản phẩm sau cùng với Hct của túi máu khi cho glycerol vào và được làm giảm thể tích. Theo bảng 3.35 và

3.36, cho thấy hao hụt Hb của túi máu trước và sau đông lạnh khác biệt có ý nghĩa ở túi có tỉ lệ Hct cao > 65% với P < 0,001. Do thực hiện kỹ thuật thủ công bằng tay ép phần dung dịch ở phía trên, do đó phải được kiểm soát chất lượng ở giai đoạn này để đảm bảo Hct của túi máu từ 55-65% là rất cần thiết. Đây là điểm cần kiểm tra chất lượng kỹ thuật khi điều chế sản phẩm. Theo khuyên cáo của tác giả Valeri C. Robert và cộng sự mức Hct của túi máu giai đoạn này là 60 ± 5%[118].

4.2.3.2. Số lượng bạch cầu trong sản phẩm sau cùng

Kết quả sản phẩm sau cùng theo bảng 3.22, túi máu loại thể tích 250ml có SLBC trong túi HCĐL là 0,39 ± 0,34 $x10^8$ (cao nhất là 0,73 $x10^8$ và thấp nhất là 0,01 $x10^8$), túi máu loại thể tích 350ml có SLBC trong túi HCĐL là 0,37 ± 0,35$x10^8$ (cao nhất là 0,74 $x10^8$ và thấp nhất là 0,01 $x10^8$), và túi máu loại thể tích 450ml có SLBC trong túi HCĐL là 0,42 ± 0,36$x10^8$ (cao nhất là 0,74 $x10^8$ và thấp nhất là 0,01$x10^8$) sản phẩm gần như tương đương với sử dụng bộ lọc bạch cầu[47],[82].

SLBC mất đi trung bình ở cả 3 nhóm là 94,60%. Ở bảng 3.29, SLBC còn lại qua các giai đoạn của quá trình xử lý là 0,39 ± 0,35$x10^8$/túi máu là một kết quả tốt. Ở nhóm 1 SLBC mất đi 93,73%, nhóm 2 là 94,81% và nhóm 3 mất đi 94,39%, cho thấy sau đông lạnh, giải đông và rửa loại bỏ glycerol đã loại đi phần lớn bạch cầu. Bảng 3.23, SLBC được loại đi 92,90% đến 93,35% sau giải đông – rửa so với giai đoạn glycerol hóa. Kết quả của chúng tôi không khác biệt so với tác giả Farrugia[54]. SLBC giảm sẽ làm giảm các phản ứng bất lợi do bạch cầu mang lại [106]. Bạch cầu trong đơn vị máu có tác dụng có hại trong truyền máu, như bạch cầu là tế bào đích của một số virút HIV, HTLV[22]. Trong quá trình bảo quản bạch cầu tạo ra các gốc tự do, kích hoạt chuyển hóa axit arachidonic, tạo ra các sản phẩm như thromboxan, prostacychin làm tăng tính thấm thành mạch, gây viêm, gây dị ứng, gây phản ứng miễn dịch đồng loại (kháng nguyên bạch cầu thuộc hệ HLA có thể gây phản ứng miễn dịch chống bạch cầu, làm giảm bạch cầu hạt, giảm tiểu cầu, giảm lympho sau truyền máu, và là một trong những nguyên nhân gây GVHD). SLBC giảm chủ yếu ở giai đoạn sau đông lạnh và rửa, điều này rất có ý nghĩa trong truyền máu. Sản phẩm HCĐL ít gây bệnh ghép chống chủ vì lympho trong phương pháp bảo quản

này đã được loại đi phần lớn, với sản phẩm sau cùng bạch cầu được loại đi >94,60%[33],[106],[120].

Để đảm bảo an toàn truyền máu phòng ngừa các phản ứng bất lợi của bạch cầu trong sản phẩm, mục đích làm giảm bạch cầu trong túi máu đang được áp dụng ở các nước tiên tiến. Một số bệnh nhân được chỉ định sử dụng lọc bạch cầu tại giường hình 1.3 nhưng chi phí cao, nhằm loại bạch cầu trong sản phẩm để ngăn ngừa các phản ứng bất lợi của bạch cầu trên bệnh nhân như hội chứng GVHD[116], sản phẩm được lọc bạch cầu tương đương với sản phẩm có CMV âm tính[20]. Sản phẩm HCĐL có SLBC còn lại rất thấp, tương đương với HCL khi sử dụng bộ lọc bạch cầu nên khi cần thiết thì có thể sử dụng HCĐL thay cho chỉ định sử dụng lọc bạch cầu[36].

4.2.3.3. Nồng độ K^+ ngoài tế bào trong túi máu.

Kết quả sau khi rửa theo bảng 3.24 nồng độ K^+ ngoại bào giảm thấp, còn <1,23 ± 0,65 mE/l (0,5 đến 1,865 mE/l). Giai đoạn rửa đã loại đi hầu hết lượng K^+ ở huyết tương của túi máu theo bảng 3.25. Đây là một yếu tố thuận lợi cho sản phẩm vì khi truyền máu với lượng lớn với K^+ sẽ ảnh hưởng đến tim mạch[51].

4.2.3.4. Độ pH

Theo bảng 3.24, độ pH của sản phẩm là 6,9 ± 0,1 giảm trong sản phẩm đông lạnh là do môi trường của DD glycerol có độ pH = 6,8. Theo bảng 3.30, độ pH không thay đổi nhiều trong suốt quá trình xử lý đông lạnh hồng cầu. Sau giải đông -rửa HCĐL được sử dụng ngay nên hầu như không có sự thay đổi về nồng độ pH của sản phẩm. Độ pH ảnh hưởng đến sự nhả oxy của Hb, do đó duy trì nồng độ pH ổn định của sản phẩm HCĐL là rất quan trọng.

Độ pH phản ánh sự cân bằng toan – kiềm (hay còn gọi là cân bằng acid - base) của máu. Duy trì sự ổn định của độ pH hay là sự điều hoà cân bằng toan – kiềm của máu và các dịch thể có ý nghĩa sống còn đối với mọi hoạt động sống của cơ thể, bởi vì tất cả quá trình sống của tế bào nói chung và hồng cầu nói riêng chỉ được thực hiện và tồn tại với sự ổn định của độ pH[43]. Thông thường giá trị pH của máu người thường dao động từ 7.3-7.4. Nhưng khi máu toàn phần được thu nhận trong

dung dịch CPD-A1 (pH 5.6) sẽ làm giảm pH của chế phẩm máu như pH của các chế phẩm máu phải được duy trì trong khoảng pH trung tính[22].

Giá trị pH từ lâu được công nhận là yếu tố quan trọng trong lưu trữ hồng cầu. Giá trị pH theo thời gian lưu trữ thể hiện sự biến đổi sinh hóa, hóa lý hoặc thể hiện hiện tượng nhiễm khuẩn. Giá trị pH thấp hay cao trong thời gian lưu trữ có liên quan đến mức độ vận chuyển oxy và sự sống sót của hồng cầu khi truyền cho người bệnh cũng như quá trình nhiễm khuẩn của chế phẩm hồng cầu. Để đánh giá hiệu quả cuộc truyền hồng cầu thì 75% tế bào hồng cầu được truyền vào cơ thể người bệnh phải được duy trì cho đến tối thiểu 24 giờ. Người ta thấy độ bão hòa của Hb phụ thuộc vào pH môi trường. Khi pH thấp đường bão hòa oxy chuyển phải giúp giải phóng oxy[43]. Kết quả của chúng tôi cho thấy giá trị pH của sản phẩm nằm trong giới hạn tiêu chuẩn với nồng độ pH tương đối ổn định ở các túi máu trong suốt quá trình thực hiện kỹ thuật.

4.2.3.5. Nồng độ glycerol còn lại trong sản phẩm.

Các tác nhân sinh học là các chất bảo quản hồng cầu đều có ít nhiều ảnh hưởng đến người bệnh khi được truyền máu[51],[121]. Do đó loại bỏ được các chất sinh học càng nhiều càng tốt trước khi sử dụng chế phẩm máu. Với thước đo độ khúc xạ cầm tay người ta xác định được nồng độ glycerol còn lại trong túi máu. Với mức đo <1,3335 tương đương nồng độ glycerol trong túi máu < 1g% là mức tiêu chuẩn của sản phẩm. Theo bảng 3.31, trong nghiên cứu của chúng tôi tiêu chuẩn này đạt 100%. Theo các tác giả nồng độ glycerol còn lại trong sản phẩm phải ở mức độ < 1g% đảm bảo an toàn trong truyền HCĐL[36]. Trong quá trình rửa loại bỏ glycerol cũng loại bỏ được hầu hết các chất sinh học tích lũy trong quá trình dự trữ máu có ảnh hưởng đến bệnh sinh[51],[121]. Ngoài ra nó loại được hầu hết huyết tương của túi máu có tác dụng hữu dụng trong bệnh nhân có thiếu hụt IgA bẩm sinh [71], và là sản phẩm tốt ngăn chặn lý tưởng cho hội chứng TRALI và hội chứng SIRS[116].

4.2.3.6. Cấy máu

Quá trình điều chế sản phẩm nguy cơ nhiễm trùng sản phẩm là rất cao, để đánh giá mức độ nhiễm trùng của sản phẩm, chúng tôi cấy máu ở các giai đoạn, kết

quả các mẫu cấy đều cho kết quả âm tính theo bảng 3.30. Điều đó chứng tỏ chúng tôi đã đảm bảo qui trình kỹ thuật tốt về vô trùng. Nghiên cứu của chúng tôi cũng như các qui trình lấy máu, điều chế hồng cầu lắng của BV.TMHH đảm bảo về mặt kiểm soát nhiễm khuẩn của quá trình thực hiện kỹ thuật đông lạnh HC.

4.2.4. Kết quả thiết lập qui trình

Giải đông và rửa loại bỏ glycerol được thực hiện trên 210 túi HCL với thời gian đông lạnh trung bình là 455 ngày đã đạt được các kết quả. Trong quá trình thực hiện các kỹ thuật phải được đảm bảo thực hiện đúng qui trình. Quá trình giải đông phải được kiểm soát nhiệt độ bồn giải đông, thời gian giải đông. Qui trình rửa loại bỏ glycerol và các tạp chất khác phải được thực hiện theo từng bước, có kiểm tra chất lượng trong suốt quá trình thực hiện để loại trừ những yếu tố ảnh hưởng đến kết quả sau cùng của sản phẩm

Qua phân tích kết quả chúng tôi hoàn thiện qui trình kỹ thuật giải đông và rửa HC loại glycerol và các chất sinh học không cần thiết ra khỏi túi máu. Sản phẩm đạt kết quả tốt với lượng Hb, SLBC, K^+ ngoại bào. Kỹ thuật thực hiện đúng qui trình theo sơ đồ 4.3

4.3. Xác lập các tiêu chuẩn chất lượng của túi hồng cầu lưu trữ đông lạnh trong nghiên cứu.

Sau thời gian bảo quản hồng cầu đông lạnh ở -80^{O}C, 210 túi hồng cầu được giải đông rửa loại bỏ glycerol và các tạp chất khác, HCĐL được kiểm tra chất lượng trước khi cấp phát.

4.3.1. Về thời gian lưu trữ hồng cầu đông lạnh

Theo bảng 3.18.Thời gian lưu trữ của chúng tôi trung bình là 15.18±1,05 tháng (455 ngày) lâu nhất là 32 tháng (995 ngày). So với các nghiên cứu khác, thời gian bảo quản lưu trữ hồng cầu là 10 năm[81],[118]. Thời gian lưu trữ bảo quản HC đông lạnh của chúng tôi vẫn còn ngắn hơn, tuy nhiên đây cũng là nghiên cứu bước đầu và vẫn còn các nghiên cứu trong thời gian kéo dài tiếp theo.

Với cách bảo quản máu thông thường hiện nay sử dụng chất chống đông là CPD A1 thời gian bảo quản chỉ là 35 ngày và nếu thêm dung dịch bảo quản hồng

cầu là SAGM ở nhiệt độ 4^0C sau khi điều chế HCL có thể bảo quản tối đa là 42 ngày theo tiêu chuẩn của FDA[32]. Do đó máu lấy ra khỏi cơ thể người hiến chỉ được bảo quản thời gian tối đa như ở trên. So với máu dự trữ ở nhiệt độ 4^0C thời gian lưu trữ HC của chúng tôi lâu hơn do đó sẽ đáp ứng được nhu cầu dự trữ các túi máu có phenotype hiếm như RhD âm, R2R2.

HCĐL lưu trữ hồng cầu của người hiến máu trong thời gian lâu hơn, sẽ hỗ trợ rất nhiều cho công tác điều trị bệnh cũng như công tác vận động hiến máu đặc biệt ở những người có nhóm máu hiếm để có thể chủ động trong việc đi hiến máu định kỳ lưu trữ đông lạnh.

4.3.2. Kết quả của sản phẩm sau cùng

Với kết quả của sản phẩm sau cùng theo bảng 3.19, 3.20,3.22 theo loại thể tích máu lấy ban đầu nhóm 1 có Hb 25,18 ± 1,92g/túi, Hct 60,52 ± 2,91%, SLBC 0,39 ± 0,34x10^8 /túi; Nhóm 2 có Hb 40,62 ± 2,43g/túi, Hct 60,94 ± 2,31%, SLBC 0,37 ± 0,35x10^8 /túi; Nhóm 3 có Hb 52,05 ± 3,66g/túi, Hct 61,2 ± 2,88%, SLBC 0,42 ± 0,36x10^8 /túi. Ở bảng 3,31 lượng Hb còn lại trung bình ở 3 nhóm là 92,22%, K+ ngoài tế bào còn lại <1,23 ± 0,65mEq/l; độ pH là 6,9 ± 0,1; SLBC trong túi máu 0,39 ± 0,35x10^8; nồng độ glycerol còn lại <1g%; và cấy máu âm tính qua từng giai đoạn chúng tôi có bàn luận như sau.

4.3.2.1. So sánh với máu dự trữ thông thường 4^0C/35 ngày[32]

So với máu dự trữ ở nhiệt độ thường 4^0C /35 ngày với túi máu lấy thể tích 450ml, chúng tôi nhận thấy có sự khác biệt:

Về thời gian dự trữ của HC, HCĐL trong nghiên cứu của chúng tôi là trung bình là 455 ngày theo bảng 3.18, so với máu dự trữ ở 4^0C chỉ tối đa là 42 ngày.

Lượng Hb còn lại trong sản phẩm nghiên cứu của chúng tôi có tỷ lệ cao hơn so với máu dự trữ ở nhiệt độ 4^0C /35 ngày, lượng Hb còn lại ở máu toàn phần là 79%, ở HCL là 71%, ở sản phẩm của chúng tôi là 93,24% theo bảng 3.28.

Nồng độ K^+ huyết tương trong nghiên cứu của chúng tôi theo bảng 3.24, là 1,23 ± 0,65mEq/L (cao nhất là 1,8 và thấp nhất là 0,5) thấp hơn rất nhiều so với ở máu dự trữ 4^0C, K^+/Huyết tương còn lại ở máu toàn phần dự trữ 4^0C là 27,90mEq/L,

ở HCL là 78,50mEq/L, điều này có ý nghĩa trong truyền máu vì truyền máu lượng lớn có nồng độ K+ cao sẽ ảnh hưởng đến hệ tim mạch.

Ngoài ra SLBC trong nghiên cứu của chúng tôi thấp (<0,39 ± 0,35x10^8/túi) theo bảng 3.31 so với máu dự trữ ở 4^0C là 5x10^9, và 1x10^9 ở HCL nên sản phẩm của chúng tôi tốt hơn và như là một sản phẩm sử dụng bộ lọc bạch cầu.

Nồng độ pH bằng máu dự trữ 4^0C và sản phẩm với kết quả là 6,9±0,1

Sản phẩm HCĐL do rửa loại đi hầu hết các tác nhân sinh học mà máu bảo quản còn trong túi máu sau thời gian bảo quản. So với máu lưu trữ ở 4^0C sản phẩm HCĐL có các chỉ số tốt hơn về lượng Hb, SLBC, nồng độ K^+ ngoại bào, độ pH và sản phẩm lấy đi hầu hết các tác nhân sinh học bảo quản và các mảng tế bào bể trước khi truyền máu. Đây là yếu tố quan trọng vì các tai biến truyền máu về miễn dịch do các tác nhân bất thường gây tình trạng phản ứng của bệnh nhân là rất cao như tỷ lệ shock phản vệ do huyết tương, các mảnh tế bào, các lympho thực bào[51],[121].

Mức độ tan máu ngoại bào 2 giờ sau truyền được thể hiện bằng mức độ tăng chuyển dời giới hạn các ion trong huyết tương, trong một nghiên cứu trên các tình nguyện viên cho thấy mức độ chuyển dời ion ở HCĐL thấp hơn 8-9 lần so với hồng cầu dự trữ ở tủ lạnh 4^OC trong 42 ngày [61]. Ngoài ra sống còn sau 24h sau truyền của HCĐL cao hơn[36],[40]. Có bằng chứng chỉ ra HCĐL cung cấp oxy đến mô và chuyển hóa sinh hóa cao hơn so với HC dự trữ lạnh 4^OC[53],[62]. Điều đó chứng minh rằng các sản phẩm HCĐL được sử dụng một cách an toàn.

4.3.2.2. So sánh với các nghiên cứu của các tác giả khác

So sánh với nghiên cứu của Valeri [118].

