

دستورالعمل کشوری بانک های خون بندناف

تحت نظارت وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی ۱۳۹۹



مقدمه

ماده ۱: تعاریف واژگان کلیدی

ماده ۲: هدف کلی

ماده ۳: اهداف اختصاصی

ماده ۴: جمعیت مشمول دستورالعمل

ماده ۵: شمول خدمات

ماده ۶: الزامات مشاوره، تعیین صلاحیت اهداکنندگان، جمع آوری، انتقال، پردازش، ذخیره‌سازی و تحویل (به مراکز سلول درمانی) خون بند ناف

۶-۱- نحوه پذیرش و تأیید صلاحیت اهداکنندگان و متقاضیان

۶-۱-۱- الزامات پزشکی اهداکنندگان و متقاضیان ذخیره‌سازی خون بند ناف

۶-۱-۲- موارد و بیماری‌های منع ذخیره‌سازی خون بند ناف

۶-۱-۲-۱- موارد منع ذخیره‌سازی با توجه به بیماری‌های مادر (در طول دوران زندگی)

۶-۱-۲-۲- موارد منع قرارداد با توجه به بیماری‌های مادر در طول دو سال گذشته تا زمان انجام زایمان

۶-۱-۲-۳- موارد منع قرارداد با توجه به بیماری‌های مادر در یک سال گذشته تا زمان زایمان

۶-۱-۲-۴- موارد منع قرارداد با توجه به بیماری‌های مادر در طول دوران بارداری

۶-۱-۲-۵- موارد منع قرارداد با توجه به آزمایش‌های مادر قبل از انجام زایمان (توسط بانک خون بند ناف رویان یک هفته قبل از زایمان تا زمان

زایمان)

- ۶-۱-۳ مدارک و مستندات مورد نیاز از اهداکنندگان و متقاضیان ذخیره‌سازی خون بند ناف
- ۶-۱-۴- قرارداد عضویت در بانک خون بند ناف برای متقاضیان ذخیره‌سازی خون بند ناف
- ۶-۱-۵- مدارک و مستندات تحویلی به اهداکنندگان و متقاضیان ذخیره‌سازی خون بند ناف

۶-۲- جمع‌آوری خون بند ناف

- ۶-۲-۱- اقدامات قبل از نمونه‌گیری از بند ناف
- ۶-۲-۲- اقدامات حین نمونه‌گیری از بند ناف
- ۶-۲-۳- اقدامات پس از نمونه‌گیری از بند ناف
- ۶-۲-۴- کیت نمونه‌گیری

۶-۳- نگهداری و حمل نمونه خون بند ناف

۶-۴ دریافت نمونه در بانک خون بند ناف

۶-۵ آماده‌سازی و پردازش خون بند ناف

۶-۵-۱- شرایط قبول نمونه جهت ورود به آزمایشگاه پردازش

۶-۵-۲- پردازش نمونه خون بند ناف

۶-۵-۳- انجماد و ذخیره‌سازی نمونه‌های خون بند ناف

۶-۵-۳-۱- انجماد و ذخیره‌سازی نمونه‌های خون بند ناف به روش دستی

۶-۵-۳-۲- انجماد و ذخیره‌سازی نمونه‌های خون بند ناف به روش اتومات

۶-۵-۴- اطلاعات پردازش ضروری جهت ثبت و نگهداری خون بند ناف

۶-۵-۵- دور ریختن نمونه‌های خون بند ناف

۶-۶- تست‌های کنترلی انجام شده بر روی خون بند ناف و اهداکنندگان و متقاضیان ذخیره‌سازی خون بند ناف

۱-۶-۶- آزمایشات میکروبی بر روی خون بند ناف

۲-۶-۶- آزمایشات ویروسی بر روی نمونه خون اهدا کننده یا متقاضی ذخیره سازی خون بند ناف (مادر نوزاد)

۳-۶-۶- آزمایش تعیین مارکرهای سطحی سلول

۴-۶-۶- آزمایش تعیین HLA خون بند ناف

۵-۶-۶- آزمایش ارزیابی کلونی زایی نمونه

۷-۶- ترخیص نمونه های خون بند ناف

۱-۷-۶- کلیات

۲-۷-۶- انتقال نمونه خون بند ناف به مرکز پیوند

۸-۶- برچسب گذاری و ردیابی نمونه خون بند ناف

۹-۶- مدیریت کیفیت

ماده ۷: نظارت

ماده ۸: آدرس سامانه ها

منابع و مراجع

پیوست ها

این دستورالعمل در برگیرنده‌ی ضوابط و مقررات مربوط به نحوه پذیرش، پردازش و ذخیره‌سازی خون بند ناف در مراکز بانک خون بند ناف است که در سال ۱۳۹۹ تدوین و ابلاغ می‌شود و از تاریخ ابلاغ لازم الاجراست.

ماده ۱: تعاریف و واژگان

خون بند ناف: خونی است که پس از تولد نوزاد در جفت و بند ناف باقی می‌ماند.

بانک خون بند ناف: تیمی یکپارچه که تحت نظارت یک مدیر مسئول، کار انتخاب اهدا کننده‌گان، جمع‌آوری خون بند ناف، پردازش و انجماد خون بند ناف، انجام آزمایشات کیفی، جستجوی نمونه مناسب پیوند، آماده سازی و انتقال نمونه مورد نیاز جهت پیوند را انجام می‌دهد.

منع ذخیره‌سازی: شرایطی است که متقاضی با توجه به نتایج آزمایشات و بررسی‌های اولیه و بر اساس قوانین و استانداردهای لازم، امکان اهدا و یا ثبت‌نام جهت ذخیره‌سازی خون بند ناف را ندارد.

ذخیره‌سازی خون بند ناف: فرایند جمع‌آوری، انجام آزمایشات کیفی، پردازش و انجماد خون بند ناف

جمع‌آوری خون بند ناف: فرایند جمع‌آوری خون موجود در جفت و بند ناف به صورت داخل رحمی و یا خارج رحمی در زمان زایمان

خارج رحمی: فرایند جمع‌آوری خون بند ناف از عروق خونی بند ناف بعد خارج کردن جفت از رحم مادر

داخل رحمی: فرایند جمع‌آوری خون بند ناف از عروق خونی بند ناف بعد تولد نوزاد و قبل از خارج کردن جفت از رحم مادر

پردازش خون بند ناف: فرایند جداسازی سلول‌های تک هسته‌ای از خون بند ناف

انجماد خون بند ناف: فرایند کاهش دمای نمونه خون بند ناف تا دمای خیلی پایین به طوریکه بر روی زنده مانی سلول‌ها تاثیر منفی نداشته باشد.

دهنده: فردی که منبع سلول یا بافتی است، که در فرایند سلول درمانی مورد استفاده قرار می‌گیرد.

گیرنده: فردی است که تحت درمان با استفاده از سلول‌های بنیادی خون بند ناف قرار می‌گیرد.

کنترل کیفی: بخشی از برنامه کیفی است که شامل فعالیت‌های کنترلی جهت تایید تمامی موارد اثرگذار بر کیفیت نمونه خون بند ناف مانند دستگاه‌ها، دترجنت‌ها، پرسنل و ... می‌باشد.

حمل نمونه: فرایند تحت کنترل انتقال نمونه بین سایت جمع‌آوری (بیمارستان)، بانک خون بند ناف و سایت پیوند توسط افراد دارای صلاحیت و آموزش دیده

مدیر خدمات پزشکی و آزمایشگاهی: فردی است با مدرک دانشگاهی حداقل دکتری حرفه‌ای پزشکی و بعلاوه مدرک دکتری تخصصی مرتبط با سلول درمانی و دارای صلاحیت و آموزش دیده در زمینه فعالیت‌های مربوط به استانداردهای سلول درمانی. این فرد مسئولیت تمامی فعالیت‌های بانک خون بند ناف را بر عهده دارد.

مدیر خدمات پزشکی: فردی است با مدرک دانشگاهی حداقل دکتری حرفه‌ای پزشکی و دارای صلاحیت و آموزش دیده در زمینه فعالیت‌های مربوط به استانداردهای سلول درمانی. این فرد مسئولیت فعالیت‌های پزشکی مرتبط با ذخیره‌سازی سلول‌های بنیادی خون بند ناف شامل تأیید صلاحیت اهداکنندگان و متقاضیان ذخیره‌سازی خون بند ناف را بر عهده دارد.

مدیر فنی آزمایشگاه: فردی است با مدرک دکتری تخصصی مرتبط با سلول درمانی و دارای صلاحیت و آموزش دیده در زمینه فعالیت‌های مربوط به استانداردهای سلول درمانی. این فرد مسئول تمامی فعالیت‌های فنی بانک خون بند ناف شامل پردازش و ذخیره‌سازی سلول‌های بنیادی خون بند ناف و آزمایشات مرتبط با آن می‌باشد.

