

معاونت درمان

شناسنامه و اسناد اردو خدمت

گلوبال - پردازش و نگهداری خون محیطی موبیلنیزه اتولوک (802700)

بهار 1401

دکتر حسن ابوالقاسمی

رییس انجمن هماتولوژی انکولوژی اطفال ایران

دکتر جعفر آی

دبیر هیات ممثنه و ارزشیابی مهندسی بافت و علوم سلولی کاربردی

دکتر احمد قره باغیان

دبیر هیات ممثنه و ارزشیابی رشته خون شناسی و بانک خون

دکتر قوام زاده

رییس انجمن پیوند سلول های بنیادی خون ساز ایران

دکتر سید محمد اکرمی

رییس انجمن علمی ژنتیک پزشکی ایران

دکتر علیرضا بیگلری

دبیر هیات ممثنه و ارزشیابی رشته ژنتیک پزشکی

با همکاری:

مرکز مدیریت پیوند و درمان بیماری ها

سازمان انتقال خون ایران

پژوهشکده هماتولوژی، انکولوژی و سل تراپی بیمارستان شریعتی

تدوین و تنظیم:

دکتر امیر اله وردی

دکتر سعید محمدی

دکتر جواد وردی

دکتر پیمان عشقی

دکتر سید اسداله موسوی

دکتر کامران عطاردی

دکتر محسن نیکبخت

دکتر نسیم عزتی

دکتر مریم خیری

دکتر سید ایمان سیحون

زیر نظر:

دفتر ارزیابی فن آوری، تدوین استاندارد و تعرفه سلامت

دکتر ساناز بخشنده

دکتر سید موسی طباطبایی لطفی

مقدمه:

سلول‌های بنیادی خون‌ساز (HSCs)، سلول‌های پرتوان اولیه با توانایی خودبازسازی و تمایز به تمامی رده‌های خونی (لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها، گرانولوسیت‌ها، اریتروسیت‌ها و پلاکت‌ها) هستند. از منظر بالینی، سلول‌های بنیادی خون‌ساز در صورت پیوند به فرد گیرنده‌ای که تحت درمان‌های آماده‌سازی پیوند قرار گرفته است، قادر به بازسازی کامل عملکرد مغز استخوان هستند. از این رو، سلول‌های بنیادی خون‌ساز به صورت فزاینده‌ای برای درمان طیف وسیعی از بیماری‌های خونی و غیرخونی به کار برده می‌شوند. کاربردهای بالینی بی‌شماری برای پیوند سلول‌های بنیادی خون‌ساز اعم از اختلالات ایمنی تا بدخیمی‌ها وجود دارد؛ به طور کلی، کاربردها متناسب با سن تغییر می‌یابد، چرا که نقایص ایمنی و ارثی در اطفال شایع است، در حالی که بزرگسالان با نرخ شیوع بیشتری در معرض ابتلا به اختلالات کلونال مغز استخوان یا بدخیمی‌های خونی هستند. در نهایت، تصمیم به انجام پیوند، نیازمند بررسی مجموعه‌ای از متغیرهای متعدد است. این متغیرها شامل پیش‌آگهی بیماری، سیر پیشرفت بیماری، درمان‌های پیشین، دسترسی به منبع مناسب سلول‌های بنیادی خون‌ساز (یعنی مغز استخوان، خون محیطی موبیلیزه یا خون بندناف) و نوع پیوند (نظیر پیوند اتولوگ در مقابل آلوژن) هستند.

الف) عنوان دقیق خدمت مورد بررسی (فارسی و لاتین) به همراه کد ملی:

گلوبال-پردازش و نگهداری خون محیطی موبیلیزه اتولوگ

کد خدمت: 802700

Global - processing and storage autologous mobilized peripheral blood stem cells

ب) تعریف و تشریح خدمت مورد بررسی:

پیوند سلول‌های بنیادی خون‌ساز یک روش درمانی پزشکی است که سلول‌های سالم را در مغز استخوان بیمار جایگزین می‌کند. از این پیوند می‌توان برای درمان طیف وسیعی از بدخیمی‌های خونی و سایر بیماری‌های خونی و سیستم ایمنی بدن که مغز استخوان را تحت تاثیر قرار می‌دهند، استفاده نمود. به طور کلی، پیوند سلول‌های بنیادی خون‌ساز به دو صورت قابل انجام است، پیوند اتولوگ و پیوند آلوژن؛ در پیوند اتولوگ، بیمار، سلول‌های بنیادی خون‌ساز را نه از یک اهدا کننده بلکه از سیستم خون‌ساز خودش دریافت می‌کند. در این نوع پیوند، سلول‌های بنیادی خون‌ساز بیمار از مغز استخوان یا خون محیطی موبیلیزه خود بیمار برداشت می‌شود و سپس پردازش و جهت نگهداری، فریز می‌شود. پس از درمان بیمار (با دوز بالای شیمی‌درمانی و یا پرتودرمانی)، سلول‌های تازه و یا سلول‌های یخ‌زدایی شده (بسته به نوع بیماری و رژیم آماده‌سازی پیوند) مجدداً به بیمار تزریق می‌شود. با توجه به اینکه در این نوع پیوند، تنها در شرایط خاص و موارد محدود (بسته به نوع بیماری، نوع رژیم درمانی و نیز شرایط بیمار) می‌توان از سلول‌های بنیادی خون‌ساز تازه (حداکثر تا 72 ساعت پس از جداسازی از بیمار) استفاده کرد، لذا اجرای پروتکل‌های پردازش سلول‌های بنیادی خون‌ساز و آماده‌سازی آن‌ها جهت انجماد و ذخیره‌سازی در دماهای فوق سرد (150- درجه سلسیوس) ضروری است؛ این پروتکل‌ها به ترتیب شامل این مراحل است:

- جداسازی سلول‌های بنیادی خون‌ساز از خون محیطی موبیلیزه (به روش سانتریفیوژ)، حذف گلبول‌های قرمز (در صورت بالا بودن میزان هماتوکریت)، انجام آزمایشات شمارش سلولی (CBC)، تعیین میزان زنده‌مانی سلولی (%viability) و سنجش تعداد سلول‌های CD34⁺.