Trong nghiên cứu của Valeri thực hiện trên 106 mẫu, lượng Hb của sản phẩm sau cùng là 87 ± 5%, thấp hơn trong nghiên cứu của chúng tôi với lượng Hb trung bình còn lại sau đông lạnh là 93,24% (bảng 3.28). Kết quả nhiễm trùng của túi máu sau xử lý, theo báo cáo của tác giả là 1/106 ca, kết quả của chúng tôi không ghi nhận ca dương tính nào. Chúng tôi đã tuân thủ nguyên tắc vô trùng tốt, và sản phẩm được truyền ngay sau khi điều chế, điều này làm giảm nguy cơ nhiễm trùng sau thời gian dự trữ ở nhiệt độ 4^0C.

Tóm lại, so với kết quả của Valeri, chúng tôi cũng có kết quả tốt về lượng Hb và kiểm soát tốt về nguy cơ nhiễm trùng của sản phẩm.

So sánh với nghiên cứu của tác giả Mark A. Popovsky[81]

Với qui trình thực hiện bằng máy ACP215 hoàn toàn tự động của hãng Haemonetics, so sánh với kết quả của tác giả lượng Hb còn lại là > 80% thấp hơn lượng Hb còn lại trong nghiên cứu của chúng tôi. Theo bảng 3.19, lượng Hb cao nhất là 58,7g/túi và thấp nhất là 41,8g/túi, trung bình lượng Hb còn lại là 93,24%.

Kết quả nồng độ glycerol còn lại trong sản phẩm sau cùng của nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với kết quả của tác giả là nồng độ glycerol còn lại <1g%. Bên cạnh đó nồng độ K^+ ngoài tế bào của tác giả là 1.5 mEq/l, của chúng tôi theo bảng 3.24 là 1,23 ± 0,65mEq/l (cao nhất là 1,8 mEq/l và thấp nhất là 0,5 mEq/l) cũng không có sự khác biệt. Về SLBC còn lại trong túi máu, kết quả của chúng tôi theo bảng 3.22 là < $0,74x10^8$ đến $0,01x10^8$ so với, của tác giả là $1x10^7$, vậy số lượng bạch cầu còn lại trong nghiên cứu của chúng tôi có một số túi máu còn cao hơn. Tỷ lệ mẫu bị bể và mức độ nhiễm trùng trong quá trình đông lạnh của chúng tôi không có ca nào, không khác biệt so với báo cáo của tác giả.

So sánh với nghiên cứu trước đây của cùng nhóm tác giả[12]

Với kỹ thuật thực hiện thủ công của nhóm nghiên cứu thực hiện trước đây trên 46 túi máu, có 2 túi bị bể/46 túi. Về lượng Hb còn lại trong túi HCĐL trong nghiên cứu này của chúng tôi theo bảng 3.28, là 91,91% cao hơn so với 90,78%, chứng tỏ các kỹ thuật chuẩn hóa tốt hơn. Kết quả về SLBC của chúng tôi theo bảng 3.22, là 0,39 ± $0,35x10^8$ (thấp nhất là $0,01x10^8$ và cao nhất là $0,74x10^8$) cao hơn nghiên cứu trước về số lượng bạch cầu còn lại <$1x10^6$-$3x10^6$ và nồng độ K^+ ngoại bào <1.5 mEq/l trong nghiên cứu của chúng tôi là 1,23 ± 0,65 mEq/l (thấp nhất là 0,5 và cao nhất là 1,8 mEq/l). Do kỹ thuật rửa bằng máy đảm bảo về nồng độ Hb, tránh hao hụt nhiều và đảm bảo về lượng glycerol còn lại ở mức độ an toàn, so với kỹ thuật rửa bằng tay không có khác biệt về độ pH, cấy máu.

4.3.2.3. So sánh với tiêu chuẩn chất lượng của Châu Âu[44]

So sánh tiêu chuẩn chất lượng sản phẩm HCĐL của Châu Âu với sản phẩm HCĐL của chúng tôi, sản phẩm của chúng tôi có kết quả đạt về tiêu chuẩn lượng Hb còn lại trong túi máu cao hơn. Tiêu chuẩn Châu Âu yêu cầu lượng Hb của túi máu 36g/túi loại thể tích máu lấy từ túi máu toàn phần thể tích 450ml, kết quả của chúng tôi là > 40g/túi theo bảng 3.26. Về SLBC sản phẩm của chúng tôi có kết quả tốt hơn, tiêu chuẩn của Châu Âu yêu cầu SLBC còn lại $<1x10^{8/}$ túi, trong nghiên cứu của chúng tôi SLBC còn lại ở mức thấp nhất theo bảng 3.22, là $0,01x10^{8}$ và cao nhất là $0,07x10^{8}$/túi máu ($0,42 \pm 0,36x10^{8}$/túi máu). Về số dư glycerol, mức độ nhiễm trùng sản phẩm của chúng tôi đạt yêu cầu so với tiêu chuẩn Châu Âu là glycerol còn lại <1g% và cấy máu âm tính. Với mức Hct của tiêu chuẩn yêu cầu 70 ± 5%, Hct của túi máu của chúng tôi có Hct là 60,99 ± 2,54% theo bảng 3.24 thấp hơn, do có sử dụng dung dịch nuôi dưỡng hồng cầu là DD SAGM khi có dung dịch này hồng cầu sau rửa được bảo quản lưu trữ ở $4^{o}C$ trong 3-14 ngày sau rửa. Vậy so với chất lượng của Châu Âu sản phẩm của chúng tôi đạt yêu cầu tốt hơn.

4.3.2.4. So sánh với tiêu chuẩn chất lượng quốc gia[7]

Tiêu chuẩn yêu cầu của Bộ Y tế về thể tích đơn vị máu bằng 65 ± 15% thể tích máu lấy ban đầu, kết quả của chúng tôi theo bảng 3.19, với túi máu loại 250 ml có thể tích là 172,29 ± 10,79; túi máu loại 350 ml có thể tích là 232,27 ± 10,94 và túi máu loại 450 ml có thể tích là 330,41 ± 10,12ml thể tích trung bình của túi máu trong nghiên cứu của chúng tôi đạt yêu cầu. Về tham số Hct từ 0,50 - 0,75 của chúng tôi đạt trung bình là 60,99 ± 2,54% và theo bảng 3.24, cao nhất và thấp nhất ở khoảng (55%-65%). Nồng độ glycerol còn lại thấp < 1g%, sản phẩm của chúng tôi đạt yêu cầu. Phát hiện vi khuẩn phải âm tính, sản phẩm của chúng tôi cấy máu âm tính ở tất cả các giai đoạn. Về lượng Hb của túi máu ở 3 nhóm túi máu sản phẩm của chúng tôi theo bảng 3.26, đều đạt yêu cầu tốt hơn tiêu chuẩn BYT, túi máu loại thể tích 250ml có Hb còn lại là > 20g /túi, của chúng tôi đạt > 22g/túi, túi máu loại 350ml đạt > 28g/túi, kết quả của chúng tôi đạt > 31g/túi và túi máu loại 450ml đạt > 36g/túi , kết quả của chúng tôi đạt > 40g/túi. Vì vậy so với các tiêu chuẩn của

BYT yêu cầu sản phẩm của chúng tôi đạt yêu cầu 100%.

4.3.3. Xây dựng tiêu chuẩn chất lượng của sản phẩm từ các kết quả nghiên cứu và phân tích.

Theo bảng 3.19, bảng 3.20, bảng 3.22 và 3.24, về các chỉ số của túi HCĐL theo thể tích máu lấy ban đầu ở cả 3 nhóm, từ đó chúng tôi xây dựng tiêu chuẩn chất lượng túi HCĐL về lượng Hb, mức Hct, SLBC còn lại và số dư glycerol, theo thể tích túi máu lấy ban đầu. Tiêu chuẩn này được áp dụng trong kiểm tra chất lượng thường qui của túi HCĐL.

Xây dựng bảng tiêu chuẩn chất lượng sản phẩm HCĐL về qui cách và tần suất kiểm tra chất lượng sản phẩm, Tiêu chuẩn chất lượng sản phẩm được xây dựng trên cơ sở so sánh với các nghiên cứu trên, cho thấy sản phẩm của chúng tôi đạt yêu cầu, về tiêu chuẩn của Châu Âu[44], và tiêu chuẩn quốc gia[7], nênviệc kiểm tra chất lượng sản phẩm thực hiên thường qui sẽ đảm bảo sản phẩm có chất lượng ổn định.

Các thông số và các điểm cần lấy mẫu kiểm tra chất lượng sản phẩm theo Phụ lục 8.

Bảng 4. 1. Chất lượng sản phẩm HCĐL đạt tiêu chuẩn cấp phát

Chỉ tiêu	Tiêu chuẩn chất lượng			Tần suất kiểm tra	Ghi chú
	Từ MTP 250 mL	Từ MTP 350 mL	Từ MTP 450 mL		
Thể tích (mL)	140 ± 14	170 ± 17	220 ± 22	Tất cả	Không có dung dịch nuôi dưỡng hồng cầu (SAGM, AS3, AS5…).
	180 ± 18	240 ± 24	320 ± 32		Có dung dịch nuôi dưỡng hồng cầu (SAGM, AS3, AS5…).
Hct	0,65 – 0,75			Tất cả	Không có dung dịch nuôi dưỡng hồng cầu (SAGM, AS3, AS5…).
	0,5 – 0,7				Có dung dịch nuôi dưỡng hồng cầu (SAGM, AS3, AS5…).
Hb	> 22g	> 30g	> 36g	Tất cả	
Độ thẩm thấu	< 340 mOsm/l (< 1g%) Hoặc đo độ khúc xạ cầm tay <1,3335			1% đơn vị hoặc tối thiểu 4 đv/tháng	
Bạch cầu	< 0,1 x 10^9 tế bào/đv			1% đơn vị hoặc tối thiểu 4 đv/tháng	90% những đơn vị được kiểm tra phải đạt tiêu chuẩn.
Cấy máu	Âm tính			1% đơn vị hoặc tối thiểu 4 đv/tháng	

Do đó:

Sản phẩm của chúng tôi đạt yêu cầu theo tiêu chuẩn của Châu Âu và của quốc gia, không có khác biệt so với các nghiên cứu khác. So với máu dự trữ thông thường ở 4^OC thì tốt hơn, thời gian dự trữ lâu hơn đến 32 tháng

Xây dựng được bảng kiểm kiểm tra chất lượng từ đó kiểm soát chất lượng sản phẩm một cách có hệ thống nhằm đảm bảo chất lượng sản phẩm có chất lượng ổn định.

Sản phẩm có thể đưa vào sử dụng thường quy.

4.4. Hiệu quả sử dụng sản phẩm HCĐL trong điều trị

Bước đầu sử dụng truyền 210 hồng cầu đông lạnh cho 82 NB ở 22 bệnh viện trong TP.HCM.

4.4.1. Nhu cầu sử dụng

Theo bảng 3.37 nhu cầu sử dụng HCĐL ở các bệnh viện trong TP HCM cho thấy HCĐL đã đáp ứng được phần nào trong cấp cứu bệnh nhân của bệnh viện trong thời gian chưa có người hiến máu nhóm máu RhD âm phù hợp. Số lượng các bệnh viện sử dụng máu RhD âm là 22 bệnh viện. BV.FV sử dụng 22 đơn vị chiếm 10,47%, các NB sử dụng hầu hết là NB có quốc tịch nước ngoài, điều này phù hợp với tỷ lệ dân số của người da trắng RhD âm là 15%[5] do đó nhu cầu sử dụng nhóm máu RhD âm của BV FV rất cao. BV Chợ Rẫy có nguồn người hiến máu RhD âm là người hiến máu dự bị[26], tuy nhiên trong cấp cứu điều trị việc truyền máu kịp thời trong cấp cứu nhằm cứu sống NB qua cơn nguy kịch là rất cần thiết và trong phẫu thuật lớn cần huy động lượng lớn máu RhD âm trong cùng một thời điểm là rất khó khăn. Do đó BV Chợ Rẫy vẫn cần sử dụng loại sản phẩm này là 17 đơn vị chiếm 8,10%. Cấp cứu sản khoa cũng là cấp cứu khẩn cấp, tỷ lệ sản phụ tử vong do không được truyền máu kịp thời trong cấp cứu và trong điều trị rất cao, khối bệnh viện phụ sản sử dụng 15 đơn vị. Trong điều trị các bệnh lý huyết học, sử dụng phác đồ điều trị cần có truyền các chế phẩm máu là rất quan trọng. Việc có sẵn các sản phẩm HCĐL nhóm máu phù hợp với NB, trong thời gian điều trị khi cần nếu không có người hiến máu hiến máu đã có sẵn sàng HCĐL để sử dụng tạo cho các bác sĩ mạnh dạn sử dụng các phác đồ chuẩn trong điều trị các bệnh nhân có bệnh lý cần điều trị lâu dài như NB của BV.Ung bướu, BV.TMHH. Sử dụng HCĐL cho điều trị cấp cứu tai nạn như BV. NDGĐ sử dụng 12 đơn vị máu.

4.4.2. Bệnh cảnh lâm sàng có chỉ định sử dụng HCĐL

HCĐL chỉ định sử dụng trong trường hợp thay thế hồng cầu thông thường khi người hiến máu chưa hiến máu kịp được sử dụng trong các trường hợp đặc biệt sau: NB có nhóm máu hiếm RhD âm, bệnh nhân có nhiều kháng thể miễn dịch. NB sử dụng HCĐL hầu hết trong cấp cứu ngoại khoa, sản khoa như mổ bắt con, sẩy

thai, thai chết lưu, đa chấn thương do tai nạn, phẫu thuật lớn trong các bệnh lý cấp cứu tim mạch như mổ lồng ngực "thay phình động mạch chủ đoạn quai" là NB của BV Chợ Rẫy đã sử dụng 8 đơn vị máu RhD âm trong phẫu thuật và hậu phẫu. Mổ "Bướu máu khổng lồ chân trái" của bệnh nhi BV.NĐ 2, cần một số lượng máu nhóm máu RhD âm phù hợp với NB trong và sau mổ. Bệnh lý Thalassemie là bệnh lý mà NB luôn cần máu để truyền định kỳ, việc cung cấp máu cho những NB có nhóm máu RhD âm cho NB là không thể thiếu đây là đối tượng sử dụng máu thường xuyên và đặc biệt rất dễ có những kháng thể bất thường khác gây tình trạng truyền máu không hiệu quả[17],[29], nhóm bệnh này ở BV.NĐ1 và BV.TMHH. Các bệnh nhân XHTH cần truyền máu khẩn đã sử dụng HCĐL, các trường hợp khác HCĐL sử dụng như một hỗ trợ khẩn cấp trong thời gian chờ người hiến máu có nhóm máu phù hợp hiến tặng trong các trường hợp thiếu máu do nhiều nguyên nhân khác như: Thiếu máu do suy thận, thiếu máu do xơ gan, thiếu máu do choáng nhiễm trùng…

Theo bảng 3.38, Bệnh cảnh lâm sàng sử dụng HCĐL rất đa dạng trong điều trị cấp cứu khẩn cấp khi chưa có nhóm máu phù hợp từ người cho máu hiến tặng. Đối tượng sử dụng theo bảng 3.39, có bệnh nhi, bệnh nhân lớn tuổi trên 50 tuổi chiếm 35,36%, bệnh nhi < 6 tuổi truyền 8 đơn vị chiếm 9,76%. Đa số ở lứa tuổi từ 16 đến 50 chiếm 48,78% cũng là lứa tuổi người lao động nên thường xảy ra các tai nạn sử dụng máu nói chung cũng cao hơn các lứa tuổi khác.

4.4.3. Hiệu quả truyền HCĐL

Theo dõi trên 82 NB trong 24 giờ truyền HCĐL theo bảng 3.40 nồng độ Hb tăng đạt yêu cầu có 68 người bệnh là 82,93%, đạt Hb từ 60 - 80% có 8 người bệnh và có 6 người bệnh nồng độ Hb tăng đạt < 60%. Điều này có thể lý giải 6 người bệnh này có bệnh cảnh lâm sàng như XHTH, XH giảm tiểu cầu. Một số người bệnh có các nguyên nhân thiếu máu chưa được giải quyết triệt để đưa đến việc truyền HCĐL ở 24 giờ đầu đạt, hoặc người bệnh đang ở trong cuộc phẫu thuật mổ bắt con.

Theo bảng 3.41 Theo dõi 48 giờ sau truyền có 65 người bệnh, tỷ lệ đạt Hb theo yêu cầu 80 - 100 % có 55 người bệnh chiếm 84,62 % và có 5 người bệnh đạt

< 60 %. Theo dõi 72 giờ sau truyền máu Hb của người bệnh đạt yêu cầu là 85,71% và có 8,58% người bệnh đạt < 60 % theo bảng 3.42. Ở bảng 3.43, nồng độ Hb của NB được truyền đều tăng với tỷ lệ tăng đạt yêu cầu > 84,07 % NB được truyền, ở mức độ tăng Hb từ 60-80% có 8,24% NB, mức độ đạt yêu cầu > 60% đạt > 90%. và chỉ có < 7,69 % người bệnh truyền có nồng độ Hb tăng ít < 60% so với yêu cầu, các số người bệnh này được theo dõi và truyền HCL tiếp theo cho đến khi qua cơn nguy kịch. Theo biểu đồ 3.5, nồng độ Hb sau truyền ở 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ tận trung ở 80 - 100%. Một số người bệnh có nguyên nhân thiếu máu chưa được giải quyết triệt để đưa đến việc truyền HCĐL ở 24 giờ đầu nồng độ Hb tăng nhưng 72 giờ sau thì giảm như những bệnh có bệnh cảnh XHTH phần nguyên nhân mất máu chưa được giải quyết, hoặc một số người bệnh không hiệu quả khi truyền HCĐL là do bệnh cảnh lâm sàng có thể có những kháng thể bất thường trước đó truyền HCĐL không tăng nồng độ Hb như yêu cầu[49].

