جمهوری اسلامی ایران
وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

معاونت درمان

شناسنامه و استاندارد خدمت

گلوبال- پردازش و نگهداری مغز استخوان آلوژنیک (802710)

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 مغز استخوان آلوژنیک

کدخدمت:802710

Global-processing and storage of allogeneic bone marrow stem cells.

ب) تعریف و تشریح خدمت مورد بررسی :

- استفاده از پیوند سلول‌های بنیادی خون‌ساز در درمان بدخیمی‌های خونی و غیر خونی به سرعت در حال گسترش است. قبل از انجماد نمونه مغز استخوان استحصال شده از فرد اهداکننده، می‌بایست که حجم نمونه کاهش یابد و این امر با حذف گلبول‌های قرمز، پلاسما و چربی با حداقل میزان دست دادن سلول‌های بنیادی خون‌ساز میسر می‌شود. همچنین، با توجه به اینکه نمونه استخراج‌شده از مغز استخوان، اغلب بسته به مهارت پزشک حاوی میزان گلبول قرمز (RBC) زیادی است، لذا ضروری است پیش از استخراج سلول‌های بنیادی خون‌ساز، گلبول‌های قرمز از نمونه مغز استخوان حذف شوند تا هماتوکریت نمونه به کمتر از 2 درصد برسد و بدین ترتیب از بروز واکنش‌های ناخواسته احتمالی حین تزریق فرآورده به بیمار پیشگیری شود.

در این نوع پیوند (مغز استخوان آلوژنیک)، فرآورده هم به صورت تازه و هم به صورت فریز بسته به صلاحدید پزشک معالج به بیمار تجویز می‌شود. اجرای پروتکل‌های پردازش سلول‌های بنیادی خون‌ساز جمع‌آوری‌شده از مغزاستخوان اهداکننده و

آماده‌سازی آن‌ها جهت انجماد و ذخیره‌سازی در دماهای فوق انجماد (150- درجه سلسیوس) ضروری است؛ این پروتکل‌ها شامل چند مرحله است:

- ته‌نشین‌سازی گلبول‌های قرمز موجود در فرآورده (با افزدن HES) و حذف آن‌ها،
- جداسازی سلول‌های بنیادی خون‌ساز از نمونه (به روش سانتریفیوژ)، انجام آزمایشات شمارش سلولی (CBC)، تعیین میزان زنده‌مانی سلولی (viability%) و سنجش تعداد سلول‌های CD34+ و CD3+.
- 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.
- تهیه محیط انجماد (freezing media) و افزودن آن به فرآورده جهت رقیق‌سازی و آماده‌سازی برای انجماد.
- 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 (نمونه جمع‌آوری‌شده از مغز استخوان دهنده):

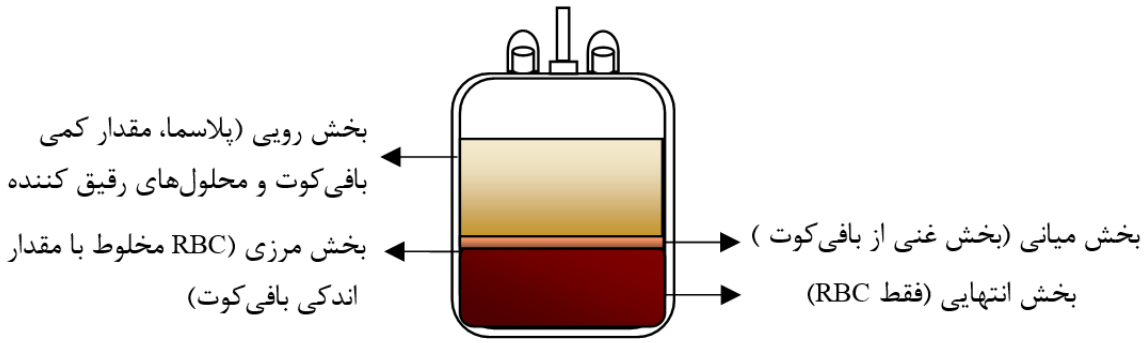
- کلد باکس حاوی نمونه باز شود.
- تاریخ، ساعت بازکردن کلد باکس، تعداد کیسه/ بطری و دما را (به وسیله‌ی دیتالاگر موجود در کلد باکس) بررسی و یادداشت نموده و شرایط پذیرش نمونه به ترتیبی که در ذیل قید شده است، بررسی گردد و در فرم پذیرش نمونه ثبت شود.
- کیسه/ بطری حاوی نمونه، سالم و بدون نشتی باشد.
- نمونه فاقد لخته باشد و بیش از 72 ساعت از زمان نمونه‌گیری نگذشته باشد.
- نمونه از زمان جداسازی تا زمان 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/ بطری، 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/ بطری 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.