مدیر کیفیت: فردی است با مدرک دانشگاهی دکتری تخصصی. این فرد مسئولیت اطمینان از انطباق تمامی فعالیت‌های بانک خون بند ناف با استانداردهای قابل کاربرد و اظهار شده توسط بانک خون بند ناف و ضوابط و دستورالعمل‌های ابلاغی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی را بر عهده دارد.

پزشک مشاور: فردی است با مدرک حداقل دکتری حرفه‌ای پزشکی که اطلاعات اولیه و تکمیلی مربوط به متقاضیان و اهداکنندگان را بررسی می‌کند و در صورت تأیید او نمونه خون بند ناف قابل جمع‌آوری و نگهداری می‌باشد.

متقاضی: به والدینی اطلاق می‌شود که متقاضی نگهداری و ذخیره‌سازی خون بند ناف نوزادشان در بانک خون بند ناف می‌باشند.

اهدداکننده: به مادر نوزادی اطلاق می‌شود که خون بند ناف نوزادشان جهت اهدا و استفاده عموم در بانک خون بند ناف ذخیره‌سازی می‌شود.

نمونه کنترلی: نمونه‌ای است که از بافی کوت حاوی ضد انجماد موجود در کیسه نهایی فریز، برداشته می‌شود. این نمونه که می‌بایستی حداقل دارای 2×10^6 سلول هسته‌دار باشد و بطور کامل نماینده کلیه ویژگی‌های نمونه خون بند ناف فریز شده می‌باشد. این نمونه می‌بایستی تا زمان پیوند در شرایط مشابه نمونه خون بند ناف فریز شده نگهداری شده و در زمان پیوند جهت انجام تست‌های کنترلی مورد استفاده قرار گیرد.

استمرار: در خصوص متقاضیان ذخیره‌سازی خون بند ناف، این امکان وجود دارد که علیرغم تعیین حداقل 600 میلیون بعنوان حداقل تعداد سلول‌های هسته‌دار در نمونه بعنوان معیار پذیرش، با توجه به اینکه در درمان برخی از بیماری‌ها مشاهده شده است که تعداد سلول کمتر نیز کارآمد بوده است. لذا، در صورت درخواست متقاضی ذخیره‌سازی، تعداد سلول بین 400 میلیون تا 600 میلیون نیز نگهداری خواهد شد.

ماده ۲: هدف کلی

تعیین الزامات ضروری بانک‌های خون بند ناف در کشور

ماده ۳: اهداف اختصاصی

- تهیه و تجمیع الزامات مربوط به ذخیره‌سازی خون بند ناف در کشور بر اساس الزامات استانداردهای بین‌المللی قابل کاربرد و ضوابط وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی جمهوری اسلامی ایران
- نظارت حداکثری بر خدمات ارائه شده توسط بانک‌های خون بند ناف

ماده ۴: جمعیت مشمول دستورالعمل

کلیه مراکز جمع‌آوری و ذخیره‌سازی خون بند ناف در کشور

ماده ۵: شمول خدمات

این دستورالعمل شامل کلیه خدمات مشاوره، تعیین صلاحیت اهداکنندگان، جمع‌آوری، انتقال، پردازش، ذخیره‌سازی و تحویل (به مراکز سلول درمانی) خون بند ناف نوزادان می‌باشد.

ماده ۶: الزامات مشاوره، تعیین صلاحیت اهداکنندگان، جمع آوری، انتقال، پردازش، ذخیره‌سازی و تحویل (به مراکز سلول درمانی) خون بند ناف

۶-۱- نحوه پذیرش و تأیید صلاحیت اهداکنندگان و متقاضیان

بانک خون بند ناف موظف به اطمینان از انطباق شرایط پزشکی اهداکنندگان و متقاضیان ذخیره‌سازی خون بند ناف با الزامات مشخص شده در این دستورالعمل می‌باشد و می‌بایستی اطمینان یابد که اهداکنندگان و متقاضیان ذخیره‌سازی خون بند ناف مغایرتی با موارد منع ذخیره‌سازی خون بند ناف ندارند. بررسی انطباق شرایط پزشکی اهداکنندگان می‌بایستی در ۴ هفته مانده به تاریخ زایمان تا زمان زایمان صورت پذیرد.

۶-۱-۱- الزامات پزشکی اهداکنندگان و متقاضیان ذخیره‌سازی خون بند ناف

- پزشک مشاور بانک خون بند ناف ملزم به کنترل کلیه ملاحظات پزشکی و اطمینان از عدم مغایرت شرایط اهداکنندگان و متقاضیان ذخیره‌سازی خون بند ناف با موارد منع ذخیره‌سازی خون بند ناف را بر عهده دارد.
- لیست موارد و بیماری‌های منع ذخیره‌سازی خون بند ناف در بند ۶-۱-۲ این دستورالعمل آمده است.
- جهت اطمینان از عدم وجود منع قرارداد بر اساس لیست موارد و بیماری‌های منع ذخیره‌سازی خون بند ناف مطابق بند ۶-۱-۲ کلیه اهداکنندگان و متقاضیان ذخیره‌سازی خون بند ناف لازم است پرسشنامه پزشکی (پیوست ۱) را تکمیل نمایند.
- پرسشنامه پزشکی (پیوست ۱) حتماً می‌بایستی توسط شخص اهداکننده و متقاضیان ذخیره‌سازی خون بند ناف تکمیل گردد.
- پرسشنامه پزشکی تکمیل شده توسط اهداکننده یا متقاضی ذخیره‌سازی خون بند ناف می‌بایستی به نحو مناسب به مدت نامحدود نگهداری شود.
- پزشک مشاور بانک خون بند ناف بر اساس پرسشنامه پزشکی تکمیل شده و اطمینان از عدم مغایرت آن با موارد منع ذخیره‌سازی نسبت به تأیید صلاحیت اهداکنندگان و متقاضیان ذخیره‌سازی خون بند ناف اقدام می‌نماید.
- در صورت وجود هر گونه سوال پزشکی، پزشک مشاور ملزم به پاسخگویی به اهداکنندگان و متقاضیان می‌باشد.

۶-۱-۲- موارد و بیماری‌های منع ذخیره‌سازی خون بند ناف

پزشک مشاور بانک خون بند ناف ملزم به اطمینان از صلاحیت پزشکی اهداکنندگان و متقاضیان ذخیره‌سازی خون بند ناف می‌باشد. موارد منع ذخیره‌سازی در ۵ دسته در بندهای ۶-۱-۲-۱ تا ۶-۱-۲-۵ آورده شده است.

۶-۱-۲-۱- موارد منع ذخیره‌سازی با توجه به بیماری‌های مادر (در طول دوران زندگی)

۱. سابقه ابتلا به بیماری‌های با منشأ ناشناخته مانند:

- پارکینسون

۲. سابقه ابتلای مادر به برخی بیماری‌های خود ایمنی در دوران زندگی مانند:

- بیماری‌های التهابی روده (کرون، کولیت اولسراتیو) / واسکولیت (بهجت، شوگرن و ...) / مالتیپل اسکلروزیس (MS) / میاستنی گراویس (MG) / لوپوس (SLE) / سارکوئیدوز مزمن

۳. سابقه ابتلا به بیماری‌های:

- سیفیلیس / تب مالت (بروسلوز) / سل (توبرکلوز) / HTLV / ایدز (HIV) / هپاتیت B / هپاتیت C / سالک جلدی (لیشمانیوز) / سالک احشایی (کالآزار) / مالاریا / کیست هیداتید / اختلال میلوپرولیفراتیو

۴. سابقه ابتلا به سرطان در مادر

۵. محروم بودن مادر از اهدای خون به دلایلی غیر از ضعف جسمی و کم خونی خفیف

۶. سابقه دریافت داروهایی با منشأ انسانی از قبیل:

- فاکتورهای انعقادی، هورمون رشد / ایمنوگلوبولین‌های وریدی (IVIG) / سرم آلبومین و برخی داروهای کمک باروری

۶-۱-۲-۲- موارد منع قرارداد با توجه به بیماری‌های مادر در طول دو سال گذشته تا زمان انجام زایمان

۱. سابقه ابتلا به بیماری‌های:

- هیپاتیت A / توکسوپلاسموزیس / سابقه پرکاری تیروئید و مصرف داروی متی مازول یا پروپیل تیواوراسیل (PTU)

۶-۱-۲-۳- موارد منع قرارداد با توجه به بیماری‌های مادر در یک سال گذشته تا زمان زایمان

۱. سابقه شیمی درمانی به دلایلی غیر از بدخیمی

۲. سابقه ابتلا به بیماری‌های:

- آبله مرغان / سرخجه / سرخک / لیستریوز / زونا

۳. سابقه دریافت خون و فرآورده‌های خونی توسط مادر

۴. سابقه انجام حجامت، تاتو و خالکوبی، سوراخکاری بدن (Body Piercing)

۵. سابقه ابتلا به تب خال تناسلی یا هرپس ژنیتال

۶. سابقه ابتلا به زگیل تناسلی

۷. سابقه زندانی شدن بیش از سه روز متوالی

۶-۱-۲-۴- موارد منع قرارداد با توجه به بیماری‌های مادر در طول دوران بارداری

۱. سابقه عفونت با سایتومگالوویروس (CMV)

۲. بارداری با استفاده از تخمک اهدایی، اسپرم اهدایی، جنین اهدایی یا رحم اجاره‌ای

۱-۲-۵- موارد منع قرارداد با توجه به آزمایش‌های مادر قبل از انجام زایمان (توسط بانک خون بند ناف رویان یک هفته قبل از زایمان تا زمان زایمان)

۱. مثبت بودن HBS Ag
۲. مثبت بودن HCV Ab و به دنبال آن مثبت بودن HCV PCR
۳. مثبت بودن HIV (I/II) و به دنبال آن مثبت بودن HIV PCR
۴. مثبت بودن آزمایش HTLV (I/II) و دنبال آن HTLV PCR مثبت
۵. مثبت بودن آزمایش VDRL یا RPR و دنبال آن FTA-abs مثبت
۶. منفی بودن HBS Ag ولی مثبت بودن HBS Ab بدون سابقه واکسیناسیون قبلی و به دنبال آن مثبت بودن HBV PCR
۷. مثبت بودن HBC Ab و به دنبال آن مثبت بودن HBV PCR
۸. مثبت یا borderline بودن CMV IgM و به دنبال آن مثبت بودن CMV PCR

تذکر: با توجه به شرایط پاندمی کرونا در حال حاضر در صورت ابتلا مادر به بیماری Covid 19 حداقل ۴ هفته بین زمان رفع علائم بیماری تا زمان زایمان می‌بایستی سپری شده باشد تا امکان ذخیره‌سازی خون بند ناف وجود داشته باشد.

۱-۳-۶ مدارک و مستندات مورد نیاز از اهداکنندگان و متقاضیان ذخیره‌سازی خون بند ناف

بانک خون بند ناف موظف به کنترل مدارک و مستندات اهداکنندگان و متقاضیان نگهداری خون بند ناف می‌باشد. بدین منظور مدارک زیر بصورت فیزیکی و یا الکترونیکی می‌بایستی توسط بانک خون بند ناف دریافت و نگهداری شود و بصورت دائمی به شکلی که دسترسی به این مدارک به سهولت امکان‌پذیر باشد نگهداری نماید. مدارک مورد نیاز عبارتند از:

- تصویر کارت ملی پدر نوزاد
- تصویر کارت ملی مادر نوزاد
- تصویر شناسنامه نوزاد پس از صدور (در صورت امکان)

- فرم رضایت آگاهانه اهداء خون بند ناف (پیوست ۲) در مورد اهداکنندگان و درخواست عضویت (پیوست ۳) و قرارداد عضویت در مورد متقاضیان ذخیره‌سازی خون بند ناف
 - امضاء فرم رضایت آگاهانه اهداء خون بند ناف / قرارداد عضویت تنها توسط پدر، مادر و یا فردی صورت می‌گیرد که از طرف ایشان وکالت داشته یا ولی و قیم قانونی نوزاد باشد.
- همچنین اطلاعات زیر در مورد اهداکنندگان و متقاضیان ذخیره‌سازی خون بند ناف می‌بایستی توسط بانک خون بند ناف دریافت و به نحو مناسبی بصورت دائمی نگهداری شود.

- نام و نام خانوادگی پدر و مادر نوزاد
- شماره تماس پدر و مادر نوزاد
- تاریخ زایمان و هفته بارداری در زمان تولد
- محل زایمان (استان و شهر محل زایمان)
- نام بیمارستان محل تولد نوزاد
- پزشک زنان عامل تولد نوزاد

۶-۱-۴- قرارداد عضویت در بانک خون بند ناف برای متقاضیان ذخیره‌سازی خون بند ناف

قرارداد عضویت بین بانک خون بند ناف و متقاضیان ذخیره‌سازی خون بند ناف می‌بایستی شامل موارد ذیل باشد:

- مدت قرارداد
- تعهدات بانک خون بند ناف. در قرارداد عضویت بانک خون بند ناف با متقاضی می‌بایستی تعهدات بانک خون بند ناف در خصوص موارد زیر بطور شفاف مشخص شود.

۱. تعهد شرکت به رعایت کامل الزامات وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی در کلیه فرایندهای کاری
۲. حفظ محرمانگی اطلاعات خانواده و عدم ترخیص نمونه خون بند ناف بدون اجازه و درخواست کتبی صاحب نمونه

۳. نمونه‌گیری خون محیطی مادر در فاصله ۷ روز قبل از زایمان تا ۷ روز پس از زایمان و انجام آزمایشات ویروسی بر روی آن

۴. انجام آزمایشات میکروبی بر روی نمونه خون دریافتی و اطلاع به خانواده متقاضی در صورت وجود آلودگی پاتوژن

۵. پوشش بیمه‌ای نمونه ذخیره‌سازی شده توسط شرکت‌های بیمه‌ای معتبر کشور

۶. اطلاع خانواده متقاضی از وضعیت نمونه خون بند ناف جمع‌آوری شده

• تعهدات متقاضی ذخیره‌سازی خون بند ناف. در قرارداد عضویت بانک خون بند ناف با متقاضی می‌بایستی تعهدات متقاضی ذخیره‌سازی در خصوص موارد زیر بطور شفاف مشخص شود.

۱. اطلاع رسانی به بانک خون بند ناف در خصوص ابتلاء مادر نوزاد به بیماری‌های عفونی طی یکسال پس از زایمان و مثبت شدن آزمایشات HBS(Ag), HBC و HTLV (لنفوتروپیک انسانی)

• اطلاع از هرگونه تغییرات در آدرس و شماره تماس متقاضی

• موارد فسخ قرارداد

• شرایط نگهداری نمونه

۶-۱-۵- مدارک و مستندات تحویلی به اهداکنندگان و متقاضیان ذخیره‌سازی خون بند ناف

بانک خون بند ناف موظف است ۳ ماه پس از فریز نمونه خون بند ناف و پس از دریافت تصویر شناسنامه نوزاد و تکمیل پرسشنامه سلامت کودک توسط پدر و مادر نوزاد (پیوست شماره ۴) به شرط عدم وجود موارد منع ذخیره‌سازی گواهی فریز نمونه صادر و در اختیار اهداکننده یا متقاضی ذخیره‌سازی خون بند ناف قرار دهد.

۶-۲- جمع‌آوری خون بند ناف

کلیه اقدامات لازم که در مراحل قبل از زایمان، حین عملیات خونگیری و بعد از زایمان باید توسط کارشناس خونگیر آموزش دیده و واجد صلاحیت بانک خون بند ناف و مراکز جمع‌آوری خون بند ناف در سراسر کشور، انجام پذیرد.

- کارشناسان جمع‌آوری خون بند ناف می‌بایستی حداقل دارای مدرک کارشناسی مامایی یا رشته‌های مرتبط با علوم آزمایشگاهی و بیولوژی باشند. جهت تأیید صلاحیت کارشناسان جمع‌آوری خون بند ناف، هر یک از آنها می‌بایستی پس از آموزش تئوری حداقل ۱۰ نمونه آزمایشی خون بند ناف جمع‌آوری و از لحاظ عدم وجود آلودگی در نمونه، حجم نمونه و سایر موارد بررسی و در صورت احراز صلاحیت کارت نمونه‌گیری برای آنها صادر شود. سوابق احراز صلاحیت تجربی کارشناسان نمونه‌گیر می‌بایستی توسط بانک خون بند ناف نگهداری شود.
- محل نگهداری کیت‌های جمع‌آوری خون بند ناف می‌بایستی از نظر دما و رطوبت تحت کنترل باشد. بدین منظور لازم است حتماً محل نگهداری کیت‌ها بطور مستمر از نظر پارامترهای دما و رطوبت مانیتور شود.