Theo bảng 3.44, các ca truyền HCĐL đều ghi nhận không có bất cứ tai biến gì trong và sau khi truyền, như sốt lạnh run, nổi mề đay khó thở, choáng phản vệ... Truyền HCĐL chứa SLBC đã được giảm tối đa trong quá trình điều chế, tương đương với sản phẩm máu đã được lọc bạch cầu, nồng độ K^+ ngoài tế bào chỉ còn < 1,23 ± 0,65mEq/l túi máu, nên hạn chế các phản ứng không mong muốn do bạch cầu, và nồng độ K^+ ảnh hưởng cho người bệnh khi truyền máu[34].

Hiệu quả truyền HCĐL đạt nồng độ Hb tăng đạt yêu cầu sau truyền trên 90% người bệnh, không có tai biến gì khi truyền HCĐL. Truyền HCĐL trong các bệnh cảnh lâm sàng như phẫu thuật, nhi khoa, sản khoa và nội khoa trên mọi đối tượng bệnh nhi và bệnh nhân trên 50 tuổi.

Việc truyền HCĐL đáp ứng nhu cầu điều trị người bệnh và không có tai biến gì cũng đã được thực chứng minh, việc sử dụng HCĐL đã được chứng minh có lợi hơn hồng cầu lưu trữ ở nhiệt độ 4^OC. Truyền HCĐL trong các trường hợp như mổ tim, các trường hợp phẫu thuật khác chuẩn bị máu dự trữ cho trước trong và sau khi mổ là rất hữu dụng[85],[110],[120].

Tuy nhiên các ứng dụng của HCĐL còn hạn chế do thói quen và chi phí của HCĐL[59],[105]. Hiện nay theo khuyến cáo của WHO HC lắng dự trữ ở nhiệt độ $4^{O}C$ nên được rút ngắn thời gian dự trữ xuống còn 14 ngày[35],[92],[109]. Do đó việc sử dụng HCL dự trữ ở $4^{O}C$ đã gặp sự e ngại của một số Ngân hàng máu. Chỉ định sử dụng HCĐL được mở rộng hơn, đặc biệt là nguồn hồng cầu dự trữ ở các quốc gia bị hạn chế do tỉ lệ gia tăng dân số già, ngoài ra còn nhằm tránh tình trạng đột biến khi sử dụng HC thì HCĐL đang là biện pháp mà các NHM trên thế giới đang hướng đến[39]. Trong khi đó chi phí cho các tai biến khi sử dụng HCL dự trữ ở $4^{O}C$ chưa được tính đầy đủ so với HCĐL[104]. Được sử dụng ở các quốc gia và đặc biệt trong quân đội là đích hướng đến sử dụng trong tương lai của HCĐL[107].

4.4.4. Xây dựng qui trình cung cấp máu RhD âm tại BV.TMHH

4.4.4.1. Lưu trữ máu hiếm dự phòng điều trị

Hàng năm BV TMHH cung cấp 500 đơn vị nhóm máu RhD âm để truyền cho bệnh nhân, các đơn vị máu hiếm này được tiếp nhận hoặc từ NHM tình nguyện, hoặc từ người có nhóm máu RhD âm được mời đến hiến theo kế hoạch hoặc trong trường hợp cấp cứu nhờ vậy nhiều bệnh nhân đã được cứu sống.

Hiện nay trên thế giới để đảm bảo vận chuyển, cung cấp máu hiếm kịp thời cho nhiều vùng miền trong một nước hoặc cho nhiều nước khác nhau nên việc bảo quản các đơn vị máu đông lạnh để bảo quản dài ngày đã được tiến hành ở một số nước tiến tiến trên thế giới như Mỹ, Nhật, Anh, Trung Quốc, Châu Âu, Nam Phi[122]. Tại BV.TMHH cũng đã truyền máu phenotype theo nghiên cứu của tác giả Bửu Mật tỷ lệ KTBT ở những người bệnh được truyền máu phenotype rất thấp[14], [18]. Kết quả này đã giúp cho bệnh nhân được truyền máu có hiệu quả cao và an toàn hơn góp phần vào việc nâng cao chất lượng điều trị cũng như tránh được cho bệnh nhân các tai biến truyền máu.

Để chủ động trong việc cung cấp máu và đảm bảo cung cấp máu kịp thời nhóm máu hiếm RhD âm, dự phòng cho các ngày nghỉ lễ dài hạn, cho các nhu cầu cần máu RhD âm số lớn trong cùng một thời điểm. BV.TMHH đã xây dựng được một sơ đồ trong đó cung cấp HCĐL sẵn sàng cho điều trị khi chưa có người hiến

máu hồng cầu RhD âm ngay, các bác sĩ điều trị yên tâm trong sử dụng các phác đồ điều trị ở những người bệnh có nhóm máu RhD âm.

Xây dựng qui trình cung cấp nhóm máu RhD âm tại khoa ĐCCP của BV.TMHH, khi có nhu cầu sử dụng HCĐL được cung cấp theo qui trình mang mã số: QT-ĐKMH –ST02 tại BVTMHH, không phải chờ người hiến máu và các kết quả sàng lọc của túi máu theo Phụ lục 7.

Qui trình được thực hiện với từng bước theo sơ đồ 3.1. Khi máu hiếm được đăng ký và tiếp nhận NHM sẽ tìm người hiến máu phù hợp, trong trường hợp không có máu RhD âm có thể tư vấn sử dụng hồng cầu đông lạnh, nếu cần có thể chủ động giải đông rửa và cung cấp ngay cho nhu cầu điều trị bệnh. Do đó cung cấp nhanh chóng và kịp thời máu để cứu chữa người bệnh.

4.4.4.2. Xây dựng và quản lý Ngân hàng máu hiếm và vận động hiến máu hiếm định kỳ để đông lạnh.

Hiểu rõ việc xây dựng ngân hàng máu hiếm là rất cần thiết để cung cấp đủ máu hiếm kịp thời cho người bệnh, Ban Lãnh đạo BV.TMHH, TTHMNĐ, Ban chỉ đạo hiến máu TP.HCM đã ra chỉ thị về việc kiện toàn câu lạc bộ nhóm máu hiếm, xây dựng và phát triển CLB nhóm máu hiếm tiền thân của CLB nhóm máu hiếm của TTHMNĐ hội CTĐ thành phố, xây dựng qui chế hoạt động, chăm sóc người hiến máu hiếm, tổ chức tuyên truyền thông qua các hoạt động của Câu lạc bộ nhóm máu hiếm, các buổi tuyên truyền trên truyền hình, trên báo, thông qua các tài liệu tuyên truyền như phát sổ tay, tờ rơi, tranh áp phích cho các thành viên của Câu lạc bộ, đồng thời mời các cán bộ đầu ngành tư vấn, phổ biến kiến thức về nhóm máu hiếm cho các thành viên của câu lạc bộ. Hiện nay TTHMNĐ đã quản lý được 160 người có nhóm máu RhD âm về địa chỉ liên lạc, điện thoại để liên hệ cũng như tình trạng sức khỏe của họ để khi cần máu hiếm là có thể mời họ đến ngay để hiến máu. Bên cạnh đó chúng tôi cũng quản lý những người có nhóm máu RhD âm theo nhóm máu hệ ABO với khẩu hiệu “Kết bạn cùng nhóm” vì vậy những người có nhóm máu RhD âm mà cần truyền máu thì việc ưu tiên lựa chọn gọi những người có nhóm máu RhD âm cùng nhóm máu hệ ABO với bệnh nhân đến hiến máu một cách

rất nhanh chóng và thuận lợi. Nhờ vậy chúng tôi đã thu được một số kết quả rất khả quan đó là số người tham gia câu lạc bộ này ngày càng đông, số đơn vị máu hiếm được hiến ngày càng nhiều, số người tham gia vào lực lượng hiến máu dự bị ngày càng tăng. Tuy nhiên để có nguồn máu hiếm trong NHM một số lượng nhất định thường xuyên tổ chức các buổi tuyên truyền và vận động những người hiến máu nếu không có thời gian có thể đến hiến máu định kỳ để đông lạnh Hình 3.7. Để BV có nguồn máu RhD âm đông lạnh.

Để đảm bảo cung cấp máu trong dịp lễ nghỉ dài ngày, các dịp có các cuộc họp quốc tế quan trọng hoặc các thế vận hội Olympic, hội nghị được tổ chức ở Việt Nam nguồn cung cấp máu hiếm là rất quan trọng, nhu cầu phát triển y học và y tế của Việt Nam đến năm 2020 và tầm nhìn 2030, trong đó câu lạc bộ nhóm máu hiếm, người hiến máu dự bị và dự trữ máu đông lạnh là rất cần thiết[26]. Các nước trên thế giới đều có các ngân hàng máu đông lạnh để lưu trữ các nhóm máu hiếm như Châu Á, Châu Âu, Châu Phi, Châu Mỹ. Do đó ở TP.HCM có nguồn HCĐL dự trữ nhóm máu RhD âm để cung cấp khi có nhu cầu.

KẾT LUẬN

Phương pháp đông lạnh hồng cầu bằng dung dịch glycerol nồng độ cao ở nhiệt độ -80^{O}C được thực hiện trên 210 túi máu, thời gian lưu trữ lâu nhất 32 tháng chúng tôi rút ra được những kết luận sau:

1. Hoàn thiện qui trình xử lý HCL để đông lạnh trong đó: Nhóm máu chủ yếu cho đông lạnh là nhóm máu O, RhD âm với tỉ lệ 47,15%; nhóm A, RhD âm với tỉ lệ 23,81%; nhóm B, RhD âm với tỉ lệ 10%; nhóm AB, RhD âm với tỉ lệ 3,33%, nhóm máu RhD dương loại R2R2 cũng được đưa vào đông lạnh. Loại thể tích túi máu lấy đông lạnh: Sử dụng loại thể tích 350ml và 450ml, loại có thể tích 250ml chỉ sử dụng trong những trường hợp đặc biệt hoặc trong truyền máu tự thân. HCL để đông lạnh có lượng Hb so với tiêu chuẩn chất lượng của bệnh viện không thay đổi, Hct là 70-80%, và thời gian chuẩn bị trước đông lạnh không quá 6 ngày. Qui trình kỹ thuật HCL giai đoạn glycerol hóa và làm giảm thể tích đã được xác lập, với kiểm soát tốc độ và thể tích glycerol cho vào HCL thực hiện trên máy ACP215, kiểm soát tốc độ máy ly tâm túi HCL glycerol hóa, kiểm soát kỹ thuật ép bớt glycerol ra khỏi túi HCL đảm bảo Hct còn lại là 60 ± 5%, tủ đông lạnh lưu trữ HCĐL ở -80^{0}C được kiểm soát nhiệt độ trong suốt quá trình bảo quản.
2. Xác lập được kỹ thuật giải đông và rửa HCĐL. Quá trình giải đông phải được kiểm soát nhiệt độ bồn giải đông, thời gian giải đông, qui trình rửa loại bỏ glycerol và các chất sinh học khác phải được thực hiện theo từng bước, có kiểm soát trong suốt quá trình thực hiện. Xây dựng điểm kiểm tra chất lượng của giai đoạn này đảm bảo sản phẩm chất lượng theo yêu cầu.
3. Đã xây dựng được tiêu chuẩn kiểm tra chất lượng sản phẩm HCĐL với sản phẩm sau cùng có chất lượng đạt tiêu chuẩn Châu Âu, tiêu chuẩn quốc gia. Sản phẩm của túi máu thu thập thể tích 250 ml có lượng Hb > 22g/túi, thể tích 350 ml có lượng Hb > 31g/túi và thể tích 450 ml có lượng Hb> 40g/túi, nồng độ glycerol còn lại < 1g%; Hct 60 ± 5%; nồng độ K+ ngoài tế bào < 1,8mEq/l, SLBC < 0,39 ± 0,35x10^{8} tế bào/túi máu.

4. Đánh giá hiệu quả truyền HCĐL: Đã có 82 người bệnh ở các bệnh viện trong thành phố sử dụng HCĐL. Hiệu quả truyền với nồng độ Hb tăng đạt yêu cầu trên 90% người bệnh, ghi nhận không có tai biến gì trong và sau khi truyền HCĐL. Xây dựng thành công qui trình cung cấp HCĐL RhD âm tại BV TMHH.

Việc thành công ứng dụng kỹ thuật động lạnh hồng cầu ở -80^{O}C lưu trữ bảo quản hồng cầu đông lạnh trong thời gian dài sản phẩm HCĐL của chúng tôi đạt tiêu chuẩn chất lượng của Châu Âu và của Quốc gia sẽ giúp lưu trữ nhóm máu hiếm, chủ động trong cung cấp đủ máu và kịp thời cho các trường hợp nhóm máu hiếm có nhu cầu truyền máu góp phần đảm bảo an toàn truyền máu.

.

KIẾN NGHỊ

Qua các kết quả và các kết luận trong nghiên cứu như trên chúng tôi có một số đề xuất sau.

1. Đề nghị hướng đến thành lập một ngân hàng máu đông lạnh nhằm lưu trữ các nhóm máu hiếm mang tính chất quốc gia hoặc ngân hàng máu đông lạnh khu vực.

   Ngoài ra cần phát triển Ngân hàng máu đông lạnh lưu trữ cho các cá nhân có nhóm máu đặc biệt cần thiết, thực hiện trong truyền máu tự thân trong các cuộc phẫu thuật đã biết trước hoặc các cá nhân có nhu cầu lưu trữ nhóm máu của mình phòng khi có nhu cầu sử dụng đảm bảo tối đa về an toàn miễn dịch và các nguy cơ khác trong truyền máu.

   Xác định phenotype hồng cầu ở người hiến máu nhằm xây dựng ngân hàng máu phenotype đồng thời xác định được các nhóm máu hiếm cần đông lạnh lưu trữ lâu dài. Xây dựng và lưu trữ phenotype hồng cầu những nhóm máu hiếm khác.
2. Cần thiết khuyến khích phát triển nguồn người hiến máu có nhóm máu hiếm để họ tiếp tục hiến máu cung cấp cho người bệnh và đồng thời cũng có nguồn cung cấp máu để lưu trữ đông lạnh.
3. Đề nghị sản phẩm HCĐL phải được xem như là sản phẩm máu đặc biệt và được BHYT chi trả.
4. Tiếp tục nghiên cứu lưu trữ hồng cầu đông lạnh trong thời gian lâu hơn đến 10 năm, hoặc 20 năm tại BV.TMHH và tại Việt Nam

CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Trương Thị Kim Dung, Nguyễn Tấn Bỉnh (2014). "Đánh giá chất lượng hồng cầu bảo quản đông lạnh ở -80^{O}C với dung dịch glycerol nồng độ 40%". *Tạp chí Y học Việt Nam* , Tập 419, tr. 5-9
2. Trương Thị Kim Dung, Nguyễn Tấn Bỉnh, Phù Chí Dũng và CS (2014). "Bước đầu ứng dụng sử dụng hồng cầu đông lạnh trong cấp cứu và điều trị". *Tạp chí Y học Việt Nam* , Tập 423, tr. 532-539

TÀI LIỆU THAM KHẢO

TÀI LIỆU TIẾNG VIỆT

1. Bùi Thị Mai An, Nguyễn Thị Quỳnh Nga, Vi Đình Tuấn (2006). "Nghiên cứu sàng lọc kháng thể bất thường hệ hồng cầu ở bệnh nhân bị bệnh máu tại Viện Huyết học-Truyền máu TW (2004-2005)". *Y học thực hành*, 545, tr. 347 - 348.

2. Trần Văn Bé (1998). *Lâm sàng huyết học*. Nhà xuất bản y học, tr. 324-327.

3. Trần Văn Bé (1998). *Cẩm nang điều trị bệnh lý về máu*. Nhà xuất bản Y học tr. 229 -231

4. Trần Văn Bé (2001). *Ghép tủy xương*. Nhà xuất bản Y học tr.92-118.

5. Trần Văn Bé (2003). *Thực hành huyết học-truyền máu*. Nhà xuất bản Y học TP. Hồ Chí Minh, tr. 216-222

6. *Bài giảng Huyết học- Truyền máu* (2006). Nhà xuất bản Y học Hà Nội-2006. tr.69-76, tr. 83-90

7. Bộ Y tế (2013). Thông tư hướng dẫn hoạt động truyền máu *số: 26/2013/TT-BYT ngày 16 tháng 9 năm 2013.*

8. Nguyễn Tấn Bỉnh (2015). *Bài giảng Huyết học lâm sàng*. Đại học Y Dược TPHCM, Bộ môn Huyết học, Nhà xuất bản Y học 2015, tr. 116-123

9. Phùng Xuân Bình (1999). *Sinh lý máu và các thể dịch, Sinh lý học*. Nhà xuất bản Y học, 1, tr. 101-116.

10. Trần Văn Bình (2006). "Kiểm tra và đảm bảo chất lượng trong các cơ sở truyền máu', *Một số chuyên đề Huyết học - Truyền máu*, Nhà xuất bản Y học Hà Nội, 2, tr.77-88

11. Trương Thị Kim Dung (2008). "Tình hình thu nhận và cung cấp máu tại thành phố Hồ Chí Minh năm (2001-2007)". *Tạp chí y học Việt Nam*, 334, tr. 285 - 290.