نحوه پردازش، انجماد و ذخیره‌سازی نمونه مغز استخوان:

- کیسه/بطری حاوی نمونه را به دقت با محلول بتادین ضدعفونی کرده و سپس به زیر هود لامینار کلاس II انتقال دهید.
- چنانچه به دلیل محدودیت‌های موجود، نمونه مغز استخوان در بطری شیشه‌ای جمع‌آوری شده باشد، از طریق فرو کردن اسپایک یک اریگاتور به درپوش سیلیکونی بطری و نصب سه‌راهی آنژیوکت به انتهای اریگاتور، به وسیله یک سرنگ 60 میلی‌لیتری، تمام محتوای بطری را تخلیه کرده و به یک یا چند کیسه مناسب انتقال دهید.
- جهت حذف حداکثری گلبول‌های قرمز و کاهش هماتوکریت نمونه به کمتر از 2 درصد، مراحل ذیل به ترتیب اجرا شود.
- به محتوای هر کیسه، به میزان 20 درصد از حجم کل نمونه، محلول HES افزوده شود و کیسه به مدت 10 دقیقه بر روی شیکر به خوبی همگن شود.
- سپس به وسیله‌ی دستگاه اتصال استریل کیسه خون (Steril Conection Device)، یک کیسه ترانسفر به آن متصل گردد.
- کیسه‌ی اصلی به صورت عمودی (به حالتی که پورت‌های تزریق آن به سمت بالا و ته کیسه به سمت پایین باشد) با زاویه‌ی 45 درجه در محلی مناسب به مدت 50 دقیقه قرار داده شود. 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.
- پس از گذشت 50 دقیقه، سه بخش شدن محتوای کیسه را بررسی کنید، در این مرحله تفکیک‌شدن هر سه بخش یعنی: پلاسما، بافی‌کوت و RBC می‌بایست به صورت آشکار قابل تشخیص باشد (شکل 1).
- در این صورت، به آرامی کیسه‌ی اصلی را برداشته و به همان حالت در اکسترکتور قرار داده شود و اهرم اکسترکتور را به آهستگی رها کرده تا صفحه اکسترکتور به سمت کیسه حرکت کند.
- از باز کردن گیره‌ی متصل به کورد کیسه خودداری شود و حدود 10 دقیقه صبر نموده تا کیسه در همین حالت سکون باشد.