۶-۲-۱- اقدامات قبل از نمونه‌گیری از بند ناف

- قبل از انجام نمونه‌گیری کارشناس جمع‌آوری خون بند ناف ملزم به کنترل کیت خونگیری می‌باشد. ملزومات موجود در کیت خونگیری در بند ۶-۲-۴ آورده شده است.
- لازم است تاریخ انقضا و سالم بودن کلیه وسایل موجود در کیت نمونه‌گیری کنترل شود و در صورت وجود هر گونه اشکال در هر یک از وسایل، آن وسیله تعویض گردد.
- بررسی اطلاعات مادر و تطبیق آن با فرم اطلاعات خونگیری (پیوست ۵) و برچسب روی کیت خونگیری (برچسب‌گذاری در بند ۶-۸ آمده است).
- بررسی هرگونه بیماری احتمالی مادر در زمان زایمان و یا ملاحظات خاص پزشکی بوجود آمده در زمان زایمان و ثبت در فرم اطلاعات خونگیری.
- در صورت وجود Ice bag، حداکثر ۱۵ تا ۲۰ دقیقه قبل از زایمان، در بکس cool box که حاوی Ice Bag است، جهت یکنواخت کردن دمای محیط Cool Box با فضای بیرون، باز گذاشته شود.
- قبل از ورود به مرحله خونگیری، در زایمان سزارین و طبیعی نسبت به اسکراپ و ضدعفونی کردن دست‌ها اقدام شود.

۶-۲-۲- اقدامات حین نمونه‌گیری از بند ناف

- استفاده از ماسک، گان، دستکش در خونگیری‌های داخل رحمی و خارج رحمی ضروری می‌باشد.
- حضور کارشناس نزدیک تخت عمل نباید مزاحمت جهت جراح و دستیاران ایجاد نماید.

- بعد از تولد نوزاد، با هماهنگی پزشک جراح و رعایت کامل شرایط استریل، محل خونگیری ضدعفونی گردد.
- در نمونه‌گیری داخل رحمی خونگیری در کوتاهترین زمان و با سرعت عمل مناسب انجام می‌شود.
- جهت ایجاد جریان مناسب خون در کیسه خونگیری از نیروی جاذبه زمین کمک گرفته شود.
- در نمونه‌گیری داخل رحمی بهتر است خونگیری تا خارج کردن جفت ادامه یابد.
- بالا نگه داشتن جفت نسبت به بند ناف در تمام مراحل کار (خارج یا داخل رحمی و یا هنگام خروج جفت) توصیه می‌شود.

۶-۲-۳- اقدامات پس نمونه‌گیری از بند ناف

- بعد از اتمام خونگیری کیت نمونه‌گیری را بطور کامل بسته بندی نماید.
- برچسب مشخصات زایمان را پر کرده و روی کیسه خون چسبانده شود.
- بعد از تکمیل فرم اطلاعات خونگیری (پیوست ۵) به طور دقیق و کامل و ممهور کردن آن (توسط کارشناس)، آن را در محفظه حمل قرار داده و با برچسب "باز نشود" پلمپ می‌گردد.
- کنترل شرایط انتقال نمونه از نظر دمای انتقال (انتقال نمونه می‌بایستی در دمای اتاق-۱۵ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد- تا محل بانک خون بند ناف صورت پذیرد)

۶-۲-۴- کیت نمونه‌گیری

کلیه ملزومات موجود در کیت نمونه‌گیری می‌بایستی دارای پروانه ساخت از اداره کل تجهیزات پزشکی سازمان غذا و دارو بوده و شامل موارد زیر باشد:

- کیسه خون استریل
- دستکش استریل
- شان استریل
- سه عدد گاز استریل

- دو عدد پد الکلی
- ماسک
- Cool Box
- Ice Pack
- برگه اطلاعات خونگیری
- برچسب مشخصات مادر جهت چسباندن به کیسه خون و برچسب "باز نشود" جهت چسباندن به درب Cool Box

۶-۳- نگهداری و حمل نمونه خون بند ناف

بانک‌های خون بند ناف و مراکز جمع‌آوری نمونه خون بند ناف وظیفه اطمینان از نگهداری و حمل نمونه خون بند ناف از بیمارستان‌ها و یا مراکز جمع‌آوری نمونه تا پایگاه مرکزی بانک خون بند ناف در شرایط کنترل شده را بر عهده دارند.

- دمای حمل نمونه‌های خون بند ناف می‌بایستی در دمای اتاق (۱۵ تا ۲۵ درجه باشد).
- دمای حمل نمونه‌های خون بند ناف جمع‌آوری شده می‌بایستی بطور مداوم تا زمان ورود به بانک خون بند ناف مانیتور شود.
- مراکز جمع‌آوری خون بند ناف می‌بایستی از نصب برچسب مشخصات نمونه بر روی کیسه خون بند ناف، فرم اطلاعات خونگیری و Cool Box انتقال نمونه اطمینان حاصل نمایند.
- مراکز جمع‌آوری خون بند ناف موظف به کنترل کلیه مدارک و مستندات همراه خون بند ناف ارسالی و همچنین انطباق نمونه خون بند ناف ارسالی با برچسب مشخصات مندرج بر کیسه خون بند ناف، فرم اطلاعات خونگیری و Cool Box انتقال نمونه می‌باشند.
- زمان انتقال نمونه خون بند ناف از مراکز جمع‌آوری خون بند ناف تا بانک خون بند ناف می‌بایستی بگونه‌ای باشد که از زمان زایمان تا فریز نمونه در مورد اهداکنندگان حداکثر ۴۸ ساعت و در مورد متقاضیان ذخیره‌سازی خون بند ناف حداکثر ۷۲ ساعت زمان صرف شود.

۴-۶ دریافت نمونه خون بند ناف

در هنگام دریافت نمونه خون بند ناف در بانک خون بند ناف لازم است نمونه وارد شده از نظر موارد زیر توسط پرسنل آموزش دیده و واجد صلاحیت بررسی و کنترل قرار گیرد:

- کیسه سالم باشد و واجد کد و مشخصات صحیح باشد. لازم است در بدو ورود کلیه مشخصات اهدا کننده یا متقاضی ذخیره‌سازی خون بند ناف با مستندات همراه نمونه و برچسب روی مستندات، کیسه خونگیری و Cool Box انتقال نمونه مطابقت داده شود.
- حجم خون جمع‌آوری شده در مورد متقاضیان ذخیره‌سازی بیش از ۵۰ mL و در مورد اهداکنندگان بیش از ۱۵۰ mL باشد.
- دمای ورود نمونه می‌بایستی ثبت شود.

۵-۶ آماده سازی و پردازش خون بند ناف

فرایند پردازش خون بند ناف می‌بایستی در دو مرحله مجزا صورت پذیرد. در مرحله اول آماده سازی نمونه‌های خون بند ناف و مواد و تجهیزات لازم جهت پردازش خون بند ناف صورت می‌پذیرد تا از هر گونه برچسب‌گذاری اشتباه، آلودگی، جابجایی ناخواسته نمونه‌ها جلوگیری شود. پس از آماده سازی نمونه‌های خون بند ناف جمع‌آوری شده وارد پردازش می‌شوند.

- لازم است بانک خون بند ناف از عدم ورود افراد غیر مرتبط به فضای کاری پردازش اطمینان حاصل نماید.
 - شرایط محیطی پردازش خون بند ناف می‌بایستی از نظر دما، رطوبت، تهویه، فشار هوا و تصفیه هوا می‌بایستی تحت کنترل باشد. بدین معنی که بطور مستمر داده‌های مربوط به پارامترهای اشاره شده پایش و ثبت گردند.
 - پردازش نمونه‌های خون بند ناف به دو صورت دستی (Manual) و اتومات (روش Sepax) صورت می‌پذیرد.
- در صورت پردازش نمونه‌ها بصورت دستی لازم است که شرایط محیطی محل پردازش حداقل مطابق با کلین روم کلاس C بوده و جداسازی سلول‌های تک هسته‌ای در زیر هود لامینار کلاس B صورت پذیرد.

- در شرایط پردازش نمونه‌ها بصورت اتومات لازم است که شرایط محیطی محل پردازش محیط آزمایشگاهی فشار مثبت و عملیات برداشتن نمونه‌های کنترلی در زیر هود لامینار کلاس B صورت پذیرد.
- پرسنل شاغل در بخش پردازش می‌بایستی دارای حداقل مدرک کارشناسی ارشد در رشته‌های بیولوژی و علوم آزمایشگاهی بوده و قبل از شروع فعالیت آموزش‌های لازم را دریافت و صلاحیت آنها احراز گردد. سوابق احراز صلاحیت تجربی کارکنان پردازش می‌بایستی نگهداری شود.