12. Trương Thị Kim Dung, Nguyễn Tấn Bỉnh (2007), "Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật đông lạnh hồng cầu bằng dung dịch glycerol nồng độ cao". *Tạp chí Y học Việt Nam*, tập 331, *tr 49-57*

13. Trương Thị Kim Dung (2013). "Đánh giá mức độ tán huyết của hồng cầu lắng dự trữ tại bệnh viện Truyền máu Huyết học". *Đề tài cấp cơ sở Bệnh viện Truyền máu Huyết học* mã số CS/HH/13/28

14. Trần Thị Quế Hương, (2002). "*Đánh giá hiệu quả truyền hồng cầu cùng phenotype trên bệnh nhân thalassemie*". *Luận văn chuyên khoa II*, Đại học Y dược TP Hồ Chí Minh, tr.71-72

15. Phạm Thị Thu Hương (2003). "*Nghiên cứu thực trạng tình hình thu gom và sử dụng máu tại bệnh viện TWQĐ 108 trong 5 năm 1998-2002*". *Luận văn bác sỹ chuyên khoa cấp II,* Học viện Quân y, tr. 31-41.

16. Trịnh Xuân Kiếm (2010). *Hòa hợp miễn dịch hồng cầu trong truyền máu hiện đại*. Nhà xuất bản Y học, tr. 53-156.

17. Nguyễn Thị Thanh Mai (2004). "Kết quả xác định một số nhóm kháng nguyên hồng cầu tại khoa TM-HH bệnh viện nhi TW". *Tạp chí Y học thực hành số 497*, tr 1953-1959

18. Bửu Mật, (1989). "Hai trường hợp tai biến miễn dịch do dị miễn dịch chống hồng cầu ngoài hệ ABO*", Lược yếu công trình nghiên cứu khoa học 1985-1989,* tr 54-57

19. Huỳnh Nghĩa (2007). "*Nghiên cứu ứng dụng qui trình xử lý tế bào gốc máu cuống rốn*". *Luận án Tiến sĩ y học,* Đại học Y dược TP. Hồ Chí Minh.

20. Đỗ Trung Phấn (2006). "Thành tựu truyền máu thế kỷ XX và những tiến bộ về truyền máu tại Việt Nam". *Một số chuyên đề Huyết học - Truyền máu,* Nhà xuất bản Y học, 2, tr. 65 - 76.

21. Đỗ Trung Phấn (2004). "Một số chỉ số huyết học người Việt Nam bình thường giai đoạn 1995-2000". *Bài giảng Huyết học Truyền máu*. Nhà xuất bản Y học, Tr. 332 - 333.

22. Đỗ Trung Phấn (2012). *Truyền máu hiện đại cập nhật và ứng dụng điều trị*. Nhà Xuất Bản Giáo dục Việt Nam, tr. 473-514

23. Trần Ngọc Quế, Bùi Thị Mai An, Nguyễn Anh Trí (2010). "Tình hình phát hiện và tuyển chọn người hiến máu có nhóm máu hiếm tại Viện Huyết học – Truyền máu Trung ương". *Y học Việt Nam*, 373, 506 – 511

24. Trần Ngọc Quế, Nguyễn Anh Trí, Phạm Quang Vinh, Nguyễn Đức Thuận, Bùi Thị Mai An, Đào Thị Tú Vân (2008). "Nghiên cứu xây dựng và duy trì người hiến máu có nhóm máu RhD (-) tại Viện Huyết học – Truyền máu TW". *Y học Việt Nam*, 344 (2), 679-85.

25. Qui trình điều chế hồng cầu lắng *QT03-ĐCCP-Điều chế HCL- 2012*

26. Nguyễn Trường Sơn (2014). "Thực trạng và chiến lược phát triển y học và y tế biển Việt Nam đến 2020, tầm nhìn đến 2030. Tài liệu Hội nghị đảm bảo an toàn truyền máu và xây dựng lực lượng hiến máu dự bị cho vùng sâu, vùng xa, biên giới, hải đảo, Phú Quốc tháng 4 năm 2014". *Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương - Viện Y học Biển Việt Nam*, tr. 13-21.

27. Trần Công Toại (2002). "*Nghiên cứu chất lượng mô ghép được xử lý và bảo quản theo các phương pháp khác nhau*". *Luận án Tiến sĩ y học,* Đại học Y Dược, TP. Hồ Chí Minh.

28. *Tiêu chuẩn chất lượng chế phẩm máu của bệnh viện Truyền máu Huyết học*. ISO 9001-2008 BV.TMHH TP.HCM -2012.

29. Nguyễn Anh Trí, Phạm Mạnh Hùng (2004). "Kháng nguyên-kháng thể hồng cầu và hiện tượng bất đồng miễn dịch nhóm máu hệ hồng cầu". *Một số chuyên đề Huyết học - Truyền máu, tập 1*, Tr. 166 - 176.

30. Nguyễn Anh Trí, Bạch Khánh Hòa và cs (2010). "Tình hình sàng lọc các bệnh truyền qua đường TM ở Việt Nam, thực trạng và giải pháp". *Một số chuyên đề HHTM, tập 3*: tr. 83-94.

31. Phạm Quang Vinh (2006). "Hệ nhóm máu ABO, Rh, các hệ khác và an toàn truyền máu". *Bài giảng Huyết học - Truyền máu sau đại học*, Nhà xuất bản Y học, Tr. 280 - 298.

TÀI LIỆU TIẾNG ANH

32. American Association of Blood Banks (2011). *Technical Manual 15th edn*. Bethesda, Maryland, USA, 2011, pp.175-202, pp. 483-515, pp. 667-711.

33. Arnaud FG, Meryman HT (2003). "WBC reduction in cryopreserved RBC units".*Transfusion 2003*; 43: pp. 517–525

34. Ashenden M, Mørkeberg J (2011). "Net haemoglobin increase from reinfusion of refrigerated vs. frozen red blood cells after autologous blood transfusions". *Vox Sang 2011*; 101: pp. 320–326

35. Atreya C, Nakhasi H, Mied P (2011). "FDA workshop on emerging infectious diseases: evaluating emerging infectious diseases (EIDs) for transfusion safety". *Transfusion 2011*; 51: pp. 1855–1871 94

36. Bandarenko N, Hay SN, Holmberg J, et al (2004). "Extended storage of AS-1 and AS-3 leukoreduced red blood cells for 15 days after deglycerolization and resuspension in AS-3 using an automated closed system". *Transfusion 2004*; 44: pp. 1656–1662

37. Benjamin RJ, Whitaker BI (2011). "Boom or bust? Estimating blood demand and supply as the baby boomers age". *Transfusion 2011*; 51: pp. 670–673

38. Bennett-Guerrero E, Veldman TH, Doctor A, et al (2007). "Evolution of adverse changes in stored RBCs". *Proc Natl Acad Sci USA 2007*; 104: pp. 17063–17068

39. Borkent-Raven BA, Janssen MP, van der Poel CL, et al (2010). "The PROTON study: profiles of blood product transfusion recipients in the Netherlands". *Vox Sang 2010*; 99: pp. 54–64

40. Bohonek M, Petr_as M, Turek I, et al (2010). "Quality evaluation of frozen apheresis red blood cell storage with 21-day postthaw storage in additive solution 3 and saline-adenine-glucose-mannitol: biochemical and chromium-51 recovery measures". *Transfusion 2010*; 50: pp. 1007- 1013

41. Burger P, Hilarius-Stokman P, de Korte D, et al (2012). "CD47 fuctions as a molecular switch for erythrocyte phagocytosis" *Blood 2012*; 119: pp. 5512–5521

42. Charles CM. Lelkens, Femke Noorman, Jack G. Koning (2003). "Stability after thawing of RBCs frozen with the high-and low-glycerol method". *Transfusion 43*, pp. 157- 164

43. Cicha I, Suzuki Y, Tateishi N, et al (2003). "Changes of RBC aggregation in oxygenation- deoxygenation: pH dependency and cell morphology". *Am J Physiol Heart Circ Physiol 2003*; 284: pp. H2335–H2342

44. Council of Europe Publishing (2013). *Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components*. 17th edn, Council of Europe Publishing, Strasbourg Cedex, France, (2013), pp. 113-115

45. Corwin HL, Carson JL (2007). "Blood transfusion-when is more really less". *N Engl J Med 2007*; 356: pp. 1667–1669

46. Cregan P, Donegan E, Gotelli G (1991). "Hemolytic transfusion reaction following transfusion of frozen and washed autologous red cells". *Transfusion 1991*; 31: pp. 172–175

47. Crowley JP, Skrabut EM, Valeri CR. (1974). "Immunocompetent lymphocytes in previously frozen washed red cells". *Vox Sang; 26*: pp 513-517

48. Daniels G., Bromilow I (2010). *Essential Guide to Blood Groups.* Blackwell Publishing Ltd, 2nd edn, pp. 1 - 103.

49. Daniels G., Poole J., Silva M., Callaghan T., MacLennan S., Smith N. (2002). "The clinical significance of blood group antibodies". *Transfusion Med, 12*, pp. 287 - 295.

50. Denise M. Harmening (2005). Modern blood banking and transfusion practice. Book promotion & service, 5th edn 2005, pp.1-21, pp. 90 - 213.

51. Dunne JR, Malone DL, Tracy JK, et al. (2004). "Allogenic blood transfusion in the first 24 hours after trauma is associated with increased systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and death". *Surg Infect 2004;* 5: pp. 395–404

52. Erickson ML, Champion MH, Klein R, et al (2008). "Management of blood shortages in a tertiary care academic medical center: the Yale-New Haven Hospital frozen blood reserve". *Transfusion 2008*; 48: pp. 2252–2263

53. Fabricant L, Kiraly L, Wiles C, et al. (2013). "Cryopreserved deglycerolized blood is safe and achieves superior tissue oxygenation compared with refrigerated red blood cells: a prospective randomized pilot study". *J Trauma Acute Care Surg 2013*; 74: pp. 371–376

54. Farrugia A, Shea N, Knowles S, et al (1993). "Cryopreservation of red blood cells: effect of freezing on red cell quality and residual lymphocyte immunogenicity". *J Clin Pathol 1993*; 46: pp. 742–745

55. Flickinger C., Petrone T, Church A. (2004). "Review: American rare donor program". *Immunohematology, 20 (4),* pp. 239 - 243.

56. Fontaine MJ, Winters JL, Moore SB, et al (2003). "Frozen preoperative autologous blood donation for heart transplantation at the Mayo Clinic from 1988 to 1999". *Transfusion 2003*; 43: pp. 476–480

57. GENEVA (2008). *The Clinical Use of Blood*. World Health Organization Blood Tranfusion Safety pp. 65-73, pp. 75-95, pp. 161-187.

58. Gulliksson H, Nordahl-Kallman A-S (2014). "Effect of transient warming of red blood cells for up to 24h: in vitro characterisstics in CPD/SAGM environment." *Vox Sang 2014*; 106 pp 61-67

59. Hess JR (2004). "Red cell freezing and its impact on the supply chain". *Transfus Med 2004*; 14: pp.1–8

60. Hess JR, Thomas M (2003). "Blood use in war and disaster: lessons from the past century". *Transfusion 2003*; 43: pp. 1622–1633

61. Hult A, Malm C, Oldenborg P (2013). "Transfusion of cryopreserved human red blood cells into healthy humans is associated with rapid extravascular hemolysis without a proinflammatorycytokine response". *Transfusion 2013*; 53: pp. 28–33

62. Hampton DA, Wiles C, Fabricant LJ, et al (2014). "Cryopreserved red blood cells are superior to standard liquid red blood cells". *J Trauma Acute Care Surg 2014*; 77: pp. 20–27

63. Henkelman S, Lagerberg JWM, Graaff R, et al (2010). "The effects of cryopreservation on red blood cell rheologic properties". *Transfusion 2010*; 50: pp. 2393–2401

64. Holovati JL, Wong KA, Webster JM, et al (2008). "The effects of cryopreservation on red blood cell microvesiculation, phosphatidylserine externalization, and CD47 expression". *Transfusion 2008*; 48: pp. 1658–1668

65. Holley A, Marks DC, Johnson L, et al (2013). "Frozen blood products: clinically effective and potentially ideal for remote Australia". *Anaesth Intensive Care*; 2013; 41: pp. 10–19

66. Holovati JL, Hannon JL, Gyongyossy- Issa M, et al (2009). "Blood preservation workshop: new and emerging trends in research and clinical practice". *Transfus Med Rev 2009*; 23: pp. 25–41

67. Hult A, Malm C, Oldenborg P (2013). "Transfusion of cryopreserved human red blood cells into healthy humans is associated with rapid extravascular hemolysis without a proinflammatory cytokine response". *Transfusion 2013*; 53: pp. 28–33

68. http://www.usaisr.amedd.army.mil/clinical_practice_guidelines.htm

69. Innerhofer P, Klingler A, Klimmer C, et al (2005). "Risk for postoperative infection after transfusion of white blood cellfiltered allogeneic or autologous blood components in orthopedic patients undergoing primary arthroplasty". *Transfusion 2005*; 45: pp. 103–110

70. International Society of Blood Transfusion ©2014 (2014). "Frozen red blood cells for transfusion", *Vox Sanguinis (2014)*; pp. 1-10

71. Klein HG, Anstee DJ (2005). Mollison's Blood Transfusion in Clinical Medicine, 11th edn. Massachusetts, Blackwell Publishing, 2005: pp. 904

72. Kelvin G.M et al (1998), "Cryopreservation Manual: A guide to cryopreservation Tecniques". *Thermo forma,* www.thermo.com. pp. 1-9, pp. 11-19, pp. 21-22.

73. Kretschmer V (2006). "Preoperative autologous blood donation–a "confessor's point of view". *Transfus Med Hemother 2006*; 33: pp. 330–335

74. Kuruppu KKS (2010). "Management of blood system in disasters". *Biologicals 2010*; 38: pp. 87–90 83

75. Lagerberg JWM, Truijens-de Lange R, de Korte D, et al (2007). "Altered processing of thawed red cells to improve the in vitro quality during postthaw storage at 4°C". *Transfusion 2007*; 47: pp. 2242–2249

76. Lecak J, Scott K, Young C, et al (2004). "Evaluation of red blood cells stored at -80°C in excess of 10 years". *Transfusion 2004*; 44: pp. 1306–1313

77. Lelkens CCM, Koning JG, de Kort B, et al (2006). "Experiences with frozen blood products in the Netherlands military". *Transfus Apher Sci 2006*; 34: pp. 289–298

78. Lelkens CCM, Noorman F, Koning JG, et al. (2003). "Stability after thawing of RBCs frozen with the high and low glycerol method". *Transfusion 2003*; 43: pp. 157- 164

79. Li Yanhui. (2001). "Beijing banks on rare blood donors". *http://beijing.globaltimes.cn/society/2011-05/653740*.

80. Lockwood WB, Hudgens RW, Szymanski IO, et al (2003). "Effects of rejuvenation and frozen storage on 42-dayoldAS-3 RBCs". *Transfusion 2003*; 43: pp. 1527–1532

81. Mark A. Popovsky. (2001). "Frozen and washed red blood cells: new approaches and application". *Transfusion and Apheresis Science 25 (2001)* pp. 193-194

82. Meryman HT, Hornblower M. (1986). "The preparation of red cells depleted of leukocytes". *Reviev Trnsfusion. 26(1)*: pp. 101-106 Jan-Feb

83. Meryman HT, Hornblower M. (1972). "A method for freezing and washing red blood cells using a high glycerol concentration". *Transfusion 12,* pp. 145-156.

84. Meiselman HJ. (2009). "Red blood cell aggregation: 45 years being curious". *Biorheology 2009*; 46: pp. 1–19

85. Milos Bohonel (2014). "Cryopreservation of Blood". *Blood Transfusion in Clinical Practice,* pp. 233-242

86. Mohandas N, Gallagher PG. (2008). "Red cell membrane: past, present, and future". *Blood 2008*; 112: pp. 3939–3948

87. Moss G, Valeri CR. (1968). "Clinical experience with the use of frozen blood in combat casualties". *N Engl J Med 1968*; 278: pp. 748–752

88. Mujeeb SA, Jaffery SH. (2007). "Emergency blood transfusion services after the 2005 earthquake in Pakistan". *Emerg Med J 2007*; 24: pp. 22–24

89. Nakaide Ryo. (2006). "Supply and donation of blood products of rare blood types". *Journal of the Society for Japanese Blood Programme, 29*, (1), pp. 100 - 102.

