

ĐẶT VẤN ĐỀ

Lịch sử truyền máu được bắt đầu vào những năm đầu của thế kỷ XVII, tuy nhiên chỉ đến khi nhà bác học Karl Landsteiner phát hiện ra hệ nhóm máu ABO ở người vào đầu thế kỷ XX thì truyền máu mới thật sự phát triển. Bước đột phá của truyền máu hiện đại là điều chế, chỉ định sử dụng các thành phần máu trong lâm sàng. Với sự tiến bộ của khoa học kỹ thuật và sự hiểu biết đầy đủ về miễn dịch huyết học, người ta đã tách riêng được các thành phần hồng cầu, tiểu cầu, bạch cầu hạt trung tính, huyết tương tươi, tủa lạnh yếu tố VIII, γ -globulin, albumin và các yếu tố đông máu. Trong điều trị, việc sử dụng các chế phẩm máu vừa mang tính khoa học, vừa có lợi ích kinh tế, bệnh nhân được cung cấp những thành phần máu mà họ thiếu, không truyền những thành phần không cần vì có thể gây ra các phản ứng miễn dịch, lãng phí các thành phần máu không cần thiết.

Tiểu cầu đóng vai trò quan trọng trong tất cả các giai đoạn đông cầm máu và góp phần vào quá trình làm lành vết thương. Sự khiếm khuyết của tiểu cầu về số lượng và/hoặc chức năng đều có thể đưa đến tình trạng xuất huyết với các mức độ khác nhau, nhiều khi đe dọa đến tính mạng của bệnh nhân (xuất huyết não, đường tiêu hóa, thận...). Truyền khối tiểu cầu là một liệu pháp điều trị thay thế rất quan trọng giúp cho bệnh nhân được bổ sung đủ số lượng tiểu cầu cần thiết để ngăn chặn quá trình chảy máu.

Tại các trung tâm truyền máu trên thế giới cũng như ở Việt Nam, khối tiểu cầu (KTC) có thể được điều chế bằng nhiều kỹ thuật khác nhau như: kỹ thuật ly tâm để điều chế khối tiểu cầu từ đơn vị máu toàn phần, khối tiểu cầu gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào máu tự động. Vì vậy đánh giá chất lượng của mỗi loại khối tiểu cầu cũng có những tiêu chuẩn khác nhau.

Có rất nhiều yếu tố có thể ảnh hưởng đến chất lượng của khối tiểu cầu, đó là người hiến máu, quá trình điều chế và điều kiện bảo quản. Việc tìm hiểu, xác định được các yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng khối tiểu cầu sẽ giúp điều chế được một sản phẩm tiểu cầu đạt chất lượng tốt nhất. Đồng thời có thông tin về chất lượng các loại khối tiểu cầu sẽ giúp thầy thuốc lâm sàng có quyết định chính xác trong lựa chọn chỉ định, có thái độ theo dõi kịp thời làm tăng hiệu quả truyền tiểu cầu trên lâm sàng, ngăn ngừa các biến chứng cũng như giảm được chi phí cho bệnh nhân. Với những lý do trên chúng tôi tiến hành đề tài: **“Nghiên cứu chất lượng và một số yếu tố ảnh hưởng tới chất lượng khối tiểu cầu”** với hai mục tiêu:

- 1. Nghiên cứu chất lượng các loại khối tiểu cầu được điều chế từ đơn vị máu toàn phần và gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào máu tự động tại Viện Huyết học – Truyền máu Trung ương.*
- 2. Nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng tới chất lượng của khối tiểu cầu.*

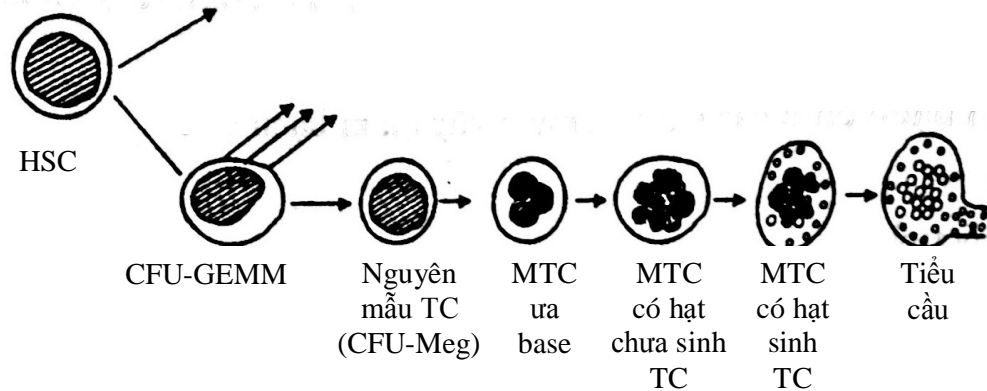
Chương 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1 Đặc điểm sinh lý, sinh hóa của tiểu cầu

1.1.1 Đặc điểm sinh sản của tiểu cầu

Quá trình sinh tiểu cầu là quá trình sinh sản và biệt hóa từ tế bào gốc vạn năng theo sơ đồ sau :



Hình 1.1: Sơ đồ sinh tiểu cầu [1]

(HSC: hemopoietic stem cells, MTC: mẫu tiểu cầu, TC: tiểu cầu)

Quá trình này diễn ra trong một vi môi trường phức tạp của tủy xương. Mẫu tiểu cầu trưởng thành ở tuổi sinh tiểu cầu là tế bào máu lớn nhất trong các tế bào máu ở tủy xương, với nhân rất to, nhiều múi, nguyên sinh chất rộng chứa rất nhiều hạt. Tủy xương có thể tái tạo 108 mẫu tiểu cầu mỗi ngày [2],[3]. Mỗi mẫu tiểu cầu có thể sinh được từ 2.000 đến 5.000 tiểu cầu [3],[4],[5].

Sinh tiểu cầu từ mẫu tiểu cầu, hiện nay có hai giả thuyết không loại trừ lẫn nhau. Một giả thuyết cho rằng mẫu tiểu cầu duỗi dài một phần bào tương (nảy chồi), sau đó chít hẹp lại từng đoạn và tách ra để tạo các tiểu cầu [3],[4],[6],[7]. Một giả thuyết khác đề xuất rằng lớp màng của tiểu cầu được hình thành trong bào tương của mẫu tiểu cầu, sau đó tiểu cầu được phóng

thích ra ngoài bởi sự phân mảnh của bào tương [5],[8].

Số lượng tiểu cầu bình thường ở máu ngoại vi là từ 150 đến $450 \times 10^9/l$ [6],[9]. Thời sống trung bình của tiểu cầu là 10 ngày. Sau khi được sinh ra tại các xoang tủy xương, tiểu cầu ra máu ngoại vi, $2/3$ lưu hành ở máu ngoại vi, $1/3$ giữ lại ở lách [6],[9],[10]. Hầu hết tiểu cầu được loại bỏ ở lách và gan sau quá trình lão hóa, nhưng một phần không nhỏ liên tục bị loại bỏ qua sự tham gia duy trì tính toàn vẹn của mạch máu.

Có rất nhiều cytokine tham gia vào việc điều hòa quá trình sinh tiểu cầu, các chất này có thể tác động vào nhiều giai đoạn như tăng sinh, trưởng thành của mẫu tiểu cầu và sự tạo thành tiểu cầu.

Thrombopoietin (TPO): là yếu tố tăng trưởng chính cho dòng mẫu tiểu cầu, đóng vai trò trung tâm trong sự phát triển của tế bào gốc tạo máu [5],[11],[12]. TPO kích thích mẫu tiểu cầu để tăng kích thước tế bào, hình thành các chồi tạo tiểu cầu sau đó phân mảnh thành tiểu cầu, nhưng không phải độc quyền hoạt động này, TPO kết hợp với các yếu tố khác granulomonoclonal colony stimulating factor (GM-CSF), interleukin-3 (IL-3), IL-6, IL-11, fibroblast growth factor (FGF) và erythropoietin (EPO) [5],[6],[13]. GM-CSF, IL-3 có tác dụng kích thích sự tạo dòng mẫu tiểu cầu, trong đó IL-3 có tác dụng mạnh hơn [6]. IL-6, IL-11 làm mẫu tiểu cầu trưởng thành biểu hiện ở tăng kích thước tế bào, tăng sự phân múi của nhân. EPO tác động trong quá trình trưởng thành của mẫu tiểu cầu [5],[6].

* Nhóm có tác dụng ức chế: transforming growth factor (TGF), IL-4, yếu tố 4 tiểu cầu [5].

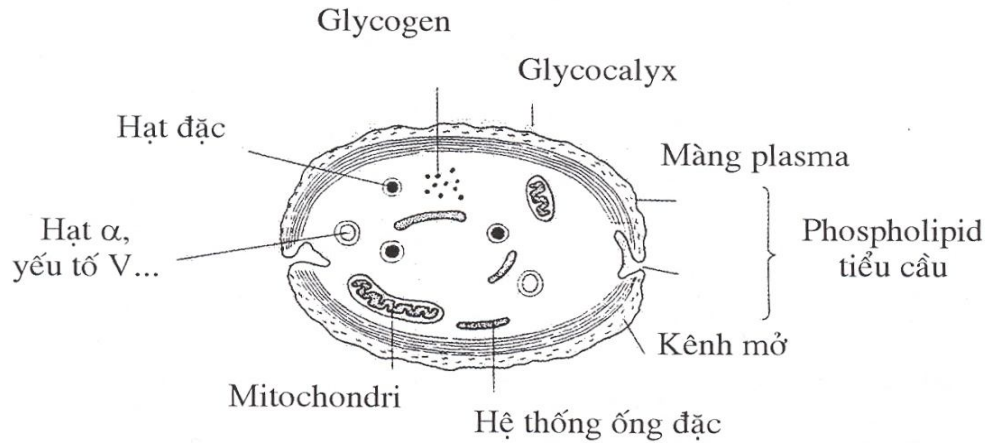
1.1.2 Cấu trúc tiểu cầu

1.1.2.1 Hình ảnh vi thể

Trên tiêu bản nhuộm Giemsa, tiểu cầu là một tế bào nhỏ, không nhân, hình tròn hoặc bầu dục, đường kính trung bình $2-4\mu m$ [9], bắt màu

tím hồng, có thể quan sát được màng tiểu cầu như một đường viền mỏng và những hạt lấm tẩm nhỏ như đầu kim bất màu đậm hơn nằm trong nguyên sinh chất tiểu cầu.

1.1.2.2 Hình ảnh siêu cấu trúc



Hình 1.2: Cấu trúc tiểu cầu [1]

Dưới kính hiển vi điện tử tiểu cầu được ghi nhận có các thành phần

* Lớp màng ngoài: lớp này dày khoảng 14-20nm, thành phần chính là glycoprotein (GP), glycolipid, mucopolysaccharid và các protein của huyết tương hấp phụ lên.

* Màng bào tương: màng này được cấu tạo gồm 3 lớp, hai lớp lipid kép và lớp glycoprotein. Trong lớp lipid có gắn cholesterol, glycolipid. Phospholipid chủ yếu là phosphatidyncholin (PC), sphingomyelin (SphM), phosphatidylethanolamin (PE), phosphatidynserin (PS) và phosphatidyinositol (PI). Các glycoprotein màng đóng vai trò như các thụ thể bề mặt [14],[15].

Bảng 1.1: Các thụ thể bề mặt chính của tiểu cầu [9].

Glycoprotein Thụ thể	Chức năng/chất liên kết
GPIIb/IIIa	Thụ thể của fibrinogen, vWF, fibronectin, vitronectin, thrombospondin
GPIa/IIa	Collagen
GPIb/IX/V	vWP
GPVI	Collagen

Màng tiểu cầu có chứa “bơm” $\text{Na}^+/\text{Na}^+ - \text{ATP ase}$ có tác dụng điều chỉnh sự ổn định của ion trong tiểu cầu.

* Các yếu tố tạo khung đỡ tiểu cầu

Các vi ống: nằm sát dưới màng tiểu cầu bao quanh chu vi tiểu cầu tạo nên khung đỡ và cùng với các sợi actin tạo nên hình đĩa cho tiểu cầu.

Các vi sợi: bản chất các vi sợi là actin, chất này rất giàu trong tiểu cầu. Khi tiểu cầu bị hoạt hóa và thay đổi hình dạng thì các vi sợi xuất hiện nhiều lên và tham gia tạo giả túc của tiểu cầu [9],[16].

* Hệ thống đặc và kênh mở

Hệ thống đặc là một khối vật chất vô định hình dày đặc điện tử, là nơi dự trữ Ca^{++} của tiểu cầu là nơi tổng hợp men cyclooxygenase và prostaglandin [9],[16].

Hệ thống kênh mở: là một hệ thống ống dẫn từ trong bào tương của tiểu cầu ra đến lớp màng ngoài, tạo thành các lỗ nhỏ li ti trên bề mặt tiểu cầu. Hệ thống này đóng vai trò như một đường dẫn cho các chất từ bên ngoài môi trường đi vào trong tế bào chất của tiểu cầu và là nơi đưa các chất được giải phóng từ các hạt ra khỏi tiểu cầu khi chúng bị hoạt hóa [9],[16].

* Các bào quan

Ty thể: mỗi tiểu cầu có khoảng 7 ty thể, với kích thước tương đối nhỏ, chúng đóng vai trò tạo dự trữ năng lượng cho tiểu cầu thông qua các phản ứng oxydase [6],[9],[16].

Lysosome: có chứa nhiều enzyme như galactosidase, fucosidase, hexosanidase, glucuronidase.

Peroxisome: là các hạt rất nhỏ nằm trong tiểu cầu, đóng vai trò trong sự chuyển hóa lipid của tiểu cầu.

Các hạt của tiểu cầu: chứa rất nhiều chất tham gia vào quá trình dính, ngưng tập của tiểu cầu với nồng độ rất cao, nó chỉ được tiết ra khi tiểu cầu bị kích hoạt bao gồm:

+ *Hạt đậm*: là các hạt phân bố rất nhiều trong tiểu cầu, các hạt này có đường kính từ 20-30nm, rất giàu adenosine triphosphate (ATP), adenosine diphosphate (ADP), chứa hàm lượng cao canxi, serotonin, pyrophosphate.

+ *Hạt α* : là loại hạt chiếm tỷ lệ cao nhất trong tiểu cầu, mỗi tiểu cầu có khoảng 50-80 hạt α , hạt này chứa các protein đóng nhiều vai trò khác nhau trong quá trình cầm máu, đông máu và sự lành vết thương [6],[9],[16].

Bảng 1.2: Thành phần của hạt α [6].

Tính chất của protein	Tên của protein
Protein đặc hiệu cho tiểu cầu	Yếu tố 4 tiểu cầu, B-thromboglobulin
Glycoprotein dính	Fibrinogen, yếu tố von Willebrand, fibronectin, thrombospondin
Yếu tố đông máu	Yếu tố V, XI, protein S
Yếu tố gây gián phân	PDGF, TGF- β , EGF, ECGF
Chất ức chế hiện tượng tiêu sợi huyết	Chất ức chế α_2 -plasmin, PAI
Protein kết hợp màng	P-selectin, GMP33, GPIV

1.1.3 Chức năng tiểu cầu

1.1.3.1 Vai trò của tiểu cầu trong quá trình cầm máu ban đầu.

Trong trạng thái sinh lý bình thường, tiểu cầu không dính vào nội mô mạch máu còn nguyên vẹn, khi khi tế bào nội mô thành mạch bị tổn thương tiểu cầu nhanh chóng trải qua các quá trình bám dính, thay đổi hình dạng, bài tiết và kết tập thông qua một loạt các phản ứng phối hợp tinh xảo, mà đỉnh điểm là hình thành một nút tiểu cầu tại nơi mô tổn thương [17],[18]. Quá trình chuyển đổi tiểu cầu bất hoạt thành tiểu cầu hoạt hóa xảy ra theo một chiều dọc liên tục nhưng có thể được chia thành các bước: bám dính, chế tiết và kết tập [6],[9],[14],[19].

**** Giai đoạn bám dính***

Khi thành mạch bị tổn thương, lớp tế bào nội mô bị mất đi và bộc lộ lớp dưới nội mô, lớp này có bản chất là các protein dính như: collagen, yếu tố von Willebrand, fibronectin, laminin...[6],[9],[14],[20]. Yếu tố vWF tạo điều kiện cho sự bám dính ban đầu, thông qua liên kết với phức hợp GPIb/IX/V đóng vai trò thụ thể trên màng tiểu cầu, vWF đóng vai trò quan trọng trong bám dính của tiểu cầu khi tốc độ dòng máu cao. Trong điều kiện tốc độ dòng máu thấp hoặc tĩnh, bám dính ban đầu của tiểu cầu chủ yếu thông qua liên kết collagen với GPIa/IIa [14],[21]. Những tương tác này cho phép tiểu cầu lưu thông chậm lại đủ để có sự tương tác, ràng buộc hơn nữa của các cặp thụ thể - phối tử dẫn đến sự bám dính tĩnh [6],[9],[22],[23].

Đặc biệt sự tương tác ban đầu giữa collagen và GP VI gây ra sự kích hoạt GPIIb/IIIa và GPIa/IIa. vWF và collagen hình thành liên kết mạnh mẽ tương ứng với GPIIb/IIIa và GPIa/IIa, fibrinogen liên kết với GP IIb/IIIa giữ tiểu cầu tại chỗ [6],[9].

**** Giai đoạn bài tiết***

Tiểu cầu hoạt hóa, thay đổi hình dạng từ hình đĩa thành dạng quả cầu nhỏ gọn, với phần mở rộng đuôi gai dài tạo điều kiện thuận lợi cho độ bám dính [6],[9],[24]. Cùng lúc với quá trình này, bên trong tế bào chất của tiểu cầu xảy ra hiện tượng giải phóng hạt, các chất chứa bên trong hạt sẽ được giải phóng ra môi trường bên ngoài qua hệ thống kênh mở và thực hiện vai trò sinh học của chúng.

Màng tiểu cầu: hoạt hóa phospholipase giải phóng axit arachidonic.