۶-۵-۱- شرایط قبول نمونه جهت ورود به آزمایشگاه پردازش

نمونه‌های خون بند ناف جهت ورود به آزمایشگاه پردازش می‌بایستی از نظر شرایط زیر مورد بررسی قرار گیرند:

- زمان ورود نمونه با آزمایشگاه پردازش می‌بایستی با شرایط مندرج در بند ۶-۳ مطابقت داشته باشد.
- دمای نگهداری نمونه‌های خون بند ناف در بانک خون بند ناف می‌بایستی در محدوده ۱۵ تا ۲۵ درجه سانتی گراد باشد. دمای ورود نمونه در زمان ورود نمونه به پردازش باید کنترل شود.
- مشخصات مندرج بر روی نمونه خون بند ناف می‌بایستی با مدارک ضمیمه شده مطابقت داشته باشد.
- ظاهر نمونه و کیسه از نظر تمیزی و نداشتن هرگونه نشستی کنترل شود.
- نمونه‌های همراه نمونه خون بند ناف مانند نمونه خون محیطی مادر از نظر انطباق برچسب‌ها تطبیق داده شوند. همچنین لازم است هرگونه مستندات همراه نمونه از قبیل فرم رضایت آگاهانه اهداء خون بند ناف در مورد اهداکنندگان و قرارداد عضویت برای متقاضیان ذخیره‌سازی و فرم اطلاعات خونگیری کنترل شود.

۶-۵-۲- پردازش نمونه خون بند ناف

- برچسب زدن نمونه: تمامی لوله‌های فالکون، گاما، اپندورف، کیسه فریز، ظروف حاوی سمپل‌های آزمایشگاه‌های کنترل کیفی و HLA می‌بایستی حتما برچسب‌گذاری شده باشند.
- در روش دستی تمام مراحل کار در زیر هود کلاس II لامینار انجام شود.
- هنگام کار حتما از دستکش، گان، ماسک، کلاه و عینک استفاده شود.

- شمارش اولیه سلول‌ها با استفاده از دستگاه Sysmex انجام می‌شود و درصد سلول‌های زنده با دستگاه نوکلئوکانترا، محاسبه می‌شود. چنانچه تعداد سلول‌های زنده در نمونه پائین‌تر از ۸۵ درصد بود و حاصلضرب Viability در تعداد سلول در مورد متقاضیان ذخیره‌سازی خون بند ناف کمتر از ۶۵۰ میلیون (در موارد دارای استمرار قرارداد، کمتر از ۴۵۰ میلیون)، و در مورد اهداکنندگان کمتر از ۱,۵ میلیارد باشد نمونه با نظر مدیر فنی آزمایشگاه دور ریخته می‌شود.

تذکره: بانک خون بند ناف باید روش جایگزینی (مانند شمارش چشمی زیر میکروسکوپ) جهت شمارش سلولی و تعیین درصد زنده مانی سلول داشته باشد.

- قبل از شمارش سلول در هر شیفت کاری پس از روشن شدن دستگاه سیسمکس، با خون کنترل دستگاه کنترل شود. سوابق کنترل دستگاه سیسمکس باید نگهداری شود.
- شماره بسته (Lot Number) و تاریخ انقضاء ائیل استارچ مورد استفاده می‌بایستی ثبت شود.
- در روش دستی جهت جداسازی بافی‌کوت از پلاسما و خون بند ناف می‌بایستی از دستگاه سانتریفیوژ در دور RPM ۱۷۵۰ استفاده شود.
- حجم بافی‌کوت نهایی جهت انتقال به کیسه فریز می‌بایستی بین ۲۰ تا ۲۵ سی‌سی باشد و جهت به حجم رساندن آن می‌بایستی از پلاسما جداسازی شده در سانتریفیوژ استفاده نمود.
- از بافی‌کوت سلولی میزان ۲۰۰ لانداز سلول را به ویال ۱/۵ سی‌سی که برچسب خورده است به منظور انجام شمارش سلولی و فلوسیتومتری منتقل نمایید.

تذکره: در صورتی که بعد از سانتریفیوژ سوسپانسیون سلولی جهت جداسازی بافی‌کوت، رنگ پلاسما قرمز رنگ باشد نشانه‌ایی از لیز سلول‌های خونی می‌باشد لذا لازم است در ادامه مراحل زیر صورت گیرد.

الف: رسوب حاصل را با ۳۰ سی‌سی از محلول شستشو، شستشو دهید. برای تهیه محلول شستشو سلول‌ها، ۷/۵ سی‌سی از محلول آلبومین انسانی را با ۲۲/۵ سی‌سی بافر فسفات نمکی (PBS) قابل تزریق در زیر هود به لوله ۵۰ سی‌سی منتقل نمایید و خوب مخلوط کنید. در این صورت غلظت آلبومین در محلول شستشو ۰.۵٪ است.

ب: لوله را به سانتریفیوژ منتقل کرده و در دور RPM ۱۷۵۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ نمایید. سپس به رسوب سلولی ۳۰ سی‌سی محلول ۱۰٪ از HSA (۱۵cc آلبومین + ۱۵cc PBS) را اضافه کنید.

تذکره: برای کنترل بهتر در نمونه‌های دارای لخته پس از شمارش سلولی یک قطره را روی لام و زیر میکروسکوپ، جهت بررسی clamp میکروسکوپی مطالعه و در صورت وجود clamp زیاد و غیرقابل جداسازی نمونه با نظر مدیر فنی آزمایشگاه کنسل می‌گردد.

توجه: این روش را با روش جداسازی نمونه‌هایی که اصلا رسوب‌دهی سوسپانسیون ندارند اشتباه نگیرید.

- چنانچه تعداد سلول‌های زنده در سوسپانسیون سلولی در نمونه متقاضیان ذخیره‌سازی کمتر از ۷۵ درصد و در نمونه اهداکنندگان کمتر از ۸۵ درصد بود یا حاصلضرب Viability و شمارش سلولی کمتر از ۶۰۰ میلیون (در مورد نمونه‌های دارای استمرار کمتر از ۴۰۰ میلیون) در مورد متقاضیان ذخیره‌سازی خون بند ناف و یا کمتر از ۱,۲ میلیارد در مورد اهداکنندگان بود نمونه را با اطلاع مدیر فنی آزمایشگاه و مطابق الزامات دور ریختن که در بند ۶-۵-۵ آورده شده است، دور بریزید.
- از رسوب گلبول قرمز باقیمانده درون کیسه اولیه (Waste) میزان ۴ سی‌سی به یک لوله ۵ سی‌سی که قبلا برچسب بخش HLA بر روی آن نصب شده است ریخته و این لوله را همراه لوله HLA اولیه به بخش HLA ارسال نمایید.
- دقت نمایید که میزان سلول لازم در هر سی‌سی نمونه نهایی جهت فریز نباید بیشتر از ۷۵ میلیون باشد.
- روش کار جداسازی سلول‌های بنیادی باید بگونه‌ای باشد که حداقل دستکاری بر روی نمونه انجام شود.
- ریکاوری سلول‌های جدا شده در پردازش می‌بایستی حداقل ۶۰ درصد باشد.
- مقدار ۱ سی‌سی از بافی‌کوت موجود در کیسه فریز یا پلاسمای خون بند ناف را برای انجام تست میکروبی به شیشه‌های مخصوص حاوی برچسب منتقل نمایید و به آزمایشگاه میکروب منتقل نمایید.
- در کلیه مراحل پردازش خون بند ناف لازم است کلیه اطلاعات به شکل مناسبی ثبت و بصورت دائمی در محلی مطمئن بصورت فیزیکی و یا الکترونیکی نگهداری شود. لیست اطلاعات لازم جهت ثبت و نگهداری در بند ۶-۵-۴ آورده شده است.
- در خصوص روش‌های پردازش اتومات خون بند ناف مانند Sepax و AXP روش پردازش بصورت بسته و بر اساس پروتکل‌های دستگاه صورت می‌پذیرد.