شکل 1: شمای کلی محتوای کیسه پس از 50 دقیقه سکون

- گیره متصل به کورد را باز کرده و تمام محتوای رویی کیسه (مخلوط پلاسما، محلول HES و بافی‌کوت) به سمت کیسه ترانسفر هدایت گردد. حین حرکت محتوای رویی کیسه، با در دست داشتن گیره‌ی متصل به کورد، سرعت حرکت را کنترل نموده و از حرکت با شتاب جلوگیری شود.
- پس از استخراج کامل محتوای رویی کیسه و رسیدن به بخش میانی که عمدتا بافی‌کوت (سلول‌های بنیادی خون‌ساز) می‌باشد، باید استخراج آن به صورت خیلی آهسته و با دقت کامل انجام شود تا از استخراج مقدار بیش از حد بخش زیرین که RBC است، ممانعت به عمل آید.
- پس از اتمام مرحله استخراج بخش‌های رویی، میانی و مرزی، گیره متصل به کورد را سریعا بسته و اهرم اکستراکتور را پایین بیاورید تا کیسه رها گردد.
- کیسه‌ی اولیه و کیسه‌ی ترنسفر را با قطع نمودن بخش میانی کورد رابط به وسیله‌ی سیلر، از هم جدا کرده و کیسه‌ی حاوی RBC مطابق با روش عملکردی استاندارد نحوه امحاء ضایعات و فرآورده های غیرقابل مصرف، امحاء گردد.
- کیسه حاوی نمونه به وسیله ترازو وزن گردد و وزن آن یادداشت شود (جهت محاسبه حجم اولیه نمونه).
- هر کیسه حاوی نمونه به کمک دستگاه اتصال استریل کیسه خون (Steril Conection Device) به یک کیسه‌ی ترانسفر متصل گردد.
- 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 را به وسیله یک سرنگ 5 میلی‌لیتری به منظور شمارش سلولی (CBC) برداشت گردد.
- به منظور حذف پلاسما و استخراج بافی‌کوت و همچنین، کاهش حجم نمونه، کیسه حاوی نمونه را به مدت 10 دقیقه با دور g 1000 سانتریفیوژ شود.
- پس از اتمام فرآیند سانتریفیوژ، کیسه درون اکسترکتور قرار داده شود و پس از باز کردن گیره متصل به کورد، تمام پلاسما (تنها حدود 20 میلی‌لیتر از آن نگه داشته شود جهت رقیق‌سازی بافی‌کوت) را به طور کامل به سمت کیسه ترانسفر هدایت شده تا جایی که فقط بافی‌کوت خالص و بخش بسیار اندک RBC در کیسه‌ی اصلی باقی بماند.
- بخش میانی کورد رابط دو کیسه را seal نموده و کیسه‌ها را از هم جدا شده و حجم دقیق فرآورده را یادداشت شود.
- 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.
- مقدار 0/5 میلی‌لیتر از خون داخل کیسه را 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 بر اساس تعداد کل سلول‌های هسته‌دار (TNC) موجود در آن، رقیق شود. بدین منظور، نمونه 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 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 خانودگی بیمار است را بر روی هر کرایوبگ الصاق گردد.
- هر کرایوبگ را بر روی یک بسته یخ قرار داده شود و به آرامی تکان داده شده 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 شود.
- کرایوبگ‌ها را در شیلد سیلیکونی محافظ قرار داده و سپس شیلد به وسیله‌ی دستگاه Overwrap Bag Sealer سیل شود 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 نمونه موجود در کرایوبگ، تاریخ پردازش و نام مرکز پیوند مربوطه 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

[1] controlled-rate freezers

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 رنگ شده توسط پروپودیوم یداید – 100 = درصد سلول‌های زنده

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

سلول‌های بنیادی خون‌ساز مارکر سطح سلولی 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 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.

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

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 بار / ندارد

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/ 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 کابردی/ 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 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 محلول‌های ضدعفونی و کاربرد آنها و همچنین نحوه امحا ضایعات پرخطر زیستی.	انجام فرآیند نظافت و ضدعفونی اتاق تمیز و تجهیزات

ح) استانداردهای فضای فیزیکی و مکان ارائه خدمت:

فضای فیزیکی واحد آماده‌سازی، انجماد، ذخیره‌سازی و آزمایشگاه باید دارای متراژ، 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 می باشد. در صورتی استفاده از کیسه‌های 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 نمونه جمع-آوری شده از مغزاستخوان	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	فلوسایتومتر	جهت سنجش میزان زنده‌مانی سلول‌ها (%viability) و تعداد سلول‌های CD34+, CD3+	1 واحد به ازای کل آزمایشگاه
6	بن ماری آزمایشگاهی 14 لیتری	یخ‌زدایی نمونه در زمان نیاز	1 واحد به ازای کل آزمایشگاه
7	دستگاه اتصال استریل کیسه خون (Welder)	متصل نمودن دو کیسه به یکدیگر با حفظ استریلیتی	1 واحد به ازای کل آزمایشگاه
8	تانک ذخیره نیتروژن مایع	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	میکروسکوپ نوری آزمایشگاهی ساده	جهت انجام شمارش سلولی و دیف نمونه به روش دستی	1 واحد به ازای کل آزمایشگاه
10	هموسیلر	قطع نمودن کورد متصل به کیسه	2 واحد به ازای کل آزمایشگاه
11	هموشیکر	مخلوط کردن محتوای کیسه جهت همگن نمودن فرآورده	1 واحد به ازای کل آزمایشگاه
12	ترازوی دیجیتال آزمایشگاهی	توزین نمونه	1 واحد به ازای کل آزمایشگاه
13	پلاسما اکسترکتور دستی یا اتوماتیک	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	1 واحد به ازای کل آزمایشگاه
15	یخچال بانک خون (7-2 درجه سلسیوس)	جهت نگهداری نمونه، آلبومین و کیت‌ها	2 واحد به ازای کل آزمایشگاه
16	ست سمپلر ثابت و متغیر	جهت انجام آزمایشات شمارش سلولی (CBC) و آنالیزهای CD34+ و viability	از هر نوع (1000، 100 و 10 میکرولیتر) یک ست ثابت و یک ست متغیر
17	کلد باکس 11 لیتری	جهت انتقال نمونه از مرکز جداسازی تا مرکز پردازش	حداقل 2 عدد
18	تانک مختص حمل و نقل ایمن و استاندارد نمونه در نیتروژن مایع	جهت انتقال نمونه 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 3 عدد جهت ذخیره‌سازی نمونه در تانک نیتروژن در دمای فوق سرد (150- درجه سلسیوس)

2	محلول DMSO	به طور میانگین 3 ویال 10 سی‌سی (مجموعا 30 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 10 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 به ترتیب: 10، 4 و 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)	جهت حذف RBC به طور میانگین حدود 250 میلی‌لیتر (5 ویال) 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 آزاد سازی نمونه مغزاستخوان آلوژنیک.

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 مغز استخوان آلوژنیک جهت بیماران نیازمند پیوند سلول های بنیادی خونساز آلوژنیک با شرایط ذیل مورد استفاده قرار می گیرد:

- جداسازی سلول‌های بنیادی خون‌ساز از مغز استخوان اهداکننده برای بیماران مبتلا اختلالات خونی غیربدخیم مانند آنمی-آپلاستیک، تالاسمی و نقایص ایمنی به منظور کاهش بروز GVHD.
- جداسازی سلول‌های بنیادی خون‌ساز از مغز استخوان اهدا کننده غیر خویشاوند سازگار، برای بیمار نیازمند به رژیم شیمی‌درمانی میلوآبلاتیو قبل از پیوند بدون استفاده از داروی آنتی‌تیموسیت گلوبین(ATG).

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

پردازش و نگهداری مغز استخوان آلوژنیک برای بیماران نیازمند پیوند مغز استخوان 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:

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 علوم سلولی کابردی یا ایمنی شناسی پزشکی یا دکترای تخصصی مهندسی بافت/ 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 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. 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 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 مغز استخوان آلوژنیک	802710		*	پزشک فوق تخصص خون و سرطان بالغین یا اطفال	طبق بند (و)	پردازش و نگهداری مغز استخوان آلوژنیک جهت بیماران نیازمند پیوند سلول های بنیادی خونساز آلوژنیک با شرایط ذیل مورد استفاده قرار می گیرد: - جداسازی سلول‌های بنیادی خون‌ساز از مغز استخوان اهداکننده برای بیماران مبتلا اختلالات خونی غیربدخیم مانند آنمی-آپلاستیک، تالاسمی و نقایص ایمنی به منظور کاهش بروز GVHD. - جداسازی سلول‌های بنیادی خون‌ساز از مغز استخوان اهدا کننده غیر خویشاوند سازگار، برای بیمار نیازمند به رژیم شیمی‌درمانی میلوآبلاتیو	پردازش و نگهداری مغز استخوان آلوژنیک برای بیماران نیازمند پیوند مغز استخوان 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 کسیژن حمایتی دارد - عفونت فعال گوش/سینوس - کلاستروفوبیا - شواهدی از	مکان ارائه خدمت در بانک های ذخیره سازی خون بندناف و سلول های بنیادی خونساز می باشد.	1 بار	ندارد	1روز کاری	ندارد

						قبل از پیوند بـدون اسـتفاده از داروی آنتـــی‌تیموســـیت گلوبین(ATG).					
					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)					