Hạt đặc: tiết ADP, ATP, pyrophosphat serotonin và Ca^{++} . Hạt đặc (tiết những protein đặc trưng của tiểu cầu): gia đình β thrombolobin (protein cơ bản của tiểu cầu gồm β thromboglobulin, β thromboglobulin-F và yếu tố IV tiểu cầu). Khoảng 50% ADP của tiểu cầu được lưu giữ trong hạt đặc, chúng được giải phóng sau khi tiểu cầu hoạt hóa, nhưng không thể được nạp lại [25]. ADP được dự đoán là bộ khuếch đại nổi bật kích hoạt tiểu cầu ban đầu [26]. Có 2 thụ thể ADP quan trọng trên bề mặt tiểu cầu, thụ thể $P2Y_1$ huy động Ca^{++} và thay đổi hình dạng tạm thời [27]. Thụ thể $P2Y_{12}$ tăng cường sự tiết của tiểu cầu và tham gia vào duy trì kết tập bền vững [28].

Serotonin liên kết với thụ thể 5HT_{2A} khuếch đại cùng với ADP cho phản ứng của tiểu cầu, ngoài ra serotonin có thể đóng vai trò gây đông máu, làm tăng việc lưu giữ protein đông máu như fibrinogen, thrombospondin trên bề mặt tiểu cầu.

Những protein dính: fibrinogen, vWF, thrombospondin và fibronectin, vitronectin.

Các yếu tố đông máu: yếu tố V, protein S, yếu tố XI, yếu tố XIII.

Các yếu tố tăng trưởng tiểu cầu: yếu tố tăng trưởng tiểu cầu, yếu tố tăng trưởng chuyển dạng β , yếu tố tăng trưởng tế bào nội mô, yếu tố tăng trưởng tổ chức liên kết.

Các yếu tố ức chế tiêu sợi huyết: yếu tố ức chế α_2 plasmin, yếu tố ức chế

hoạt hóa plasminogen.

Albumin và các globulin miễn dịch.

Hệ thống ống đặc: enzyme cyclooxygenase, prostaglandin thromboxan A₂.

Tiểu cầu bài tiết các protein khác:

P-Selectin (CD62P) khu trú trên màng hạt α khi chưa hoạt hóa, sau khi tiết CD62P phơi bày trên bề mặt tiểu cầu. P-Selectin và các glycoprotein phụ thuộc vào kích hoạt khác, trong đó có CD40L liên kết tiểu cầu với bạch cầu trung tính, bạch cầu đơn nhân làm cho bạch cầu được giữ ở lớp dưới nội mô [29]. HMWK (high-molecular-weight-kininogen), peptidase, protease nexin I, A₂-macroglobulin, vascular permeability factor (yếu tố thấm thấu mạch máu), interleukin-1 β . Các yếu tố được giải phóng trong giai đoạn chế tiết sẽ tương tác không chỉ với tiểu cầu mà với cả quá trình đông máu: fibrinogen, yếu tố V, vWF, II, HMWK [14],[19].

** Giai đoạn ngưng tập*

Ngưng tập tiểu cầu được đặc trưng bởi sự tích tụ tiểu cầu vào một nút cầm máu. Các thụ thể tiểu cầu trung tâm trong quá trình này là GPIIb/IIIa, liên kết các tiểu cầu kích hoạt thông qua cầu fibrinogen. Một tiểu cầu không hoạt hóa có khoảng 4.000-5.000 phức hợp GPIIb/IIIa trên bề mặt của nó [14]. Trong trạng thái không hoạt động, thụ thể này không thể gắn với fibrinogen, vWF, TSP, fibronectin, vitronectin. Chỉ khi tiểu cầu được hoạt hóa, phức hợp GPIIb/IIIa mới được hoạt hóa, hoạt động như một thụ thể dành cho fibrinogen, chất này lại gắn với thụ thể trên các tiểu cầu khác tạo nên một cầu nối làm cho các tiểu cầu ngưng tập lại với nhau và tiếp tục hoạt hóa [9],[14],[30],[31],[32]. Hai giai đoạn ngưng tập và hoạt hóa tác động qua lại, tương hỗ lẫn nhau diễn ra liên tục cho đến khi tạo thành nút tiểu cầu.

1.1.3.2 Vai trò của tiểu cầu trong quá trình đông máu huyết tương

Ngay từ khi bắt đầu hiện tượng bám dính, tiểu cầu thay đổi hình dạng và chế tiết những hoạt chất tham gia quá trình khởi động đông máu HMWK, yếu tố này cùng với kallikrein hoạt hóa yếu tố XII bước đầu của quá trình đông máu. Tiểu cầu có thể làm tăng nhanh sự tổng hợp thrombin. Một lượng nhỏ thrombin được hình thành trên bề mặt của một số tế bào mang TF (tissue factor) như: nguyên bào sợi, bạch cầu đơn nhân hoạt hóa hoặc tế bào nội mô, lượng này của thrombin không có khả năng để tạo ra một cục máu đông fibrin ổn định, nhưng đủ để hoạt hóa tiểu cầu. Tiểu cầu hoạt hóa sau đó có thể liên kết các yếu tố đông máu bởi các thụ thể chuyên biệt. Tiểu cầu liên kết với các yếu tố V và VIII chống lại sự phân cắt bởi hoạt tính protein C [21],[33].

Trên bề mặt tiểu cầu, XIa liên kết với thụ thể GPIb và hoạt hóa yếu tố IX. Ngược lại yếu tố Xa dễ dàng bị ức chế bởi TF. Các hoạt động phối hợp của các yếu tố đông máu trên bề mặt tiểu cầu mang đến một sự bùng nổ hình thành thrombin, vì vậy một cục máu đông ổn định fibrin được hình thành. Ngoài ra tiểu cầu còn cung cấp khoảng 20% yếu tố V, tiểu cầu còn là nguồn cung cấp các yếu tố đông máu khác như fibrinogen, yếu tố IX, XIII [33].

1.1.3.3 Vai trò của tiểu cầu trong quá trình lành vết thương

Tiểu cầu tham gia vào quá trình lành vết thương qua hiện tượng co cục máu và qua sự giải phóng các yếu tố tăng trưởng từ tiểu cầu (PDGF: platelet derived growth factor), yếu tố tăng trưởng chuyển dạng β (TGF- β : transforming growth factor), yếu tố tăng trưởng tế bào nội mô (ECGF: endothelial cell growth factor), yếu tố tăng trưởng tế bào biểu bì (EGF: epidermal growth factor) [16].

1.1.4 Sinh hóa của tiểu cầu

Tiểu cầu được tạo ra từ sự phân mảnh của bào tương mẫu tiểu cầu. Các tiểu cầu không có nhân, vì vậy chúng không tổng hợp protein. Hai quá trình

chuyển hoá chính của tiểu cầu lúc nghỉ là sự ly giải đường hay glycogen và sự phosphoryl hoá. Các quá trình này tăng lên rõ rệt khi tiểu cầu bị hoạt hoá, ngoài ra các quá trình sinh hoá khác cũng xảy ra khi tiểu cầu bị kích thích như sự dịch chuyển của ion calci, sự phosphoryl hoá protein, sự giải phóng các arachidonate...

1.1.4.1 Chuyển hoá của tiểu cầu khi nghỉ.

Tiểu cầu sử dụng năng lượng từ ATP, chất này có thể được tạo thành qua sự thoái giáng của glucose, acid béo, acid amin từ huyết tương hay môi trường nuôi dưỡng và từ glycogen của tiểu cầu.

** Chuyển hoá carbohydrate của tiểu cầu*

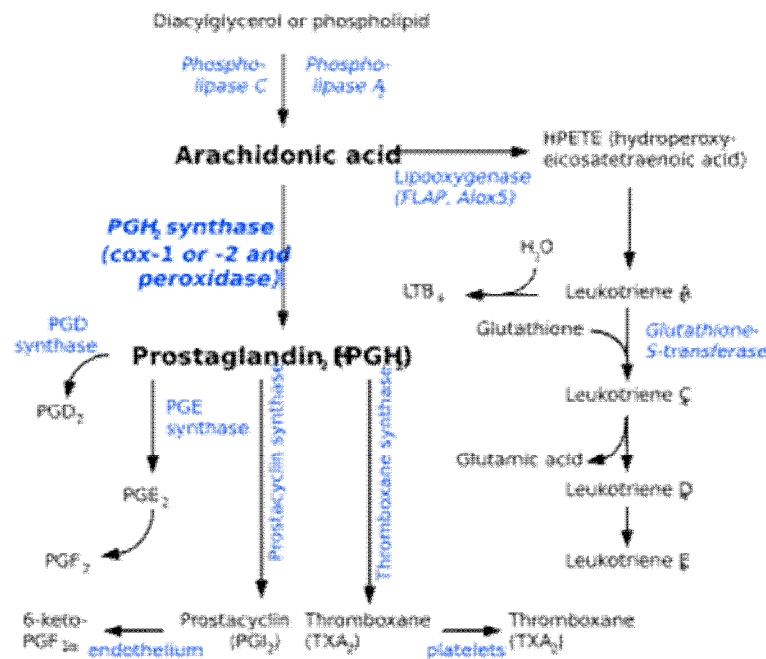
Sự ly giải glucose và glycogen là con đường chuyển hoá chính của tiểu cầu để tạo năng lượng. Quá trình này phụ thuộc vào glucose ngoại bào và oxy. Sự ly giải đường yếm khí là quá trình chuyển hoá glucose-6-phosphate thành lactate, glucose-6-phosphate được hình thành từ hai đường: (1) sự phosphoryl hoá của glucose được vận chuyển qua màng tiểu cầu bởi hexokinase và (2) được chuyển hoá từ glucose-1-phosphate, sản phẩm ly giải từ glycogen. Glucose-6-phosphate cũng được chuyển hoá bởi con đường hexose monophosphate, quá trình này tạo thành CO_2 và NADPH, chất này được dùng để tổng hợp acid béo. Sự ly giải đường trong điều kiện ái khí sẽ tạo ra pyruvate, chất này bị oxy hoá thành CO_2 và H_2O ở trong ty thể của tiểu cầu. Enzym đầu tiên của quá trình này là pyruvate dehydrogenase đóng vai trò trung tâm trong hiệu ứng Crabtree và Pasteur và đóng vai trò quan trọng trong sự biến đổi số lượng ATP được tạo thành bởi sự oxy-phosphoryl hoá trong điều kiện khác nhau của số lượng và phương cách phân lập tiểu cầu (34).

** Chuyển hoá lipid của tiểu cầu*

Acid béo được biến đổi thành acyl CoA qua enzym acyl CoA synthetase, nhóm acyl được este hoá tạo thành acid lipophosphatidic và sau

đó tạo thành acid phosphatidic. Chất này được dephosphoryl hoá tạo thành diglycerid. Diglycerid là tiền chất của nhóm diacyl-glycerol trong thành phần của các phospholipid như phosphatidyl cholin, phosphatidyl ethanolamin và phosphatidyl serine [24],[34].

Các acid arachidonic được giải phóng từ glycerophospholipid. Dưới tác dụng của các enzym cyclo-oxygenase và lipooxygenase, acid arachidonic tự do sẽ chuyển hoá thành các sản phẩm eicosanoid. Các sản phẩm này có thể là chất ức chế hay kích thích mạnh đối với tiểu cầu [24],[34].



Hình 1.3: Chuyển hóa của acid arachidonic [34]

Trong tiểu cầu một phần nhỏ PGH_2 , sản phẩm của sự tương tác cyclooxygenase-arachidonate, được chuyển hoá thành các prostaglandin ổn định (PGE_2 , PGD_2 , PGF_{α}), trong khi đó phần lớn sản phẩm chuyển thành thromboxane A_2 dưới tác dụng của thromboxane synthetase.

Qua con đường lipoxygenase, acid arachidonic được chuyển hoá thành 12-HPETE và 12-HETE [34].

1.1.4.2 Hoạt hóa tiểu cầu

Khi tiểu cầu đến khu vực mạch máu bị tổn thương, chúng được kích hoạt bởi một loạt chất chủ vận bao gồm ADP, thrombin, thromboxanes... tương tác với các thụ thể xuyên màng [9],[14],[24]. Kết quả cho phép kích hoạt các enzyme tham gia vào chuyển hóa, đặc biệt phosphatidylinositol 3-kinase và phospholipase C. Kết quả quá trình hoạt động chuyển hóa trong nồng độ cao của Ca^{++} bào tương và phosphoryl hóa các protein bề mặt mang lại thay đổi hình dạng tiểu cầu, giải phóng các chất trong hạt α và hạt đặc, kích thích phospholipase A_2 và giải phóng thromboxan A_2 (TXA_2), cảm ứng một bề mặt gây đông máu và kích hoạt thụ thể GPIIb/IIIa.

TXA_2 được tổng hợp bởi tiểu cầu kích hoạt từ acid arachidonic thông qua con đường cyclooxygenase (COX), sau khi hình thành TXA_2 khuếch tán qua màng tế bào và kích hoạt tiểu cầu khác. Ở các tiểu cầu TXA_2 liên kết với các thụ thể G-protein (G_q , G_{12} , hoặc G_{13}) tất cả đều kích hoạt phospholipase C (PLC). Enzym này chuyển hóa phosphoinositide màng, ví dụ biphosphate 4,5 phosphatidylinositol (PIP_2) thành tín hiệu truyền tin thứ hai inositoltriphosphates (IP_3) và diacylglycerol (DAG). DAG gây kích hoạt protein kinase C nội tế bào (PKC) gây phosphoryl hóa protein. IP_3 làm tăng nồng độ Ca^{++} từ hệ thống ống đệm đặc vào bào tương [24].

ADP được giải phóng từ tiểu cầu và hồng cầu, tiểu cầu trình diện ít nhất hai thụ thể của ADP là $P2Y_1$ và $P2Y_{12}$ chúng kết cặp với G_q và G_i tương ứng. Hoạt hóa của $P2Y_{12}$ ức chế adenylate cyclase làm giảm AMP vòng (cAMP: Cyclic adenosine monophosphate), hoạt hóa $P2Y_1$ là nguyên nhân của sự gia tăng Ca^{++} nội bào. Thụ thể $P2Y_{12}$ là thụ thể chính để khuếch đại và duy trì hoạt hóa của tiểu cầu đáp ứng với ADP [14],[24].

Thrombin nhanh chóng được tạo ra tại các điểm tổn thương của mạch máu từ protrombin lưu hành, là trung gian tạo fibrin, đại diện cho khả năng

mạnh nhất của tiểu cầu hoạt hóa.

1.1.4.3 *Ức chế tiểu cầu*

Kích hoạt tiểu cầu được tạo ra bởi quá trình sinh hóa, để suy yếu hoặc ngăn chặn nó, chất sinh lý tối quan trọng là cAMP, nó được sản xuất trong tiểu cầu là kết quả của một tín hiệu ngoại bào mà một phần lớn có nguồn gốc ngoài tiểu cầu (ví dụ tế bào nội mô sản xuất PGI₂). cGMP (cyclic guanosine monophosphate) là chất truyền tin thứ hai ức chế tiểu cầu [24].

* cGMP: tiểu cầu có chứa guanylyl cyclase, nó hoạt động sau khi tiểu cầu hoạt hóa, chuyển GTP thành cGMP [14]. Kích hoạt sinh lý của guanylyl cyclase là do acid béo không bão hòa nguồn gốc từ tiểu cầu bao gồm cả acid arachidonic hoặc có thể bởi các phân tử khác có nguồn gốc từ các mạch máu. EDRF ức chế chất chủ vận gây ra kích hoạt tiểu cầu, thông qua kích hoạt chọn lọc của guanylyl cyclase tiểu cầu [24].

Trong điều kiện sinh lý cGMP làm giảm các phản ứng của tiểu cầu với chất chủ vận.

* cAMP: tổng hợp của nó được điều tiết bởi adenylyl cyclase. cAMP ức chế tiểu cầu bằng nhiều cách, có thể ảnh hưởng tới cả hai khởi đầu và duy trì một phản ứng kích thích. Nhiều bước riêng lẻ trong con đường chuyển tải tín hiệu ban đầu của chất chủ vận bị ảnh hưởng bởi cAMP. cAMP làm giảm liên kết thrombin tới tiểu cầu, điều này ức chế hình thành một tín hiệu phức tạp. cAMP ức chế PLC, ảnh hưởng đến tín hiệu DG để kích hoạt PKC làm tăng chuyển hóa của nó tới phosphoinositides nó cũng ảnh hưởng trực tiếp đến hoạt động của PKC. Quan trọng nhất cAMP đối kháng Ca⁺⁺ thông qua sự đa dạng các cơ chế, ảnh hưởng đến giải phóng và hấp thu của Ca⁺⁺ từ hệ thống ống đậm đặc của tiểu cầu [14],[24].

Kích hoạt của tiểu cầu là một mạng lưới phức tạp của các quá trình sinh hóa phụ thuộc lẫn nhau, có chức năng tạo một nút tiểu cầu tại vị trí của mạch máu bị tổn thương. Sự cân bằng giữa kích hoạt và ức chế tiểu cầu được xác định bằng sự phối hợp dẫn truyền của các tín hiệu ngoại bào thông qua các con đường liên hệ với nhau trong tế bào và các tín hiệu thứ hai.

1.2 Chất lượng khối tiểu cầu và các yếu tố ảnh hưởng

1.2.1 Chất lượng khối tiểu cầu

1.2.1.1 Các phương pháp điều chế chế phẩm tiểu cầu.

* *Ly tâm điều chế các chế phẩm tiểu cầu.*

Ly tâm là phương pháp thông dụng để điều chế các chế phẩm máu. Việc lựa chọn các chế độ ly tâm tùy theo mục đích điều chế và yêu cầu đặc tính các thành phẩm được điều chế. Việc lựa chọn bước ly tâm đầu tiên quyết định loại chế phẩm được điều chế trong các bước sau cũng như ảnh hưởng đến các đặc tính chính của chế phẩm.