- کاهش حجم و حذف حداکثری پلاسما به دلایل ذیل:
- 1- حذف عوامل انعقادی موجود در پلاسما که می‌توانند پس از یخ‌گشایی فرآورده سبب ایجاد لخته‌های فیبرینی در فرآورده شده و تزریق آن را با مشکل جدی مواجه کنند.
- 2- کاهش حجم DMSO موردنیاز.
- 3- پیش‌گیری از اشغال فضای زیاد هنگام ذخیره‌سازی در مخازن نیتروژن.
- تهیه محیط انجماد (freezing media) و افزودن آن به فرآورده جهت رقیق‌سازی و آماده‌سازی برای انجماد.
- تقسیم‌بندی نمونه بر اساس نتایج حاصل از سنجش MNC، CD34⁺ و طبق تجویز پزشک و نظر هماتولوژیست آزمایشگاهی صاحب صلاحیت (با در نظر گرفتن شرایط و فاکتورهای متعددی همچون سن، جنسیت و وزن بیمار و نوع بیماری و رژیم درمانی در نظر گرفته شده).
- نهایتاً سنجش استریلیتی، بسته‌بندی، انجماد و ذخیره‌سازی نمونه در دمای 150- درجه سلسیوس در تانک نیتروژن.

ج) اقدامات یا پروسیجرهای ضروری جهت ارائه خدمت:

نحوه پذیرش نمونه (واحد خون محیطی موبیلیزه اتولوگ):

- کلد باکس حاوی نمونه باز شود.
- تاریخ، ساعت بازکردن کلد باکس، تعداد نمونه‌ها و دما را (به وسیله‌ی دیتالاگر موجود در کلد باکس) بررسی و یادداشت نموده و شرایط نمونه به ترتیبی که در ذیل قید شده است، بررسی گردد و در فرم پذیرش نمونه ثبت شود.
- کیسه حاوی نمونه، سالم و بدون پارگی و نشتی باشد.
- نمونه فاقد لخته باشد و بیش از 72 ساعت از زمان نمونه‌گیری نگذشته باشد.
- نمونه از زمان جداسازی تا انتقال به آزمایشگاه پردازش، در دمای 7-2 درجه سلسیوس نگهداری شده باشد و به وسیله کلدباکس به آزمایشگاه پردازش منتقل شده باشد.
- نام و نام خانوادگی مندرج بر روی کیسه، با نام و نام خانوادگی قید شده در درخواست کتبی که از سوی پزشک معالج تهیه شده است، تطابق داشته باشد.
- درخواست کتبی به همراه فرم حاوی اطلاعات کامل نمونه‌ی ارسالی توسط پزشک معالج، همراه با نمونه ارسال شده باشد.
- تطابق اطلاعات مندرج بر روی کیسه با اطلاعات مندرج در درخواست کتبی پزشک، بررسی گردد.
- نام کارشناس تحویل گیرنده نمونه، تاریخ و ساعت تحویل آن در فرم پذیرش نمونه ثبت گردد.
- در صورتی که نمونه فاقد شرایط پذیرش باشد، عدم انطباق رویت شده، با مرکز پیوند مطرح شود. در صورت دریافت مجوز کتبی از سوی مرکز پیوند (مبنی بر تایید پذیرش نمونه با وجود رویت مورد یا موارد عدم انطباق)، نمونه پذیرش شود و در غیر این صورت نمونه مطابق با روش عملکردی استاندارد نحوه امحاء ضایعات و فرآورده‌های زیستی غیرقابل مصرف، امحاء گردد.

- برگه درخواست پزشک معالج/مرکز پیوند به همراه فرم پذیرش نمونه بیمار به عنوان مستندات مکتوب، در آرشيو آزمایشگاه پردازش، نگهداری گردد.

نحوه پردازش، انجماد و ذخیره‌سازی واحد خون محیطی موبیلیزه اتولوگ:

- کیسه حاوی نمونه به وسیله ترازو توزین و وزن آن یادداشت شود (جهت محاسبه حجم اولیه نمونه).
- تمام حجم نمونه به وسیله دستگاه اتصال استریل کیسه خون (Steril Connection Device) به یک یا چند کیسه‌ی ترانسفر (بسته به حجم نمونه و گنجایش کیسه ترانسفر) منتقل گردد. این کار به علت عدم امکان انجام ساتریفیوژ کیسه‌های ست آفرزيس حتما باید انجام شود.
- سطح کیسه با استفاده از گاز آغشته به محلول اتانول 70 درصد ضدعفونی شود و سپس به زیر هود لامینار کلاس II منتقل شود.
- مقدار 0/5 میلی‌لیتر از خون داخل کیسه به وسیله یک سرنگ 5 میلی‌لیتری به منظور شمارش کامل سلول‌های خونی (CBC) برداشته شود.