۳-۵-۶- انجماد و ذخیره سازی نمونه‌های خون بند ناف

۳-۵-۶-۱- انجماد و ذخیره سازی نمونه‌های خون بند ناف به روش دستی

- از آنجا که خون بند ناف منبع مفیدی برای احیاء سیستم خونساز و سیستم ایمنی بدن می‌باشد، نگهداری و انجماد آن تحت دمای ۱۹۶- درجه سانتیگراد در نیتروژن مایع/ بخار و در حضور مواد ضد انجماد مناسب (DMSO-Dextran) سبب کاهش از دست رفتن حیات سلولی و نگهداری طولانی مدت آن برای استفاده در آینده خواهد شد لذا هدف از تهیه این دستورالعمل تعیین روش انجماد و ذخیره سازی نمونه‌های خون بند ناف می‌باشد.
- تعداد سلول‌های موجود در سوسپانسیون نهایی جهت فریز نمونه می‌بایستی در مورد متقاضیان ذخیره‌سازی بیش از 600 میلیون (در صورت استمرار بیش از ۴۰۰ میلیون) و در مورد اهداکنندگان بیش از ۱,۲ میلیارد و درصد سلول‌های زنده آن بیش از ۸۰ درصد باشد.
- تمام مراحل کار باید در شرایط سرمایی و روی یخ انجام شود
- تمام مراحل کار باید در زیر هود لامینار کلاس دو انجام شود.
- می‌بایستی از محلول آماده ضد انجماد حاوی DMSO و دکستران ۴۰، استفاده شود. شماره Lot و تاریخ انقضاء آن می‌بایستی ثبت و نگهداری شود.
- برای محاسبه میزان حجم قابل برداشت به این ترتیب عمل نمایید، به ازاء هر ۵ سی سی حجم خون، ۱ سی سی ماده ضد انجماد اضافه کنید.
- در مورد نمونه‌هایی که به روش اتومات پردازش شده‌اند، سوسپانسیون سلولی در حین پروسه به صورت اتومات داخل کیسه انجماد وارد می‌شود که قبلاً برچسب مشخصات مشتری روی آن قرار گرفته است.
- در روش دستی تزریق ماده ضد انجماد به درون کیسه‌های انجماد می‌بایستی به تدریج و در حداکثر ۱۰ دقیقه انجام شود.
- با اتمام تزریق ماده ضد انجماد به کیسه‌ها، از کیسه‌ها حداقل ۱ نمونه کنترلی در کرایو ویال‌های ۲ سی سی برداشته شود و در تانک نیتروژن ذخیره‌سازی شود.
- پس از برداشتن کرایو ویال‌های ۲ سی سی، لازم است حداقل ۲۰۰ لاندا در ۲ سگمنت سیل شده متصل به کیسه خون بند ناف ایجاد شود.
- نام و مشخصات و شماره قرارداد متقاضی ذخیره‌سازی خون بند ناف یا اهداکنندگان می‌بایستی بر روی کیسه فریز و کست قرار گیری نمونه در تانک نیتروژن نوشته شود.

- یک سیستم کدینگ مدون می‌بایستی برای کددهی محل قرارگیری نمونه‌های خون بند ناف و ویال‌های کنترلی نمونه‌ها در درون تانک‌ها ایجاد شود. محل قرارگیری نمونه‌ها در تانک‌ها می‌بایستی به راحتی مشخص و قابل دستیابی باشد.
- نمونه‌ها قبل از انتقال به تانک‌های فریز و نگهداری می‌بایستی به مدت ۹۰ دقیقه توسط دستگاه فریز تدریجی تا دمای منفی ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد کاهش دما پیدا کند.
- مراحل فریز نمونه می‌بایستی در اسرع وقت صورت پذیرد. لذا لازم است:
 ۱. زمان تزریق ماده ضد انجماد تا انتقال نمونه به دستگاه فریز تدریجی می‌بایستی حداقل باشد.
 ۲. زمان انتقال نمونه از دستگاه فریز تدریجی به تانک ذخیره‌سازی نیتروژن می‌بایستی حداقل باشد.
- انتقال نمونه‌ها از دستگاه فریز تدریجی به تانک قرنطینه و در فاز بخار صورت می‌پذیرد.
- تانک قرنطینه بمنظور کنترل عدم انتقال آلودگی‌های ویروسی بین نمونه‌ها می‌بایستی در فاز بخار (قرنطینه) باشد و پس از اطمینان از عدم وجود هرگونه آلودگی در نمونه‌ها و تنها در صورت تاییدیه جواب آزمایشات نوزاد و مادر (آزمایشات میکروبی و سرولوژی) و ۶ ماه پس از قرارگیری آخرین نمونه در تانک و با تأیید مدیر فنی آزمایشگاه و مدیر کیفی می‌توان تانک را به فاز مایع تغییر وضعیت داد.
- نمودار کارکرد دستگاه فریز تدریجی باید در محدوده آستانه معتبر آن باشد که از قبل برای هر دستگاه تعیین شده است و می‌بایستی برای هر نمونه نمودار مربوطه به شکل مناسبی بایگانی و نگهداری شود.

۶-۵-۳-۲- انجماد و ذخیره سازی نمونه‌های خون بند ناف به روش اتومات

انجماد به روش اتومات با دستگاه کول میکس و به منظور بهینه‌سازی انجماد نمونه در بانک خون بند ناف می‌تواند صورت پذیرد.

- شرایط قبول نمونه در روش اتومات مانند روش دستی می‌باشد.
- نمونه برداری ویال‌های کنترلی و سگمنت‌های متصل به نمونه و همچنین برچسب‌گذاری نمونه‌ها و ثبت اطلاعات بر روی هر نمونه مانند روش دستی می‌باشد.
- محلول ضد انجماد استفاده شده در روش اتومات مشابه روش دستی می‌باشد.

- در روش اتومات محلول ضد انجماد بصورت تدریجی توسط دستگاه Cool Mix و بر اساس پروتکل‌های دستگاه اشاره شده و در ۱۰ دقیقه به نمونه تزریق می‌شود.
- نمونه‌ها قبل از انتقال به تانک‌های فریز و نگهداری می‌بایستی به مدت ۹۰ دقیقه توسط دستگاه فریز تدریجی تا دمای منفی ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد کاهش دما پیدا کند.

۶-۵-۴- اطلاعات پردازش ضروری جهت ثبت و نگهداری خون بند ناف

بانک خون بند ناف می‌بایستی اطلاعات ضروری پردازش خون بند ناف را به شکل مناسبی ثبت و نگهداری کند. این اطلاعات عبارتند از:

- تاریخ و زمان پردازش
- شماره بسته (Lot Number) کیسه خون و تاریخ انقضای آن
- حجم و نوع ضد انعقاد
- TNC اولیه و ثانویه
- هماتوکریت اولیه و ثانویه
- Viability اولیه و ثانویه
- درصد HES
- حجم HES
- گروه خونی نمونه بند ناف
- شماره بسته (Lot Number) HES و تاریخ انقضای آن
- در صورت استفاده از PBS، شماره بسته (Lot Number) و تاریخ انقضای آن
- تعداد دفعات سانتریفیوژ نمونه
- حجم پلاسما

- حجم بافی کوت
- حجم خون باقی مانده در کیسه پس از پردازش
- TNC باقی مانده در کیسه پس از پردازش
- Recovery نمونه
- مدت زمان پردازش
- مقدار WBC، RBC، HGB و PLT
- در صورت لیز بودن و داشتن لخته و کلمپ و دانسیته بالا تمامی موارد ذکر شود
- شماره بسته (Lot Number) DMSO و تاریخ انقضای آن
- شماره بسته (Lot Number) کیسه فریز و تاریخ انقضای آن
- تعداد و حجم ویال‌های کنترلی
- زمان تزریق DMSO
- نام پردازشگر
- اطلاعات مربوط به جایگاه نمونه و نمونه‌های کنترلی آن در تانک نگهداری
- نمودار ثبت تغییرات دما در دستگاه فریز تدریجی

۶-۵-۵- دور ریختن نمونه‌های خون بند ناف

یک واحد خون بند ناف به منظور ذخیره‌سازی باید از صحت و سلامت کامل برخوردار باشد و مجموعه‌ای از آزمایشات و استانداردها را پشت سر گذارد. چنانچه یک واحد خونی واجد استانداردهای لازم نباشد باید دور ریخته شود.

شرایط دور ریختن نمونه عبارتند از:

- حجم نمونه در مورد متقاضیان ذخیره‌سازی خون بند ناف کمتر از ۵۰ سی‌سی و در مورد اهداکنندگان کمتر از ۱۵۰ سی‌سی باشد.
- تعداد سلول اولیه در مورد متقاضیان ذخیره‌سازی خون بند ناف کمتر از ۶۵۰ میلیون (در موارد وجود استمرار قرارداد ۴۵۰ میلیون) و در مورد اهداکنندگان کمتر از ۱,۵ میلیارد باشد.
- Viability نمونه‌ها جهت نگهداری کمتر از ۸۵ در مورد اهداکنندگان و ۷۵ در مورد متقاضیان ذخیره‌سازی باشد.
- نمونه نهایی جهت فریز دارای کلمپ فراوان باشد.
- نتیجه تست‌های ویروسی یا میکروبی صورت گرفته بر روی نمونه مثبت باشد.
- پس از فریز و نگهداری نمونه مشخص شود اهدا کننده، متقاضی ذخیره‌سازی و یا نوزاد مشکل پزشکی دارند که منجر به شرایط منع ذخیره‌سازی شود. جهت دور ریختن نمونه‌ها می‌بایستی موارد زیر کنترل شود:
 - ابتدا پرونده مربوط به نمونه خون را بررسی نمایید.
 - کلیه آزمایشات و استانداردها را چک نمایید و از صحت یا عدم صحت آن اطمینان حاصل نمایید
 - چنانچه کنسل شدن نمونه توسط مدیر فنی آزمایشگاه و یا مدیر کیفی مورد تایید قرار گرفت، تاییدیه مجدد برای دفع نمونه صادر شده و نمونه را دور بریزید.
 - تاریخ دور ریختن و نام کارشناس مربوطه و دلیل دور ریختن آن باید ثبت و نگهداری شود.
 - جهت دفع نمونه لازم است هم حجم و یا بیشتر از حجم نمونه دکونکس و یا محلول ۱۰٪ وایتکس به نمونه اضافه شود.
 - نمونه‌ها می‌بایستی برای قسمت دفع زباله‌های بیمارستانی ارسال شوند.
 - به هیچ عنوان نباید نمونه در فاضلاب شهری دفع شود.