Vận tốc lắng tuân theo luật Stoke [17].

$$S_v = \frac{2 \omega^2 \cdot R \cdot r^2 \cdot (p-p_0)}{9\mu}$$

ω : tốc độ ly tâm

R: bán kính máy ly tâm

r: kích thước tế bào

p: tỷ trọng tế bào

p_0 : tỷ trọng plasma

μ : độ nhớt plasma

Bảng 1.3 Kích thước và tỷ trọng một số thành phần máu [35].

	Tỷ trọng (g/ml)	Thể tích tế bào (10^{-15} lít)
Plasma	1,026	
Tiểu cầu	1,058	9
Monocyte	1,062	470
Lymphocyte	1,070	230
Bạch cầu hạt trung tính	1,082	450
Hồng cầu	1,100	87

Khi ly tâm máu toàn phần, trong giai đoạn đầu hồng cầu và bạch cầu cùng lắng xuống nửa dưới túi máu trong khi huyết tương và tiểu cầu phân bố ở nửa trên túi máu. Trong giai đoạn tiếp theo, tiểu cầu lắng dần, đồng thời hồng cầu lắng chặt hơn ở nửa dưới túi máu và đẩy dần bạch cầu lên phần trên của khối hồng cầu. Vào giai đoạn cuối, khi tốc độ và thời gian ly tâm đủ lớn, huyết tương nghèo tế bào nằm ở nửa trên túi máu, hồng cầu nằm ở nửa dưới túi máu, tiểu cầu nằm ở phía trên khối hồng cầu, còn bạch cầu nằm xen kẽ ở phần trên cùng của khối hồng cầu. Các giai đoạn lắng của các thành phần tế bào tùy thuộc các thông số ly tâm của từng máy ly tâm.

** Điều chế khối tiểu cầu từ huyết tương giàu tiểu cầu*

Phương pháp điều chế KTC từ huyết tương giàu tiểu cầu được sử dụng đầu tiên vào thập kỷ 60 của thế kỷ XX và cho đến nay vẫn được áp dụng rộng rãi. Huyết tương giàu tiểu cầu được tách bởi một ly tâm nhẹ, sau đó huyết tương giàu tiểu cầu được ly tâm mạnh lần thứ hai để tách được huyết tương nghèo tiểu cầu và khối tiểu cầu ở phía dưới đáy túi. Để tách được tiểu cầu, tốc độ và thời gian ly tâm cần được tính toán sao cho đạt hiệu suất cao nhất mà vẫn duy trì được sự sống và chức năng của tiểu cầu. Theo tiêu chuẩn của Hiệp hội ngân hàng máu Hoa Kỳ (AABB: American association of blood banks) thì

khối tiểu cầu được điều chế theo phương pháp huyết tương giàu tiểu cầu với hai bước là bước 1: ly tâm 2.000 g trong 3 phút, bước 2: ly tâm 5.000 g trong 3 phút và mỗi khối tiểu cầu phải có $\geq 5.5 \times 10^{10}$ tiểu cầu [36].

Phương pháp huyết tương giàu tiểu cầu có ưu điểm là không bị mất hồng cầu trong quá trình điều chế do đó đảm bảo số lượng hồng cầu sử dụng cho người nhận. Tuy nhiên phương pháp này cũng có các nhược điểm là giảm hiệu suất thu nhận huyết tương, số lượng bạch cầu còn trong khối tiểu cầu cao. Phần lớn bạch cầu vẫn còn có trong khối hồng cầu vì vậy ảnh hưởng tới việc bảo quản khối hồng cầu do các chất hóa học trung gian giải phóng từ bạch cầu [37].

** Điều chế khối tiểu cầu từ lớp buffy coat*

Khối tiểu cầu điều chế theo phương pháp buffy coat từ những năm đầu của thập kỷ 70, thế kỷ XX. Khi các nhà khoa học nhận thức được vai trò bất lợi của các bạch cầu còn dư lại sau khi điều chế các chế phẩm máu. Đơn vị máu toàn phần lưu trữ không quá 24 giờ ở nhiệt độ 20-24⁰C, ly tâm mạnh để tiểu cầu lắng chủ yếu ở lớp buffy coat cùng với bạch cầu. Lớp buffy coat được tách ra tiếp tục xử lý để có một khối tiểu cầu. Lớp buffy coat được ly tâm nhẹ hồng cầu, bạch cầu lắng ở đáy túi, tiểu cầu ở phía trên với plasma được tách ra. Các nhà khoa học đã có nhiều cải tiến kỹ thuật nhằm đạt hiệu suất tách tiểu cầu cao và loại bỏ càng nhiều bạch cầu càng tốt khi điều chế. Phương pháp buffy coat có những ưu điểm là hiệu quả loại bỏ bạch cầu cao hơn, các tiểu cầu được điều chế không bị vón cục sau lần ly tâm thứ nhất, do đó chúng không bị hoạt hoá trong quá trình bảo quản [37]. Tuy nhiên phương pháp này cũng bộ lộ nhược điểm như mất một lượng hồng cầu trong quá trình điều chế, về hiệu suất tách tiểu cầu, phương pháp buffy coat thường đạt thấp hơn so với phương pháp huyết tương giàu tiểu cầu [37].

* *Gạn tách khối tiểu cầu bằng máy tách tiểu cầu tự động.*

- *Nguyên lý kỹ thuật của máy gạn tách thành phần tế bào máu*

Do các thành phần của máu có tỷ trọng, kích thước và độ nhớt khác nhau nên ly tâm sẽ phân tách thành các lớp khác nhau. Máy gạn tách thành phần máu sẽ lấy máu ra khỏi cơ thể, trộn với chất chống đông và đưa vào hệ thống ly tâm, phân tách ra các lớp và gạn tách thành phần theo yêu cầu và trả lại cơ thể các thành phần còn lại một cách tự động dựa trên phần mềm của máy đã được lập trình.

- *Phân loại máy*

Căn cứ vào kỹ thuật ly tâm dòng chảy liên tục hay không người ta phân thành hai loại máy:

Máy sử dụng kỹ thuật ly tâm dòng chảy không liên tục, máy sử dụng kỹ thuật này xử lý máu theo nhiều chu kỳ, mỗi chu kỳ hoạt động bao gồm: lấy ra một thể tích máu nhất định, ly tâm phân tách máu ra các thành phần khác nhau (hồng cầu, bạch cầu, huyết tương ...), lấy ra một thành phần rồi sau đó trả các thành phần còn lại về cho người hiến máu. Các chu kỳ lặp lại cho đến khi đạt được lượng thành phần gạn tách theo yêu cầu. Những thế hệ máy này có thể lấy máu tại một hoặc hai vị trí tĩnh mạch, tuy nhiên kỹ thuật sử dụng với một vị trí tĩnh mạch hay được áp dụng hơn.

Máy sử dụng kỹ thuật ly tâm dòng chảy liên tục, máy sử dụng kỹ thuật này thực hiện đồng thời, liên tục các hoạt động gồm: lấy máu ra từ một vị trí tĩnh mạch, ly tâm phân tách các thành phần khác nhau, gạn tách một thành phần theo yêu cầu và trả lại các thành phần còn lại về một vị trí tĩnh mạch khác nhờ hệ thống bơm cho từng đường đi của các thành phần máu.

Một số thiết bị gạn tách được sử dụng chủ yếu hiện nay:

- *Loại sử dụng kỹ thuật dòng chảy không liên tục:* hệ thống phổ biến là Heamonetic, các thành phần có thể thu gom được là: tiểu cầu, bạch cầu hạt

trung tính, bạch cầu đơn nhân, có thể cả hồng cầu và huyết tương [17].

- *Loại sử dụng kỹ thuật dòng chảy liên tục:*

Có nhiều loại thiết bị sử dụng nguyên lý này như:

+ CaridianBCT: COBE Spectra, Trima, Trima Accel, Spectra Optia

+ Fenwal: Amicus, Alyx.

+ Fresenius: AS 104, Comtec

Máy có thể gạn tách được nhiều loại khác nhau như: huyết tương, gạn bạch cầu, gạn tế bào gốc tạo máu từ máu ngoại vi, khối tiểu cầu... Máy được đánh giá là một thiết bị tốt đặc biệt trong việc gạn tách tế bào gốc tạo máu [17].

1.2.1.2 Một số loại khối tiểu cầu được điều chế hiện nay.

* *Khối tiểu cầu điều chế từ đơn vị máu toàn phần*

Là khối tiểu cầu điều chế từ máu toàn phần của một người hiến, có hai cách điều chế:

Điều chế từ huyết tương giàu tiểu cầu.

Điều chế từ buffy coat.

Thời gian bảo quản tối đa 5 ngày [35].

* *Khối tiểu cầu pool*

Khối tiểu cầu pool là khối tiểu cầu tiếp nhận từ 4-6 người hiến máu toàn phần. Khối tiểu cầu này có thể được điều chế trực tiếp từ buffy coat (đây là phương pháp hay được lựa chọn), thường 4-6 buffy coat tương thích nhóm máu được gộp lại một cách vô trùng, sau đó ly tâm nhẹ, tiểu cầu được chuyển vào một túi bảo quản phù hợp.

Điều chế từ các túi tiểu cầu đơn: 4-6 đơn vị (đv) khối tiểu cầu đơn chuẩn bị bằng phương pháp huyết tương giàu tiểu cầu gộp lại. Bảo quản tối đa 5 ngày, khi pool trong hệ thống hờ phải sử dụng trước 6 giờ [35].

* *Khối tiểu cầu pool giảm bạch cầu*

Khối tiểu cầu pool giảm bạch cầu bằng cách lọc bạch cầu trước khi bảo quản. Lọc bạch cầu được khuyến cáo lọc trong hoặc ngay trước khi truyền. Số lượng bạch cầu trong khối tiểu cầu tối đa $1 \times 10^6/\text{đv}$ [35].

* *Khối tiểu cầu pool trong dung dịch bảo quản*

Gộp 4-6 buffy coat một cách vô trùng và thêm dung dịch bảo quản tiểu cầu, huyết tương 30-40%, dung dịch bảo quản 60-70%. Trộn cẩn thận, ly tâm nhẹ, tiểu cầu được chuyển vào một túi bảo quản phù hợp.

Số lượng tiểu cầu $>2 \times 10^{11}/\text{đv}$

Số lượng bạch cầu $<0.3 \times 10^9/\text{đv}$

pH >6.4 , khối tiểu cầu được bảo quản tối đa 5 ngày [35].

* *Khối tiểu cầu pool giảm bạch cầu trong dung dịch bảo quản tiểu cầu.*

Tiểu cầu pool trong dung dịch bảo quản ngay sau khi được điều chế được lọc bạch cầu, chuyển vào túi bảo quản.

Số lượng bạch cầu còn lại trong khối tiểu cầu $< 1 \times 10^6/\text{đv}$ [35].

* *Khối tiểu cầu gạn tách từ người hiến máu bằng máy*

Là khối tiểu cầu gạn tách từ một người hiến duy nhất bằng cách sử dụng máy tách tế bào tự động, tiểu cầu được treo trong plasma. Khối tiểu cầu được bảo quản tối đa trong 5 ngày ở 22°C , trong máy lắc liên tục [35].

* *Khối tiểu cầu hoà hợp hệ HLA*

Ở những bệnh nhân truyền tiểu cầu kém hiệu quả cần nghĩ tới nguyên nhân đồng miễn dịch HLA và xem xét sử dụng khối tiểu cầu hoà hợp HLA được lựa chọn từ người hiến là anh chị em ruột hoặc từ danh sách người hiến đã định nhóm HLA [35].

* *Khối tiểu cầu rửa*

Khối tiểu cầu rửa được bảo quản ở nhiệt độ $20-24^{\circ}\text{C}$, hạn sử dụng không quá 6 giờ kể từ khi bắt đầu điều chế [35].

1.2.1.3 Chất lượng khối tiểu cầu

Chất lượng khối tiểu cầu được đánh giá bằng cách sử dụng các thông số số lượng tiểu cầu, thể tích khối tiểu cầu, số lượng hồng cầu, bạch cầu và độ pH cho mỗi đơn vị khối tiểu cầu. Tuy nhiên các chỉ số đánh giá chất lượng khối tiểu cầu phụ thuộc yêu cầu của từng quốc gia. Bảng 1.4 và 1.5 trình bày tiêu chuẩn chất lượng KTC theo Hội đồng truyền máu châu Âu:

Bảng 1.4: Yêu cầu chất lượng và tần suất kiểm tra

KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần theo tiêu chuẩn châu Âu [35]

Các chỉ số	Yêu cầu chất lượng	Tần suất kiểm tra
Thể tích	>40ml	Tất cả các đơn vị
SLTC/đv	$>60.10^9$	1% của tất cả các đơn vị, tối thiểu 10 đv/tháng, đạt yêu cầu nếu tối thiểu 75% số đơn vị đáp ứng yêu cầu.
SLBC/đv a. Điều chế từ buffy coat b. Điều chế từ huyết tương giàu tiểu cầu	$<0,05 \times 10^9$ $<0,2 \times 10^9$	1% của tất cả các đơn vị, tối thiểu 10 đv/tháng, đạt yêu cầu nếu tối thiểu 90% số đơn vị đáp ứng yêu cầu.
pH	>6,4	1% của tất cả các đơn vị, tối thiểu 4 đơn vị mỗi tháng

Bảng 1.5 Chất lượng KTC gạn tách từ người hiến máu

bằng máy tách tế bào theo tiêu chuẩn châu Âu [35]

Các chỉ số	Yêu cầu chất lượng	Tần suất kiểm tra
Thể tích	>40ml	Tất cả các đơn vị
SLTC/đv	$\geq 2.10^{11}$ Dùng cho sơ sinh hoặc trẻ nhỏ $\geq 0,5 \times 10^{11}$	1% của tất cả các đơn vị, tối thiểu 10 đơn vị/tháng.
SLBC/đv	$<0,3 \times 10^9$	1% của tất cả các đơn vị, tối thiểu 10 đơn vị/tháng.
pH	>6,4	1% của tất cả các đơn vị, tối thiểu 4 đơn vị mỗi tháng

Theo tiêu chuẩn của Hiệp hội các ngân hàng máu Hoa Kỳ (AABB), khối tiểu cầu điều chế từ đơn vị máu toàn phần có số lượng tiểu cầu $\geq 5,5 \times 10^{10}$ /đơn vị, pH $\geq 6,2$ tại thời điểm cuối của bảo quản, ít nhất 90% số đơn vị khối tiểu cầu phải đáp ứng yêu cầu [36].

Khối tiểu cầu gạn tách từ người hiến máu bằng máy có số lượng tiểu cầu $\geq 3,0 \times 10^{11}$ /đơn vị, pH $\geq 6,2$ tại thời điểm cuối của bảo quản, ít nhất 90% số đơn vị khối tiểu cầu phải đáp ứng yêu cầu [36].

Tiêu chuẩn chất lượng KTC quy định tại thông tư 26/2013/TT-BYT

* KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần [38]

KTC được điều chế từ đơn vị máu toàn phần bảo quản ở nhiệt độ từ 20⁰C đến 24⁰C trong 24 giờ kể từ khi lấy máu.

Tiêu chuẩn chất lượng:

- Thể tích đơn vị: thể tích từ 40ml đến 60 ml điều chế từ mỗi đơn vị máu toàn phần có thể tích từ 250 ml trở lên.

- Đếm SLTC (số lượng tiểu cầu): có tối thiểu 13×10^9 TC/đv khối tiểu cầu điều chế từ mỗi thể tích 100 ml máu toàn phần. Có ít nhất 75% số đơn vị được kiểm tra phải đạt tiêu chuẩn này.

- Đếm SLBC (số lượng bạch cầu) trong mỗi đơn vị KTC

+ Ít hơn $0,05 \times 10^9$ bạch cầu đối với KTC điều chế bằng phương pháp tách lớp BC-TC. Có ít nhất 75% số đơn vị được kiểm tra phải đạt tiêu chuẩn này.

+ Ít hơn $0,2 \times 10^9$ bạch cầu đối với KTC điều chế bằng phương pháp huyết tương giàu TC. Có ít nhất 75% số đơn vị được kiểm tra phải đạt tiêu chuẩn này.

+ Độ pH phải đạt từ 6,4 đến 7,4 khi đo ở 22⁰C ở cuối thời gian bảo quản.

+ Xét nghiệm nuôi cấy phát hiện vi khuẩn phải có kết quả âm tính.

* Khối tiểu cầu gạn tách từ người hiến máu

Khối tiểu cầu gạn tách là KTC lấy trực tiếp từ người hiến máu bằng máy tách tế bào tự động.

Tiêu chuẩn chất lượng

- Thể tích mỗi đơn vị không dao động quá 15% thể tích ghi trên nhãn.
- Mỗi đơn vị KTC gạn tách (250ml) có SLTC tối thiểu 300×10^9 , trong trường hợp KTC gạn tách có thể tích 120 ml đến dưới 250 ml có SLTC tối thiểu 150×10^9 .
- Nồng độ TC phải thấp hơn 1500 G/l.
- Độ pH phải đạt từ 6,4 đến 7,4 và nuôi cấy phát hiện vi khuẩn phải âm tính vào cuối thời gian bảo quản.

Điều kiện bảo quản và hạn sử dụng: theo khuyến nghị của nhà sản xuất túi lấy tiểu cầu, nhưng không quá năm ngày kể từ ngày gạn tách tiểu cầu khi bảo quản ở nhiệt độ từ 20°C đến 24°C , kèm lắc liên tục [38].

1.2.2 Các yếu tố ảnh hưởng chất lượng khối tiểu cầu

1.2.2.1 Người hiến máu

Số lượng tiểu cầu trong đơn vị KTC được truyền, ảnh hưởng đến tiểu cầu phục hồi trong bệnh nhân và cho phép kéo dài khoảng cách giữa các lần truyền. Xác định các yếu tố của người hiến máu ảnh hưởng đến sản lượng của tiểu cầu thu hoạch được như thế nào giúp cho việc lựa chọn người hiến, để có được sản lượng tiểu cầu cao nhất và kết quả lâm sàng do đó tốt hơn. Tối ưu hoá sản lượng tiểu cầu là một vấn đề đang nổi lên trong các dịch vụ truyền máu. Một số nghiên cứu chỉ ra rằng: phụ nữ cho năng suất tiểu cầu cao hơn nam giới [39],[40],[41], số lượng tiểu cầu thu hoạch được có tương quan thuận với số lượng tiểu cầu người hiến [42],[43],[44],[45], tuổi người hiến [40], tương quan nghịch với Hb, cân nặng người hiến máu [39],[40],[42],[45].