توجه: چنانچه هماتوکریت نمونه، بیش از 2 درصد باشد، گلبول‌های قرمز باید از نمونه حذف شود؛ بدین منظور، جهت کاهش میزان پتانسیل زتای گلبول‌های قرمز و ته‌نشین نمودن آن‌ها جهت حذف، مراحل ذیل را به ترتیب اجرا گردد:

- 1- نمونه را به میزان 35 درصد حجم کل آن با مخلوط نرمال سالین استریل قابل تزریق و محلول ضدانعقاد ACD-A1 رقیق شود. بهتر است نسبت حجم نرمال سالین به محلول ضدانعقاد، 30 به 70 باشد. چنانچه حجم فرآورده پس از رقیق‌سازی به گنجایش کل کیسه نزدیک شد، جهت دستیابی به نتیجه بهتر، آن را در دو یا چند کیسه تقسیم گردد.
- 2- سپس، به میزان 20 درصد حجم کل نمونه، محلول HES با وزن مولکولی 400 به آن اضافه شود و نمونه را به مدت 10 دقیقه بر روی شیکر قرار داده تا به خوبی یکنواخت شود؛ در صورتی که از محلول HES با وزن مولکولی 200 استفاده می‌شود، به میزان 40 درصد حجم کل نمونه از این محلول بردارید و به نمونه اضافه شود.
- 3- پس از این مدت، کیسه برداشته شود و به وسیله دستگاه اتصال استریل کیسه خون، یک کیسه ترانسفر به آن متصل شود.
- 4- سپس، کیسه اصلی برداشته شود و به صورت عمودی (به حالتی که پورت‌های تزریق آن به سمت بالا و ته کیسه به سمت پایین باشد) با زاویه 60 درجه در محلی مناسب به مدت 50 دقیقه قرار گیرد. در این مرحله کیسه باید کاملاً در حالت سکون قرار داشته باشد و از هر گونه تکان دادن کیسه و لغزش ناگهانی آن جلوگیری شود.
- 5- پس از گذشت 50 دقیقه، بخش رویی محتوای کیسه که حاوی گلبول‌های سفید و پلاسما است به وسیله اکستراکتور به یک کیسه ترانسفر هدایت شود و گلبول‌های قرمز ته‌نشین شده در کیسه اولیه نگه داشته شود تا بدین ترتیب از فرآورده اصلی حذف شوند.
- 6- کیسه اولیه و ترانسفر را برداشته و با قطع کردن بخش میانی کورد رابط به وسیله سیلر، دو کیسه را از هم جدا شود. کیسه حاوی RBC را مطابق با روش‌های استاندارد نحوه امحاء ضایعات بیولوژیک غیرقابل مصرف، امحاء شود؛ اکنون، محتوای کیسه ترانسفر به عنوان نمونه اصلی تلقی می‌شود؛ از این مرحله به بعد، مراحل ذیل اجرا شود.

- به منظور کاهش حجم نمونه و استخراج سلول‌های بنیادی خون‌ساز باید پلاسما را تا حد ممکن حذف نمایید بدین ترتیب، کیسه حاوی نمونه را به مدت 10 دقیقه با دور 1000 g سانتریفیوژ کنید.
- پس از اتمام فرآیند سانتریفیوژ، کیسه درون اکسترکتور قرار داده شود و پس از باز کردن گیره متصل به کورد، تمام پلاسما (تنها حدود 10 میلی‌لیتر از آن نگه داشته شود جهت رقیق‌سازی بافی‌کوت) را به طور کامل به سمت کیسه ترانسفر هدایت نموده تا جایی که فقط بافی‌کوت خالص و بخش بسیار اندک گلبول‌های قرمز در کیسه‌ی اصلی باقی بماند.
- بخش میانی کورد رابط دو کیسه را به وسیله سیلر seal نموده و کیسه‌ها را از هم جدا کنید و حجم دقیق نمونه موجود در کیسه یادداشت کنید.
- سپس مجدداً سطح کیسه با استفاده از گاز آغشته به محلول اتانول 70 درصد ضدعفونی شود و به زیر هود لامینار کلاس II منتقل شود.
- مقدار 0/5 میلی‌لیتر از خون داخل کیسه به وسیله یک سرنگ 5 میلی‌لیتری به منظور شمارش سلولی (CBC) و تعیین TNC نمونه پس از پردازش و اطمینان از عدم افت قابل توجه TNC نمونه، برداشته شود.
- سپس، نمونه را بر اساس تعداد کل سلول‌های هسته‌دار (TNC) موجود در آن، رقیق کنید. بدین منظور، نمونه را به مقدار مناسب با استفاده از آلبومین انسانی 25 درصد (به میزان 5 درصد کل حجم نهایی مورد نظر)، نرمال‌سالین استریل قابل تزریق و محلول ضد انعقاد ACD-A1 تا حجم مورد نظر رقیق کنید.
- توجه: نمونه باید تا حدی رقیق شود که TNC یا MNC به ازای هر یک میلی‌لیتر از نمونه، به میزان حداقل 1×10^8 و حداکثر 3×10^8 برسد.
- پس از رقیق‌سازی نمونه، کیسه حاوی نمونه را به منظور آماده‌سازی جهت تزریق DMSO به یخچال بانک خون منتقل نمایید تا تحت دمای 2-7 درجه سرد شود.
- فرآورده به کمک یک سرنگ 60 میلی‌لیتری به دو یا چند (بسته به حجم فرآورده و نیز دوزهای سلولی در نظر گرفته شده جهت تزریق هنگام پیوند بر اساس نظر پزشک معالج) کرایوبگ (Freezing Bag) انتقال داده شود و برچسب مناسب که حاوی کد عضویت نمونه و نام و نام خانوادگی بیمار است را بر روی هر کرایوبگ الصاق کنید.
- توجه: چنانچه وزن بیمار کمتر از 20 کیلوگرم باشد باید از کیسه‌های کوچک استفاده کرد و فرآورده را به گونه‌ای تقسیم کنید تا حجم کل نمونه در هر کیسه بیش از 40 میلی‌لیتر نباشد؛ عدم رعایت این نکته، می‌تواند عوارض پرخطر و جبران‌ناپذیری را حین تزریق فرآورده به بیمار، پدید آورد.
- هر کرایوبگ را بر روی یک بسته یخ قرار دهید و به آرامی تکان دهید تا نمونه کاملاً سرد شود و هم‌زمان مقدار مناسب DMSO با نسبت 10 درصد حجمی را با سرعت ملایم و به صورت تدریجی طی مدت زمان کمتر از 5 دقیقه به فرآورده تزریق نمایید.