90. Novaretti M., Woodfield G. (2002). "Rare blood usage in American countries". *Vox Sang, 83 (2),* pp. 26.

91. Noorman F, Badloe JF. (2012). "-80°C Frozen red blood cells, plasma and platelets, efficient logistics, available, compatible, safe and effective in the treatment of trauma patients with or without massive blood loss in military theatre". *Transfusion 2012*; 52(Suppl S3): pp. 198A

92. Pallotta V, D'Amici GM, D'Alessandro A, et al. (2012). "Red blood cell processing for cryopreservation: from fresh blood to deglycerolization". *Blood Cells Mol Dis 2012*; 48: pp. 226–232

93. Parthasarathi K, Lipowsky HH. (1999). "Capillary recruitment in response to tissue hypoxia and its dependence on red blood cell deformability". *Am J Physiol 1999*; 277: pp. H2145–H2157

94. Pegg DE. (2010). "The relevance of ice crystal formation for the cryopreservation of tissues and organs". *Cryobiology 2010*;60: pp. S36–S44

95. Peyrard T, Pham B, Le Pennec P, et al. (2008). "The rare blood groups: a public health challenge". *Transfus Clin Biol 2008*; 15: pp. 109–119

96. Pooler JP. (1985). "The kinetics of colloid osmotic hemolysis. I. Nystatininduced lysis". *Biochiem Biophys Acta 1985*; 812: pp. 193–198

97. Ragno G, Valeri CR. (2006). "Salvaging of liquid-preserved O-positive and Onegative red blood cells by rejuvenation and freezing". *Transfus Apher Sci 2006*; 35: pp. 137–143

98. Rampling MW, Meiselman HJ, Neu B, et al. (2004). "Influence of cell-specific factors on red blood cell aggregation". *Biorheology 2004*; 41: pp. 91–112

99. Reggiori G, Occhipinti G, De Gasperi A, et al. (2009). "Early alterations of red blood cell rheology in critically ill patients". *Crit Care Med 2009*; 37: pp. 3041–3046

100. Reesink HW, Engelfriet CP, Schennach H, et al. (2008). "Donors with a rare pheno (geno) type". *Vox Sang 2008*; 95: pp. 236–253

101. Rentas FJ. (2011). "Cryopreserved red blood cells: summary". *J Trauma 2011*; 70: pp. S45–S46

102. Reid M. E., Calhoun L., Petz L. D. (2006). "Erythrocyte antigens and antibodies". *Williams Hematology, 7th edn*, pp. 2119 - 2138.

103. Rowe AW. (2002). "Cryopreservation of red cells by freezing and vitrification – some recollections and predictions". *Transfus Med Hemother 2002*; 29: pp. 25–30

104. Scott KL, Lecak J, Acker JP. (2005). "Biopreservation of red blood cells: past, present, and future". *Transfus Med Rev 2005*; 19: pp. 127–142

105. Shander A, Hofmann A, Gombotz H, et al. (2007). "Estimating the cost of blood: past, present, and future directions". *Best Pract Res Clin Anaesthesiol 2007*; 21: pp. 271–289

106. Silliman CC, Moore EE, Kelher MR, et al. (2011). "Identification of lipids that accumulate during the routine storage of prestorage leukoreduced red blood cells and cause acute lung injury". *Transfusion 2011*; 51: pp. 2549–2554

107. Spinella PC, Dunne J, Beilman GJ, et al. (2012). "Constant challenges and evolution of US military transfusion medicine and blood operations in combat". *Transfusion 2012*; 52: pp. 1146–1153

108. Sputtek A. (2007). "Cryopreservation of red blood cells and platelets". *Methods Mol Biol 2007;* 368: pp. 283–301

109. Vamvakas EC. (2010). "Meta-analysis of clinical studies of the purported deleterious effects of "old" (versus "fresh") red blood cells: are we at equipoise?". *Transfusion 2010*; 50: pp. 600–610

110. Varghese R, Myers ML. (2010). "Blood conservation in cardiac surgery: let's get restrictive". *Semin Thorac Cardiovasc Surg 2010*; 22: pp. 121–126

111. Valeri CR, Ragno G. (2006). "Cryopreservation of human blood products". *Transfus Apher Sci 2006*; 34: pp. 271–287

112. Valeri CR, Ragno G, Pivacek LE, et al. (2001). "A multicenter study of in vitro and in vivo values in human RBCs frozen with 40-percent (wt/vol) glycerol and stored after deglycerolization for 15 days at 4°C in AS-3: assess assessment of RBC processing in the ACP 215". *Transfusion 2001*; 41: pp. 933–939

113. Valeri CR, Ragno G, van Houten P, et al. (2005). "Automation of the glycerolization of red blood cells with the highseparation bowl in the Haemonetics ACP 215 instrument". *Transfusion 2005*; 45: pp. 1621–1627

114. Valeri CR, Ragno G, Pivacek LE, et al. (2000). "An experiment with glycerolfrozen red blood cells stored at -80°Cfor up to 37 years". *Vox Sang 2000*; 79: pp. 168–174

115. Valeri CR, Pivacek LE, Cassidy GP, et al. (2000). "The survival, function, and hemolysis of human RBCs stored at 4°C in additive solution (AS-1, AS-3, or AS-5) for 42 days and then biochemically modified, frozen, thawed, washed, and stored at 4°C in sodium chloride and glucose solution for". *Transfusion 2000*; 40: pp. 1341–1345

116. Valeri CR, Ragno G. (2010). "An approach toprevent the severe adverse events associated with transfusion of FDAapproved blood products". *Transfus Apher Sci 2010*; 42: pp. 223–233

117. Valeri CR, Pivacek LE, Gray AD, et al (1989). "The safety and therapeutic effectiveness of human red cells stored at -80^{0}C for as long as 21 years". *Transfusion, 29,* pp. 429-437.

118. Valeri CR, Pivacak LE, Cassidy GP, Ragno G, (2001). "In vitro and in vivo measurements of human RBCs frozen with glycerol and subjected to various storage temperatures before deglycerolization and storage at 4 degrees C for 3 days". *Transfusion. 2001* Mar; 41(3): pp. 401-405.

119. Valeri C. Robert (2002). "Status report on the quaility of liquid and Red blood cells". *Vox Sang 83 (1),* pp. 193-196

120. Van de Watering LMG. Hermans J, Houbiers JGA, et al. (1998). "Benefits effects of leukocyte depletion of transfusion blood on postoperative complications in patients undergoing cardiac surgery. A randomized clinical trial". *Circulation; 97: pp. 562-8.*

121. Vlaar APJ, Hofstra JJ, Levi M, et al. (2010). "Supernatant of aged erythrocytes causes lung inflammation and coagulopathy in a "two-hit" in vivo syngeneic transfusion model". *Anesthesiology 2010*; 113: pp. 92–103

122. Woodfield G, Poole J, Nance ST, et al. (2004). "A review of the ISBT rare blood donor program". *Immunohematology 2004*; 20: pp. 244–248

123. Wikipedia (2011). "Blood type". *http://en.wikipedia.org/wiki/Blood_type*

124. Yedgar S, Koshkaryev A, Barshtein G. (2002). "The red blood cell in vascular occlusion". *Pathophysiol Haemost Thromb 2002*; 32: pp. 263–268

125. Zou S, Stramer SL, Dodd RY. (2012). "Donor testing and risk: current prevalence, incidence, and residual risk of transfusion- transmissible agents in US allogeneic donations". *Transfus Med Rev 2012*; 26: pp. 119–128

126. Zhu Z. (2006). "Rare blood programme in China". *Vox Sang, The International Journal of Transfusion Medicine, 91 (3).*

TÀI LIỆU TIẾNG PHÁP

127. Jeune Hematologue Debrouillard 9 eme Edition Mai (2002), pp. 43

PHỤ LỤC

1. Phụ lục 1: Phiếu thông tin quá trình xử lý HCĐL (glycerol hóa, giải đông và rửa loại glycerol)
2. Phụ lục 2: Phiếu đồng thuận và theo dõi truyền HCĐL
3. Phụ lục 3: Phiếu theo dõi nhiệt độ tủ đông lạnh
4. Phụ lục 4: Quy trình kỹ thuật vận hành máy ACP215 giai đoạn glycerol hóa
5. Phụ lục 5: Quy trình kỹ thuật làm giảm thể tích của túi HCL được glcerol hóa
6. Phụ lục 6: Quy trình kỹ thuật vận hành máy ACP215 giai đoạn rửa loại bỏ glycerol
7. Phụ lục 7: Quy trình cung cấp nhóm máu RhD âm
8. Phụ lục 8: Bảng thông số kiểm tra chất lượng sản phẩm.
9. Phụ lục 9: Danh sách túi máu được đông lạnh và rửa cho sử dụng

Phụ lục 1.

PHIẾU THÔNG TIN VỀ XỬ LÝ HCĐL

I. BÁO CÁO GLYCEROL HÓA

1.1. Thong tin túi HCL:

Mã số túi máu:…… Nhóm máu/Rh:……. Thể tích:……
Chất chống đông:…… Chất nuôi dưỡng:…… Loại túi:… mL
Ngày lấy máu:…… Ngày cô đặc:…… TL (g):……..

1.2. THông tin quá trình glycerol hóa:

1.2.1. Các chỉ số túi HCL trước khi cho Glycerol

Ngày	Hct (%)	Hb (g/dL)	RBC (10^6/µL)	WBC (10^3/µL)	pH	Kết quả cấy máu	K^+ (mmol/L)

1.2.2. Quá trình glycerol hóa

- Ngày thực hiện:…….....
- Thời gian thực hiện quá trình:
  +Bắt đầu:…… giờ …… phút. Kết thúc:…… giờ …… phút.
- Loại máy: Haemonetics ACP215 SN: 09F157
- Nhiệt độ túi HCL:…….. ^{0}C
- Trọng lượng túi HCL trước trừ bì:…….. g; sau trừ bì: …… g
- Chế độ lắc: Có ☐ Không ☐
- Loại Kit:…….. Số Lot:…….. Hạn sử dụng:……
- Glycerol: Số Lot:…… Hạn sử dụng:……
- Thể tích Glycerol sử dụng:…….. mL

1.2.3. Quá trình HCL glycerol hóa được làm giảm thể tích:

- Loại máy ly tâm:…… SN:……
- Chương trình ly tâm:……
  +Tốc độ: ……. g Tốc độ lên:……. Tốc độ xuống:……
  +Nhiệt độ:….. ^{0}C Thời gian ly tâm:…… phút
- Huyết đồ túi HCL trước khi đông lạnh:

Ngày	Trọng lượng (đã trừ bì)	Hb (g/dL)	WBC (10^3/µL)	Hct (%)	Kết quả cấy máu	K^+ (mmol/L)	pH

Nhân viên thực hiện
(Ký và ghi rõ họ tên)

II. BÁO CÁO GIẢI ĐÔNG VÀ RỬA HCĐL TRÊN MÁY ACP215

2.1. Thông tin túi máu:

Mã số túi máu:…… Nhóm máu/Rh:…… Thể tích:….

Ngày đông lạnh:…… Ngày giải đông:…… Cân nặng:……..

2.2. Quá trình giải đông:

1. Tình trạng túi: ☐ Nguyên vẹn ☐ Bể
2. Thời gian bắt đầu giải đông:……, thời gian kết thúc:……
3. Nhiệt độ bể ấm:……^{0}C
4. Nhiệt độ bề mặt túi HCL sau giải đông: ……^{0}C

2.3. Trang thiết bị rửa:

1. Kit rửa hồng cầu: Loại:…… Lot:…….. HSD:……
2. Dung dịch NaCl 12% (Dd Hypertonic): Loại:…… Lot:…… HSD:……
3. Dung dịch NaCl 0.9% & Glucose 0.2%: Loại:…… Lot:…… HSD:……
4. Dung dịch nuôi dưỡng hồng cầu:Loại:…… Lot:…… HSD:…….

2.4. Quá trình rửa hồng cầu:

2.4.1. Thời gian bắt đầu rửa: ……, thời gian kết thúc……

2.4.2. Thông số quá trình rửa:

- RBC Spillage (HC bị tràn ra): ☐ Có ☐ Không
- Thể tích dd nuôi dưỡng (mL): …….

2.4.3. Thông số huyết học túi HCĐL:

- Trước khi rửa:

Trọng lượng (đã trừ bì)	Hb (g/dL)	WBC (10^3/µL)	Hct (%)	pH	K^+ (mmol/L)

- Sau khi rửa:

Trọng lượng (đã trừ bì)	Hb (g/dL)	WBC (10^3/µL)	Hct (%)	pH	K^+ (mmol/L)	Kết quả cấy máu	Độ khúc xạ (nD)

- Thông số nước thải:

Trọng lượng (đã trừ bì)	Hb tự do (g/dL)

Nhân viên thực hiện
(Ký và ghi rõ họ tên)

Phụ lục 2

BỆNH VIỆN TRUYỀN MÁU HUYẾT HỌC **CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM**
Địa chỉ: 118 Hồng Bàng, phường 12, Quận 5, TPHCM **Độc lập – Tự do – Hạnh Phúc**
Điện thoại: 84-8-39571842

TP HCM, ngày…..tháng……năm…

PHIẾU ĐỒNG THUẬN

(V/v Đồng ý truyền chế phẩm hồng cầu đông lạnh tại các khoa điều trị)

1. Mục đích của nghiên cứu:

Ứng dụng kỹ thuật đông lạnh hồng cầu với glycerol nồng độ cao để lưu trữ hồng cầu các nhóm máu hiếm như RhD âm trong thời gian dài, khi người bệnh cần truyền máu nhưng không có người hiến máu, hồng cầu đông lạnh (HCĐL) có sẵn truyền cho người bệnh.

2. Qui trình nghiên cứu

- Qui trình chuẩn bị túi HCĐL: Túi HCL được glycerol hóa ⟶ đông lạnh -80^{0}C ⟶ giải đông ⟶ rửa loại bỏ glycerol, kiểm tra chất lượng, nếu đạt yêu cầu ⟶ cấp phát và truyền cho người bệnh.
- Đối tượng: Túi HCĐL nhóm máu RhD âm

  Những người bệnh nhóm máu RhD âm có nhu cầu sử dụng HCĐL
- Thông tin: Trên phiếu thu thập thông tin
- Toàn bộ thông tin trong nghiên cứu được mã hóa và bảo mật

3. Quyền lợi khi tham gia

Người bệnh được cung cấp chế phẩm máu ngay và truyền máu kịp thời

4. Nguy cơ đối với người tham gia nghiên cứu

So với HCL thông thường truyền HCĐL có lợi do đã loại bỏ hết các chất sinh học, số lượng bạch cầu giảm, nồng độ K+ ngoại bào giảm.

5. Nghiên cứu viên: BS.CKII. Trương Thị Kim Dung

Điện thoại: 0913607677

6. Địa chỉ liên lạc khi cần giải đáp thắc mắc/khiếu nại

Phòng kế hoạch tổng hợp

Số 118 Hồng Bàng, phường 12, Quận 5, TPHCM

7. Đồng thuận tham gia: Sau khi được Bác sĩ giải thích và cung cấp thông tin về nghiên cứu tôi tự nguyện chấp thuận được truyền chế phẩm HCĐL để điều trị bệnh (Ký, ghi rõ họ tên)……

SỞ Y TẾ THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

BỆNH VIỆN:……

PHIẾU YÊU CẦU VÀ THEO DÕI TRUYỀN HCĐL

A. PHẦN YÊU CẦU:

1. Bệnh viện yêu cầu:……
2. Người yêu cầu:……
3. Yêu cầu:

STT	Máu & Chế phẩm máu	Nhóm máu/Rh	Số lượng	Thời gian cấp phát	Ghi chú
1					
2					
3					

B. PHẦN TRUYỀN MÁU:

1. Họ tên bệnh nhân:…… Tuổi:……. Giới tính:……
2. Chẩn đoán:……
3. Mã số hồ sơ ……..Khoa:…… Giường:……
4. Số đơn vị máu truyền:…… đơn vị.
5. Cân nặng:……. Kg.
6. Xét nghiệm huyết đồ: *(Đề nghị ghi chỉ số Hb đầy đủ)*

Hb trước truyền (g/dL)	Hb 24^h (g/dL)	Hb 48^h (g/dL)	Hb 72^h (g/dL)

7. Các phản ứng truyền máu được ghi nhận (*Đề nghị ghi đầy đủ và chi tiết, nếu không có phản ứng thì ghi "không ghi nhận bất thường")*:……
   ……
   ……
   ……

……., ngày……tháng…….năm 20…

Người báo cáo

(Ký và ghi rõ họ tên)

Phụ lục 3.

PHIẾU THEO DÕI NHIỆT ĐỘ TỦ ĐÔNG SÂU

BỆNH VIỆN TRUYỀN MÁU HUYẾT HỌC	
Sổ tay chất lượng Ngân Hàng Máu	Xuất xứ
Nội dung: Báo cáo theo dõi nhiệt độ	Nhóm: Trang thiết bị
Soạn thảo: Quản lý chất lượng	Ngày bắt đầu sử dụng:
Phạm vi thực hiện: Ngân Hàng Máu	Thông qua bởi: Ban phụ trách Ngân Hàng Máu
Loại trang thiết bị: ☐ Tủ đông / ☐ Tủ lạnh / ☐ Tủ ủ / ☐ Khác (ghi rõ tên):	
Mã số trang thiết bị:.....	Tháng: ..... Năm: .....
Giới hạn nhiệt độ chấp nhận: ..... đến .....°C	

Ngày	Nhiệt độ (°C)			Tên và chữ ký			Ghi chú
	tại:	tại:	tại:				
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14							
15							
16							
17							
18							
19							
20							
21							
22							
23							
24							
25							
26							
27							
28							
29							
30							
31							

Ghi chú: Nhiệt độ được theo dõi hàng ngày và đúng thời điểm do bộ phận quy định (3 lần trong ngày). Nếu nhiệt độ vượt ra ngoài giới hạn cho phép thì phải báo cáo ngay cho trưởng bộ phận hay nhân viên phụ trách bộ phận để có hướng xử trí kịp thời.