Chaudhary RK (2006), nghiên cứu các yếu tố từ người hiến máu ảnh hưởng tới sản lượng khối tiểu cầu máy trên hai hệ thống dòng chảy liên tục và không liên tục kết luận: có một mối quan hệ trực tiếp giữa số lượng tiểu cầu người hiến và SLTC thu được, không có sự tương quan như vậy với Hb người hiến, không có sự tương quan giữa giới tính, tuổi và cân nặng của người hiến với SLTC thu được [46].

1.2.2.2 Ảnh hưởng của quá trình điều chế khối tiểu cầu

** Ảnh hưởng của thời gian từ khi thu gom máu tới khi điều chế khối tiểu cầu*

Không có sự đồng thuận giữa các nghiên cứu so sánh chất lượng khối tiểu cầu điều chế từ máu tươi hoặc máu bảo quản.

Thời gian tốt nhất từ khi thu gom đến khi bắt đầu quá trình điều chế khối tiểu cầu là 6-8 giờ sau khi thu gom máu, không điều chế khối tiểu cầu khi thời gian bảo quản máu toàn phần quá 24 giờ [47],[48],[49].

Nghiên cứu của Dijkstra MJ. (2011) cho thấy khối tiểu cầu được điều chế tốt nhất từ máu toàn phần hoặc buffy coat bảo quản qua đêm, số lượng tiểu cầu và đáp ứng sức nhược trương ở khối tiểu cầu điều chế từ máu toàn phần bảo quản qua đêm là cao nhất, cùng với mức thấp nhất của tiểu cầu hoạt hóa [49]. Những khác biệt này được giả thuyết là do tiểu cầu kết tập trong các khối tiểu cầu điều chế từ máu tươi [47].

Tuy nhiên trong một số nghiên cứu khác lại cho thấy không có sự khác biệt đáng kể về chất lượng khối tiểu cầu được điều chế từ máu tươi toàn phần hay buffy coat bảo quản 8 giờ hay 24 giờ ở nhiệt độ phòng [50], [51], [52], [53].

** Ảnh hưởng của phương pháp điều chế tới chất lượng khối tiểu cầu*

Nguyễn Trường Sơn (1999), so sánh hai phương pháp điều chế khối tiểu cầu từ lớp buffy coat và huyết tương giàu tiểu cầu thấy hiệu suất thu hoạch tiểu cầu cao hơn ở phương pháp huyết tương giàu tiểu cầu, lượng bạch cầu

còn lại trong khối tiểu cầu thấp hơn đáng kể so với phương pháp sản điều chế từ lớp buffy coat [54].

Một số nghiên cứu khác lại chứng minh rằng khối tiểu cầu được điều chế từ máu toàn phần theo phương pháp buffy coat có chất lượng cao hơn so với điều chế bằng phương pháp huyết tương giàu tiểu cầu, chất lượng tốt hơn trong thời gian bảo quản. Vì vậy điều chế khối tiểu cầu theo phương pháp buffy coat đã được sử dụng ở châu Âu trong hơn hai thập kỷ qua [55],[56],[57],[58]. Tuy nhiên khối tiểu cầu điều chế bằng phương pháp buffy coat lại có tỷ lệ nhiễm khuẩn cao hơn [59]. Hiện nay với các biện pháp phòng chống nhiễm khuẩn tốt từ khâu thu gom, điều chế cùng với các phương pháp bất hoạt vi khuẩn, làm giảm nguy cơ nhiễm khuẩn khối tiểu cầu. Những lợi thế của phương pháp điều chế khối tiểu cầu bằng lớp buffy coat đã thuyết phục các dịch vụ truyền máu Canada thực hiện theo phương pháp này [56].

Khối tiểu cầu gạn tách từ người hiến máu bằng máy tương đương với 6 đến 10 đơn vị ($3-5 \times 10^{11}$ TC) khối tiểu cầu điều chế từ đơn vị máu toàn phần hiện giờ trở thành một nguồn tiểu cầu chính ở nhiều quốc gia, do sự bất đồng miễn dịch thấp và khả năng lây truyền bệnh truyền nhiễm qua đường truyền máu giảm, do giảm tiếp xúc với nhiều người hiến máu, việc kiểm soát chất lượng tốt hơn [36],[55],[60].

Hiện nay có nhiều loại máy tách tế bào khác nhau. Tenorio GC và cộng sự (2002), so sánh ngẫu nhiên chất lượng khối tiểu cầu gạn tách bằng bốn loại máy Amicus, Spectra, CS3000⁺ và MCS plus. Chất lượng của tất cả các khối tiểu cầu thu được, đều được chấp nhận, xu hướng sản lượng tiểu cầu thu được từ máy tách Spectra cao hơn. Các máy tách tế bào Amicus và Spectra có hiệu quả cao [61].

Tác giả Col D Swrup (2009) cho rằng sản lượng tiểu cầu tốt hơn khi dùng máy tách tế bào Baxter CS 3000, nhưng hiệu quả thu được tốt hơn với

Haemonetics MCS⁺. Số lượng bạch cầu còn lại nhiều hơn ở khối tiểu cầu gạn tách bằng máy MCS⁺. Kết hợp với một số yếu tố khác: thời gian chạy máy, sự thoải mái của người hiến tiểu cầu, chi phí... tác giả kết luận, Haemonetic MCS là sự lựa chọn tốt hơn Baxter CS3000 [60].

Strasser E.F (2005), nghiên cứu chất lượng khối tiểu cầu gạn tách bằng máy cho kết quả các thiết bị thế hệ mới (Comtec, Trima) cho sản lượng tiểu cầu tốt, số lượng bạch cầu còn lại trong khối tiểu cầu đáp ứng rất tốt tiêu chuẩn đề ra [62].

Bảo quản tiểu cầu dưới dạng đơn hay pool, các tác giả nghiên cứu có những đánh giá khác nhau. Nhiều tác giả cho rằng nên bảo quản tiểu cầu dưới dạng túi đơn để tránh nhiễm trùng [59],[63]. Heddle NM (2005), có khác biệt về một số chỉ tiêu trong khối tiểu cầu đơn và pool trong thời gian bảo quản. Ngày bảo quản thứ năm độ pH thấp hơn đáng kể ở khối tiểu cầu pool so với khối tiểu cầu đơn. Ngày bảo quản thứ bảy sự khác biệt đáng kể đã được ghi nhận với pH, pCO₂, sức trương lực thấp với khối tiểu cầu pool trong khi pO₂, lactate và điểm hình thái cao hơn [64]. Tuy nhiên khối tiểu cầu pool bảo quản đến 5 ngày cho kết quả chỉ số CCI sau 24 giờ không thua kém khối tiểu cầu đơn [65].

Sweeney JD (2004), thấy không có bằng chứng sự suy giảm chất lượng và sự trộn lẫn các lymphocyte của các cá thể khác nhau cũng không kích thích phản ứng miễn dịch ở khối tiểu cầu pool bảo quản trong 7 ngày [66].

1.2.2.3 Ảnh hưởng của điều kiện bảo quản khối tiểu cầu

** Ảnh hưởng của nhiệt độ bảo quản và lắc liên tục*

Ảnh hưởng của nhiệt độ bảo quản

Điều kiện nhiệt độ thích hợp sẽ làm cho các tiểu cầu ở trạng thái nghỉ, không hoạt hóa vì vậy chúng có thể duy trì các chức năng và sự sống cho đến

khi được sử dụng. Nhiệt độ thích hợp nhất cho bảo quản tiểu cầu là 20°C – 24°C [36],[67],[68].

Theo nghiên cứu của Gottschall JL (1986), có khác biệt rõ về khả năng tồn tại trong cơ thể của tiểu cầu được truyền vào khi bảo quản ở 21°C và 18°C, giảm khả năng tồn tại khi tiểu cầu được bảo quản ở nhiệt độ thấp, tương quan với việc giảm số lượng tiểu cầu dạng đĩa [69]. Chức năng tiểu cầu được duy trì mức bình thường khi bảo quản ở 22°C trong 7 ngày, nhưng không duy trì được khi bảo quản tại nhiệt độ 16°C ở ngày thứ 7 [70].

Nhiệt độ bảo quản cũng ảnh hưởng đáng kể đến phản ứng ngưng tập tiểu cầu. Nhiệt độ bảo quản 22°C, tiểu cầu ngưng tập tốt hơn bảo quản ở nhiệt độ 37°C [71]. Tiểu cầu ngưng tập tốt hơn khi được bảo quản trong điều kiện lạnh [68],[72]. Hạn chế khi bảo quản tiểu cầu ở 22°C, thời gian bảo quản chỉ được 5 ngày vì nguy cơ nhiễm khuẩn, song song tiểu cầu bảo quản trải qua một loạt các thay đổi hình dạng và chức năng, được gọi là tổn thương bảo quản tiểu cầu, tuy nhiên sự biến đổi này vẫn trong giới hạn cho phép.

Bảo quản tiểu cầu ở nhiệt độ 4°C sẽ ngăn chặn quá trình không mong muốn xảy ra ở nhiệt độ phòng, trong đó có tác dụng giảm khả năng nhiễm khuẩn, ức chế các tế bào bạch cầu tiết cytokine [68], không làm gia tăng tiểu cầu hoạt hóa so với bảo quản ở 22°C. Mặc dù vậy tiểu cầu bảo quản ở 4°C khả năng tồn tại rất kém trong cơ thể, một cơ chế tiêu hủy các tiểu cầu bảo quản lạnh là thụ thể $\alpha M\beta 2$ trên tế bào đại thực bào gan nhận ra nhóm $\beta GlcNAc$ trên các thụ thể $GPIb\alpha$ của các tiểu cầu được làm lạnh [68],[73].

Ảnh hưởng của chế độ lắ liên tục

Để duy trì chất lượng của khối tiểu cầu, tiểu cầu phải được bảo quản ở nhiệt độ 20-24°C và lắ liên tục [35],[38],[74],[75]. Lắ liên tục là cần thiết, tạo điều kiện thuận lợi cho sự khuếch tán của các chất khí qua thành của các túi bảo quản [74],[75]. Hiện tượng này có liên quan đến việc duy trì độ pH đạt

yêu cầu, bằng cách tạo điều kiện thuận lợi cho dòng O_2 và CO_2 trao đổi qua thành túi.

Khối tiểu cầu bảo quản không được lắc liên tục, sản xuất lactate và yếu tố 4 tiểu cầu (PF-4) tăng, trong khi mức độ ATP và độ pH giảm nhanh, quá trình trao đổi chất kỵ khí tăng lên mặc dù oxy khuếch tán qua thành túi là đủ [76]. Khả năng phục hồi trong cơ thể của tiểu cầu không được lắc liên tục là thấp hơn đáng kể so với tiểu cầu được lắc liên tục [75].

Các chế độ lắc cũng ảnh hưởng đến chất lượng của tiểu cầu, lắc vòng tròn hoặc ngang trên một mặt phẳng cho kết quả tốt nhất, lắc hình elip gây hoạt hóa tiểu cầu không phù hợp để bảo quản khối tiểu cầu [75],[77].

Hunter S. và cộng sự (2001), nghiên cứu sự gián đoạn của lắc liên tục khối tiểu cầu trong thời gian bảo quản thấy gián đoạn lắc trong một ngày chất lượng khối tiểu cầu vẫn trong giới hạn cho phép (độ pH > 6.5). Tuy nhiên nếu gián đoạn lắc lớn hơn hai ngày có nguy cơ độ pH < 6.5 ảnh hưởng tới chất lượng khối tiểu cầu [78].

** Ảnh hưởng của chất lượng túi bảo quản khối tiểu cầu, thay đổi khí máu trong quá trình bảo quản*

Vật liệu, kích thước của túi máu được sản xuất bởi các nhà sản xuất khác nhau nhưng yêu cầu chung là độ thấm thấu O_2 cho túi bảo quản tiểu cầu là khoảng 30% cao hơn so với túi chứa máu chính, với CO_2 túi tiểu cầu cần tính thấm thấu lớn hơn khoảng 16% so với túi chứa máu chính [79]. Các yếu tố ảnh hưởng đến tính thấm thấu của túi chứa tiểu cầu là: vật liệu sản xuất túi, mức độ và tính chất của chất hóa dẻo, mức độ và bản chất của các chất phụ gia khác, độ dày và diện tích bề mặt túi.

Túi chứa tiểu cầu thế hệ đầu tiên được làm bằng nhựa PVC với chất hóa dẻo DEHP {di-(2-ethyl hexy) phthalate} (PL 146, Baxter), có tính thấm tương đối thấp với oxy và carbon dioxide điều này hạn chế thời gian bảo quản tiểu

cầu. Nó chỉ có thể bảo quản tiểu cầu trong 72 giờ, sau thời gian đó chức năng tiểu cầu đã giảm đi [80],[81]. DEHP đã được chứng minh gây ra những tác động có hại như là một chất gây ung thư, tạo ra các hiệu ứng nội tiết đặc biệt là ở nam giới trẻ [80],[81],[82],[83].

Túi chứa tiểu cầu thể hệ hai đã làm tăng độ thấm của các chất khí O_2 , CO_2 bằng cách sử dụng túi PVC mỏng hơn với chất hóa dẻo DEHP (XT-162 Terumo), hoặc bằng cách sử dụng chất hóa dẻo tri octyl tri mellitate (TOTM) (CLX, Cutter; PL 1240, Baxter) khối tiểu cầu có thể bảo quản đến 5 ngày [80],[81],[82]. PL 1240 phù hợp cho bảo quản khối tiểu cầu có số lượng tiểu cầu cao [82].

PL 732 được làm bằng vật liệu polyolefin phù hợp cho bảo quản tiểu cầu lên đến 7 ngày vì độ thấm khí cao [82]. Túi PVC với chất hóa dẻo n-butyrul, tri n-hyxl citrate (BTHC) (PL 2209, Baxter; TF-CSPB3SY02, Terumo), đã được chứng minh là có hiệu quả bảo quản tiểu cầu tương tự như túi có chất hóa dẻo TOTM, đo pH, PO_2 , pCO_2 , glucose, lactate, ATP, LDH và yếu tố tiểu cầu 4 cho thấy kết quả tương tự trong suốt năm ngày bảo quản của tiểu cầu, kết quả in vivo cũng tương tự [82],[83].

Các nghiên cứu gần đây về những chất nhựa tổng hợp dùng để sản xuất túi chứa khối tiểu cầu đã cho phép kéo dài thời gian bảo quản. Bhaskaran CS. so sánh chất lượng khối tiểu cầu được bảo quản bằng hai loại túi PTL-157 (chất hóa dẻo TEHTM, Terumo) và PTL -167 (DINCH, Terumo) thấy tiểu cầu được bảo quản tốt, chất lượng đảm bảo trong hơn 5 ngày, túi PTL-167 phù hợp cho bảo quản khối tiểu cầu có số lượng tiểu cầu trung bình [82].

Ảnh hưởng của pO_2 , và pCO_2

Với một pO_2 thấp, chuyển hóa glucose theo con đường kỵ khí, đẩy mạnh sản xuất acid lactic bởi hiệu ứng Paster [84]. Carbon dioxide sản xuất theo con đường oxy hóa được chuyển đổi thành bicarbonate hoạt động như hệ

thông đệm của huyết tương khối tiểu cầu làm thay đổi độ pH [80],[84]. pO_2 và pCO_2 phụ thuộc vào khả năng thẩm thấu khí của các túi chứa tiểu cầu, túi chứa tiểu cầu cần có sự thẩm thấu cao với oxy. Đồng thời khả năng thẩm thấu carbon dioxide đủ cao để cho phép một phần của khí CO_2 khuếch tán ra ngoài, nhưng nó không phải là rất cao sẽ gây ra quá nhiều khí CO_2 thoát ra do đó ảnh hưởng đến bộ đệm bicarbonate.

1.2.2.4 Thay đổi một số yếu tố trong thời gian bảo quản

Một thách thức lớn cho các ngân hàng máu là thời gian bảo quản tiểu cầu hạn chế trong điều kiện ngân hàng máu tiêu chuẩn. Có hai lý do chính mà khối tiểu cầu có thời hạn sử dụng ngắn đó là nguy cơ nhiễm khuẩn, tuy nhiên lý do này có thể được giảm thiểu bằng cách kiểm tra vi khuẩn của sản phẩm hoặc sử dụng các quá trình bất hoạt tác nhân gây bệnh. Lý do thứ hai về hạn dùng của tiểu cầu là trong khoảng thời gian bảo quản tiểu cầu cho thấy bằng chứng của sự suy giảm chất lượng, liên quan đến thay đổi một số yếu tố trong quá trình bảo quản.

** Thay đổi độ pH trong thời gian bảo quản*

Độ pH là một thông số quan trọng và có giá trị cho đánh giá chất lượng của các khối tiểu cầu, hướng dẫn của châu Âu, Hoa Kỳ yêu cầu đo pH như là một tham số cần thiết kiểm soát chất lượng khối tiểu cầu. AABB khuyến cáo các khối tiểu cầu có độ pH < 6,2 không được sử dụng [36], ở châu Âu qui định độ pH của khối tiểu cầu > 6,4 và không truyền khối tiểu cầu khi độ pH > 7,6 [35].

Trong túi chứa tiểu cầu sự chuyển hóa glucose sẽ tạo thành lactate là nguyên nhân chính gây ra độ pH giảm [85],[86]. Độ pH của khối tiểu cầu còn bị tác động của rất nhiều yếu tố trong quá trình bảo quản như: chất lượng túi bảo quản tiểu cầu, túi tiểu cầu bị nhiễm khuẩn...[80],[84],[87].

Những nghiên cứu của Murphy S. từ thập kỷ 80 của thế kỷ XX, đã chỉ ra hình thái hoặc chức năng tiểu cầu thay đổi không thể đảo ngược xảy ra trong điều kiện được bảo quản ở 22⁰C khi độ pH <6 tiểu cầu chuyển dạng thành hình cầu không hồi phục [85].