۶-۶- تست‌های کنترلی انجام شده بر روی خون بند ناف و اهداکنندگان و متقاضیان ذخیره‌سازی خون بند

ناف

به منظور اطمینان از شرایط ایمنی و اثر بخشی نمونه‌های خون بند ناف و همچنین وضعیت شاخص HLA آنها، لازم است تست‌های کنترل کیفی و ژنتیکی بر روی نمونه‌ها توسط بانک خون بند ناف انجام پذیرد.

۶-۶-۱- آزمایشات میکروبی بر روی خون بند ناف

- بانک خون بند ناف می‌بایستی تست‌های میکروبی هوازی، بی‌هوازی و قارچی بر روی نمونه خون بند ناف قبل از فریز نمونه و یا بر روی پلاسمای خون بند ناف انجام دهد.
- در صورت مثبت بودن تست میکروبی جهت تعیین منشأ آلودگی بهتر است بر روی نمونه اولیه ورودی به آزمایشگاه پردازش تست میکروبی مجدد قرار داده شود.
- در صورت مثبت بودن تست‌های میکروبی نگهداری نمونه کنسل و نمونه مطابق الزامات بند ۶-۵-۵ دور ریخته می‌شود.
- در صورت مثبت بودن تست‌های میکروبی می‌بایستی نمونه از لحاظ نوع آلودگی میکروبی تعیین سویه و در صورت تشخیص آلودگی پاتوژن حتماً می‌بایستی به اطلاع اهداکننده و یا متقاضی ذخیره‌سازی خون بند ناف رسانده شود.
- بانک خون بند ناف می‌بایستی اطلاعات ضروری آزمایشات میکروبی صورت گرفته بر روی خون بند ناف را به شکل مناسبی ثبت و نگهداری کند. این اطلاعات عبارتند از:

۱. نوع نمونه (پلازما یا بافی‌کوت)

۲. تاریخ انجام آزمایش

۳. نام کارشناس آزمایشگاه میکروب شناسی

۴. نتایج تست کشت میکروبی

۵. نتایج تعیین سویه

۶. منشاء آلودگی در صورت کشف

۶-۶-۲- آزمایشات ویروسی بر روی نمونه خون اهدا کننده یا متقاضی ذخیره‌سازی خون بند ناف (مادر نوزاد)

- بانک خون بند ناف می‌بایستی تست‌های ویروسی از لحاظ اطمینان از عدم ابتلا اهداکننده یا متقاضی ذخیره‌سازی خون بند ناف (مادر نوزاد) به بیماری‌های ویروسی در فاصله زمانی ۷ روز قبل از زایمان تا ۷ روز پس از زایمان انجام دهد. لیست تست‌های ویروسی ضروری عبارتند از:

۱. Syphilis

۲. CMV

۳. HTLV (I&II)

۴. HIV (I&II)

۵. Hepatit C

۶. Hepatit B

تذکر: تست‌های HIV (I&II)، Hepatit C و Hepatit B می‌بایستی به روش ملکولی انجام شوند.

- بانک خون بند ناف می‌بایستی اطلاعات ضروری آزمایشات ویروسی صورت گرفته بر روی خون محیطی مادر نوزاد را به شکل مناسبی ثبت و نگهداری کند. این اطلاعات عبارتند از:

۱. نتایج تست‌های ویروسی

۲. روش انجام تست‌های ویروسی

۳. نام اپراتور آزمایشگاه

۴. تاریخ انجام تست

۶-۶-۳- آزمایش تعیین مارکرهای سطحی سلول

- بانک خون بند ناف می‌بایستی تعداد و Viability مارکر CD34+ و Viability مارکر CD45+ را با دستگاه فلوسایتومتری اندازه‌گیری نماید.
- بانک خون بند ناف می‌بایستی اطلاعات ضروری آزمایشات تعیین مارکرهای سطحی سلول را به شکل مناسبی ثبت و نگهداری کند. این اطلاعات عبارتند از:

۱. نتایج تعداد و Viability مارکر CD34+ و Viability مارکر CD45+

۲. تاریخ انجام تست

۳. شماره بسته (Lot Number)، Reagent ها و تاریخ انقضای آن

۶-۶-۴- آزمایش تعیین HLA خون بند ناف

- بانک خون بند ناف ملزم به انجام آزمایش تعیین HLA بر روی نمونه خون بند ناف اهداکنندگان و در صورت تقاضا بر روی نمونه خون بند ناف متقاضیان ذخیره‌سازی خون بند ناف می‌باشد.
- آزمایش تعیین HLA صورت پذیرفته می‌بایستی شامل کلاس های A، B و DRB1 باشد.
- بانک خون بند ناف می‌بایستی اطلاعات ضروری آزمایشات تعیین HLA نمونه خون بند ناف را به شکل مناسبی ثبت و نگهداری کند. این اطلاعات عبارتند از:

۱. نتایج تعیین کلاس های A، B و DRB1

۲. نوع روش تعیین HLA (SSO یا SSP)

۳. کیت مورد استفاده

۴. شماره بسته (Lot Number)، کیت مورد استفاده و تاریخ انقضای آن

۵. نام اپراتور مراحل مختلف

۶. نتیجه OD

۶-۵-۵- آزمایش ارزیابی کلونی‌زایی نمونه

- بانک خون بند ناف لازم است جهت اطمینان از اثربخشی نمونه خون بند ناف در صورت اعلام نیاز مرکز پیوند، اقدام به ارزیابی کلونی‌زایی نمونه خون بند ناف قبل از ترخیص نمونه و ارسال به مرکز پیوند نماید.
- ارزیابی کلونی‌زایی نمونه خون بند ناف شامل تعیین CFU-E (کلونی‌زایی واحد اریترئیدی)، BFU-E (واحد شکافنده اریترئیدی)، CFU-GM (کلونی‌زایی واحد ماکروفاژ و گرانولوسیت) و CFU-GMM (کلونی‌زایی واحد گرانولوسیت، اریتروسیت، ماکروفاژ، مگاکاریوسیت)
- بانک خون بند ناف می‌بایستی اطلاعات ضروری آزمایشات ارزیابی کلونی‌زایی نمونه خون بند ناف را به شکل مناسبی ثبت و نگهداری کند. این اطلاعات عبارتند از:

۱. تعداد و درصد CFU، BFU-E، CFU-GM و CFU-GMM

۲. تاریخ انجام تست

۳. نام اپراتور

۶-۷-۷- ترخیص نمونه‌های خون بند ناف

۶-۷-۱- کلیات

بانک خون بند ناف می‌بایستی خط مشی و دستورالعمل مشخصی جهت بررسی موارد زیر در هنگام ترخیص نمونه خون بند ناف داشته باشد.

- قرار دادن نمونه در لیست جستجو بر اساس ضوابط اعلامی مرکز مدیریت پیوند و امور بیماری‌های وزارت بهداشت
- در مورد پیوندهای آلوژن: لازم است جواب تست تعیین HLA خون بند ناف مجدداً تأیید و تطابق ژنتیکی خون بند ناف و گیرنده تصدیق شود.
- در مورد پیوندهای اتولوگ: لازم است تأیید شود که خون بند ناف با صاحب نمونه و گیرنده یک فرد می‌باشد.
- در مورد استفاده از نمونه‌های خون بند ناف متقاضیان ذخیره سازی خون بند ناف لازم است قبل از استفاده برای فردی غیر از صاحب نمونه حتماً رضایت‌نامه کتبی آگاهانه اهدا توسط صاحب نمونه تکمیل شود.

- بانک خون بند ناف ملزم به راه‌اندازی سامانه الکترونیکی جهت ثبت اطلاعات شاخص‌های ژنتیکی نمونه‌های ذخیره‌سازی شده بمنظور تسهیل فرایند جستجوی نمونه، می‌باشد.
- یک روش اجرایی مدون جهت دفریز و ترخیص نمونه‌های خون بند ناف می‌بایستی توسط بانک خون بند ناف تدوین و اجرایی گردد.
- در زمان ترخیص نمونه می‌بایستی کلیه مدارک و مستندات بررسی‌های پزشکی بعمل آمده در زمان ذخیره‌سازی، پرسشنامه پزشکی، فرم سلامت کودک، نتایج آزمایش‌های صورت گرفته بر روی نمونه خون بند ناف و خون مادر قبل از دفریز نمونه جهت تأیید به رویت مرکز پیوند رسانده شود.
- بانک خون بند ناف ملزم به پیگیری وضعیت بیمار پس از استفاده از نمونه خون بند ناف می‌باشد. بدین منظور لازم است فرم پیگیری وضعیت گیرنده نمونه خون بند ناف پس از پیوند (پیوست ۶) توسط مرکز پیوند تکمیل و در اختیار بانک خون بند ناف قرار داده شود.