Phụ lục 4

QUI TRÌNH KỸ THUẬT VẬN HÀNH MÁY ACP215 GIAI ĐOẠN GLYCEROL HÓA

1. Chuẩn bị

Lấy túi cô đặc ra khỏi tủ 4^0C để ở nhiệt độ phòng trong vòng 25-30 phút, hoặc làm ấm túi bằng bể ổn nhiệt ở nhiệt độ 37^0C/5 phút, dùng nhiệt kế hồng ngoại đo nhiệt độ túi đạt từ 20–30^0C. Nối dây túi cô đặc với túi rỗng 1000 mL, chuyển toàn bộ máu sang túi rỗng 1000 mL.

** Yêu cầu nhiệt độ túi cô đặc và dung dịch glycerol trước khi glycerol hóa từ 20-30^0C.*

Mở máy ACP215 và kiểm tra các thông số hoạt động của máy. Kiểm tra kết nối của máy lắc, máy in với máy chính ACP215.

2. Thực hiện quy trình kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị máy ACP215:

Cắm dây nguồn chính của máy ACP215 và mở máy lên. Máy sẽ hiển thị danh mục các phần cần kiểm tra trước khi cho phép bạn lựa chọn giao thức và các dòng sau đây sẽ được hiển thị trên màn hình:

HAEMONETICS ACP215
PLEASE SELECT PROTOCOL →GLYCEROLIZATION DEGLYCEROLIZATION

2.2. Chuyển chế độ thông số:

Sử dụng nút "MODIFY PROGRAMME" để lựa chọn dòng GLYCEROLIZATION và nhấn YES bằng nút UP-ARROW. Màn hình sẽ chuyển sang chế độ sau:

GLYCEROLIZATION PROTOCOL				
PLEASE LOAD DISPOSABLE SET				
	PUMP	TIME	GLYSOL	BLOOD
REAL	0	00:00	0	240
TARGET	70	10:00	435	675

2.3. Cài đặt thông số chương trình Glycerol hóa:

Cân và ghi lại trọng lượng thực của túi:

Trọng lượng thực = Trọng lượng túi ban đầu–Trọng lượng túi rỗng

Chuẩn bị bộ Kit glycerol LN225, kiểm tra trực quan sự toàn vẹn bộ Kit. Khóa các kẹp lại.

Lắp Kit vào máy, chú ý:

- Tải phần ống bơm ngoài vào trong dò bơm khí. Phần lọc kháng vi khuẩn Gelman sẽ được treo thẳng đứng trên ống bơm phía trước của máy ACP215.
- Nối bộ lọc 0.2 micron vào cảm biến áp lực ở mặt trước của máy ACP215.

Máy ACP 215 sẽ xuất hiện màn hình sau:

ENTER OPERATOR INITIALS

Nhấn Yes để cuộn xuống. Nhập các dữ liệu bằng cách sử dụng nút up/down. Nhấn "save" để chấp nhận các dữ liệu này.

Máy ACP 215 sau đó sẽ xuất hiện màn hình sau:

PRESS YES TO CONTINUE PRESS NO TO REENTER

Bây giờ máy đã sẵn sàng để bắt đầu quá trình glycerol hóa và màn hình sau xuất hiện.

GLYCEROLYZATION PROTOCOL				
PRESS MODIFY TO SET PARAMETERS PRESS START TO BEGIN				
	PUMP	TIME	GLYSOL	BLOOD
REAL	0	00:00	0	240
TARGET	70	10:00	435	675

Kết nối dung dịch glycerol và túi HC.

Gỡ bỏ các nút kim loại từ các đầu nút kéo, dùng bông thấm cồn (70%) để sát khuẩn nút chặn bằng cao su và sau đó đâm nhanh đầu vô trùng vào chai glycerol. Hãy chắc chắn rằng van khí đã được mở để cho phép khí đi vào trong chai khi hết dung dịch.

Treo chai glycerol trên giá IV của ACP215.

Nối dây vô trùng với túi HCL.Đặt túi máu lên trên máy lắc, mở các kẹp trên bộ Kit.

Bộ glycerol bây giờ đã được cài đặt xong và máy ACP215 đã sẵn sàng quá trình. Màn hình hiển thị sẽ nhắc nhở người làm nhập tên họ.

Máy tiến hành nhắc nhở người làm bắt đầu quá trình. Nhấn nút "MODIFY" để nhập trọng lượng của túi máu và các thông số khác.

Nhấn nút "START" để bắt đầu quá trình.

2.4. Quá trình glycerol hóa

Sau khi nhấn nút "START", máy lắc sẽ bắt đầu lắc và bơm máu sẽ bắt đầu quay theo chiều kim đồng hồ. Nếu không có chất lỏng nào được phát hiện ở trong khoảng 10 mL, bơm sẽ ngừng và dòng "CHECK LINE OCCLUSION" được hiển thị, cần kiểm tra lại các kẹp trên bộ Kit có bị khóa không.

Sau khi bộ cảm biến xác nhận được khoảng 5mL máu, bộ lọc kháng khuẩn được nhồi đầy, một lượng glycerol sẽ bắt đầu được đếm và hiển thị lên trên màn hình.

Lượng glycerol chảy qua sẽ dần dần tăng lên ở máy tính cho đến khi lượng glycerol này được thêm vào túi hồng cầu. Nếu bất kỳ điều gì về bộ lọc khí xảy ra trong suốt quá trình glycerol hóa, van sẽ ngừng lại và dòng "AIR DETECTED" sẽ hiển thị. Kiểm tra lại để chắc chắn rằng các bộ phận được cài đặt chính xác và các kẹp đã được mở.

Áp lực được hiển thị thông qua quá trình glycerol hóa, nếu vượt quá 200mmHg, bơm máu sẽ ngừng lại và dòng tin "CHECK FOR LINE OCCLUSION, PRESS START TO RESUME, STOP TO END GLYCEROLIZATION" được hiển thị.

Máy lắc sẽ tiếp tục lắc trong 30 giây trong lúc bổ sung thêm glycerol và dòng tin "GLYCEROLYZATION COMPLETE" được hiển thị. Máy in sẽ in ra toàn bộ thông tin của quá trình glycerol hóa.

Hàn dây và cắt rời túi HC-glycerol ra khỏi bộ Kit.

Phụ lục 5

QUY TRÌNH KỸ THUẬT
LÀM GIẢM THỂ TÍCH TÚI HCL SAU GLYCEROL HÓA

1. Mục đích:

   Loại bỏ bớt glycerol bề mặt nhằm đảm bảo hồng cầu đã glycerol hóa đạt được giá trị Hct 60±5%.

2. Trang thiết bị và dụng cụ, hóa chất, văn phòng phẩm:

   Trang thiết bị: Cân thăng bằng, âu ly tâm, máy ly tâm lạnh, bàn ép huyết tương, máy hàn dây

   Dụng cụ: Khẩu trang, găng tay, áo bảo hộ, kẹp nhựa chuyên dụng, que cân bằng. Văn phòng phẩm: Túi bóp miệng

3. Quy trình thực hiện:

   3.1. Kỹ thuật viên khoa ĐCCP mang khẩu trang, găng tay và mặc áo bảo hộ trước khi thực hiện các công việc sau:

   3.2. Thực hiện kỹ thuật

   3.2.1. Hàn dây và cắt rời túi HC được glycerol hóa ra khỏi bộ kít

   3.2.2. Quay ly tâm lạnh (theo QT-ĐCCP-02) với 2000 vòng/6 phút, t^0= 22^0C (*Chú ý: Chế độ thắng của máy ly tâm nên đặt ở mức 0)*

   3.2.3. Đặt nhẹ nhàng và cố định túi máu vào bàn ép, lớp glycerol hướng lên

   3.2.4. Bật cần của bàn ép, máy sẽ ép túi máu lại và lớp glycerol sẽ tự động chảy sang túi phụ

   3.2.5. Khi lớp glycerol chảy đến gần sát khoảng cách giữa hồng cầu và glycerol khoảng 1cm ta dùng kẹp nhựa kẹp đoạn dây nối với túi phụ

   3.2.6. Kéo cần của bàn ép xuống vào vị trí khóa

   3.2.7. Đặt túi hồng cầu lên bàn cân

   3.2.8. Cho glycerol chảy ngược trở lại túi hồng cầu để duy trì Hematocrit khoảng 60±5% theo tiêu chuẩn là 4g

   3.2.9. Hàn dây túi hồng cầu lắng và túi phụ

   3.2.10. Lắc nhẹ và trộn đều túi hồng cầu đã glycerol hóa để tạo độ huyền phù cho túi máu tránh tán huyết trong suốt quá trình đông lạnh

   3.2.11. Cân trọng lượng, lấy mẫu kiểm tra chất lượng sau glycerol

   3.2.12. Quét mã số túi máu vào phần mềm Labconn của Ngân hàng máu để dán nhãn túi máu

   3.2.13. Quấn đoạn dây thật gọn, cho túi máu vào túi bóp nhựa

   3.2.14. Chuyển túi máu vào tủ đông lạnh -80^0C

   3.2.15. Ghi chép thông tin túi máu vào phiếu HCĐL

4. Báo cáo, thống kê số lượng điều chế sản phẩm vào sổ lưu trữ.

5. Túi HC phải được xếp ngăn nắp sao cho diện tích trao đổi nhiệt lớn nhất và không xếp chồng các túi máu lên nhau. Đông lạnh ở -80^0C trong suốt 24h để đảm bảo sự đông lạnh diễn ra chính xác. Sau 24h, có thể xếp các túi vào trong khay.

6. *Chú ý: Không được để túi máu bên ngoài quá 4h từ lúc lấy túi máu từ tủ 4^0C đến khi được đưa vào tủ đông lạnh -80^0C. Nồng độ glycerol cuối cùng khoảng 40% W/V và lượng hematocrit của túi đã glycerol hóa 60±5V%.*

Phụ lục 6

QUI TRÌNH KỸ THUẬT VẬN HÀNH MÁY ACP215 GIAI ĐOẠN DEGLYCEROL

Chuẩn bị bộ Kit rửa glycerol và các loại dung dịch, kiểm tra sự nguyên vẹn của bao bì xem có bất kỳ vết xé hay các lỗ nào và nắp plastic có được hàn đúng hay không.

1. Cài đặt thông số

Kiểm tra kết nối giữa máy chính ACP215 với máy lắc, máy in.

Bật công tắc nguồn máy ACP215. Máy sẽ hiển thị danh sách các lựa chọn và sau khi hoàn thành, dòng thông tin sau sẽ được hiển thị

HEAMONETICS ACP215
PLEASE SELECT PROTOCOL CELL WASH ➔ GLYCEROLIZATION DEGLYCEROLIZATION

Sử dụng nút "MODIFY PROGRAM", lựa chọn "DEGLYCEROLIZATION" và nhấn "YES" bằng cách sử dụng nút UP-ARROW. Tất cả các van sẽ mở và màn hình sẽ hiển thị

GLYCEROLIZATON PROTOCOL					
PLEASE LOAD DISPOSABLE SET					
PRESS "YES" TO CONTINUE					
	PUMP	TIME	HYPE	GLYSOL	BLOOD
REAL	0	0	0	0	0
TARGET		55	50	1470	240

Lắp Kit theo hướng dẫn của nhà sản xuất:

Lấy bầu trong bộ ly tâm để đầu của bầu được định hướng cho các cổng ra (dây sạch) thoát ra ở bên phải và cổng xanh thoát ra ở bên trái. Nhấn mạnh hai bên bầu để chắc chắn rằng nó đã được định vị đúng chỗ bên trong mâm. Đóng và đảm bảo rằng bộ ly tâm đã được bọc lại và chắc chắn rằng bộ bọc này đã được khóa chặt bằng cách xoay miếng khóa theo chiều kim đồng hồ.

Lấy hai đoạn ống bơm và đặt nó vào hai rotor bơm tương ứng: bộ lọc 0.20 µm phải được đặt giữa ổ cắm bơm dung dịch ngoài (đường ống dẫn gần nhất với ống bơm máu bên ngoài) và miếng "Y" này được nối với bầu. Ngoài ra, đặt đúng các khúc ống vào trong hai cảm biến phát hiện không khí.

Mở 6 van với các khúc ống dây tương ứng. Mỗi một khúc của ống dây có một dải màu tương ứng với các màu của các van: Đỏ dành cho túi chứa hồng cầu đã được giải đông; Không màu dành cho túi chứa hồng cầu sau rửa; Xanh lá cây dành cho dây đi ra từ bầu ly tâm; Xanh dương dành cho dung dịch muối sodium chloride ưu trương 12%; Vàng dành cho dung dịch NaCl 0.9% dung dịch muối glucose 0.2 gm%; và Cam dành cho chất bảo quản AS3.

Cài đoạn dây nhánh vào trong cảm ứng dòng chảy (chắc chắn rằng các ống dây đã được hàn kín), và đóng nắp lại.

Treo túi nước thải ở bên trái của mặt trước máy, treo ngược túi đựng sản phẩm ở bên phải của mặt trước máy.

Nối hai bộ lọc kỵ nước kích thước 0.2µm, một vào trong cảm ứng áp lực van bơm máu (BPPS) và cái còn lại vào cảm ứng áp lực bầu (BPS). Nhấn "YES" để tiếp tục. Sau khi cả hai cảm biến áp lực đã được cài đặt chính xác, nhấn "YES" để tiếp tục. Các van sẽ tự động đóng lại.

Máy sẽ hỏi nếu bạn muốn điều chỉnh các cảm biến dòng chảy. Nhấn "YES" để tiếp tục. Nhấn "NO" để bỏ qua bước điều chỉnh này. Khuyến cáo rằng bạn nên điều chỉnh các cảm biến dòng chảy của máy ACP215 ít nhất 1 lần 1 ngày.

Hiệu chuẩn cảm biến Hemoglobin nước thải

Máy ACP215 nhắc cài bộ lọc số 1, bộ lọc sẽ cho ánh sáng đi xuyên qua hoàn toàn.

Máy ACP215 nhắc cài bộ lọc số 2, bộ lọc này sẽ cho 50% ánh sáng đi xuyên qua.

Máy ACP215 nhắc cài bộ lọc số 3, cài bộ lọc số 3 sẽ cản trở ánh sáng đi qua. Nếu các số liệu được chấp nhận, máy ACP215 sẽ thông báo các số liệu ở bên trong khoảng được chấp nhận và cho phép bạn tiếp tục quá trình rửa glycerol.

Đặt chắc chắn túi máu đã giải đông hoàn toàn lên khung của máy lắc.

Lúc này, ACP215 yêu cầu chắc chắn rằng màu của các ống dây đã được đặt đúng vào vị trí của các van thích hợp. Mở tất cả các kẹp dẹp và kiểm tra lại lần nữa mối nối đã mở hoàn toàn và không có gút dây nào còn tồn tại.

ACP215 nhận rằng mọi thứ đã được đặt đúng vị trí và màn hình sẽ hiển thị "ENTER OPERATOR INITIAL" và theo sau là "PRESS MODIFY TO PROGRAM, START TO BEGIN". Kiểm tra lại chắc chắn các thông số của quá trình.

Nhấn nút "START" để bắt đầu quá trình rửa loại glycerol.

2. Quy trình rửa loại bỏ glycerol

Sau khi nhấn nút "START", ACP215 sẽ đánh giá mức toàn vẹn của các mối nối bằng cách giữ và giám sát các áp lực âm tính. ACP215 sẽ tự động bắt đầu quá trình ly trích glycerol và hoàn thành các bước sau:

Loại bỏ không khí trong túi sản phẩm. Máy sẽ hoạt động như sau:

Blood Pump	Solution Pump	Centrifuge	Clear Valve	Green Value
CW	STOP	STOP	OPEN	OPEN

Điều này cho thấy rằng bơm máu nên xoay theo chiều kim đồng hồ, bơm dung dịch dừng lại, buồng ly tâm dừng lại và van không màu túi hồng cầu, van xanh lá cây túi chất thải đều đang mở.

Máy sẽ bắt đầu cho vào khoảng 50mL dung dịch muối chloride ưu trương 12% và được hoạt động như sau:

Blood Pump	Solution Pump	Shaker	Blue Valve	Red Value
CCW	CCW	ON	OPEN	OPEN

Van máu lúc này đang quay ngược chiều kim đồng hồ vì bơm muối đang được mở. Đĩa lắc hoạt động, van xanh dương điều khiển dung dịch NaCl 12% và van đỏ với dung dịch máu đều đang mở, cho phép trộn lẫn dung dịch NaCl 12% vào trong túi máu.

Máy sẽ dừng lại để trì hoãn quá trình thăng bằng khoảng 150 giây.

Tiếp theo máy sẽ thêm dung dịch pha loãng đầu tiên khoảng 340mL 0.9% muối chloride –0.2gm% muối glucose vào trong túi máu đã rã đông và các bước được quan sát như trong bảng sau:

Blood Pump	Solution Pump	Shaker	Yellow Valve	Red Value
CCW	CCW	ON	OPEN	OPEN

Điều này chỉ ra rằng cả bơm máu và bơm dung dịch đều đang quay ngược chiều kim đồng hồ, máy lắc lúc này sẽ hoạt động và van màu vàng của dung dịch muối chloride 0.9%-0.2gm% glucose và van đỏ của túi máu đều đang mở.

Máy sẽ dừng lại để trì hoãn quá trình thăng bằng khoảng 150 giây.