- کرایوبگ‌ها را در شیلد سیلیکونی محافظ قرار داده و سپس شیلد را به وسیله‌ی دستگاه Overwrap Bag Sealer سیل کنید و درون یک کاست آلومینیومی با ابعاد متناسب با کرایوبگ قرار دهید.
- بر روی کاست آلومینیومی نیز اطلاعات نمونه شامل کد عضویت، نام و نام خانوادگی بیمار، حجم نمونه موجود در کرایوبگ، تاریخ پردازش و نام مرکز پیوند مربوطه را یادداشت کنید و نمونه را که اینک بسته‌بندی شده، به منظور انجماد تدریجی درون دستگاه CRF¹ قرار دهید.
- پس از اتمام فرآیند انجماد تدریجی و انجماد نمونه تا دمای 100- درجه سلسیوس، آن را به تانک نیتروژن فاز بخار با دمای 150- درجه سلسیوس انتقال دهید و در پایان، اطلاعات مربوط به جایگاه ذخیره‌سازی کیسه‌ها در فرم اطلاعات جایگاه ذخیره‌سازی نمونه، درج شود.

سنجش استریلیتی نمونه

به منظور بررسی استریلیتی فرآورده، به وسیله یک سرنگ 5 میلی‌لیتری، مقدار 1-2 میلی‌لیتر از فرآورده را برداشته و به درون یک ویال حاوی محیط کشت دو فازی انتقال داده شود و به آزمایشگاه میکروبی‌شناسی تحویل گردد. نتایج حاصل از کشت دستی نمونه‌ها جهت افتراق سویه‌های به‌دست‌آمده استفاده شود. استفاده از کشت نمونه مثبت در محیط‌های افتراقی، بررسی مشخصات کلنی، رنگ‌آمیزی گرم و هم چنین انجام تست‌های بیوشیمیایی از جمله اکسیداز و کاتالاز جهت شناسایی سویه‌های مختلف و مطابقت نتایج حاصل با منابع و فرانس‌های موجود جهت شناسایی سویه مورد نظر انجام گیرد.

سنجش میزان زنده مانی سلول‌ها (viability%)

این سنجش با استفاده از دستگاه فلوسایتومتری استفاده می‌شود. در روش فلوسایتومتری، میزان زنده‌مانی (viability%) سلول‌ها بر اساس توانایی رنگ‌های فلورسنت مانند PI در عبور از غشای آسیب دیده سلول‌های مرده و اتصال به DNA دو رشته‌ای و شناسایی توسط فلوسایتومتری سنجش می‌شود و جهت محاسبه درصد سلول‌های زنده، از فرمول زیر استفاده می‌گردد:

$$\text{درصد سلول‌های رنگ شده توسط پروپودیوم یداید} - 100 = \text{درصد سلول‌های زنده}$$

سنجش مارکرهای سلولی (تعداد سلول‌های CD34⁺)

سلول‌های بنیادی خون‌ساز مارکرهای سطح سلولی CD45 و CD34 را در سطح خود بیان می‌کنند. تعیین هویت و شمارش سلول‌های مذکور با استفاده از دستگاه فلوسلیتومتری انجام می‌گردد. در این روش از آنتی‌بادی CD34 نشان‌دار با فلوروکروم و آنتی‌بادی‌های CD45 نشان‌دار با فلوروکروم و محلول 7-AAD برای رنگ‌آمیزی مارکرهای سطح سلولی استفاده می‌شود. تعداد سلول‌های CD34⁺ در واحد میکرولیتر را با استفاده از فرمول زیر محاسبه و نتایج حاصل را در فرم پردازش نمونه ثبت نمایید.

$$\frac{\text{Count Number of CD34 (R4)} \times \text{WBC Count}/\mu\text{L}}{\text{Count Number of Total Cell (R1)}}$$

¹ controlled-rate freezers

د) تواتر ارائه خدمت (تعداد دفعات مورد نیاز / فواصل انجام)

1-2 بار/ در صورت کافی نبودن تعداد سلول‌های CD34⁺ استخراج شده به ازای وزن بیمار ($CD34^+ \text{ cells/kg} < 2 \times 10^6$) در روزهای بعد از جداسازی نمونه و یا عود بیماری در ماه‌ها و یا سال‌های بعد از انجام پیوند، تکرار فرآیند (انجام آن برای دومین بار) ضروری است.