** Thay đổi nồng độ glucose và lactate*

Tiêu thụ glucose là chuyển hóa chính của tiểu cầu, 85% nhu cầu năng lượng của chúng có được nhờ chuyển hóa hiếu khí, trong đó glucose trải qua quá trình đường phân, tiếp theo là oxy-phosphoryl của các sản phẩm tạo ra CO₂ và H₂O, một số axit béo tự do và các axit amin cũng tham gia quá trình này. 15% nhu cầu năng lượng còn lại được đáp ứng bởi đường phân kỵ khí, trong đó glucose được chuyển đổi thành lactate. Việc chuyển hóa glucose tạo ra ATP theo cơ chế oxy hóa hiệu quả gấp 18 lần so với đường phân kỵ khí [82]. Larry J. Dumont và cộng sự (2003), cũng như Tulika Chandra (2011), trong nghiên cứu của mình đã đề cập việc suy giảm nồng độ glucose trong thời gian bảo quản, sự tiêu thụ glucose có mối tương quan thuận với sự tạo thành lactate, dẫn tới suy giảm chất lượng khối tiểu cầu [88],[89].

** Các cytokine*

Các cytokine tạo ra trong khối tiểu cầu trong thời gian bảo quản góp phần làm tăng phản ứng sốt huyết tán do truyền tiểu cầu [90],[91]. Số lượng bạch cầu còn lại cao trong khối tiểu cầu là nguyên nhân chính tạo ra các cytokine như IL-1, IL-2, IL-6, IL-8 và yếu tố hoại tử khối u (TNF- α) [90],[91],[92]. Nghiên cứu của Chaudhary R, và cộng sự (2006), chỉ ra rằng phương pháp điều chế khối tiểu cầu và số lượng bạch cầu còn lại là yếu tố quan trọng trong việc xác định mức độ cytokine trong khối tiểu cầu. Khối tiểu cầu điều chế bằng phương pháp buffy coat có sự gia tăng IL-8 và TNF- α thấp hơn phương pháp huyết tương giàu tiểu cầu trong thời gian bảo quản [90]. Không có thay đổi đáng kể cytokine trong các khối tiểu cầu được lọc bạch cầu trong suốt thời

gian năm ngày bảo quản [91]. Bản chất của dung dịch bảo quản tiểu cầu cũng có một tác động đáng kể đến mức độ cytokine của khối tiểu cầu trong thời gian bảo quản [93].

Các yếu tố tăng trưởng cũng thay đổi tăng trong quá trình bảo quản khối tiểu cầu, transformin growth factor (TGF- β) và platelet derived growth factor-AB (PDGF-AB) [18],[93].

** Biến đổi hình thái tiểu cầu trong quá trình bảo quản*

Những thay đổi sinh hoá, cấu trúc và chức năng của tiểu cầu trong quá trình bảo quản trong điều kiện ngân hàng máu, được gọi chung là tổn thương bảo quản tiểu cầu. Gần đây các chỉ số tiểu cầu như số lượng tiểu cầu (SLTC), mean platelet volume (MPV), platelet distribution width (PDW), platelet larger cell ratio (P-LCR) đã được sử dụng đánh dấu cho việc kiểm soát chất lượng của khối tiểu cầu [89],[94],[95],[96]. PDW là một dấu hiệu của sự thay đổi kích thước tiểu cầu, có thể là dấu hiệu của tiểu cầu kích hoạt [89], các tác giả đã quan sát thấy PDW tăng ở ngày thứ 7 của thời gian bảo quản. Tuy nhiên Beyan và cộng sự (2006), cho rằng trong đánh giá chức năng tiểu cầu chỉ số tiểu cầu một mình là không phù hợp, cần kết hợp với các phương pháp đánh giá khác [97].

Nếu độ pH của khối tiểu cầu giảm xuống dưới 6,0 hoặc lên trên 7,4 sẽ làm thay đổi hình thái tiểu cầu, từ dạng hình đĩa sang hình cầu, mất đáng kể khả năng phục hồi trong cơ thể khi được truyền [98]. Phép đo các chỉ số tiểu cầu có tiềm năng lớn đánh giá chất lượng của khối tiểu cầu, đặc biệt là khi phân tích kết hợp với độ pH [98].

** Vai trò có hại của bạch cầu trong bảo quản và truyền KTC*

Bạch cầu có mặt trong tất cả các chế phẩm máu, mặc dù chúng được điều chế bằng các kỹ thuật tiêu chuẩn. SLBC còn lại trong các chế phẩm hồng cầu hoặc tiểu cầu có thể gây ra một loạt các tác dụng phụ sau khi truyền các chế

phẩm này. Các nghiên cứu đầu tiên về vai trò có hại của bạch cầu được biết đến từ năm 1957 khi Britingham T.E, Chaplin H. ghi nhận vai trò của bạch cầu trong phản ứng khi truyền máu. Sau này nhiều nghiên cứu khác đã chứng minh vai trò của bạch cầu trong việc gây ra các phản ứng bất lợi như sốt rét run, gây miễn dịch khác allen, truyền các virus, kết quả là việc sử dụng các chế phẩm máu giảm bạch cầu được thực hiện và khuyến cáo rộng rãi. Xu hướng hiện nay là loại bạch cầu cho tất cả các thành phần tế bào máu được truyền.

1.2.2.5 Nhiễm khuẩn của khối tiểu cầu

Nhiễm khuẩn các sản phẩm máu làm lây truyền vi khuẩn khi truyền máu là một tai biến truyền máu đe dọa tính mạng người bệnh, do điều kiện bảo quản thuận lợi cho phát triển của vi khuẩn. Tai biến nhiễm khuẩn thường thấy trong truyền tiểu cầu, điều này có thể được lý giải do KTC được bảo quản ở nhiệt độ 22⁰C, điều kiện nhiệt độ thích hợp thúc đẩy sự tăng trưởng của vi khuẩn, thậm trí với một số lượng vi khuẩn rất nhỏ.

Khả năng KTC bị nhiễm khuẩn phụ thuộc vào loại và thời hạn sử dụng của các sản phẩm tiểu cầu. Nghiên cứu của Ness P. và cộng sự (2001) báo cáo một tỷ lệ nhiễm khuẩn của KTC điều chế từ máu toàn phần gấp 5 lần so với tiểu cầu gạn tách bằng máy từ một người hiến [99]. Tỷ lệ tăng của các bệnh nhiễm trùng liên quan đến truyền tiểu cầu, liên quan trực tiếp với thời gian bảo quản của các đơn vị được truyền, chính vì vậy FDA đã yêu cầu giảm thời gian bảo quản tiểu cầu từ 7 ngày xuống còn 5 ngày. Năm 2004 AABB đề xuất các tiêu chuẩn mới để giảm thiểu truyền các đơn vị tiểu cầu bị nhiễm khuẩn, các ngân hàng máu hoặc dịch vụ truyền máu phải có phương pháp để hạn chế và phát hiện nhiễm vi khuẩn trong tất cả các khối tiểu cầu [37],[100].

Nguyên nhân gây nhiễm khuẩn khối tiểu cầu, thường là kết quả của nhiễm vi khuẩn từ da người hiến máu tại thời điểm lấy máu tĩnh mạch và ít

hơn từ người hiến máu bị nhiễm trùng không triệu chứng hoặc trong quá trình điều chế [101], [102],[103],[104],[105]. Một loạt các vi khuẩn có thể phát triển trong các sản phẩm tiểu cầu và đạt đến mức độ nguy hiểm trong suốt thời gian bảo quản. Những vi khuẩn này phần lớn gram dương là tác nhân gây bệnh của hệ vi sinh vật da, ví dụ tụ cầu (staphylococci), corynebacteria, và các loài bacillus [101],[106],[107]. Trong khi đó nhiễm các vi khuẩn gram âm ít gặp hơn, kết quả hầu như gây tử vong [100],[108].

1.2.3 Các xét nghiệm kiểm tra, đánh giá chất lượng khối tiểu cầu.

Nhiều tiến bộ công nghệ mới đã được áp dụng cho việc điều chế và bảo quản KTC. Các xét nghiệm sau là một hướng dẫn để đánh giá chất lượng KTC, mặc dù nó có thể không khả thi hoặc không thích hợp để thực hiện trước khi đánh giá lâm sàng.

Đánh giá hình thái học của tiểu cầu [59],[95],[109] và các chỉ tiêu sinh hoá của khối tiểu cầu trong ống nghiệm: đối với tiểu cầu bảo quản các thử nghiệm trong ống nghiệm của tiểu cầu thường không tương quan tốt với hiệu năng của tiểu cầu trong cơ thể. Tuy nhiên mức ATP, glucose, lactate của KTC cung cấp một số dấu hiệu hoạt động của TC [109],[110],[111]. Sự sụt giảm SLTC với gia tăng lactate dehydrogenase trong môi trường có thể được sử dụng như một thước đo của phá vỡ tế bào. Độ pH của KTC trên 7,6 và dưới 6,2 vào cuối thời gian bảo quản tương quan với giảm chức năng của tiểu cầu trong cơ thể [109],[112].

Các marker để xác định tiểu cầu hoạt hoá, tiểu cầu hoạt hoá có liên quan đến biểu hiện kháng nguyên bề mặt GMP-140 (P-selectin, CD 62), GPIIb/IIIa ...[113],[114],[115],[116].

Chức năng tiểu cầu được đánh giá bằng độ ngưng tập tiểu cầu với ADP, collagen, epinephrin...[115],[117].

Định lượng vi hạt: vai trò của vi hạt chưa rõ ràng nhưng chúng có thể tham gia huyết khối và/hoặc phản ứng miễn dịch chống tiểu cầu, định lượng chúng sẽ có giá trị cho đánh giá tiểu cầu [118].

- Tỷ lệ sống của tiểu cầu trong tuần hoàn: kéo dài thời gian lưu hành của tiểu cầu trong cơ thể, được thực hiện như một dấu hiệu của tiểu cầu không bị hư hại chức năng. Kiểm tra thời gian lưu hành của tiểu cầu trong cơ thể bằng cách đánh dấu đồng vị phóng xạ ví dụ Cr¹⁵¹ [119].

- Hiệu quả cầm máu trên lâm sàng: hiệu quả của truyền tiểu cầu trong cơ thể được chứng minh là rất khó khăn để xác định. Trước đây thời gian máu chảy được coi như là một thử nghiệm về hiệu quả của tiểu cầu, nhưng nhiều nghiên cứu được công bố đã chứng minh thiếu sự tương quan giữa chảy máu trong phẫu thuật và thời gian chảy máu, có sự thay đổi của thời gian chảy máu ngay cả với một bệnh nhân duy nhất [120]. Hiện nay để đánh giá hiệu quả truyền tiểu cầu, người ta quan sát sự biến đổi của SLTC (thường >20.000/mm³) sau khi truyền TC. Tính chỉ số CCI (Corrected Count Increment) [119],[121].

$$CCI = [SLTC \text{ sau truyền (G/l)} - SLTC \text{ trước truyền (G/l)}] / SLTC \text{ truyền vào (x10}^{11}) \times \text{Diện tích da (m}^2)$$

Khi CCI sau truyền 10 đến 60 phút ≥ 5000 truyền tiểu cầu có kết quả.

Chương 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành từ tháng 3/2011 đến tháng 10/2013 trên đối tượng nghiên cứu là 502 KTC. Cụ thể như sau:

2.1.1 Nghiên cứu chất lượng khối tiểu cầu điều chế từ đơn vị máu toàn phần

* 210 KTC, tiêu chuẩn:

- KTC điều chế bằng phương pháp buffy coat từ đơn vị máu toàn phần 250 ml và 350 ml của người hiến máu tình nguyện đủ tiêu chuẩn.
- Các KTC được điều chế tại viện Huyết học-Truyền máu Trung ương.
- Máu toàn phần để điều chế KTC được bảo quản trong vòng 24 giờ ở nhiệt độ 22⁰C đến 24⁰C.

* Cỡ mẫu được tính theo công thức sau:

$$n = Z_{(1-\alpha/2)}^2 \times pq : d^2$$

n: cỡ mẫu nghiên cứu

$Z_{(1-\alpha/2)}$: hệ số tin cậy ở mức xác suất 95% là 1.96

P: tỷ lệ KTC đạt yêu cầu chất lượng (90%)

q: tỷ lệ KTC không đạt yêu cầu chất lượng (10%)

d: độ chính xác mong muốn 5%

$$n = 138$$

* Chất lượng KTC được so sánh với tiêu chuẩn chất lượng quy định tại “Thông tư 26/2013/TT-BYT hướng dẫn hoạt động truyền máu”.

KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần:

- Thể tích đơn vị: thể tích từ 40ml đến 60 ml điều chế từ mỗi đơn vị máu toàn phần có thể tích từ 250 ml trở lên.

- Đếm SLTC trong mỗi đơn vị KTC: có tối thiểu 13×10^9 TC/đv khối tiểu cầu điều chế từ mỗi thể tích 100 ml máu toàn phần. Có ít nhất 75% số đơn vị được kiểm tra phải đạt tiêu chuẩn này.

- Đếm SLBC trong mỗi đơn vị KTC: ít hơn $0,05 \times 10^9$ bạch cầu đối với KTC điều chế bằng phương pháp tách lớp BC-TC. Có ít nhất 75% số đơn vị được kiểm tra phải đạt tiêu chuẩn này.

- Độ pH phải đạt từ 6,4 đến 7,4 ở cuối thời gian bảo quản.

- Xét nghiệm nuôi cấy phát hiện vi khuẩn phải có kết quả âm tính [38].

2.1.2 Nghiên cứu chất lượng KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào tự động.

* 292 KTC, tiêu chuẩn:

- KTC gạn tách từ một người hiến máu tình nguyện đủ tiêu chuẩn.

- Gạn tách bằng một trong các loại máy tách tế bào Trima, Comtec, Heamonetic, tại viện Huyết học – Truyền máu Trung ương.

- Loại trừ những KTC trong quá trình gạn tách có lỗi kỹ thuật.

* Chất lượng KTC được so sánh với tiêu chuẩn chất lượng quy định tại “Thông tư 26/2013/TT-BYT hướng dẫn hoạt động truyền máu”.

Khối tiểu cầu gạn tách từ người hiến máu:

- Thể tích mỗi đơn vị không dao động quá 15% thể tích ghi trên nhãn.

- Mỗi đơn vị KTC gạn tách (250ml) có SLTC tối thiểu 300×10^9 , trong trường hợp KTC gạn tách có thể tích 120 ml đến dưới 250 ml có SLTC tối thiểu 150×10^9 .

- Nồng độ TC phải thấp hơn $1,5 \times 10^9/l$.

- Độ pH phải đạt từ 6,4 đến 7,4 và nuôi cấy phát hiện vi khuẩn phải âm tính vào cuối thời gian bảo quản.

2.1.3 Nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng chất lượng KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần.

210 người hiến máu tình nguyện đủ tiêu chuẩn hiến máu toàn phần.

Tiêu chuẩn lựa chọn :

- Tuổi: 18 đến 60 tuổi.

- Sức khỏe:

+ Cân nặng: 42 kg đối với nữ, 45 kg đối với nam. Người có cân nặng từ 42 kg đến dưới 45 kg được phép hiến không quá 250 ml máu toàn phần mỗi lần.

+ Không mắc các bệnh mạn tính hoặc cấp tính

+ Huyết áp tâm thu từ 100 mmHg đến dưới 160 mmHg và tâm trương từ 60 mmHg đến dưới 100 mmHg;

+ Nhịp tim đều, tần số từ 60 đến 90 lần/phút;

+ Không có một trong các biểu hiện sau: gày, sút cân nhanh (trên 10% cân nặng cơ thể trong thời gian 6 tháng); có các tổn thương, dấu hiệu bất thường trên da.

- Hemoglobin ≥ 120 g/l; nếu hiến máu toàn phần thể tích trên 350 ml phải ≥ 125 g/l.

2.1.4 Nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng tới chất lượng KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào tự động.

292 người hiến tiểu cầu tình nguyện, đủ tiêu chuẩn hiến tiểu cầu. KTC được gạn tách bằng ba loại máy khác nhau Trima, Comtec và Haemonetic.

Tiêu chuẩn lựa chọn:

- Ngoài các tiêu chuẩn của người hiến máu toàn phần như trên, đối với người hiến tiểu cầu bằng gạn tách: cân nặng phải ít nhất 50 kg, số lượng tiểu cầu phải lớn hơn hoặc bằng $150 \times 10^9/l$.

2.1.5 Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian bảo quản

* 30 KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần. Tiêu chuẩn lựa chọn:

- KTC điều chế bằng phương pháp buffy coat tại viện Huyết học – Truyền máu Trung ương, được lựa chọn một cách ngẫu nhiên.

- KTC phải đạt tiêu chuẩn chất lượng Việt Nam theo thông tư 26/2013/TT-BYT về hướng dẫn hoạt động truyền máu.

- KTC được vận chuyển về Viện Bỏng Quốc Gia bằng dụng cụ chuyên dụng.

- KTC được bảo quản ở 22⁰C, lắ liên tục trong tủ bảo quản tiểu cầu PC100i (Helmer) trong thời gian 5 ngày.

* 30 KTC gạn tách từ người hiến tiểu cầu bằng máy tách tế bào tự động. Tiêu chuẩn lựa chọn:

- KTC được gạn tách từ một người hiến máu bằng máy tách tế bào, được lựa chọn ngẫu nhiên tại viện Huyết học – Truyền máu Trung ương.

- KTC phải đạt tiêu chuẩn chất lượng Việt Nam theo thông tư 26/2013/TT-BYT về hướng dẫn hoạt động truyền máu.

- KTC được vận chuyển về Viện Bỏng Quốc Gia bằng dụng cụ chuyên dụng để bảo quản, theo dõi các chỉ tiêu nghiên cứu.

- KTC được bảo quản ở 22⁰C, lắ liên tục trong tủ bảo quản tiểu cầu PC100i (Helmer) trong thời gian 5 ngày.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Phương pháp nghiên cứu: mô tả cắt ngang, tiến cứu.