ACP215 sẽ đổ đầy bình ly tâm bằng cách chuyển túi máu đã pha loãng vào trong bầu ly tâm. Nhánh ra sẽ thoát ra khỏi bầu đi tới túi chứa chất thải và cảm ứng dòng chảy sẽ bắt đầu giám sát lượng hemoglobin tự do.

Blood Pump	Solution Pump	Centrifuge	Green Valve	Red Value
CW	STOP	8000 RPM	OPEN	OPEN

Bơm máu sẽ xoay theo chiều kim đồng hồ, bơm dung dịch dừng lại, máy ly tâm xoay với vận tốc 8000rpm, cả van xanh lá cây, túi chất thải và van đỏ của túi máu đều mở.

ACP215 sẽ rửa bầu ly tâm với 0.9% muối chloride-0.2gm% muối glucose.

Blood Pump	Solution Pump	Centrifuge	Green Valve	Red Value
STOP	CCW	8000RPM	OPEN	OPEN

Bơm máu sẽ dừng lại, bơm dung dịch sẽ quay ngược chiều kim đồng hồ, máy ly tâm vẫn đang xoay tròn ở vận tốc 8000 rpm, van xanh lá cây tới túi đựng chất thải và van màu vàng của dung dịch muối chloride 0.9%-muối glucose 0.2gm% đang mở.

Các tế bào hồng cầu quay trở lại túi máu từ buồng ly tâm

Blood Pump	Solution Pump	Centrifuge	Green Valve	Red Value
CCW	STOP	STOP	OPEN	OPEN

Bơm máu sẽ quay ngược chiều kim đồng hồ, cả bơm dung dịch và máy ly tâm đều dừng lại, van xanh của túi chất thải và van đỏ của túi máu đều mở.

ACP215 sẽ tiến hành pha loãng máu với 400mL dung dịch muối chloride 0.9%-0.2 gm% dung dịch muối glucose.

Blood Pump	Solution Pump	Shaker	Yellow Valve	Red Value
CCW	CCW	ON	OPEN	OPEN

Bơm máu và dung dịch muối đều quay ngược chiều kim đồng hồ, máy lắc sẽ hoạt động một lần, van vàng của dung dịch muối chloride 0.9%-muối glucose 0.2gm% và van đỏ của túi máu đều mở.

Máy sẽ dừng lại để trì hoãn quá trình thăng bằng khoảng 60 giây.

Các tế bào máu sẽ được đưa lại vào buồng ly tâm, dòng nhánh được chuyển vào túi chất thải và cảm biến dòng chảy sẽ giám sát lượng hemoglobin tự do một lần nữa.

Blood Pump	Solution Pump	Centrifuge	Green Valve	Red Value
CW	STOP	8000 RPM	OPEN	OPEN

Bơm máu quay theo chiều kim đồng hồ, bơm dung dịch dừng lại, máy ly tâm xoay với vận tốc 8000 rpm, cả van xanh của túi chất thải, van đỏ của túi máu đều mở.

Máy ly tâm dừng lại và 30mL máu trong buồng sẽ được chuyển sang túi máu. Quá trình trì hoãn thăng bằng kéo dài khoảng 45 giây, máy ly tâm hoạt động trở lại và 30mL máu sẽ quay về buồng ly tâm cho 60 giây ly tâm.

ACP215 sẽ bắt đầu bước đầu tiên của vòng xoay rửa 5 bước bằng cách cho 60mL dung dịch muối chloride 0.9%-0.2gm% muối glucose vào trong buồng. Nhánh thoát ra của buồng sẽ chuyển sang túi chất thải và cảm biến dòng chảy sẽ tiến hành kiểm tra hàm lượng hemoglobin tự do.

Blood Pump	Solution Pump	Centrifuge	Green Valve	Yellow Value
STOP	CCW	8000 RPM	OPEN	OPEN

Bơm máu sẽ dừng lại, bơm dung dịch sẽ quay ngược chiều kim đồng hồ, buồng ly tâm quay 73 tốc độ 8000rpm, van xanh của túi chất thải, van vàng của dung dịch muối chloride 0.9%-0.2gm% muối glucose sẽ được mở.

Máy ly tâm sẽ dừng lại và chuyển 30mL hồng cầu vào trong buồng sang túi máu. Quá trình thăng bằng được trì hoãn trong 45 giây, máy ly tâm hoạt động trở lại, trả 30mL máu vào buồng và ly tâm trong vòng 60 giây.

ACP215 chuyển sang bước rửa thứ 2 bằng cách cho thêm 70mL dung dịch muối chloride 0.9%-dung dịch muối glucose 0.2gm% vào trong buồng. Đường thoát của buồng sẽ đi vào túi đựng chất thải và cảm biến dòng chảy sẽ kiểm tra lượng hemoglobin tự do.

Blood Pump	Solution Pump	Centrifuge	Green Valve	Yellow Value
STOP	CCW	8000 RPM	OPEN	OPEN

Bơm máu sẽ dừng lại, bơm dung dịch quay ngược chiều kim đồng hồ, máy ly tâm quay với vận tốc 8000rpm, van xanh của túi chất thải, van vàng của túi dung dịch muối 0.9% chloride-0.2% glucose sẽ mở.

Máy ly tâm dừng lại và chuyển 30mL máu trong buồng sang túi đựng máu. Quá trình thăng bằng được trì hoãn khoảng 45 giây, buồng ly tâm xoay trở lại, trả lại 30mL máu vào trong buồng và ly tâm trong vòng 60 giây.

ACP215 bắt đầu bước rửa thứ 3 bằng cách cho thêm 100mL của dung dịch muối chloride 0.9%-dung dịch muối glucose 0.2gm% vào trong buồng. Đường thoát của buồng sẽ đi vào túi đựng chất thải và cảm biến dòng chảy sẽ kiểm tra lượng hemoglobin tự do.

Blood Pump	Solution Pump	Centrifuge	Green Valve	Yellow Value
STOP	CCW	8000 RPM	OPEN	OPEN

Bơm máu sẽ dừng lại, bơm dung dịch quay ngược chiều kim đồng hồ, máy ly tâm quay với vận tốc 8000rpm, van xanh của túi chất thải, van vàng của túi dung dịch muối 0.9% chloride-0.2% glucose sẽ mở.

Máy ly tâm dừng lại và chuyển 30mL máu trong buồng sang túi đựng máu. Quá trình thăng bằng được trì hoãn khoảng 45 giây, buồng ly tâm xoay trở lại, trả lại 30mL máu vào trong buồng và ly tâm trong vòng 60 giây.

ACP215 bắt đầu bước rửa thứ 4 bằng cách cho thêm 150mL của dung dịch muối chloride 0.9%-dung dịch muối glucose 0.2gm% vào trong buồng. Đường thoát của buồng sẽ đi vào túi đựng chất thải và cảm biến dòng chảy sẽ kiểm tra lượng hemoglobin tự do.

Blood Pump	Solution Pump	Centrifuge	Green Valve	Yellow Value
STOP	CCW	8000 RPM	OPEN	OPEN

Bơm máu sẽ dừng lại, bơm dung dịch quay ngược chiều kim đồng hồ, máy ly tâm quay với vận tốc 8000rpm, van xanh của túi chất thải, van vàng của túi dung dịch muối 0.9% chloride-0.2% glucose sẽ mở.

Máy ly tâm dừng lại và chuyển 30mL máu trong buồng sang túi đựng máu. Quá trình thăng bằng được trì hoãn khoảng 45 giây, buồng ly tâm xoay trở lại, trả lại 30mL máu vào trong buồng và ly tâm trong vòng 60 giây.

ACP 215 bắt đầu bước rửa cuối cùng, bước rửa thứ 5 bằng cách cho thêm 300mL của dung dịch muối chloride 0.9%-dung dịch muối glucose 0.2gm% vào trong buồng. Đường thoát của buồng sẽ đi vào túi đựng chất thải và cảm biến dòng chảy sẽ kiểm tra lượng hemoglobin tự do.

Blood Pump	Solution Pump	Centrifuge	Green Valve	Yellow Value
STOP	CCW	8000 RPM	OPEN	OPEN

Bơm máu sẽ dừng lại, bơm dung dịch quay ngược chiều kim đồng hồ, máy ly tâm quay với vận tốc 8000rpm, van xanh của túi chất thải, van vàng của túi dung dịch muối 0.9% chloride-0.2% glucose sẽ mở.

Máy ly tâm dừng lại và chuyển 30mL máu trong buồng sang túi đựng máu. Quá trình thăng bằng được trì hoãn khoảng 45 giây, buồng ly tâm xoay trở lại, trả lại 30mL máu vào trong buồng và ly tâm trong vòng 60 giây.

ACP215 sẽ chuyển 240mL của AS-3 phụ gia vào trong buồng. Đường thoát của buồng sẽ đi vào túi đựng chất thải và cảm biến dòng chảy sẽ kiểm tra lượng Hb tự do.

Blood Pump	Solution Pump	Centrifuge	Green Valve	Orange Value
STOP	CCW	8000 RPM	OPEN	OPEN

Bơm máu sẽ dừng lại, bơm dung dịch quay ngược chiều kim đồng hồ, máy ly tâm quay với vận tốc 8000rpm, van xanh của túi chất thải, van cam của dung dịch AS-3 sẽ mở.

Máy sẽ bẫy một vài đoạn dung dịch thoát ra ở đoạn dây nhánh và dừng lại toàn bộ quá trình. Một mẫu tin sẽ được thể hiện trên màn hình để nhắc nhở bạn "CHECK HGB LEVEL IN EFFERENT FLUID—PRESS YES IF ACCEPTABLE. PRESS NO IF NOT". So sánh màu của chất thải trong bảng so màu của túi Haemoetics. Nếu màu ít hơn 5, lượng Hb có thể chấp nhận được và nhấn YES để tiếp tục quá trình. Nếu màu khoảng 5 hoặc cao hơn, không chấp nhận được và quy trình rửa loại glycerol phải được đưa vào để kiểm tra lại chất lượng trước khi tiến hành truyền máu.

Sau khi kiểm tra dung dịch thải ra, máy ly tâm sẽ dừng lại và rửa loại glycerol, hồng cầu tái bổ sung AS-3 sẽ được chuyển vào trong túi sản phẩm.

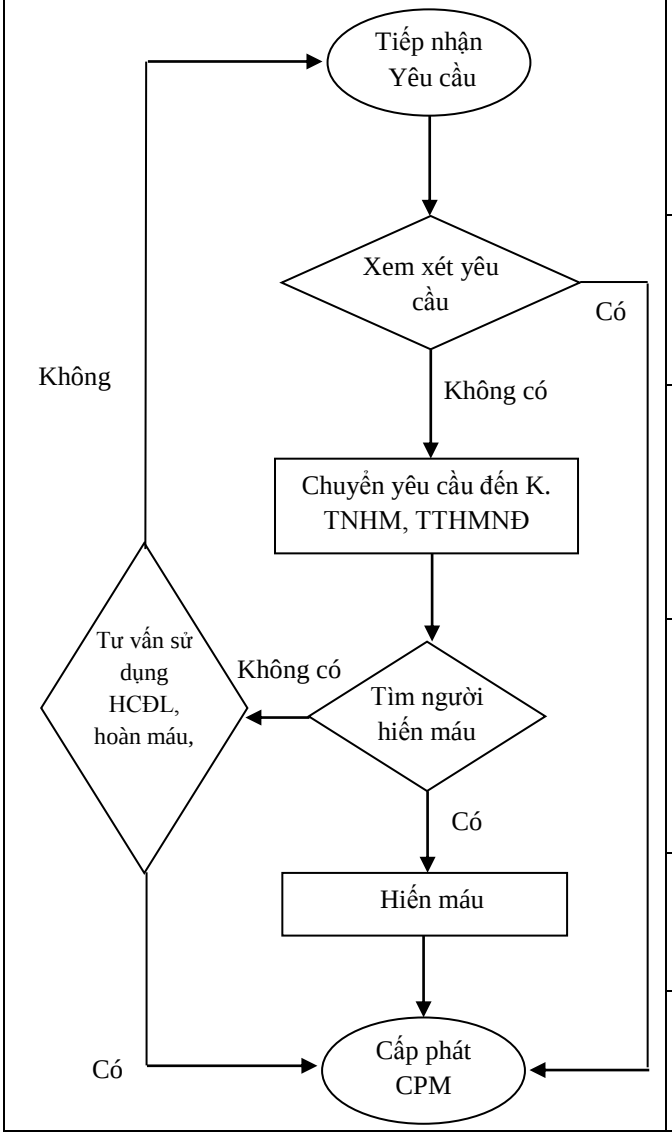
Blood Pump	Solution Pump	Centrifuge	Green Valve	Clear Value
STOP	STOP	STOP	OPEN	OPEN

Bơm máu quay ngược chiều kim đồng hồ, bơm dung dịch và máy ly tâm đều dừng lại, van xanh của túi chất thải, van không màu của túi sản phẩm sẽ mở.

ACP215 sẽ báo "DEGLYCEROLIZATION COMPLETE". Máy in sẽ in PROCEDURE SUMMARY AND HEMOGLOBIN LEVEL PROFILE DIAGRAM.

Phụ lục 7

QUY TRÌNH ĐĂNG KÝ VÀ CẤP PHÁT CHẾ PHẨM MÁU RhD âm

Lưu đồ	Thời gian hoàn thành
	Tại thời điểm tiếp nhận yêu cầu (trong ngày) Trong ngày Chuyển ngay (trong ngày) 24 giờ 24 giờ 2 giờ

1. Tiếp nhận yêu cầu đăng ký

1.1. Khoa tiếp nhận yêu cầu truyền HCL RhD âm từ các Bệnh viện

1.2. Bệnh viện yêu cầu chuyển đăng ký HCL RhD âm đến khoa ĐCCP ngay khi nhận được chỉ định.

2. Xem xét yêu cầu

Khoa: tiếp nhận yêu cầu đăng ký HCL RhD âm từ các bệnh viện.

2.1. Không có sẵn chế phẩm máu tại kho chuyển yêu cầu đến khoa TNHM hoặc TTHMNĐ

2.2. Khoa chuyển phiếu yêu cầu đăng ký HCL RhD âm từ các bệnh viện khác đến khoa TNHM/ TTHMNĐ khi trong kho không có sẵn HCL RhD âm.

3. Tìm người hiến máu và hiến máu

3.1. TTHMNĐ, khoa TNHM tiếp nhận yêu cầu đăng ký HCL RhD âm từ khoa ĐCCP và tiến hành các bước sau

3.2. Liên hệ với người hiến máu tình nguyện có nhóm máu RhD âm theo yêu cầu của khoa ĐCCP BV.TMHH

3.2.1. Nếu liên hệ được với người hiến máu tình nguyện có nhóm máu RhD âm thì tiến hành lấy máu người hiến máu theo quy trình.

3.2.2. Không liên hệ được với người hiến máu tình nguyện có nhóm máu RhD âm thì báo lại khoa ĐCCP.

3.3. Khoa ĐCCP nhận túi máu từ khoa TNHM, nhận túi máu và ống máu từ TTHMNĐ.

3.3.1. Khoa ĐCCP gửi ống máu xét nghiệm đến khoa Sàng lọc máu (trong giờ hành chánh), khoa huyết sinh học (ngoài giờ hành chánh).

3.3.2. Sau khi có kết quả xét nghiệm tiến hành thẩm định & cấp phát.

4. Tư vấn sử dụng HCĐL.

Khoa Điều chế & cấp phát báo lại cho các bệnh viện, để liên hệ với các khoa điều trị xem xét ***đổi chỉ định sang sử dụng HCĐL RhD âm***

4.1. Nếu có: Khoa ĐCCP cấp phát HCĐL RhD âm khi có yêu cầu

4.2. Nếu không có hoặc không sử dụng HCĐL: thực hiện lại bước 2.

5. Cấp phát chế phẩm máu

Khoa ĐCCP cấp phát túi chế phẩm máu phù hợp cho bệnh viện theo quy trình cấp phát các sản phẩm máu.