ه) افراد صاحب صلاحیت جهت تجویز (Order) خدمت مربوطه و استاندارد تجویز:

پزشک فوق تخصص خون و سرطان بالغین یا اطفال.

و) افراد صاحب صلاحیت جهت ارائه خدمت مربوطه:

دکترای تخصصی خون شناسی آزمایشگاهی و علوم انتقال خون/ دکترای تخصصی زیست فناوری پزشکی / دکتری تخصصی ژنتیک پزشکی / دکترای تخصصی ایمنی شناسی پزشکی/ دکترای تخصصی علوم سلولی کاربردی/ دکترای تخصصی مهندسی بافت (با داشتن حداقل 2 سال تجربه در زمینه پیوند سلول‌های بنیادی خون ساز و اشراف کامل به ابعاد علمی و عملی فرآیند پیوند در مراکز واجد صلاحیت)

ز) عنوان و سطح تخصصی های مورد نیاز (استاندارد) برای سایر اعضای تیم ارائه کننده خدمت:

ردیف	عنوان تخصص	تعداد مورد نیاز به طور استاندارد به ازای ارائه هر خدمت	میزان تحصیلات مورد نیاز	سابقه کار و یا دوره آموزشی مصوب در صورت لزوم	نقش در فرایند ارائه خدمت
1	کلیه گرایش های رشته علوم آزمایشگاهی و علوم زیستی	حداقل 3 نفر	کارشناسی و بالاتر	حداقل 2 سال تجربه کار در زمینه پردازش واحدهای خون محیطی موبیلیزه، پردازش، انجماد و ذخیره سازی آن. کنترل کیفی و تضمین کیفیت فرآیند.	کارشناس آزمایشگاه پردازش و انجام فرآیند پذیرش واحدهای خون محیطی موبیلیزه، پردازش، انجماد و ذخیره سازی آن. کنترل کیفی و تضمین کیفیت فرآیند.
2	منشی	1 نفر	دیپلم و بالاتر	توانایی انجام کار با رایانه و تسلط به برنامه های Word و Excel.	مسئول انجام مکاتبات و هماهنگی- های لازم بین واحد جداسازی سلول و آزمایشگاه پردازش و مرکز پیوند
3	نیروی خدماتی	1 نفر	دیپلم و بالاتر	توانایی انجام کار و آشنایی کامل با نحوه تهیه مواد و محلول های ضد عفونی و کاربرد آنها و همچنین نحوه امحا ضایعات پرخطر زیستی.	انجام فرآیند نظافت و ضد عفونی اتاق تمیز و تجهیزات

ح) استانداردهای فضای فیزیکی و مکان ارائه خدمت:

فضای فیزیکی واحد آماده‌سازی، انجماد، ذخیره‌سازی و آزمایشگاه باید دارای مترآز، ساختار و مکان مناسب به منظور جلوگیری از آلودگی فرآورده سلولی باشد و روشنایی، تهویه مناسب برای جلوگیری از خطر آلودگی فرآورده سلولی را فراهم کند. فضای فیزیکی اتاق تمیز و آزمایشگاه سلول درمانی مطابق با آخرین دستورالعمل وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی می‌باشد. در صورتی استفاده از کیسه های Closed Bag System الزامی به استفاده از اتاق تمیز نمی‌باشد. مکان ارائه خدمت در بانک های ذخیره سازی خون بندناف و سلول های بنیادی خونساز می باشد.

ط) تجهیزات پزشکی سرمایه‌ای به ازای هر خدمت:

ردیف	تجهیزات	کاربرد در فرآیند خدمت	تعداد قابل ارائه در واحد زمان
1	هود لامینار کلاس II	فراهم‌آوری محیط استریل جهت انجام مراحل پردازش نمونه	2 واحد به ازای کل آزمایشگاه
2	دستگاه شمارنده سلولی (cell counter)	شمارش سلول‌های خونی	حداقل 1 واحد به ازای کل آزمایشگاه
3	سانتریفیوژ یخچال‌دار بانک خون	جهت جداسازی سلول‌های بنیادی خون‌ساز از واحد خون محیطی موبیلیزه	2 واحد به ازای کل آزمایشگاه
4	دستگاه Controlled Rate Freezer (CRF)	جهت انجماد تدریجی فرآورده (به منظور پیشگیری از بروز شوک حین انجماد در دمای فوق سرد)	2 واحد به ازای کل آزمایشگاه
5	فلوسایتمتری	جهت سنجش میزان زنده‌مانی سلول‌ها (% viability) و تعداد سلول‌های CD34+	1 واحد به ازای کل آزمایشگاه
6	Overwrap Bag Sealer	دستگاه بسته‌بندی کننده کیسه	2 واحد به ازای کل آزمایشگاه
7	دستگاه اتصال استریل کیسه خون (Welder)	متصل نمودن دو کیسه به یکدیگر با حفظ استریلیتی	2 واحد به ازای کل آزمایشگاه
8	تانک ذخیره نیتروژن	ذخیره‌سازی فرآورده در دمای 150- سلسیوس جهت نگهداری طولانی مدت تا هنگام ارسال آن جهت تزریق به بیمار	حداقل 2 واحد به ازای کل آزمایشگاه
9	Label printer	چاپ بارکد	2 واحد به ازای کل آزمایشگاه
10	سیلر	قطع نمودن کورد متصل به کیسه	2 واحد به ازای کل آزمایشگاه
11	هموشیکر	مخلوط کردن محتوای کیسه جهت همگن نمودن فرآورده	2 واحد به ازای کل آزمایشگاه
12	ترازو	توزین نمونه	2 واحد به ازای کل آزمایشگاه
13	اکسترکتور	استخراج پلاسما و هدایت آن به سمت کیسه‌ی دوم	2 واحد به ازای کل آزمایشگاه

