جمهوری اسلامی ایران
وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

معاونت درمان

شناسنامه و استاندارد خدمت

گلوبال- پردازش و نگهداری خون محیطی موبیلیزه آلوژنیک (802705)

بهار 1401

دکتر حسن ابوالقاسمی
رییس انجمن هماتولوژی انکولوژی اطفال ایران
دکتر جعفر آی
دبیر هیات ممتحنه و ارزشیابی مهندسی بافت و علوم سلولی کاربردی
دکتر احمد قره باغیان
دبیر هیات ممتحنه 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 ممتحنه 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 فزآینده‌ای برای درمان طیف وسیعی از بیماری‌های خونی و غیرخونی به کار برده‌می‌شوند. 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 آلوژنیک

کدخدمت:802705

Global - Processing and storage of allogeneic mobilized 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 خون 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 آلوژن، سلول‌های بنیادی خون‌ساز از فردی (دهنده) دریافت می‌شود که از نظر وضعیت HLA با فرد گیرنده (بیمار) هم-خوانی دارد. در این نوع پیوند، سلول‌های بنیادی خون‌ساز از مغز استخوان یا خون محیطی موبیلیزه فرد اهداکننده برداشت می‌شود. بنا به صلاحدید و تشخیص پزشک معالج، دوز مشخصی از سلول به صورت تازه به بیمار تزریق می‌شود. همچنین، بسته به شرایط بالینی بیمار و نیز وضعیت دهنده (دهنده غیرخویشاوند و یا دهنده خویشاوند با سن کمتر از 5 سال و یا بالای 50 سال)، نمونه‌های گرفته شده به صورت DLI و Booster فریز و تا زمان نیاز به مصرف، در دمای پایین ذخیره خواهد شد. اجرای پروتکل‌های پردازش سلول-های بنیادی خون‌ساز و آماده‌سازی آن‌ها جهت انجماد و ذخیره‌سازی این نمونه‌ها به این ترتیب است:

1- 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 و +CD3.

2- کاهش حجم و حذف حداکثری پلاسما به دلایل ذیل:

- 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.
- کاهش مقدار پلاسمای نامتناجس (در موارد پیوند آلوژن با ناسازگاری مینور ABO دهنده و گیرنده).
- کاهش حجم DMSO موردنیاز.
- پیش‌گیری از اشغال فضای زیاد هنگام ذخیره‌سازی در مخازن نیتروژن.

3- تهیه محیط انجماد (freezing media) و افزودن آن به فرآورده جهت رقیق‌سازی و آماده‌سازی برای انجماد.

4- تهیه نمونه‌های DLI و Booster بر اساس نتایج حاصل از سنجش MNC، $CD34^+$، $CD3^+$ طبق تجویز پزشک و نظر هماتولوژیست آزمایشگاهی صاحب صلاحیت (با در نظر گرفتن شرایط و فاکتورهای متعددی همچون سن، جنسیت، وزن بیمار، نوع بیماری، رژیم درمانی در نظر گرفته شده، سن، جنسیت دهنده، نسبت دهنده با بیمار و بسیاری عوامل دیگر).
و نهایتا 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 آلوژن):

- 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 آرشیو آزمایشگاه پردازش، نگهداری گردد.

2– نحوه پردازش، انجماد و ذخیره‌سازی نمونه:

- 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 Conection Device) به یک یا چند کیسه‌ی ترانسفر (بسته به حجم نمونه و گنجایش کیسه ترنسفر) منتقل گردد. این کار به علت عدم امکان انجام سانتریفیوژ کیسه‌های ست آفرزیس 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 نرمال‌سالین استریل قابل تزریق و محلول ضدانعقاد ACD-A1 رقیق گردد. 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 شود، به میزان 40 درصد حجم کل نمونه از این محلول برداشته 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 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 داده شود. توجه گردد که در این مرحله کیسه باید کاملا 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 اکسترکتور به یک کیسه ترنسفر 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 ترنسفر 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 ترنسفر به عنوان نمونه اصلی تلقی می‌شود؛ از این مرحله به بعد، مراحل ذیل را اجرا گردد.