2.2.2 Các chỉ số sử dụng cho nghiên cứu.

* Nghiên cứu chất lượng KTC.

Để đánh giá chất lượng KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần và chất lượng KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào tự động, thu thập các chỉ số sau:

- Thể tích khối tiểu cầu
- SLTC trong khối tiểu cầu
- SLBC trong khối tiểu cầu
- SLHC trong khối tiểu cầu
- Nồng độ tiểu cầu
- Độ pH của khối tiểu cầu.

* Nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng tới chất lượng KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần.

- SLTC, SLHC, hematocrit, MCV (mean corpuscular volume), SLBC người hiến máu

- Thể tích máu toàn phần
- Thời gian từ khi lấy máu tới khi điều chế

* Nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng tới chất lượng KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào tự động.

- SLTC, SLHC, hematocrit, MCV, SLBC người hiến máu
- Cân nặng người hiến
- Giới tính.
- Các loại máy tách tế bào.

* Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian bảo quản

- SLTC, SLHC, SLBC tại các ngày nghiên cứu.
- Các chỉ số tiểu cầu
- + PDW
- + MPV
- + P-LCR
- Nồng độ glucose
- Nồng độ lactate
- pO₂

- pCO₂
- Nồng độ Na⁺, K⁺
- Độ ngưng tập tiểu cầu với collagen, ADP.
- Hình ảnh tiểu cầu trên kính hiển vi điện tử.

* Kết quả nuôi cấy vi khuẩn.

2.2.3 Phương pháp xác định các chỉ số nghiên cứu.

2.2.3.1 Phương pháp xác định các chỉ số huyết học

Cách lấy mẫu xét nghiệm:

- Lấy máu xét nghiệm người hiến máu: lấy 2ml máu tĩnh mạch, chống đông bằng EDTA để xác định các chỉ số TC, BC, HC, Hct, MCV người hiến trước khi hiến máu.

- Lấy mẫu đánh giá chất lượng khối tiểu cầu: khối tiểu cầu sau khi được điều chế, trộn đều. Dùng kim ép, vuốt cho huyền dịch của tiểu cầu nằm trong dây dẫn, hàn dây dẫn thành nhiều đoạn. Lấy một đoạn 0,5 ml cắt cho vào ống nghiệm bằng nhựa polyvinylclorua (PVC) không có chất chống đông để xác định TC, BC, HC.

- Lấy mẫu xét nghiệm theo dõi SLTC, SLBC, SLHC và các chỉ số PDW, MPV, P-LCR trong thời gian bảo quản: lượng huyền dịch tiểu cầu còn lại sau khi làm xét nghiệm khí máu, cho vào ống nghiệm PVC không có chất chống đông để làm xét nghiệm. Xét nghiệm được làm tại các thời điểm ngày thứ nhất, thứ ba và ngày thứ năm trong thời gian bảo quản.

Các chỉ số huyết học: SLTC, SLBC, SLHC, MCV, hematocrit và các chỉ số tiểu cầu: PDW, MPV, P-LCR được phân tích bằng máy xét nghiệm huyết học KX- 21 Sysmex (Nhật Bản).

Nguyên lý đo: trong buồng đếm có đặt một khe đếm có lỗ đủ nhỏ cho tế bào máu đi qua. Các tế bào máu được tạo thành dòng và đưa vào khe đếm. Trong buồng đếm có đặt hai bản điện cực dương và âm giữa hai bên của khe

đếm và buồng đếm. Ngoài ra trong buồng đếm còn đặt một bộ phận tạo áp suất, mỗi khi có áp suất thay đổi thì tế bào máu sẽ đi qua khe đếm ngay lập tức sẽ thay đổi trở kháng của dòng điện một chiều, làm xuất hiện xung điện. Số lượng xung điện tỷ lệ với số lượng tế bào máu đi qua khe đếm. Tùy kích thước của tế bào mà xung nhận được cao hay thấp. Dựa vào đó người ta biết được kích thước của tế bào.

* Thể tích KTC được xác định bằng công thức:

$$\text{Thể tích KTC} = (\text{Trọng lượng KTC} - \text{Trọng lượng túi rỗng}) : 1,03$$

Đơn vị tính: ml

* SLTC mỗi đơn vị = SLTC/ml x Thể tích KTC (ml)

Đơn vị tính: x 10^{11} /đv

* SLBC mỗi đơn vị = SLBC/ml x Thể tích KTC (ml)

Đơn vị tính: x 10^6 /đv

* SLHC mỗi đơn vị = SLHC/ml x Thể tích KTC (ml)

Đơn vị tính: x 10^9 /đv

2.2.3.2 Phương pháp xác định các chỉ số hóa sinh, khí máu

- Cách lấy mẫu xét nghiệm:

Lấy khối tiểu cầu ra khỏi tủ bảo quản, đưa sang box vô trùng. Sát trùng kỹ đầu dây dẫn của túi tiểu cầu, dùng bơm tiêm vô trùng lấy 1,5 ml huyền dịch tiểu cầu qua dây dẫn. Dùng kẹp chặn sát phía dưới vị trí chọc kim, rút và bẻ cong đầu kim tiêm tránh không khí lọt vào mẫu. Sau đó hàn lại dây, đưa KTC về lại tủ bảo quản.

- Các chỉ số Glucose, lactate, pH, Na^+ , K^+ , pO_2 , pCO_2 được thực hiện bằng máy phân tích khí máu GEM-3000 Instrumentation Laboratory (Mỹ).

Nguyên lý hoạt động: thành phần trung tâm của GEM-3000 là cartridge, trong đó có chứa các cảm biến phân tích. Cảm biến đo glucose, lactate, pH, Na^+ , K^+ , pO_2 , pCO_2 cùng các điện cực tham chiếu liên kết với màng nhạy cảm hóa

học trong buồng đo. Khi cartridge được cài đặt trong thiết bị, buồng đo duy trì nhiệt độ 37°C cung cấp tín hiệu điện cho các cảm ứng.

- Nồng độ glucose được xác định bằng nguyên lý:

Với sự hiện diện của glucose oxidase, glucose bị oxy hóa thành acid gluconic và hydrogen peroxide. Điện cực cảm biến hydrogen peroxide, chất này tỷ lệ thuận với chất chuyển hóa glucose.

Đơn vị đo glucose mmol/l.

- Nồng độ lactate được xác định bằng nguyên lý:

Lactate bị oxi hóa bởi lactate oxidase thành pyruvate và hydrogen peroxide. Điện cực cảm biến hydrogen peroxide, chất này tỷ lệ thuận với chất chuyển hóa glucose.

Đơn vị đo mmol/l.

- pH, Na⁺, K⁺ được xác định bằng nguyên lý của điện cực chọn lọc ion.

Đơn vị đo của Na⁺, K⁺ là mmol/l.

- pCO₂ cảm biến pCO₂ là một điện cực cảm biến pH được bao phủ bởi một màng ngoài thấm khí CO₂. Độ pH thay đổi theo pCO₂ theo phương trình Henderson – Hasselbalch:

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log \left[\frac{\text{HCO}_3^-}{\text{pCO}_2} \times a \right]$$

pKa là một hằng số

HCO₃⁻ nồng độ ion bicarbonate

a: hệ số hòa tan của CO₂ trong nước.

Đơn vị đo của pCO₂ là mmHg.

- pO₂ được xác định bằng điện cực cảm biến O₂.

Đơn vị đo mmHg.

Các xét nghiệm được làm tại các thời điểm ngày thứ nhất, thứ ba và ngày thứ năm trong thời gian bảo quản.

Địa điểm thực hiện: Viện Bỏng Quốc gia Lê Hữu Trác.



Ảnh 2.1 Máy xét nghiệm GEM-3000

2.2.3.3 Quan sát hình ảnh tiểu cầu dưới kính hiển vi điện tử qua các ngày bảo quản

* Chuẩn bị tiêu bản để soi tiêu cầu dưới kính hiển vi điện tử:

- Lấy 5 giọt mẫu xét nghiệm tiểu cầu vào eppendorf chứa dung dịch đệm, lắc cho tiểu cầu treo đều trong dung dịch đệm.

- Ly tâm 2.000 vòng/phút, 10 phút ở 22⁰C.

- Gạn lấy cặn lắng, thêm vào dung dịch cố định glutaraldehyde 3% (cố định trong 2-4 giờ).

- Ly tâm 2.000 vòng/phút, 10 phút ở 22⁰C

- Gạn lấy cặn lắng, thêm vào dung dịch đệm lắc cho tiểu cầu treo đều trong dung dịch đệm.

- Ly tâm 2.000 vòng/phút, 10 phút ở 22⁰C.

- Lặp lại bước 5 và 6 đủ ba lần.
- Gạn lấy cặn lắng thêm dung dịch cố định osmic 1% (cố định trong 2-4 giờ).
- Gạn lấy cặn lắng cho vào cồng 50⁰ lắc đều.
- Ly tâm 2.000 vòng/phút, 10 phút ở 22⁰C.
- Lặp lại bước 9, 10 nhưng thay bằng cồng 70⁰, 90⁰, 95⁰ và 100⁰ gạn lấy cặn lắng cho vào dung dịch T butyl lắc đều, để 30 phút.
- Lấy dung dịch T butyl đã hòa tan mẫu cho vào bể nhỏ gắn trên đế rồi cho vào ngăn lạnh cho đông thành đá (60 phút).
- Mạ phủ bằng vàng 55 giây.
- Soi mẫu bằng kính hiển vi điện tử quan sát hình thái, chụp một số hình ảnh điển hình.

* Tiêu chuẩn hình thái tiểu cầu trên kính hiển vi điện tử:

Quan sát hình thái TC trên kính hiển vi điện tử ở độ phóng đại 10.000 và 15.000 lần. Hình thái tiểu cầu được xếp thành 3 nhóm, tính tỷ lệ % theo ngày bảo quản (ngày thứ nhất, ngày thứ ba và ngày thứ năm).

- Nhóm 1:

- + TC dạng hình đĩa, đường kính 2-4 μm .
- + Màng tiểu cầu nguyên vẹn
- + Hệ thống vi ống, hệ thống kênh mở rất rõ ràng.

- Nhóm 2:

- + Tiểu cầu thay đổi hình dạng, có nhiều giả túc
- + Màng tiểu cầu còn nguyên vẹn
- + Hệ thống vi ống, hệ thống kênh mở rõ.

- Nhóm 3:

- + Tiểu cầu trương to lên, thay đổi hình dạng thành hình cầu
- + Giả túc ngắn, có hiện tượng đứt gãy

+ Hệ thống kênh mở không rõ.

Địa điểm thực hiện: Viện 69 Bộ tư lệnh Bảo vệ lăng Chủ tịch Hồ Chí Minh.

2.2.3.4 Phương pháp xác định độ ngưng tập tiểu cầu

Thực hiện trên máy Chrono-Log CA-560 (Mỹ) bằng phương pháp đo quang.

Chuẩn bị mẫu: mỗi chế phẩm của KTC khi tiến hành xét nghiệm được pha với huyết tương nghèo tiểu cầu của chính KTC đó để tạo thành huyết tương giàu tiểu cầu, có nồng độ tiểu cầu khoảng 250 đến 400 G/l.

- Chất kích tập sử dụng trong nghiên cứu là: ADP nồng độ $10\mu\text{M}$ và collagen nồng độ $2\mu\text{g/ml}$.

- Nhiệt độ cần để đảm bảo cho phản ứng ngưng tập tiểu cầu xảy ra ở 37°C .

- Tốc độ khuấy từ: 1.000 vòng/phút.

- Đánh giá độ ngưng tập tiểu cầu dựa vào độ ngưng tập tối đa MA % (maximum aggregation).

Độ ngưng tập tiểu cầu được đo tại các ngày thứ nhất, ba và ngày thứ năm của thời gian bảo quản.

Địa điểm thực hiện: Viện Bông Quốc gia Lê Hữu Trác.

2.2.3.5 Phương pháp nuôi cấy vi khuẩn.

* Cách lấy mẫu nuôi cấy:

- Khối tiểu cầu sau khi được điều chế, trộn đều. Dùng kim ép vuốt cho huyền dịch của tiểu cầu nằm trong dây dẫn, hàn dây dẫn thành nhiều đoạn. Sát trùng kỹ, dùng bơm tiêm vô khuẩn lấy 3ml huyền dịch tiểu cầu cho vào chai nuôi cấy.

- Lấy mẫu nuôi cấy trong thời gian bảo quản: lấy khối tiểu cầu ra khỏi tủ bảo quản, đưa sang box vô trùng. Sát trùng kỹ đầu dây dẫn của túi tiểu cầu,

dùng bơm tiêm vô trùng lấy 3 ml huyền dịch tiêu cầu qua dây dẫn. Dùng kẹp chặn sát phía dưới vị trí chọc kim. Sau đó hàn lại dây, đưa KTC về lại tủ bảo quản. Cho mẫu vào chai nuôi cấy.

- Chai nuôi cấy được đưa vào tủ ủ ấm 37⁰C của máy cấy máu BacT/ALERT (Pháp).

Nguyên lý: là phương pháp nuôi cấy so màu, dựa trên sự phát hiện khí carbondioxid được tạo ra bởi các vi sinh vật sinh sản. Cho phép phát hiện cả các vi khuẩn hiếu khí, kỵ khí và nấm.

Đọc kết quả: nếu kết quả dương tính máy sẽ tự động thông báo, xác định loại vi khuẩn bằng máy định danh VITEC-32. Kết quả âm tính được trả lời sau 7 ngày nuôi cấy mà không thấy mọc vi khuẩn.

Nuôi cấy được thực hiện ở các ngày thứ nhất, thứ ba và thứ năm của thời gian bảo quản.

Địa điểm thực hiện: Viện Bông Quốc gia Lê Hữu Trác.

2.2.3.6 Phương pháp xác định một số chỉ số nghiên cứu khác.

* Thể tích máu toàn phần: 2 loại túi 250 ml và 350 ml hãng Terumo (Nhật Bản).

* Thời gian từ khi lấy máu tới khi điều chế KTC: chia làm hai nhóm

- Điều chế trước 8 giờ.
- Điều chế trong thời gian 8 đến 24 giờ.

* Cân nặng người hiến máu: chia hai nhóm

- Cân nặng > 60 kg.
- Cân nặng ≤ 60 kg.

* SLTC người hiến máu: chia hai nhóm

- SLTC > 300 G/l.
- SLTC ≤ 300 G/l.

* MCV người hiến máu

- $MCV < 85$ fl.
- $85 \text{ fl} \leq MCV \leq 95$ fl.
- $MCV > 95$ fl.

* Loại máy tách tế bào tự động: 3 loại máy

- Trima
- Comtec
- Haemonetic

Để so sánh ảnh hưởng của các yếu tố tới chất lượng KTC, các KTC lựa chọn có đồng nhất các yếu tố trừ các yếu tố nghiên cứu.

2.2.4 Mô hình nghiên cứu

Mô hình nghiên cứu được trình bày tại sơ đồ 2.1.

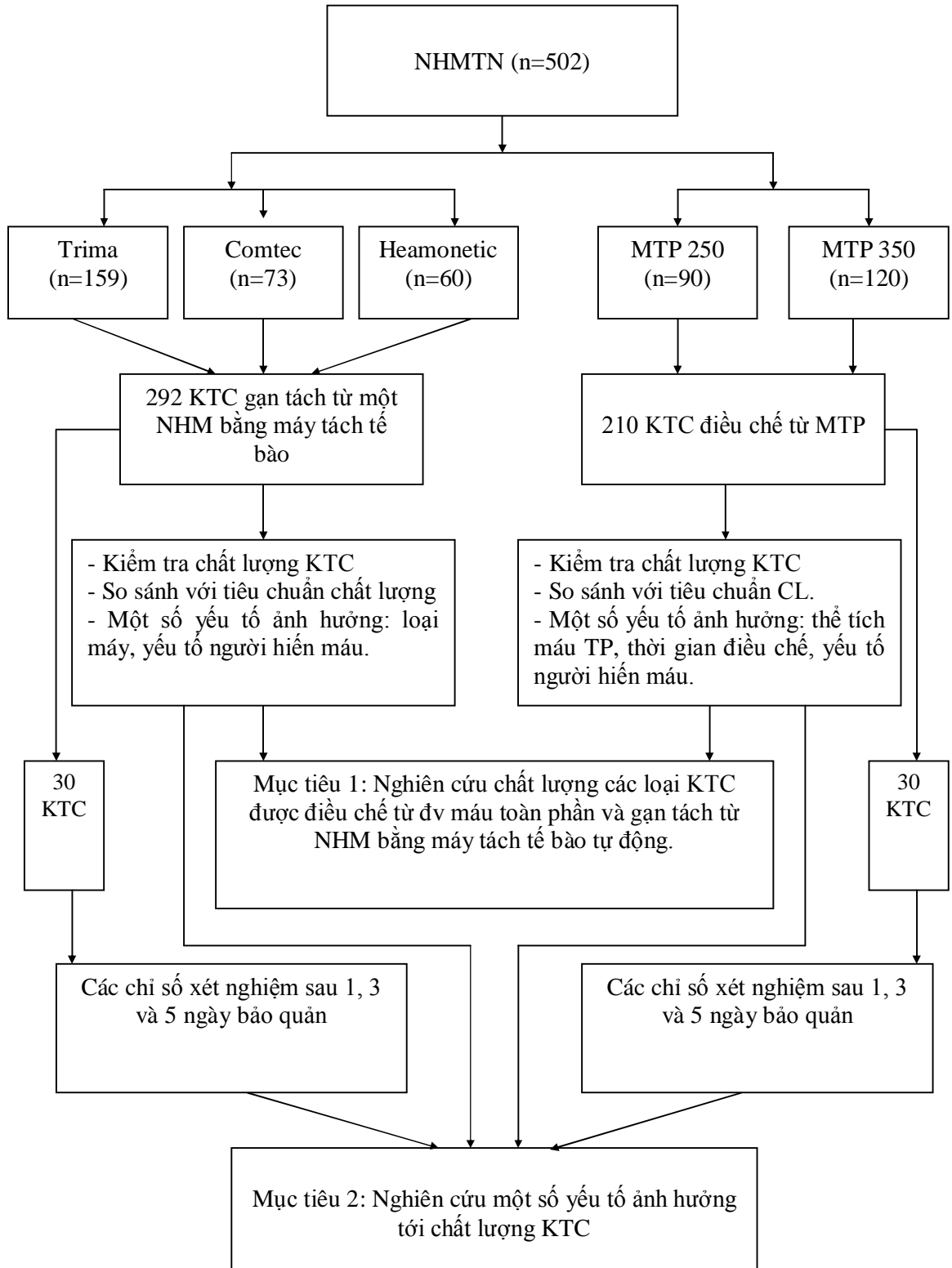
2.2.5 Xử lý số liệu

Các số liệu được xử lý theo phương pháp thống kê y học trên máy tính bằng phần mềm SPSS 16.0 bao gồm các thông số:

- Tỷ lệ %
- Giá trị trung bình, độ lệch chuẩn.
- So sánh từng cặp và khác cặp.
- Hệ số tương quan r.