14	ورتکس	مخلوط کردن محتوای میکروتیوب و لوله جهت همگن نمودن فرآورده	2 واحد به ازای کل آزمایشگاه
15	یخچال بانک خون (2-7 درجه سلسیوس)	جهت نگهداری کیت و محیط کشت میکروشناسی	2 واحد به ازای کل آزمایشگاه
16	سمپلر ثابت و متغیر	جهت انجام آزمایشات شمارش سلولی (CBC) و آنالیزهای CD34+ و viability	از هر نوع (1000, 100 و 10 میکرولیتر) 2 عدد
17	کلد باکس 10 لیتری	جهت انتقال واحد خون محیطی موبیلیزه از مرکز جداسازی تا مرکز پردازش	حداقل 2 عدد
18	تانک مختص حمل و نقل ایمن و استاندارد نمونه در نیتروژن مایع	جهت انتقال واحد خون محیطی موبیلیزه منجمد از آزمایشگاه پردازش تا بخش پیوند	حداقل 1 عدد

ی) داروها، مواد و لوازم مصرفی پزشکی جهت ارائه هر خدمت:

ردیف	اقلام مصرفی مورد نیاز	میزان مصرف (تعداد یا نسبت)
1	کرایوبگ (freezing bag)	به طور میانگین 4 عدد جهت ذخیره سازی نمونه در تانک نیتروژن در دمای فوق سرد (150- درجه سلسیوس)
2	محلول DMSO	به طور میانگین 3/5 ویال 10 سی سی (مجموعاً 35 سی سی) جهت پردازش هر نمونه
3	آلبومین انسانی 20 درصد استریل قابل تزریق	به طور میانگین حدود 15 میلی لیتر به ازای پردازش هر نمونه، جهت رقیق سازی مناسب فرآورده (تنظیم اسمولاریته) و تامین مواد مغذی سلول ها طی زمان نگهداری
4	محلول نرمال سالین استریل قابل تزریق	1 واحد به ازای پردازش هر نمونه، جهت رقیق سازی فرآورده
5	کیسه ترانسفر (کیسه شستشو)	حداقل 4 عدد به ازای هر نمونه و بسته به حجم کل فرآورده، جهت انتقال نمونه و سانتریفیوژ آن
6	محلول های مصرفی دستگاه شمارنده سلولی شامل: Stromatolyser 4DS, Stromatolyser 4DI و Sulfolyser Hematology Solution و Cellpack Hematology solution	از هر کدام، 0/01 مقدار به ازای هر نمونه
7	نیتروژن مایع	70 به ازای نگهداری هر نمونه در تانک ذخیره نیتروژن و 30 لیتر به ازای مصرف دستگاه CRF در هر بار فعالیت دستگاه جهت انجماد نمونه (مجموعاً 100 لیتر به ازای هر نمونه)
8	محیط کشت خون بی فازیک	1 ویال به ازای هر نمونه جهت انجام تست کشت میکروبی
9	سرنگ 60، 20 و 10 میلی لیتری	از هر کدام حداقل 4 عدد جهت نمونه برداری از فرآورده و تزریق نرمال سالین، ضد انعقاد، DMSO و آلبومین، به ازای هر نمونه

10	آنتی بادی CD34/CD45	20 میکرولیتر جهت آنالیز فلوسایتومتری هر نمونه
11	دستکش استریل	حداقل 3 جفت به ازای مراحل پردازش هر نمونه، جهت انجام کار در زیر هود لامینار و حفظ استریلیتی
12	الکل 96 درصد	حداقل 200 میلی لیتر به ازای پردازش یک نمونه، جهت انجام کار در زیر هود و حفظ استریلیتی
13	پد الکلی	حداقل 10 عدد جهت انجام کار در زیر هود لامینار و حفظ استریلیتی
14	گاز استریل	5 عدد به ازای پردازش هر نمونه، جهت انجام کار در زیر هود لامینار و حفظ استریلیتی
15	نوک سمپلر آبی، زرد و کریستالی	10 عدد از هر کدام جهت انجام آنالیزهای سلولی 1 نمونه
16	لوله فلوسایتومتری	6 عدد به ازای هر نمونه جهت انجام آنالیزهای سلولی
17	Needle 16 G ×1	حداقل 5 عدد جهت نمونه برداری از فرآورده و همگن نمودن و انتقال آن به کرایوبگها
18	محلول HES (hydroxyethyl starch)	در صورت بالا بودن هماتوکریت نمونه، به طور میانگین حدود 100 میلی لیتر جهت جداسازی گلبولهای قرمز از نمونه

ک) استانداردهای ثبت (شامل گزارش نتایج درمانی و ثبت در پرونده بیمار و بررسی های حین درمان از جمله سوابق بیمار و تلفیق

دارویی):

ثبت تمامی مستندات مربوط به مراحل فرآیند پذیرش، پردازش، انجماد، ذخیره سازی و آزاد سازی واحد خون محیطی موبیلیزه.