7- به منظور کاهش حجم نمونه و استخراج سلول‌های بنیادی خون‌ساز باید پلاسما را تا حد ممکن حذف گردد بدین ترتیب، کیسه حاوی نمونه را به مدت 10 دقیقه با دور g 1000 سانتریفیوژ شود.

8- 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.

9- بخش میانی کورد رابط دو کیسه را به وسیله سیلر seal شود و کیسه‌ها را از هم جدا شود و حجم دقیق نمونه موجود در کیسه یادداشت شود.

10- سپس مجددا سطح کیسه با استفاده از گاز آغشته به محلول اتانول 70 درصد ضدعفونی شود و به زیر هود لامینار کلاس II منتقل شود.

11- 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.

12- سپس، نمونه را بر اساس تعداد کل سلول‌های هسته‌دار (TNC) موجود در آن، رقیق گردد. 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 موردنظر رقیق شود.

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 گردد تا تحت دمای 2–7 درجه سرد شود.
- فرآورده به کمک یک سرنگ 60 میلی‌لیتری به دو یا چند کرایوبگ (Freezing Bag) با گنجایش مناسب انتقال داده شود و برچسب مناسب که حاوی کد عضویت نمونه و نام و نام خانودگی بیمار است را بر روی هر کرایوبگ الصاق شود.

توجه: این تقسیم‌بندی بر اساس حجم فرآورده، وزن بیمار و نیز دوزهای سلولی در نظر گرفته شده به عنوان DLI و Booster جهت تزریق به بیمار طبق تجویز پزشک معالج و هماتولوژیست آزمایشگاهی صاحب صلاحیت خواهد بود.

توجه: چنانچه وزن بیمار کمتر از 20 کیلوگرم باشد باید از کیسه‌های کوچک استفاده کرد و فرآورده را به گونه‌ای تقسیم شود تا حجم کل نمونه در هر کیسه بیش از 40 میلی‌لیتر نباشد؛ عدم رعایت این نکته، می‌تواند عوارض پرخطر و جبران ناپذیری را حین تزریق فرآورده به بیمار، پدید آورد.

- هر کرایوبگ بر روی یک بسته یخ قرار داده شود و به آرامی تکان داده شود تا نمونه کاملا 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 گردد.
- کرایوبگ‌ها را در شیلد سیلیکونی محافظ قرار داده شود و سپس شیلد را به وسیله‌ی دستگاه Overwrap Bag Sealer سیل گردد و درون یک کاست آلومینیومی با ابعاد متناسب با کرایوبگ قرار داده شود.
- بر روی کاست آلومینیومی نیز اطلاعات نمونه شامل کد عضویت، نام و نام خانوادگی بیمار، حجم و نوع نمونه موجود در کرایوبگ، تاریخ پردازش و نام مرکز پیوند مربوطه را یادداشت شود و نمونه را که اینک بسته‌بندی شده، به منظور انجماد تدریجی درون دستگاه CRF[1] قرار داده شود.
- 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 داده شود 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 2-1 میلی‌لیتر از فرآورده را برداشته و به درون یک ویال حاوی محیط کشت دو فازی انتقال داده شود و به آزمایشگاه میکروب‌شناسی 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 رفرنس‌های 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:

درصد سلول‌های زنده = 100 – درصد سلول‌های رنگ شده توسط پروپودیوم یداید

سنجش مارکرهای سلولی (تعداد سلول‌های $CD34^+$ و $CD3^+$)

[1] controlled-rate freezers

سلول‌های بنیادی خون‌ساز مارکر سطح سلولی CD34 را در سطح خود بیان می‌کنند. تعیین هویت و شمارش سلول‌های مذکور با استفاده از دستگاه فلوسایتومتری انجام می‌گردد. در این روش از آنتی‌بادی CD34 نشان‌دار با فلوروکروم و آنتی‌بادی‌های CD45 نشان‌دار با فلوروکروم و محلول 7-AAD برای رنگ آمیزی 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 ثبت نمایید.