2.2.6 Địa điểm nghiên cứu

- Viện Huyết học – Truyền máu Trung ương
- Viện Bông Quốc gia Lê Hữu Trác.
- Viện 69 Bộ tư lệnh bảo vệ lăng Chủ tịch Hồ Chí Minh.
- Bộ môn Huyết học – Truyền máu trường Đại Học Y Hà Nội.



Sơ đồ 2.1 Mô hình nghiên cứu

Chương 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Chất lượng khối tiểu cầu

3.1.1 Chất lượng khối tiểu cầu điều chế từ đơn vị máu toàn phần

3.1.1.1 Đặc điểm các đơn vị máu toàn phần điều chế KTC trong nghiên cứu

Đặc điểm của các đơn vị máu toàn phần để điều chế KTC được trình bày ở bảng 3.1 và biểu đồ 3.1

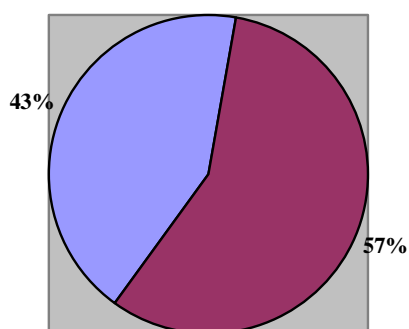
Bảng 3.1 Một số chỉ số xét nghiệm huyết học của đơn vị máu toàn phần

	Đơn vị máu toàn phần (n=210)		
	Trung bình	Thấp nhất	Cao nhất
SLTC (G/l)	302 ± 47	233	549
SLBC (G/l)	7,64 ± 1,63	4,05	13,70
SLHC (T/l)	5,05 ± 0,40	4,02	6,00
MCV (fl)	89,11 ± 5,08	64,90	106,00
Hct (l/l)	0,45 ± 0,03	0,37	0,55

Kết quả bảng 3.1 cho thấy:

Số lượng tiểu cầu trung bình trong đơn vị máu toàn phần để điều chế KTC là 302 ± 47 G/l. Đơn vị máu toàn phần có số lượng tiểu cầu thấp nhất là 233 G/l, cao nhất là 549 G/l.

MCV trung bình trong đơn vị máu toàn phần để điều chế KTC là 89,11 ± 5,08 fl. Đơn vị máu toàn phần có MCV thấp nhất là 64,90 fl, cao nhất là 106,00 fl.



■ Đơn vị máu TP 250ml ■ Đơn vị máu toàn phần 350ml

Biểu đồ 3.1: Đặc điểm thể tích đơn vị máu toàn phần dùng điều chế KTC

Kết quả ở biểu đồ 3.1 cho thấy trong tổng số 210 (100%) KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần trong nghiên cứu, có 90 (43%) KTC được điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250ml, 120 (57%) KTC được điều chế từ đơn vị máu toàn phần 350ml.

3.1.1.2 Chất lượng KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250ml

Chất lượng KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250 ml được trình bày ở các bảng 3.2; 3.3 và biểu đồ 3.2; 3.3

Bảng 3.2 Chất lượng KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250ml

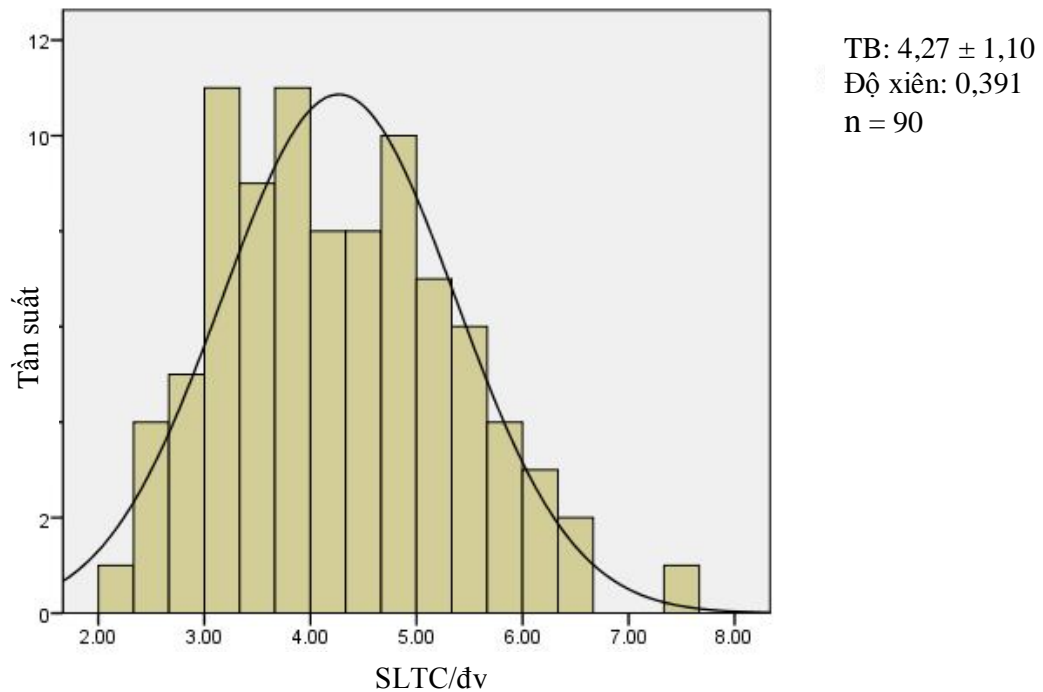
	KTC (n=90)			Tiêu chuẩn chất lượng VN
	Trung bình	Cao nhất	Thấp nhất	
SLTC ($10^{10}/đv$)	4,27 ± 1,10	7,37	2,19	≥3,25
SLBC ($10^9/đv$)	0,024±0,012	0,060	00	<0,050
SLHC ($10^{10}/đv$)	0,012±0,007	0,055	00	
pH	7,16±0,04	7,24	7,02	6,40-7,40
Thể tích KTC (ml)	50,20±1,89	68,00	50,00	>40,00

Kết quả tại bảng 3.2 cho thấy:

SLTC trung bình trong một đơn vị là: $4,27 \pm 1,10 \times 10^{10}$ TC, SLTC trong một đơn vị thấp nhất là $2,19 \times 10^{10}$ TC.

SLBC còn lại trong một đơn vị KTC trung bình là $0,024 \pm 0,012 \times 10^9/\text{đv}$, cao nhất $0,06 \times 10^9/\text{đv}$.

Độ pH trung bình $7,16 \pm 0,04$ cao nhất 7,24 thấp nhất là 7,02.



Biểu đồ 3.2 Biểu đồ phân bố SLTC trong một đơn vị KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250 ml.

Kết quả tại biểu đồ 3.2 cho thấy:

- Giá trị trung bình của SLTC là $4,27 \pm 1,10 \times 10^{10}$ TC/đv, độ xiên (skewness) = 0,391. SLTC là một phân phối chuẩn, số liệu phân phối khá đều hai phía.

- Độ rộng của phân phối từ $2,19 \times 10^{10}$ đến $7,37 \times 10^{10}$ TC/đv.

Bảng 3.3 Tỷ lệ KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250 ml đạt yêu cầu chất lượng theo tiêu chuẩn Việt Nam

	KTC đạt chất lượng		KTC chưa đạt chất lượng	
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)
SLTC (n=90)	70	77,8	20	22,2
SLBC (n=90)	88	97,8	2	2,2
SLHC (n=90)	90	100,0%	0	0
pH (n=90)	90	100,0%	0	0
Thể tích KTC (n=90)	90	100,0%	0	0

Kết quả tại bảng 3.3 cho thấy:

- Tỷ lệ KTC đạt yêu cầu chất lượng về thể tích, SLHC và độ pH là 100%.
- Tỷ lệ KTC đạt chất lượng về SLTC là 77,8%.
- Tỷ lệ KTC đạt yêu cầu về SLBC là 98,7%.

3.1.1.3 Chất lượng KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 350ml

Chất lượng KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 350 ml được trình bày ở các bảng 3.4; 3.5 và biểu đồ 3.3.

Bảng 3.4 Chất lượng KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 350ml

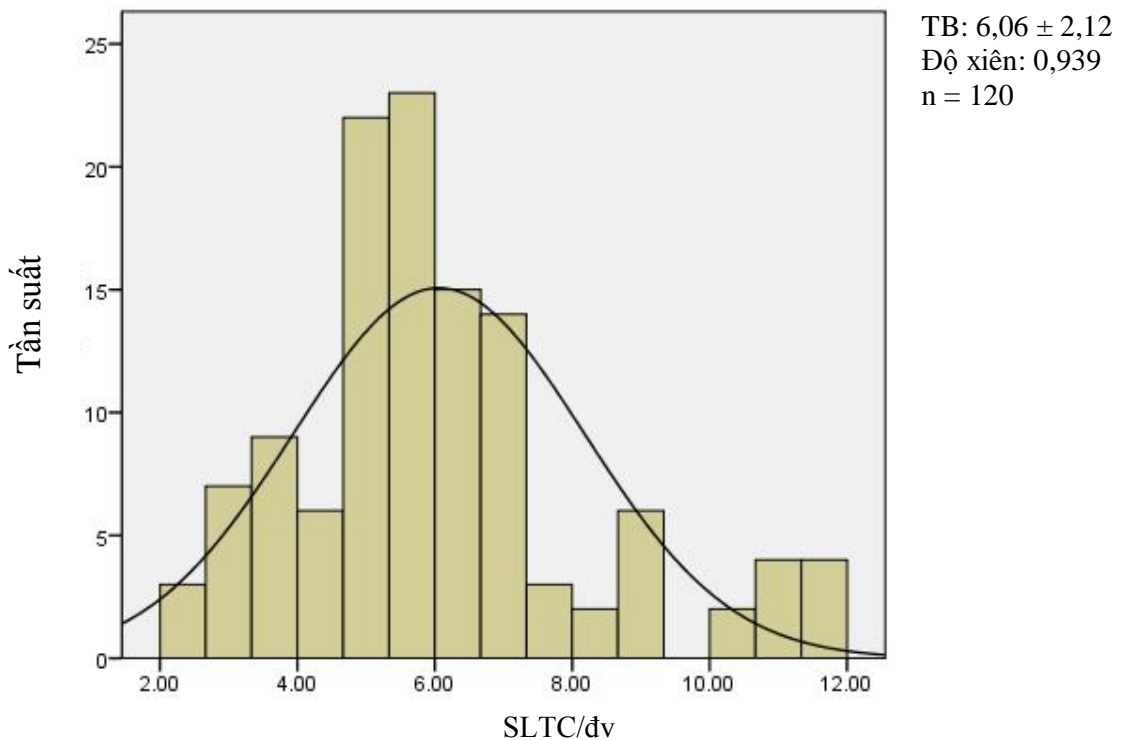
	KTC (n=120)			Tiêu chuẩn chất lượng VN
	Trung bình	Cao nhất	Thấp nhất	
SLTC (10^{10} /đơn vị)	$6,06 \pm 2,12$	11,98	2,20	$\geq 4,55$
SLBC (10^9 /đơn vị)	$0,037 \pm 0,027$	0,190	00	$< 0,05$
SLHC (10^{10} /đơn vị)	$0,016 \pm 0,010$	0,061	00	
pH	$7,15 \pm 0,04$	7,24	6,99	6,40-7,40
Thể tích KTC (ml)	$67,98 \pm 0,18$	68,00	66,00	$> 40,00$

Kết quả tại bảng 3.4 cho thấy:

SLTC trung bình trong một đơn vị là: $6,06 \pm 0,21 \times 10^{10}$ TC, SLTC trong một đơn vị thấp nhất là $2,20 \times 10^{10}$ TC.

SLBC trung bình trong một đơn vị là $0,037 \pm 0,027 \times 10^9$, cao nhất là $0,190 \times 10^9$ BC.

Độ pH trung bình là $7,15 \pm 0,04$ cao nhất 7,24 thấp nhất 6,99.



Biểu đồ 3.3: Phân bố SLTC trong một đơn vị KTC điều chế từ máu toàn phần 350 ml.

Biểu đồ 3.3 cho thấy:

- Giá trị trung bình của SLTC là $6,06 \pm 2,12 \times 10^{10}$ TC/đv, độ xiên (skewness) = 0,939. Số liệu phân phối tương đối đều hai phía.
- Độ rộng của phân phối từ $2,20 \times 10^{10}$ đến $11,98 \times 10^{10}$ TC/đv.

Bảng 3.5 Tỷ lệ KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 350 ml đạt yêu cầu chất lượng theo tiêu chuẩn Việt Nam

	KTC đạt chất lượng		KTC chưa đạt chất lượng	
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)
SLTC (n=120)	99	82,5	21	17,5
SLBC (n=120)	93	77,5	27	22,5
SLHC (n=120)	120	100,0	0	0
pH (n=120)	120	100,0	0	0
Thể tích KTC (n=120)	120	100,0	0	0

Kết quả tại bảng 3.5 cho thấy:

Tỷ lệ KTC đạt yêu cầu chất lượng về thể tích, SLHC và độ pH là 100%.

Tỷ lệ KTC đạt yêu cầu chất lượng về SLTC, SLBC tương ứng 82,5% và 77,5%.

3.1.2 Chất lượng KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào

3.1.2.1 Đặc điểm KTC trong nghiên cứu

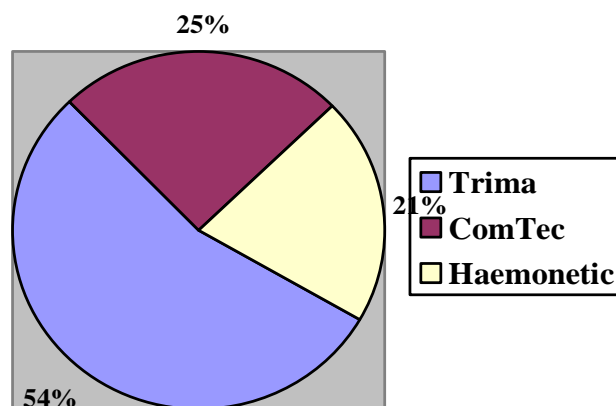
Đặc điểm người hiến máu để gạn tách KTC bằng máy tách tế bào tự động được trình bày ở bảng 3.6

Bảng 3.6 Đặc điểm người hiến máu để gạn tách KTC

	Người hiến máu (n= 292)		
	Trung bình	Cao nhất	Thấp nhất
Chiều cao (cm)	168,0 ± 5,5	186,0	150,0
Cân nặng (kg)	63,0 ± 7,6	100,0	50,0
Thể tích máu (ml)	4463 ± 432	5735	3324
SLTC (G/l)	291 ± 45	520	207

Kết quả ở bảng 3.6 cho thấy:

- Cân nặng trung bình của người hiến máu $63,0 \pm 7,6$ kg. Người hiến máu có cân nặng thấp nhất 50 kg.
- Thể tích máu trung bình của người hiến máu 4463 ± 432 ml.
- SLTC trung bình của người hiến máu 291 ± 45 G/l, người hiến máu có SLTC thấp nhất là 207 G/l.



Biểu đồ 3.4. Phân bố các KTC được gạn tách bằng các loại máy khác nhau

Biểu đồ 3.4 cho thấy: KTC gạn tách từ người hiến máu, bằng máy tách tế bào Trima chiếm tỷ lệ cao nhất 159 KTC (54%) trong mẫu nghiên cứu.