ل) اندیکاسیون های دقیق جهت تجویز خدمت: (ذکر جزئیات مربوط به ضوابط پاراکلینیکی و بالینی مبتنی بر شواهد و

نیز تعداد مواردی که ارائه این خدمت در یک بیمار، اندیکاسون دارد):

پیوند سلول های بنیادی خون ساز اتولوگ در:

- بیماران مبتلا به مالتیپل میلوما (Stage II or III) که به تازگی تشخیص داده شده اند یا پاسخ مناسب به شیمی درمانی نداده و دچار عود مجدد بیماری شده است.
- لنفوم هوچکین مقاوم به درمان یا عود کننده
- لنفوم غیرهوچکین مقاوم به درمان یا عود کننده
- لنفوم سلول جبه ای
- تومور جامد
 - ✓ نوروبلاستوما
 - ✓ عود تومور سلول ژرم (Germ Cell) یا تومور سلول ژرم مقاوم به درمان
 - ✓ عود تومور ویلمز

- ✓ استئوسارکوما دارای ریسک بالا
- ✓ مدولوبلاستوما دارای ریسک بالا
- ✓ سایر تومور های مغزی
- لنفوم بورکیت شامل بهبودی اولیه یا عود اول یا بیشتر، حساس
- حداکثر سن بیمار 70 سال.
- شاخص وضعیت عملکرد کارنوفسکی (KPS) $70 \leq$
- آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) > 4 برابر حد بالای نرمال
- میزان برون ده قلبی (EF) $\leq 40\%$
- $FEV1^1$ و FVC^2 و $DLCO^3 \leq 50\%$
- الکتروکاردیوگرام (EKG) بدون آریتمی بالینی قابل توجه
- زنان در سنین باروری باید در 4 هفته منتهی به شیمی درمانی آزمایش بارداری آنها منفی باشد.
- زوجین در 4 هفته منتهی به شیمی درمانی قبل از پیوند، اقدامات جلوگیری از بارداری را باید انجام دهند.

(م) شواهد علمی در خصوص کنترا اندیکاسیون های دقیق خدمت:

- درگیری شدید ارگان های حیاتی شامل قلب، ریه، کبد و ...
- علائم یا نشانه های درگیری فعال سیستم عصبی مرکزی با بدخیمی
- وجود احتمال مرگ و میر بالای ناشی از درمان
- زنان باردار یا شیرده
- بیماری شدید انسدادی مزمن ریوی که نیاز به اکسیژن حمایتی دارد
- عفونت فعال گوش / سینوس
- کلاستروفوبیا
- شواهدی از پنوموتوراکس یا فیبروز ریوی قابل توجه
- بیمارانی که شیمی درمانی داخل نخاعی را طی 2 هفته منتهی به شروع رژیم آمادگی پیوند یا رادیوتراپی جمجمه طی 4 هفته منتهی به شروع رژیم آمادگی پیوند را داشته اند.
- عفونت فعال (ویروسی، قارچی و یا باکتریایی)
- عدم آمادگی روحی روانی بیمار

(ن) مدت زمان ارائه هر واحد خدمت:

¹ Forced expiratory volume

² Forced vital capacity

³ Diffusing capacity for carbon monoxide

ردیف	عنوان تخصص	میزان تحصیلات	مدت زمان مشارکت در فرآیند ارائه خدمت	نوع مشارکت در قبل، حین و بعد از ارائه خدمت
1	دکترای تخصصی خون شناسی آزمایشگاهی و علوم انتقال خون یا دکترای تخصصی زیست فناوری پزشکی یا دکترای تخصصی علوم سلولی کاربردی یا دکترای تخصصی ایمنی شناسی پزشکی یا دکترای تخصصی مهندسی بافت یا دکتری تخصصی ژنتیک پزشکی (با داشتن حداقل 2 سال تجربه در زمینه پیوند سلول های بنیادی خون ساز و اشراف کامل به ابعاد علمی و عملی فرآیند پیوند در مراکز واجد صلاحیت)	دکترای حرفه ای/ دکترای تخصصی	1 روز کاری	نظارت بر فرآیند پردازش و ذخیره سلولی
2	کلیه گرایش های رشته علوم آزمایشگاهی و علوم زیستی	کارشناسی و بالاتر	1 روز کاری	کارشناس آزمایشگاه پردازش و انجام فرآیند پذیرش واحدهای خون محیطی موبیلیزه، پردازش، انجماد و ذخیره سازی آن. کنترل کیفی و تضمین کیفیت فرآیند.
3	منشی	1 نفر	دیپلم و بالاتر	توانایی انجام کار با رایانه و تسلط به برنامه های Excel و Word.
4	نیروی خدماتی	1 نفر	دیپلم و بالاتر	توانایی انجام کار و آشنایی کامل با نحوه تهیه مواد و محلول های ضد عفونی و کاربرد آنها و همچنین نحوه امحا ضایعات پرخطر زیستی.

س) مدت اقامت در بخش های مختلف بستری جهت ارائه هر بار خدمت مربوطه:

خدمت سرپایی

ع) موارد ضروری جهت آموزش به همراه بیمار / نماینده معرفی شده از مراکز پیوند (موارد آموزشی که باید به بیمار- همراه- به صورت شفاهی، کتبی در قالب فرم آموزش به بیمار، پمفلت آموزشی، CD و ... آموزش داده شود تا روند تشخیص را تسریع نموده و از عوارض ناشی از آن جلوگیری نماید).