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

همچنین برای شمارش سلول‌های لنفوسیت $CD3^+$ از آنتی‌بادی منوکلونال CD3 استفاده می‌گردد. تعداد سلول‌های +CD3 در واحد میکرولیتر را با استفاده از فرمول زیر محاسبه و نتایج حاصل را در فرم پردازش وارد نمایید.

RN1(gate%) or RN2×WBC total count

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 ($CD34^+$ cells/kg < 2.4×10^6) 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:

پزشک عمومی یا دکترای تخصصی خون¬شناسی آزمایشگاهی و علوم انتقال خون یا دکترای تخصصی زیست فناوری پزشکی یا دکترای تخصصی ایمنی شناسی پزشکی یا دکتری تخصصی ژنتیک پزشکی یا دکترای تخصصی علوم سلولی کابردی یا دکترای تخصصی مهندسی بافت (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)

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

ردیف	عنوان تخصص	تعداد موردنیاز 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.	کارشناس آزمایشگاه پردازش و انجام فرآیند پذیرش واحدهای خون محیطی موبیلیزه، پردازش، انجماد و ذخیره‌سازی آن. کنترل کیفی و تضمین کیفیت فرآیند.
2	منشی	1 نفر	دیپلم و بالاتر	توانایی انجام کار با رایانه و تسلط به برنامه‌های Word و Excel.	**مسئول انجام مکاتبات و هماهنگی‌های لازم بین واحد جداسازی سلول و آزمایشگاه پردازش و مرکز پیوند**
3	نیروی خدماتی	1 نفر	دیپلم و	توانایی انجام کار و آشنایی	**انجام فرآیند نظافت و ضدعفونی**

			بالاتر	کامل با نحوه تهیه مواد و محلول‌های ضدعفونی و کاربرد آنها و همچنین نحوه امحا ضایعات پرخطر زیستی.	**اتاق تمیز و تجهیزات**

ح) استانداردهای فضای فیزیکی و مکان ارائه خدمت:

فضای فیزیکی واحد آماده سازی، انجماد، ذخیره سازی و آزمایشگاه باید دارای متراژ، ساختار و مکان مناسب بـه منظـور جلـوگیری از آلودگی فرآورده سلولی باشد و روشنایی، تهویه مناسب برای جلوگیری از خطر الودگی فراورده سلولی را فراهم کنـد. فضـای فیزیکـی اتاق تمیز و آزمایشگاه سلول درمانی مطابق با آخرین دستورالعمل وزارت بهداشت، درمان و آمـوزش پزشـکی مـی باشـد. در صـورتی اسـتفاده از کیسـه هـای Closed Bag System الزامی به استفاده از اتاق تمیز نمی باشد. مکان ارائه خدمت در بانک های ذخیره سازی خـون بنـدناف و سـلول 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	فلوسایتومتری	جهت سنجش میزان زنده‌مانی سلول‌ها (viability%) و تعداد سلول‌های CD34+, CD3+	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 به مرکز پیوند 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 (7-2 درجه سلسیوس)	جهت نگهداری کیت و محیط کشت میکروبشناسی	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 ذخیره‌سازی نمونه در تانک نیتروژن در دمای فوق سرد (150- درجه سلسیوس)
2	محلول DMSO	به طور میانگین 3/5 ویال 10 سی‌سی (مجموعا 35 سی‌سی) جهت پردازش هر نمونه
3	آلبومین انسانی 20 درصد استریل قابل تزریق	به طور میانگین حدود 15 میلی‌لیتر به ازا پردازش هر نمونه، جهت رقیق‌سازی مناسب فرآورده (تنظیم اسمولاریته) و تامین مواد مغذی سلول‌ها طی زمان نگهداری
4	محلول نرمال سالین استریل قابل تزریق	1 واحد به ازا پردازش هر نمونه، جهت رقیق‌سازی فرآورده
5	کیسه ترانسفر (کیسه شستشو)	حداقل 4 عدد به ازا هر نمونه و بسته به حجم کل فرآورده، جهت انتقال نمونه و سانتریفیوژ آن
6	محلول‌های مصرفی دستگاه شمارنده سلولی شامل: Stromatolyser 4DS، Stromatolyser 4Dl، Sulfolyser Hematology Solution و Cellpack Hematology solution	از هر کدام، 0/01 مقدار به ازا هر نمونه
7	نیتروژن مایع	70 به ازا نگهداری هر نمونه در تانک ذخیره نیتروژن و 30 لیتر به ازا