Phụ lục 8 Thông số kiểm tra chất lượng HCĐL

Stt	Giai đoạn	Thông số kiểm tra										Ghi chú
		Trọng lượng (thể tích)	Chỉ số huyết học	Xét nghiệm sàng lọc	Nhóm máu (ABO, Rh)	Độ thẩm thấu	K^+	Cảm quan	pH	Độ nD	Cấy máu	
1	**Cô đặc**	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓			
2	**Glycerol hóa**	✓	✓			✓	✓	✓	✓		✓	
3	**Đông lạnh - giải đông**	✓	✓					✓				**Nếu cần**
4	**Rửa loại bỏ glycerol**	✓	✓			✓	✓	✓	✓	✓	✓	
5	**Nước rửa**	✓	✓					✓				**Nếu cần**

Phụ lục 9

DANH SÁCH TÚI MÁU ĐÔNG LẠNH ĐƯỢC SỬ DỤNG

Stt	Số túi máu	GS	Thể tích	Tên bệnh viện	Ngày cấp phát
1	HBF1V1109459	B-	450	7A	06/09/2012
2	HBM3V1201596	O-	350	AN SINH	07/08/2012
3	HBM1V1202799	O-	350	BÌNH DÂN	23/09/2012
4	HBM9V1210639	O-	350	BÌNH DÂN	23/09/2012
5	HBM6V1203442	O-	350	BÌNH DÂN	25/09/2012
6	HBM2V1205723	O-	350	BÌNH DÂN	26/09/2012
7	HBM6V1203331	O-	350	BÌNH DÂN	26/09/2012
8	HBCEP1200003	O-	450	BV 30/4	08/02/2012
9	HBM6V1207852	O-	250	BV. 115	06/07/2013
10	HBM4V1214632	O-	350	BV. 115	24/09/2012
11	HBF1V1201262	A-	450	BV. 115	29/05/2012
12	HBM6V1201316	A-	350	BV. 115	29/05/2012
13	HBM1V1115100	A-	450	BV. 175	03/05/2012
14	HBF1V1200478	A-	450	BV. 175	18/09/2012
15	HBM5V1102511	A-	250	BV. 175	23/03/2012
16	HBM9V1101796	A-	250	BV. 175	23/03/2012
17	HBM1V1112151	O-	350	CHỢ RẪY	01/12/2012
18	HBF1V1105486	O-	350	CHỢ RẪY	01/12/2012
19	HBM4V1310704	O-	350	CHỢ RẪY	12/03/2013
20	HBM2V1210308	A-	350	CHỢ RẪY	12/03/2013
21	HBF1V1213010	A-	350	CHỢ RẪY	12/03/2013
22	HBCEV1202480	O-	350	CHỢ RẪY	12/10/2013
23	HBF1V1211708	O-	350	CHỢ RẪY	12/12/2013
24	HBF1V1210644	A-	350	CHỢ RẪY	14/12/2013
25	HBF1V1211610	A-	350	CHỢ RẪY	15/12/2013
26	HBM3V1214839	A-	350	CHỢ RẪY	15/12/2013
27	HBM4V1213907	O-	350	CHỢ RẪY	20/09/2013
28	HBM4V1214981	O-	350	CHỢ RẪY	20/09/2013
29	HBM9V1212101	O-	350	CHỢ RẪY	21/09/2013
30	HBF1V1303315	O-	350	CHỢ RẪY	21/09/2013
31	HBM1V1217249	O-	350	CHỢ RẪY	21/09/2013
32	HBM4V1300920	O-	350	CHỢ RẪY	21/09/2013
33	HBM6V1301297	O-	350	CHỢ RẪY	21/09/2013
34	HBF1V1206357	O-	350	GIA ĐỊNH	17/01/2012
35	HBM5V1119997	O-	250	GIA ĐỊNH	17/01/2012
36	HBM6V1112048	O-	450	GIA ĐỊNH	17/01/2012
37	HBM2V1115239	O-	350	GIA ĐỊNH	18/01/2012
38	HBM9V1111272	O-	350	GIA ĐỊNH	18/01/2012

39	HBM6V1115878	O-	350	GIA ĐỊNH	19/01/2012
40	HBF1V1201854	O-	350	GIA ĐỊNH	19/03/2012
41	HBF1V1201865	A-	350	GIA ĐỊNH	19/03/2012
42	HBCEV1102924	O-	350	GIA ĐỊNH	23/01/2012
43	HBM5V1119913	O-	350	GIA ĐỊNH	23/01/2012
44	HBF1V1111620	O-	450	GIA ĐỊNH	25/01/2012
45	HBM1V1118697	O-	450	GIA ĐỊNH	26/01/2012
46	HBM4V1116943	AB-	350	HÙNG VƯƠNG	03/02/2012
47	HBCEV1003022	AB-	350	HÙNG VƯƠNG	03/02/2012
48	HBF1V1111651	A-	450	HÙNG VƯƠNG	19/02/2012
49	HBF1V1102287	A-	450	HÙNG VƯƠNG	19/02/2012
50	HBM4V1112322	O-	350	NHI ĐỒNG 1	01/01/2012
51	HBF1V1104147	O-	350	NHI ĐỒNG 1	01/03/2012
52	HBM2V1202934	O-	350	NHI ĐỒNG 1	10/04/2012
53	HBF1V1205039	O-	450	NHI ĐỒNG 1	10/09/2012
54	HBF1V1108861	O-	350	NHI ĐỒNG 1	01/10/2012
55	HBM3V1105114	A-	350	NHI ĐỒNG 1	01/10/2012
56	HBM6V1200286	B-	250	NHI ĐỒNG 1	14/02/2012
57	HBF1V1201708	O-	450	NHI ĐỒNG 1	15/02/2012
58	HBF1V1202178	O-	350	NHI ĐỒNG 1	19/04/2012
59	HBM3V1120606	O-	250	NHI ĐỒNG 1	20/01/2012
60	HBM5V1209884	O-	350	NHI ĐỒNG 1	23/10/2012
61	HBM6V1108906	B-	450	NHI ĐỒNG 2	02/05/2012
62	HBM5V1101700	B-	250	NHI ĐỒNG 2	01/06/2012
63	HBM3V1104186	B-	350	NHI ĐỒNG 2	02/10/2012
64	HBM3V1101997	B-	350	NHI ĐỒNG 2	19/10/2012
65	HBF1V1102248	O-	450	NHI ĐỒNG 2	25/09/2012
66	HBF1V1103584	B-	250	NHI ĐỒNG 2	30/09/2012
67	HBM3V1204155	B-	250	NHI ĐỒNG 2	31/10/2012
68	HBF1V1008918	B-	450	PHẠM NGỌC THẠCH	29/10/2011
69	HBM2V1008265	B-	450	PHẠM NGỌC THẠCH	29/10/2011
70	HBF1V1301199	O-	350	PHÁP VIỆT	05/03/2014
71	HBM4V1303850	O-	350	PHÁP VIỆT	05/03/2014
72	HBM4V1303864	O-	350	PHÁP VIỆT	05/03/2014
73	HBM1V1216852	O-	350	PHÁP VIỆT	03/04/2014
74	HBM4V1305394	O-	350	PHÁP VIỆT	03/04/2014
75	HBF1V1306346	A-	350	PHÁP VIỆT	03/04/2014
76	HBCEP1300032	O-	450	PHÁP VIỆT	12/03/2014
77	HBF1V1211087	O-	350	PHÁP VIỆT	13/03/2014
78	HBF1V1300123	A-	450	PHÁP VIỆT	14/02/2014
79	HBM9V1215286	A-	450	PHÁP VIỆT	15/02/2014
80	HBCEP1200013	O-	450	PHÁP VIỆT	16/02/2014

81	HBF1V1201917	O-	350	PHÁP VIỆT	16/04/2014
82	HBM2V1318902	A-	350	PHÁP VIỆT	17/02/2014
83	HBM6V1317569	A-	350	PHÁP VIỆT	17/02/2014
84	HBF1V1313130	A-	350	PHÁP VIỆT	18/02/2014
85	HBF1V1311375	O-	450	PHÁP VIỆT	18/03/2014
86	HBF1V1215246	O-	450	PHÁP VIỆT	20/02/2014
87	HBM6V1304759	A-	350	PHÁP VIỆT	25/02/2014
88	HBM3V1204791	O-	450	PHÁP VIỆT	25/05/2014
89	HBF1V1303054	A-	350	PHÁP VIỆT	26/02/2014
90	HBM3V1200470	O-	350	PHÁP VIỆT	26/03/2014
91	HBM1V1211546	A-	450	PHÁP VIỆT	31/10/2012
92	HBF1V1208731	O-	350	THỐNG NHẤT	19/11/2012
93	HBM9V1211539	O-	350	THỐNG NHẤT	19/11/2012
94	HBM5V1119779	B-	350	THỦ ĐỨC	17/02/2014
95	HBM2V1118831	B-	350	THỦ ĐỨC	17/02/2014
96	HBF1V1107714	B-	450	THỦ ĐỨC	24/04/2014
97	HBF1V1112742	B-	450	THỦ ĐỨC	24/04/2014
98	HBF1V1200683	O-	250	TIM TÂM ĐỨC	10/11/2012
99	HBF1V1201710	O-	250	TIM TÂM ĐỨC	10/11/2012
100	HBM1V1210999	O-	450	TIM TÂM ĐỨC	10/11/2012
101	HBM4V1215274	O-	450	TIM TÂM ĐỨC	10/11/2012
102	HBF1V1011310	B-	350	TRƯNG VƯƠNG	02/04/2012
103	HBCEV1101096	B-	450	TRƯNG VƯƠNG	02/06/2012
104	HBF1V1102289	AB+	450	TRUYỀN MÁU	08/03/2011
105	HBM4V1104711	O+	450	TRUYỀN MÁU	08/05/2011
106	HBF1V1101386	O+	350	TRUYỀN MÁU	10/03/2012
107	HBF1V1101380	O+	350	TRUYỀN MÁU	01/04/2012
108	HBM2V1114274	A-	350	TRUYỀN MÁU	03/05/2012
109	HBM6V1214008	O-	350	TRUYỀN MÁU	13/05/2013
110	HBM2V1105499	O+	450	TRUYỀN MÁU	13/05/2013
111	HBM6V1214962	O-	350	TRUYỀN MÁU	13/05/2013
112	HBM6V1214696	O-	350	TRUYỀN MÁU	13/05/2013
113	HBM2V1216957	O-	350	TRUYỀN MÁU	14/05/2013
114	HBM5V1103298	AB+	450	TRUYỀN MÁU	08/01/2011
115	HBF1V1102280	AB+	450	TRUYỀN MÁU	08/02/2011
116	HBM4V1103899	AB+	450	TRUYỀN MÁU	08/03/2011
117	HBM4V1103095	O-	450	TRUYỀN MÁU	08/03/2011
118	HBM4V1103900	O+	450	TRUYỀN MÁU	10/02/2012
119	HBM2V1105196	O+	450	TRUYỀN MÁU	10/02/2012
120	HBM4V1104399	O+	450	TRUYỀN MÁU	10/02/2012
121	HBF1V1101769	O+	350	TRUYỀN MÁU	10/03/2012
122	HBF1V1201344	O-	350	TRUYỀN MÁU	04/04/2012
123	HBF1V1202590	O-	350	TRUYỀN MÁU	10/04/2012
124	HBM2V1203670	O-	350	TRUYỀN MÁU	10/04/2012

125	HBF1V1101388	O+	350	TRUYỀN MÁU	01/06/2012
126	HBF1V1111120	AB-	350	TRUYỀN MÁU	06/06/2012
127	HBF1V1203551	O-	350	TRUYỀN MÁU	10/06/2012
128	HBM6V1204527	O-	350	TRUYỀN MÁU	10/06/2012
129	HBF1V1113358	AB-	350	TRUYỀN MÁU	11/06/2012
130	HBM3V1103774	O+	450	TRUYỀN MÁU	02/07/2012
131	HBCEV1100944	AB-	350	TRUYỀN MÁU	03/07/2012
132	HBM5V1104486	AB-	350	TRUYỀN MÁU	03/07/2012
133	HBF1V1104942	AB-	350	TRUYỀN MÁU	05/07/2012
134	HBF1V1205347	O-	350	TRUYỀN MÁU	10/07/2012
135	HBM6V1205841	O-	350	TRUYỀN MÁU	10/07/2012
136	HBF1V1102249	O-	450	TRUYỀN MÁU	02/08/2012
137	HBF1V1205813	O-	350	TRUYỀN MÁU	10/08/2012
138	HBF1V1205807	O-	350	TRUYỀN MÁU	10/08/2012
139	HBM1V1205400	A-	350	TRUYỀN MÁU	07/09/2012
140	HBM2V1209460	O-	350	TRUYỀN MÁU	10/09/2012
141	HBF1V1103839	O+	450	TRUYỀN MÁU	10/09/2012
142	HBF1V1115710	O+	450	TRUYỀN MÁU	10/09/2012
143	HBM5V1119693	O+	450	TRUYỀN MÁU	10/09/2012
144	HBM3V1012281	A-	350	TRUYỀN MÁU	01/10/2012
145	HBM9V1111187	A-	350	TRUYỀN MÁU	01/10/2012
146	HBCEP1001168	O+	350	TRUYỀN MÁU	16/11/2011
147	HBM2V1102762	O+	350	TRUYỀN MÁU	16/11/2011
148	HBCEV1200037	O-	350	TRUYỀN MÁU	16/03/2012
149	HBF1V1200925	A-	350	TRUYỀN MÁU	16/05/2012
150	HBF1V1210797	A-	350	TRUYỀN MÁU	16/09/2012
151	HBM2V1102747	O+	350	TRUYỀN MÁU	17/11/2011
152	HBM2V1102750	O+	350	TRUYỀN MÁU	17/11/2011
153	HBM6V1120058	O-	350	TRUYỀN MÁU	17/03/2012
154	HBM2V1102752	O+	350	TRUYỀN MÁU	18/11/2011
155	HBM5V1109293	A+	450	TRUYỀN MÁU	18/02/2014
156	HBM1V1200367	O-	350	TRUYỀN MÁU	18/03/2012
157	HBM1V1201146	A-	350	TRUYỀN MÁU	18/04/2012
158	HBF1V1112178	B-	350	TRUYỀN MÁU	18/09/2012
159	HBM1V1213599	O-	350	TRUYỀN MÁU	19/11/2012
160	HBM2V1208509	O-	350	TRUYỀN MÁU	19/11/2012
161	HBM4V1104094	O+	450	TRUYỀN MÁU	19/09/2012
162	HBM4V1104092	O+	450	TRUYỀN MÁU	19/09/2012
163	HBM4V1104091	O+	450	TRUYỀN MÁU	19/09/2012
164	HBF1V1113246	A-	350	TRUYỀN MÁU	19/09/2012
165	HBM2V1209090	A-	350	TRUYỀN MÁU	19/09/2012
166	HBM6V1206658	A-	350	TRUYỀN MÁU	19/09/2012
167	HBF1V1207093	A-	350	TRUYỀN MÁU	20/11/2012
168	HBM1V1210877	A-	350	TRUYỀN MÁU	20/11/2012

169	HBM5V1115132	A-	350	TRUYỀN MÁU	20/03/2012
170	HBM1V1108260	A-	350	TRUYỀN MÁU	20/03/2012
171	HBF1V1115423	A-	350	TRUYỀN MÁU	21/03/2012
172	HBM4V1200420	O-	350	TRUYỀN MÁU	21/03/2012
173	HBM1V1210447	A-	350	TRUYỀN MÁU	22/10/2012
174	HBM2V1210303	A-	350	TRUYỀN MÁU	22/10/2012
175	HBM5V1119976	O-	350	TRUYỀN MÁU	22/03/2012
176	HBM5V1203173	A-	350	TRUYỀN MÁU	22/08/2012
177	HBM6V1205626	A-	350	TRUYỀN MÁU	22/08/2012
178	HBM3V1213167	O-	350	TRUYỀN MÁU	24/10/2012
179	HBM6V1210627	O-	350	TRUYỀN MÁU	24/10/2012
180	HBF1V1102250	O+	450	TRUYỀN MÁU	25/09/2012
181	HBCEV1100852	O+	450	TRUYỀN MÁU	25/09/2012
182	HBM5V1103281	O+	450	TRUYỀN MÁU	26/09/2012
183	HBM5V1103285	O+	450	TRUYỀN MÁU	26/09/2012
184	HBF1V1303050	A-	350	TRUYỀN MÁU	27/02/2014
185	HBM4V1310654	A-	350	TRUYỀN MÁU	27/02/2014
186	HBF1V1201377	O-	350	TRUYỀN MÁU	27/03/2012
187	HBM4V1201628	O-	450	TRUYỀN MÁU	28/03/2012
188	HBM5V1103282	O+	450	TRUYỀN MÁU	28/09/2012
189	HBM4V1104398	O+	450	TRUYỀN MÁU	28/09/2012
190	HBM4V1102995	O+	450	TRUYỀN MÁU	30/06/2011
191	HBF1V1202024	O-	250	TỪ DŨ	11/06/2012
192	HBM9V1200997	O-	250	TỪ DŨ	11/06/2012
193	HBF1V1011307	B-	350	TỪ DŨ	04/11/2012
194	HBM2V1118580	B-	350	TỪ DŨ	04/11/2012
195	HBM9V1200190	A-	250	TỪ DŨ	16/02/2014
196	HBM1V1301128	A-	350	TỪ DŨ	17/02/2014
197	HBM3V1220150	A-	350	TỪ DŨ	17/02/2014
198	HBM3V1321944	A-	350	TỪ DŨ	17/03/2014
199	HBM5V1214201	O-	350	TỪ DŨ	18/02/2014
200	HBM1V1111979	B-	450	TỪ DŨ	19/01/2012
201	HBM1V1112900	B-	450	TỪ DŨ	24/02/2012
202	HBF1V1211828	O-	450	TỪ DŨ	30/11/2012
203	HBM3V1210899	O-	450	UNG BƯỚU	10/02/2012
204	HBM3V1213289	O-	450	UNG BƯỚU	11/05/2012
205	HBCEP1200006	O-	350	UNG BƯỚU	10/09/2012
206	HBF1V1201769	O-	250	UNG BƯỚU	11/09/2012
207	HBF1V1201712	O-	250	UNG BƯỚU	11/09/2012
208	HBCEV1201547	O-	450	UNG BƯỚU	28/09/2012
209	HBM5V1111757	A-	350	VẠN HẠNH	14/08/2011
210	HBM6V1110298	O-	450	VIỆN TIM	01/09/2012

TP. Hồ Chí Minh, ngày 09 tháng 3 năm 2015

XÁC NHẬN CỦA BỆNH VIỆN TRUYỀN MÁU HUYẾT HỌC

Xác nhận danh sách 210 túi Hồng cầu đông lạnh được điều chế và cấp phát cho các bệnh viện trong thành phố Hồ Chí Minh có hồ sơ lưu trữ tại Bệnh viện Truyền máu Huyết học.

GIÁM ĐỐC

BS.CKII. PHÙ CHÍ DŨNG