ارائه آموزش شفاهی در خصوص نحوه حمل و نقل ایمن و استاندارد کلد باکس / تانک نیتروژن مایع محتوی فرآورده از مرکز جداسازی تا مرکز پردازش و از مرکز پردازش تا مرکز پیوند.

منابع:

1. Scott A, Eapen K, David H. AABB Technical manual. 18thed. Bethesda, MD: AABB; Collection and processing of hematopoietic stem cells; 713-728.
2. Jansen J, Thompson JM, Dugan MJ, Nolan P, Wiemann MC, Birhiray R, Henslee-Downey PJ, Akard LP. Peripheral blood progenitor cell transplantation. *Therapeutic Apheresis*. 2002 Feb; 6(1):5-14.
3. Yale Center for Clinical Investigation (YCCI). Standard Operating Procedure Cryopreservation of Peripheral Mononuclear Cells. Version 1.0.
4. FACT. JACIE International Standards for Haematopoietic Cellular Therapy Product Collection, Processing, and Administration. 2018 .
5. Hunt, C. J. (2019). Technical considerations in the freezing, low-temperature storage and thawing of stem cells for cellular therapies. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, 46(3), 134-150.
6. Balduzzi, A., Bönig, H., Jarisch, A., Nava, T., Ansari, M., Cattoni, A., ... & Bader, P. (2021). ABO incompatible graft management in pediatric transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, 56(1), 84-90.
7. Namiri, M., Baharvand, H., & Aghdami, N. (2011). Methods for isolation of bone marrow stem cells: comparative analysis.
8. Parkhideh, S., Chegeni, R., Mehdizadeh, M., Roshandel, E., Tavakoli, F., & Hajifathali, A. (2020). Effects of ABO incompatibility on the outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transfusion and Apheresis Science*, 59(2), 102696.
9. Foley, H. M. R., & O'Hoski, P. (2017). Haemopoietic Stem Cell Processing and Storage. *Practical Transfusion Medicine*, 455.
10. Booth, G. S., Gehrie, E. A., Bolan, C. D., & Savani, B. N. (2013). Clinical guide to ABO-incompatible allogeneic stem cell transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 19(8), 1152-1158.
11. Hornberger, K., Yu, G., McKenna, D., & Hubel, A. (2019). Cryopreservation of hematopoietic stem cells: emerging assays, cryoprotectant agents, and technology to improve outcomes. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, 46(3), 188-196.
12. Daniele, N., Scerpa, M. C., Rossi, C., Lanti, A., Adorno, G., Isacchi, G., & Zinno, F. (2014). The processing of stem cell concentrates from the bone marrow in ABO-incompatible transplants: how and when. *Blood Transfusion*, 12(2), 150.
13. Shapiro, H. M. (2005). Practical flow cytometry. John Wiley & Sons.

بسمه تعالی

فرم تدوین راهنمای تجویز

توضیحات	مدت زمان ارائه	تواتر خدمتی		محل ارائه خدمت	شرط تجویز		ارائه کنندگان اصلی صاحب صلاحیت	افراد صاحب صلاحیت جهت تجویز	کاربرد خدمت		کد RVU	عنوان استاندارد
		تعداد دفعات مورد نیاز	فواصل انجام		اندیکاسیون	کنترا اندیکاسیون			سرپایی	بستری		
این خدمت جهت اغلب بیماران تنها یک بار نیاز است.	1 روز کاری	در صورت کافی نبودن تعداد سلول‌های CD34 ⁺ استخراج شده به ازای وزن بیمار (CD34 ⁺ < 2×10 ⁶ cells/kg) در روزهای بعد از جداسازی نمونه و یا عود بیماری در ماه‌ها و یا سال‌های بعد از انجام پیوند، تکرار فرآیند (انجام آن برای دومین بار) ضروری است.	1-2 بار	مکان ارائه خدمت در بانک‌های ذخیره سازی خون بندناف و سلول‌های بنیادی خونساز می باشد.	<ul style="list-style-type: none"> بیماران مبتلا به مالتیپل میلوما (Stage II or III) که به تازگی تشخیص داده شده اند یا پاسخ مناسب به شیمی درمانی نداده و دچار عود مجدد بیماری شده است. لنفوم هوچکین مقاوم به درمان یا عود کننده لنفوم غیرهوچکین مقاوم به درمان یا عود کننده لنفوم سلول جبه ای تومور جامد نوروبلاستوما عود تومور سلول ژرم یا تومور سلول ژرم مقاوم عود تومور ویلمز استئوسارکوما دارای ریسک بالا مدولوبلاستوما دارای ریسک بالا سایر تومور های مغزی 	<ul style="list-style-type: none"> درگیری شدید ارگان های حیاتی شامل قلب، ریه، کبد و ... علائم یا نشانه های درگیری فعال سیستم عصبی مرکزی با بدخیمی وجود احتمال مرگ و میر بالای ناشی از درمان زنان باردار یا شیرده بیماری شدید انسدادی مزمن ریوی که نیاز به اکسیژن حمایتی دارد عفونت فعال گوش/سینوس کلاستروفوبیا سابقه تشنج ششواهدی از پنوموتوراکس یا فیروز ریوی قابل توجه بیمارانی که شیمی درمانی داخل نخاعی را 	طبق بند (و)	پزشک فوق تخصص خون و سرطان بالغین و یا اطفال	*	802705	گلوبال-پردازش و نگهداری خون محیطی-مویلیزه اتولوگ	