		مصرف دستگاه CRF در هر بار فعالیت دستگاه جهت انجماد نمونه (مجموعا 100 لیتر به ازا هر نمونه)
8	محیط کشت خون بی فازیک	1 ویال به ازا هر نمونه جهت انجام تست کشت میکروبی
9	سرنگ 60، 20 و 10 میلی‌لیتری	از هر کدام حداقل 4 عدد جهت نمونه‌برداری از فرآورده و تزریق نرمال سالین، ضدانعقاد، DMSO و آلبومین، به ازا هر نمونه
10	آنتی‌بادیCD34/CD45	20 میکرولیتر جهت آنالیز فلوسایتومتری هر نمونه
11	آنتی‌بادی CD3	5 میکرولیتر جهت آنالیز فلوسایتومتری هر نمونه
12	دستکش استریل	حداقل 3 جفت به ازا مراحل پردازش هر نمونه، جهت انجام کار در زیر هود لامینار و حفظ استریلیتی
13	الکل 96 درصد	حداقل 200میلی‌لیتر به ازا پردازش یک نمونه، جهت انجام کار در زیر هود و حفظ استریلیتی
14	پد الکلی	حدقل 10 عدد جهت انجام کار در زیر هود لامینار و حفظ استریلیتی
15	گاز استریل	5 عدد به ازا پردازش هر نمونه، جهت انجام کار در زیر هود لامینار و حفظ استریلیتی
16	نوک سمپلر آبی، زرد و کریستالی	10 عدد از هر کدام جهت انجام آنالیزهای سلولی 1 نمونه
17	لوله فلوسایتومتری	6 عدد به ازا هر نمونه جهت انجام آنالیزهای سلولی
18	Needle 16 G ×1	حداقل 5 عدد جهت نمونه‌برداری از فرآورده و همگن نمودن و انتقال آن به کرایوبگ‌ها
19	محلول HES (hydroxyethyl starch)	در صورت بالا بودن هماتوکریت نمونه، به طور میانگین حدود 100 میلی‌لیتر 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، ذخیره‌سازی و آزادسازی واحد خون محیطی موبیلیزه.

ل) اندیکاسیون های دقیق جهت تجویز خدمت: (ذکر جزئیات مربوط به ضوابط پاراکلنیکی و بالینی مبتنی بر شواهد و نیز تعداد مواردی که ارائه این خدمت در یک بیمار، اندیکاسون دارد):

پردازش و نگهداری خون موبیلیزه آلوژنیک جهت بیماران نیازمند پیوند سلول های بنیادی خونساز آلوژنیک مورد استفاده قرار می گیرد. پیوند سلول های بنیادی خونساز آلوژنیک، منوط به اندیکاسیون های اشاره شده در جداول پیوست شماره 1 و 2 این شناسنامه و استاندارد خدمت می باشد. بیماران علاوه بر اندیکاسیون های اشاره شده باید از نظر شرایط وضعیت عمومی مطابق موارد اشاره شده در ذیل باشند:

- حداکثر سن بیمار 70 سال.

- شاخص وضعیت عملکرد کارنوفسکی (KPS) ≥ 70
- آلانین آمینوترانسفراز(ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) > 4 برابر حد بالای نرمال
- میزان برون ده قلبی (EF) $\geq 40٪$
- FEV1[1] و FVC[2] و DLCO[3] $\geq 50٪$
- 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:

پردازش و نگهداری خون موبیلیزه شده آلوژن برای بیماران نیازمند پیوند سلولهای بنیادی خونساز با شرایط ذیل امکانپذیر نمی باشد:

- 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
- سابقه جراحی یا رادیوتراپی قفسه سینه
- 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 باکتریایی)
- عدم آمادگی روحی روانی بیمار