۶-۷-۲- انتقال نمونه خون بند ناف به مرکز پیوند

بانک خون بند ناف می‌بایستی خط مشی و دستورالعمل مشخصی جهت انتقال خون بند ناف به مرکز پیوند داشته باشد. این خط مشی و دستورالعمل باید شامل موارد زیر باشد:

- بانک خون بند ناف مسئول انتقال نمونه از محل بانک خون بند ناف به مرکز پیوند می‌باشد.
- تاریخ و زمان بسته بندی نمونه خون بند ناف، تاریخ و زمان انتقال نمونه به مرکز پیوند، مشخصات کامل وسیله حمل نمونه و فرد انتقال دهنده نمونه، تاریخ و زمان دریافت نمونه در مرکز پیوند، پایش و مانیتور دمایی نمونه در طول مدت انتقال، هویت دریافت کننده نمونه، می‌بایستی مشخص و ثبت شود. در هر مرحله تأییدیه افراد درگیر در فرایند می‌بایستی وجود داشته باشد.

۶-۸- برچسب‌گذاری و ردیابی نمونه خون بند ناف

بانک خون بند ناف می‌بایستی دستورالعمل مدونی جهت برچسب‌گذاری و ردیابی نمونه خون بند ناف در تمام مراحل انتخاب اهدا کننده یا پذیرش متقاضی ذخیره‌سازی خون بند ناف، جمع‌آوری نمونه خون بند ناف، حمل و انتقال نمونه خون بند ناف به مرکز، ورود نمونه خون بند ناف به آزمایشگاه پردازش، آزمایشگاه میکروب شناسی، آزمایشگاه ویروس شناسی، آزمایشگاه تعیین HLA، آزمایشگاه ارزیابی کلونی‌زایی و آزمایشگاه فلوسایتومتری داشته باشد. بعلاوه لازم است هر نمونه خون بند ناف دارای یک کد منحصر به فرد بوده که این کد می‌بایستی بر اساس استاندارد بین‌المللی ISBT باشد. کد انحصاری هر نمونه می‌بایستی بر روی تمامی مدارک و مستندات

مربوط به نمونه (مانند فرم رضایت آگاهانه اهداء خون بند ناف، قرارداد ع ضویت، فرم اطلاعات خونگیری، گواهی فریز نمونه و غیره)، برچسب‌های الا صاق شده بر روی کیسه خون، لوله خون محیطی مادر، مخزن حمل نمونه، نمونه‌های ار سالی به آزمایشگاه‌های میکروب شناسی، ویروس شناسی، تعیین HLA، ارزیابی کلونی‌زایی و فلوسایتومتری، و کلیه نمونه‌های برداشته شده در آزمایشگاه پردازش و غیره، درج شده باشد.

۶-۹- مدیریت کیفیت

بانک خون بند ناف ملزم به پیاده سازی یک سیستم مدیریت کیفیت بر اساس الزامات استاندارد بین المللی ISO 9001:2015 و در انطباق کامل با الزامات این دستورالعمل می‌باشد. همچنین با توجه به جنبه‌های بارز زیست محیطی فعالیت‌های بانک خون بند ناف لازم است یک سیستم مدیریت زیست محیطی بر اساس الزامات استاندارد بین المللی ISO 14001:2015 استقرار داده و متعهد به رعایت الزامات این استاندارد باشد.

• بانک خون بند ناف ملزم به تدوین یک برنامه کنترل کیفی با هدف کنترل نقاط بحرانی فرایند ذخیره‌سازی خون بند ناف را بر عهده دارد. کنترل نقاط بحرانی ذخیره‌سازی خون بند ناف حداقل عبارتند از:

۱. کنترل فرایند تأیید صلاحیت اهداکنندگان و متقاضیان ذخیره‌سازی خون بند ناف

۲. کنترل فرایند جمع‌آوری خون بند ناف

۳. کنترل فرایند حمل و انتقال نمونه خون بند ناف از مراکز جمع‌آوری خون بند ناف به مرکز

۴. کنترل نمونه ورودی به آزمایشگاه پردازش

۵. کنترل شرایط آزمایشگاه پردازش و بررسی امکان سنجی شروع پردازش

۶. کنترل فرایند پردازش و فریز نمونه‌های خون بند ناف

۷. کنترل شرایط نمونه پردازش شده و ذخیره شده در تانک

۸. کنترل وجود هرگونه آلودگی میکروبی و ویروسی در نمونه خون بند ناف

۹. کنترل فرایند بررسی مارکرهای سطحی سلول

۱۰. کنترل فرایند تعیین شاخص‌های ژنتیکی سلول

۱۱. کنترل فرایند ارزیابی کلونی‌زایی

۱۲. کنترل فرایند دور انداختن نمونه

۱۳. کنترل فرایند ترخیص نمونه جهت استفاده

۱۴. کنترل فرایند ارزیابی تامین‌کنندگان

۱۵. کنترل فرایند خرید

۱۶. تصدیق محصولات خریداری شده

۱۷. کنترل تجهیزات پایش و اندازه‌گیری. لازم است یک برنامه مدون جهت کنترل داخلی تجهیزات پایش و اندازه‌گیری و کالیبراسیون خارجی این تجهیزات وجود داشته باشد.

- بانک خون بند ناف ملزم به تدوین یک روش اجرایی مدون بمنظور ممیزی داخلی سیستم مدیریت کیفیت خود و بررسی انطباق عملکرد کلیه فرایندهای خود با الزامات این دستورالعمل حداقل یک بار در سال دارد. این روش اجرایی می‌بایستی در برگیرنده برنامه ممیزی داخلی نیز باشد.
- یک روش اجرایی مدون جهت کنترل محصول نامنطبق می‌بایستی توسط بانک خون بند ناف تدوین و اجرایی گردد.
- کلیه اطلاعات مربوط به اهداکننده یا متقاضی ذخیره‌سازی خون بند ناف و همچنین اطلاعات آزمایشگاهی می‌بایستی پس از تأیید مدیر فنی آزمایشگاه‌ها توسط پرسنل واحد مدیریت کیفیت بررسی و تصدیق شوند.

ماده ۷: نظارت

ستاد اجرایی وزارت بهداشت بر نحوه‌ی عملکرد بانک‌های خون بند ناف بر اساس دستورالعمل‌ها و استانداردهای مربوطه نظارت دارد.

ماده ۸: آدرس سامانه‌ها

<https://www.rsct.ir/>

<https://tehran.ibto.ir/>

<http://shariati.tums.ac.ir/>

سامانه بانک خون بند ناف رویان

سامانه سازمان انتقال خون

سامانه بیمارستان شریعتی

منابع و مراجع

- 1- American Association of Blood Banks, Standards for Blood Banks and Transfusion Services, 9th edition of standards for cellular therapy services.
- 2- Areman E, Deeg HJ, Sacher RA. Bone Marrow and Stem Cell Processing: A Manual of Current Techniques. F.A. Davis Company, Philadelphia, 1992.
- 3- David H, Diane M, Jeffrey M, Donna M. Umbilical cord blood. In: AABB Technical Manual. 17th ed., Ch. 31. USA; 2011
- 4- Fraser JK, Cairo MS, Wagner EL, McCURDY PR, Baxter-Lowe LA, Carter SL, Kernan NA, Lill MC, Slone V, Wagner JE, Wallas CH. Cord Blood Transplantation Study (COBLT): cord blood bank standard operating procedures. Journal of hematotherapy. 1998 Dec;7(6):521-61
- 5- International CBB SOP Project 2005
- 6- Netcord/Fact, International Standards for Cord Blood Collection, Processing, Testing, Banking, Selection and release, 2017
- 7- Rubinstein P, Dobrila LI, Rosenfeld R, et al. Proc of the National Academy of Sciences USA, Volume 92, pp. 10119-10122, October 1995.
- 8- Zuck TF. The applicability of cGMP to cord blood cell banking. Journal of Hematotherapy 5:135-137,1996 CPD Placental/Umbilical Cord Blood Stem Cell Collection Unit.
- 9- <https://wmda.info/>

پیوست‌ها

پیوست ۱. پرسشنامه پزشکی

پیوست ۲. فرم رضایت آگاهانه اهدا خون بند ناف

پیوست ۳. درخواست عضویت

پیوست ۴. پرسشنامه سلامت کودک

پیوست ۵. فرم اطلاعات خونگیری

پیوست ۶. فرم پیگیری (Follow up) پیوند سلول‌های بنیادی خون بند ناف