ن) مدت زمان ارائه هر واحد خدمت:

Forced expiratory volume[1]
Forced vital capacity[2]
Diffusing capacity for carbon monoxide[3]

ردیف	عنوان تخصص	میزان تحصیلات	مدت زمان مشارکت در فرآیند ارائه خدمت	نوع مشارکت در قبل، حین و بعد از ارائه خدمت
1	پزشک عمومی یا دکترای تخصصی خون¬شناسی آزمایشگاهی و علوم انتقال خون یا دکترای تخصصی زیست فناوری پزشکی یا دکترای تخصصی ایمنی شناسی پزشکی یا دکتری تخصصی ژنتیک پزشکی یا دکترای تخصصی علوم سلولی کابردی یا دکترای تخصصی مهندسی بافت (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 ذخیره‌سازی آن. کنترل کیفی و تضمین کیفیت فرآیند.
3	منشی	1 نفر	دیپلم و بالاتر	توانایی انجام کار با رایانه و تسلط به برنامه‌های Word و Excel.
4	نیروی خدماتی	1 نفر	دیپلم و بالاتر	توانایی انجام کار و آشنایی کامل با نحوه تهیه مواد و محلول‌های ضدعفونی 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 است.

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. JACIE F. 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 incompatibile 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

عنوان استاندارد	کد RVU	کاربرد خدمت		افراد صاحب صلاحیت جهت تجویز	ارائه کنندگان اصلی صاحب صلاحیت	شرط تجویز		محل ارائه خدمت	تواتر خدمتی		مدت زمان ارائه	توضیحات
		بستری	سرپایی			اندیکاسیون	کنترا اندیکاسیون		تعداد دفعات مورد نیاز	فواصل انجام		
گلوبال-پردازش و نگهداری خون و محیطی موبیلیزه آلوژن	802705		*	پزشک فوق تخصص خون و سرطان بالغین یا اطفال	طبق بند (و)	در مورد کاربرد پیوند آلوژنیک سلول های بنیادی خونساز، شرط کاربرد این خدمت منوط به اندیکاسیون های اشاره شده در جداول 1 و 2 پیوست می باشد	ندارد	مکان ارائه خدمت در بانک های ذخیره سازی خون بندناف و سلول های بنیادی خونساز می باشد.	1-2 بار	در صورت کافی نبودن تعداد سلول‌های $CD34^+$ استخراج شده به ازای وزن بیمار ($CD34^+ < 2\times10^6 cells/kg$) 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 روز کاری	این خدمت جهت اغلب بیماران تنها یک بار نیاز است.

پیوست:

جدول شماره 1. اندیکاسیونهای پیوند آلوژنیک سلول های بنیادی خونساز در بزرگسالان ها

بیماریهای بزرگسالان	مرحله بیماری	اهدا کننده سازگار خویشاوند	اهداکننده سازگار غیر خویشاوند	اهداکننده با لوکوس ناسازگار
لوسمی				
AML	CR1 (intermediate risk)[a]	✓	✓	
	CR1 (adverse risk)[a]	✓	✓	✓
	CR2	✓	✓	✓
	APL molecular CR2	✓		
ALL	Ph (−), CR1 (high risk)[a]	✓	✓	✓
	Ph (+), CR1 (MRD−)	✓	✓	✓
	Ph (+), CR1 (MRD+)	✓	✓	✓
	CR2	✓	✓	✓
CML	First CP, failing second- or third-line TKI	✓	✓	
	Accelerated phase, blast crisis or >first CP	✓	✓	✓
Myelofibrosis	Primary or secondary with an intermediate or high DIPSS score	✓	✓	✓
MDS	RA, RCMD, RAEB I and II	✓	✓	✓
	sAML in CR1 or CR2	✓	✓	✓
	More advanced stages	✓	✓	✓
CLL	Poor risk disease, not transformed	✓	✓	
	Richter's transformation	✓	✓	
بدخیمی های لنفوئیدی				
DLBCL	Chemosensitive relapse after auto-HSCT failure	✓	✓	
FL	≥CR2 after auto-HSCT failure	✓	✓	
MCL	CR/PR > 1, after prior auto-HSCT	✓	✓	
PTCL	Chemosensitive relapse, ≥CR2	✓	✓	
HL	Chemosensitive relapse, after prior auto-HSCT	✓	✓	
MM	Upfront high risk	✓	✓	
دیگر بیماری ها				
Acquired SAA	Newly diagnosed	✓	✓	
AA/PNH	Relapsed/refractory	✓	✓	
Constitutional SAA[b]		✓	✓	

AA = کم خونی آپلاستیک، ALL =لوسمی لنفوبلاستیک حاد، AML = لوسمی میلوئید حاد، APL = لوسمی پرومیلوسیتیک حاد، auto-HSCT = پیوند اتولوگ سلولهای بنیادی خونساز، CP = مرحله مزمن، CR1,2 = بهبودی اولین و دومین کامل، CLL= لوسمی لنفوسیتی مزمن، CML = لوسمی میلوژن مزمن، CTCL = لنفوم سلول T پوستی، DLBCL = لنفوم سلول B منتشر، FL = لنفوم فولیکولار، HL = لنفوم هوچکین، MCL = لنفوم سلول منتل، MDS = سندرم میلودیسپلاستیک، MM= مولتیپل میلوما، MRD =حداقل بیماری باقیمانده، Ph= کروموزوم فیلادلفیا، PNH = هموگلوبینوری شبانه حمله ای، RA = آنمی مقاوم به درمان، RCMD = سیتوپنی مقاوم با دیسپلازی چند رده ای، RAEB I and II = کم خونی مقاوم به درمان با بلاست اضافی، SAA= کم خونی آپلاستیک شدید، sAML = لوسمی میلوئید حاد ثانویه، TCL = لنفوم سلول ، TKI = مهارکننده های تیروزین کیناز.

جدول شماره 2. اندیکاسیونهای پیوند آلوژنیک سلول های بنیادی خونساز در کودکان

بیماری های کودکان	مرحله بیماری	اهدا کننده سازگار خویشاوند	اهداکننده سازگار غیر خویشاوند	اهداکننده با لوکوس ناسازگار
بدخیمی های خونی				
AML	CR1 (high and very high risk)[a]	✓	✓	✓
	CR2	✓	✓	✓
	>CR2	✓	✓	✓
ALL	CR1 (high risk)[a]	✓	✓	✓
	CR2	✓	✓	✓
	>CR2	✓	✓	✓
CML	First CP, failing second- or third-line TKI	✓	✓	
	Accelerated phase, blast crisis or >first CP	✓	✓	
MDS and JMML		✓	✓	✓
NHL	CR2	✓	✓	✓
بیماری های غیر بدخیم و تومورهای جامد				
Primary ID	Severe combined ID	✓	✓	✓
	Other primary ID	✓	✓	
MPS	MPS-1H Hurler	✓	✓	
Thalassemia and SCD		✓	✓	
Osteopetrosis		✓	✓	✓
Acquired SAA		✓	✓	
IBMFS		✓	✓	

Acquired SAA = کم خونی آپلاستیک شدید ارثی،ALL = لوسمی لنفوبلاستیک حاد، AML = لوسمی میلوئید حاد، CML= لوسمی میلوژن مزمن، CP = مرحله مزمن، CR1,2 = بهبودی اولین و دومین کامل، IBMFS = سندرم های مادرزادی نارسایی مغز استخوان (کم خونی فانکونی، دیسکراتوزیس مادرزادی، کم خونی بلک فن-دیاموند و سایر موارد)،JMML = لوسمی میلومونوسیتی نوجوانان، NHL = لنفوم غیرهوچکین، MDS = سندرم میلودیسپلاستیک، MPS = سندرم موکوپلی ساکاریدوز،Osteopetrosis = استئوپتروزیس، Primary ID = نقص سیستم ایمنی اولیه، Thalassemia and SCD = تالاسمی و بیماری کم خونی داسی شکل، TKI = مهارکننده های تیروزین کیناز.