3.1.2.2 Chất lượng KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy Trima

Chất lượng khối tiểu cầu gạn tách từ người hiến máu bằng máy Trima được trình bày ở bảng 3.7; 3.8 và biểu đồ 3.5

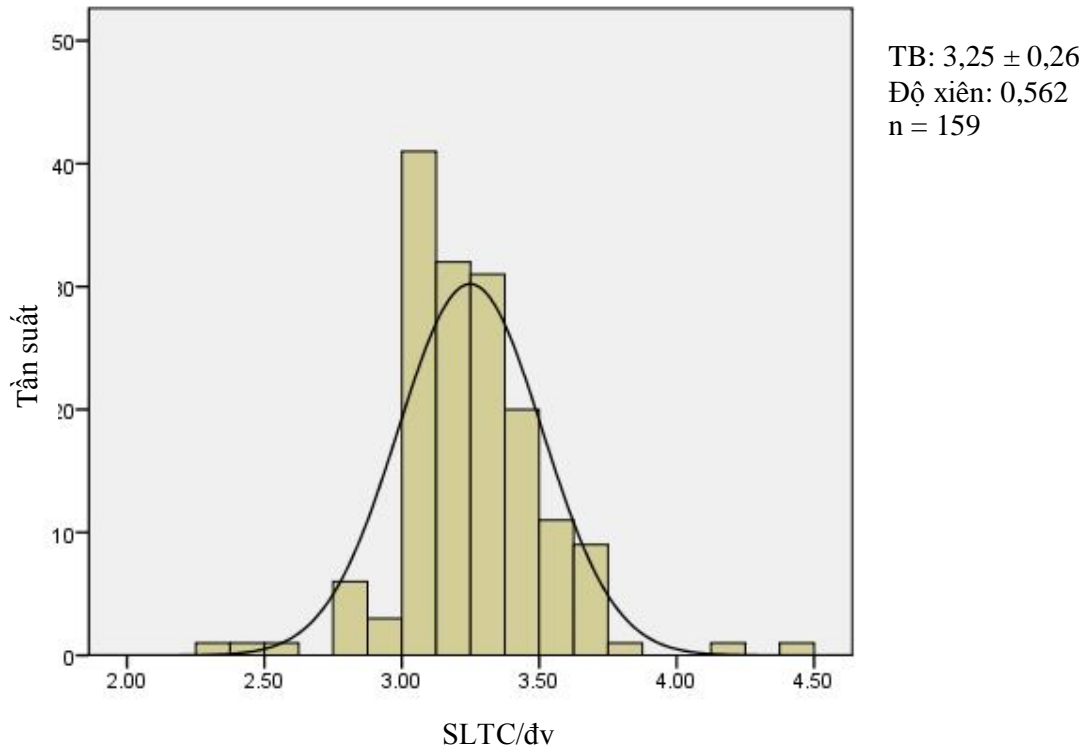
Bảng 3.7 Kết quả kiểm tra chất lượng KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào Trima

	KTC (n=159)			Tiêu chuẩn chất lượng VN
	Trung bình	Cao nhất	Thấp nhất	
SLTC (10^{11} /đơn vị)	3,25±0,26	4,49	2,37	≥3,00
SLBC (10^9 /đơn vị)	0,034±0,006	0,043	00	<0,300
SLHC (10^{10} /đơn vị)	0,05±0,03	0,22	0,02	
pH	7,15±0,06	7,24	6,95	6,40-7,40
Thể tích KTC (ml)	250,76±5,73	300,00	250,00	>212,50
Nồng độ TC (G/l)	1295±95	1496	948	≤1500

Kết quả tại bảng 3.7 cho thấy:

- KTC có SLTC trung bình là $3,25 \pm 0,26 \times 10^{11}$ TC/đv, thấp nhất là 2,37 $\times 10^{11}$ TC.

- KTC có nồng độ TC trung bình là 1295 ± 95 G/l, cao nhất là 1496 G/l.



*Biểu đồ 3.5 Phân bố SLTC trong một đơn vị tiêu cầu
gạn tách bằng máy Trima*

Biểu đồ 3.5 cho thấy:

- Giá trị trung bình của SLTC là : $3,25 \pm 0,26 \times 10^{11}$ TC/đv, độ xiên (skewness) = 0,562. Số liệu phân phối tương đối đều hai phía.
- Độ rộng của phân phối từ $2,34 \times 10^{11}$ đến $4,49 \times 10^{11}$ TC/đv.
- SLTC của KTC tập trung trong khoảng $3,00 \times 10^{11}$ đến $3,50 \times 10^{11}$ TC/đv.

Bảng 3.8 Tỷ lệ KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào Trima đạt yêu cầu chất lượng theo tiêu chuẩn Việt Nam

	KTC đạt chất lượng		KTC chưa đạt chất lượng	
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)
SLTC (n=159)	147	92,5	12	7,5
Nồng độ TC (n=159)	159	100,0	0	0
pH (n=159)	159	100,0	0	0
Thể tích KTC (n=159)	159	100,0	0	0

Kết quả tại bảng 3.8 cho thấy:

KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào Trima đạt yêu cầu chất lượng 100% về các chỉ tiêu nồng độ TC, độ pH và thể tích KTC.

92,5% KTC đạt yêu cầu về chỉ tiêu chất lượng SLTC.

3.1.2.3 Chất lượng KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách ComTec

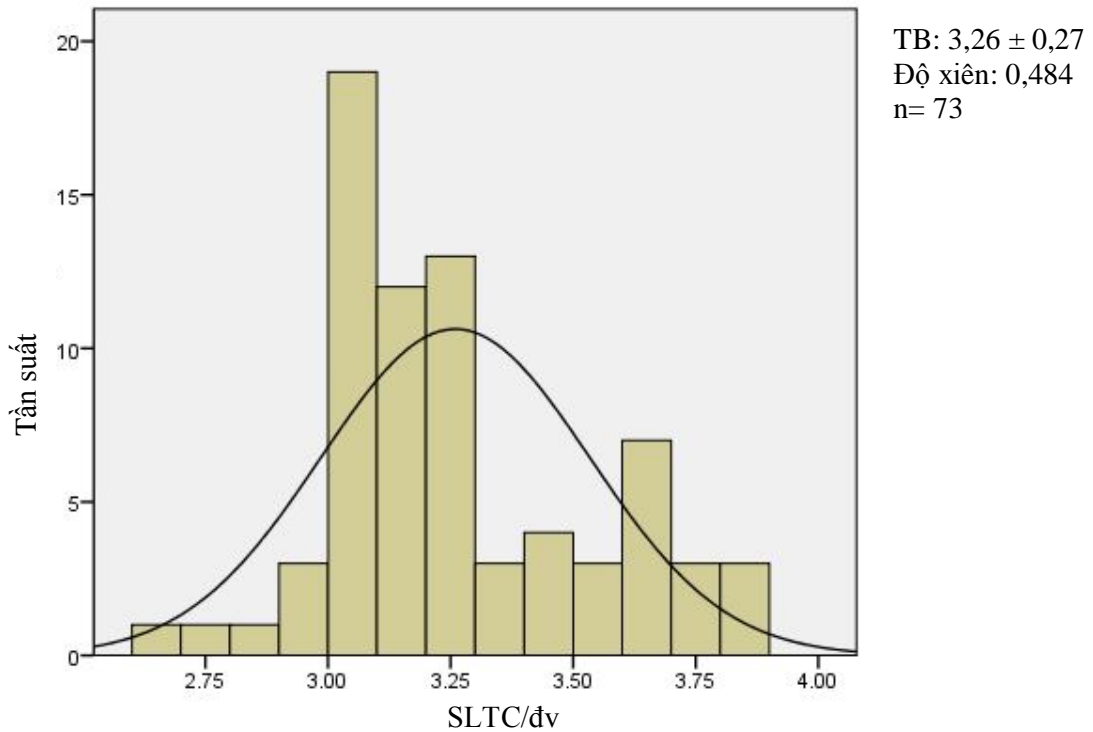
Chất lượng khối tiêu cầu gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào Comtec được trình bày ở các bảng 3.9; 3.10 và biểu đồ 3.6

Bảng 3.9 Chất lượng KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào Comtec

	KTC (n=73)			Tiêu chuẩn chất lượng VN
	Trung bình	Cao nhất	Thấp nhất	
SLTC ($10^{11}/đv$)	3,26±0,27	3,89	2,62	$\geq 3,00$
BC ($10^9/đv$)	0,035±0,005	0,360	00	<0,300
SLHC ($10^{10}/đv$)	0,05±0,03	0,19	00	
pH	7,14±0,07	7,21	6,88	6,40-7,40
Thể tích KTC (ml)	274,08±18,37	313,00	250,00	>212,50
Nồng độ TC (G/l)	1191±98	1475	971	≤ 1500

Kết quả tại bảng 3.9 cho thấy:

- KTC có SLTC trung bình là $3,26 \pm 0,27$ thấp nhất $2,62 \times 10^{11} \text{TC}$.
- KTC có nồng độ TC trung bình là $1191 \pm 98 \text{ G/l}$, cao nhất là $1475 \times \text{G/l}$.



*Biểu đồ 3.6 Phân bố SLTC trong một đơn vị tiêu cầu
gạn tách bằng máy Comtec*

Biểu đồ 3.6 cho thấy:

- Giá trị trung bình của SLTC là : $3,26 \pm 0,27 \times 10^{11} \text{ TC/đv}$, độ xiên (skewness) = 0,484
- Độ rộng của phân phối từ $2,62 \times 10^{11}$ đến $3,89 \times 10^{11} \text{ TC/đv}$.
- SLTC của KTC tập trung trong khoảng $3,00 \times 10^{11}$ đến $3,30 \times 10^{11} \text{TC/đv}$.

Bảng 3.10 Tỷ lệ KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy Comtec đạt yêu cầu chất lượng theo tiêu chuẩn Việt Nam

	KTC đạt chất lượng		KTC chưa đạt chất lượng	
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)
SLTC (n=73)	67	91,8	6	8,2
Nồng độ TC (n=73)	73	100,0	0	0
pH (n=73)	73	100,0	0	0
Thể tích KTC (n=73)	73	100,0	0	0

Kết quả tại bảng 3.10 cho thấy:

KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào Comtec đạt yêu cầu chất lượng 100% về các chỉ tiêu nồng độ TC, độ pH và thể tích KTC.

3.1.2.4 Chất lượng KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy Haemonetic

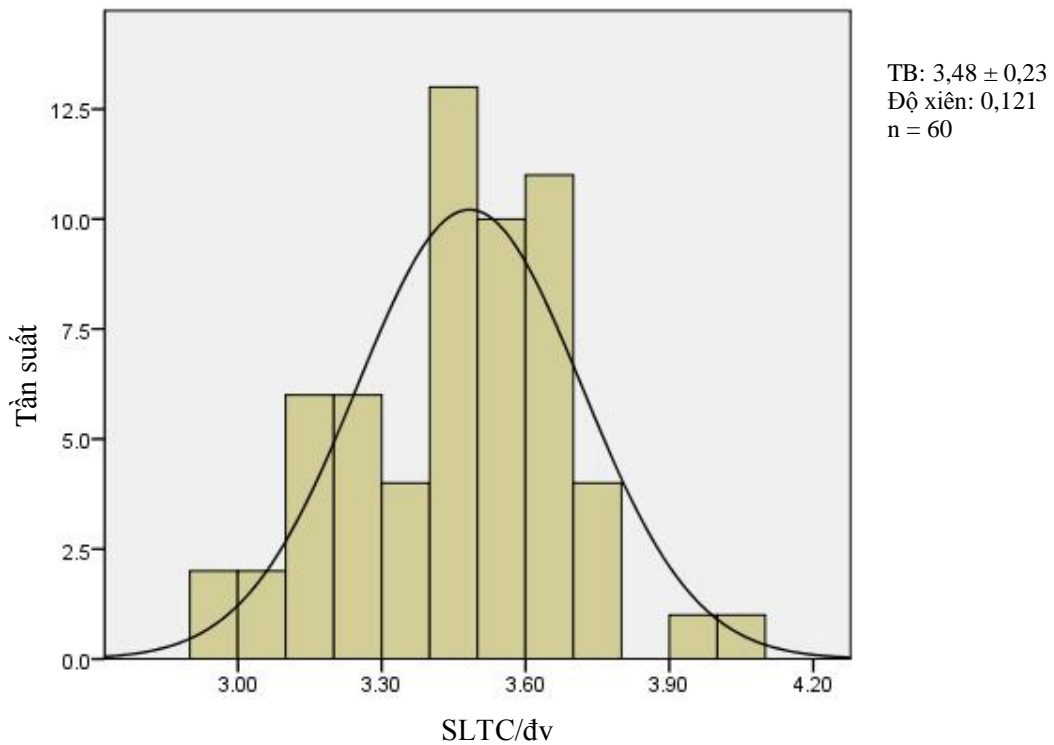
Chất lượng khối tiểu cầu gạn tách từ người hiến máu bằng máy Haemonetic được trình bày ở các bảng 3.11; 3.12 và biểu đồ 3.7

Bảng 3.11 Chất lượng KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào Haemonetic

	KTC (n=60)			Tiêu chuẩn chất lượng VN
	Trung bình	Cao nhất	Thấp nhất	
SLTC (10 ¹¹ /đv)	3,48±0,23	4,07	2,95	≥3,00
SLBC (10 ⁹ /đv)	0,060±0,004	0,170	0,030	<0,300
SLHC (10 ¹⁰ /đv)	0,09±0,03	0,17	0,03	
pH	7,14±0,05	7,21	7,00	6,4-7,4
Thể tích KTC (ml)	263,19±11,94	280,00	250,00	>212,50
Nồng độ TC (G/l)	1325±84	1481	1119	≤1500

Kết quả tại bảng 3.12 cho thấy:

- KTC có SLTC trung bình là $3,48 \pm 0,23 \times 10^{11} \text{TC}/\text{đv}$, thấp nhất $2,95 \times 10^{11} \text{TC}$.
- KTC có nồng độ TC trung bình là $1325 \pm 84 \text{ G/l}$, cao nhất $1481 \times 10^9 \text{l}$.
- SLBC trung bình $0,60 \pm 0,04 \times 10^9 \text{BC}/\text{đv}$, SLBC cao nhất $1,7 \times 10^9/\text{đv}$.



*Biểu đồ 3.7 Phân bố SLTC trong một đơn vị tiểu cầu
gạn tách bằng máy Hamonetic*

Biểu đồ 3.7 cho thấy:

- Giá trị trung bình của SLTC là : $3,48 \pm 0,23 \times 10^{11} \text{TC}/\text{đv}$, độ xiên (skewness) = 0,121
- Độ rộng của phân phối từ $2,95 \times 10^{11}$ đến $4,07 \times 10^{11} \text{TC}/\text{đv}$.
- SLTC của KTC tập trung nhiều trong khoảng $3,40 \times 10^{11}$ đến $3,70 \times 10^{11} \text{TC}/\text{đv}$.

Bảng 3.12: Tỷ lệ KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy Haemonetic đạt yêu cầu chất lượng theo tiêu chuẩn Việt Nam

	KTC đạt chất lượng		KTC chưa đạt chất lượng	
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)
SLTC (n=60)	59	98,3	1	1,7
Nồng độ TC (n=60)	60	100	0	0
pH (n=60)	60	100	0	0
Thể tích KTC (n=60)	60	100	0	0

Kết quả tại bảng 3.12 cho thấy:

KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào Haemonetic đạt yêu cầu chất lượng 100% về các chỉ tiêu nồng độ TC, độ pH và thể tích KTC.

Có 98,3% KTC đạt yêu cầu chất lượng về SLTC.

3.2 Một số yếu tố ảnh hưởng tới chất lượng KTC

3.2.1 Một số yếu tố ảnh hưởng tới chất lượng KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần

3.2.1.1 Ảnh hưởng của thể tích đơn vị máu toàn phần

Để nghiên cứu ảnh hưởng của thể tích đơn vị máu toàn phần tới chất lượng KTC, chúng tôi quy đổi các chỉ tiêu chất lượng KTC trong một đơn vị thành dạng các chỉ tiêu được điều chế từ 100 ml máu toàn phần.

Bảng 3.13 So sánh chất lượng KTC điều chế từ 100 ml máu toàn phần của đơn vị máu toàn phần 250 ml và 350 ml

	Đơn vị máu 250 ml (n=90)	Đơn vị máu 350 ml (n=120)	p
SLTC (10^9 /đơn vị)	17,07 ± 4,41	17,31 ± 6,10	p>0,05
SLBC (10^9 /đơn vị)	0,01 ± 0,005	0,011 ± 0,008	p>0,05
HC (10^{10} /đơn vị)	0,005 ± 0,003	0,005 ± 0,003	p>0,05
pH	7,16 ± 0,04	7,15 ± 0,04	p>0,05
Thể tích KTC (ml)	20,08 ± 0,76	19,42 ± 0,05	p<0,05

Kết quả ở bảng 3.13 cho thấy:

SLTC, SLBC, SLHC, pH trong KTC điều chế từ 100 ml máu toàn phần của đơn vị máu toàn phần 250 ml và 350 ml không khác biệt nhau (p>0,05).

Thể tích KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 350 ml ít hơn thể tích KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250 ml (quy đổi về điều chế từ 100 ml máu toàn phần).

Bảng 3.14: So sánh tỷ lệ đạt yêu cầu chất lượng về SLTC và SLBC của KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250 ml và 350 ml

	KTC				p
	Đơn vị máu 250 (n=90)		Đơn vị máu 350 (n= 120)		
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
Đạt chất lượng SLTC	70	77,8	99	82,5	p>0,05
KTC đạt chất lượng SLBC	88	97,8	93	77,5	p<0,05

Kết quả bảng 3.14 cho thấy:

- Tỷ lệ đạt yêu cầu chất lượng về SLTC là tương đương nhau trong hai loại KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250ml và 350ml ($p>0,05$).

- Có sự khác biệt về tỷ lệ đạt yêu cầu chất lượng, của chỉ số SLBC trong KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250ml và 350ml. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$).

3.2.1.2 Ảnh hưởng của thời gian từ khi thu gom máu đến khi điều chế KTC

Bảng 3.15 So sánh ảnh hưởng của thời gian điều chế tới chất lượng KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250ml

	Trước 8 giờ (n=41)	Trong thời gian 8 giờ đến 24 giờ (n=49)	p
SLTC (10^{10} /đơn vị)	4,21±1,08	4,31±1,12	$p>0,05$
SLBC (10^9 /đơn vị)	0,027±0,13	0,022±0,12	$p>0,05$
SLHC (10^{10} /đơn vị)	0,012±0,006	0,013±0,009	$p>0,05$
pH	7,17±0,03	7,14±0,05	$p<0,05$

Kết quả ở bảng 3.15 cho thấy:

- Không có sự khác biệt về các chỉ số SLTC, SLBC và SLHC ở các khối tiêu cầu được điều chế tại các thời điểm trước 8 giờ và trong thời gian 8 giờ đến 24 giờ kể từ khi thu gom máu ($p>0,05$).

- Độ pH của KTC, được điều chế tại các thời điểm trước 8 giờ và trong thời gian 8 giờ đến 24 giờ kể từ khi thu gom máu có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p<0,05$.

Bảng 3.16 So sánh ảnh hưởng của thời gian điều chế tới chất lượng KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 350ml

	Trước 8 giờ (n=61)	Trong thời gian 8 giờ đến 24 giờ (n=59)	p
SLTC (10^{10} /đơn vị)	6,35±2,04	5,76±2,17	p>0,05
SLBC (10^9 /đơn vị)	0,041±0,028	0,032±0,026	p>0,05
SLHC (10^{10} /đơn vị)	0,018±0,010	0,015±0,010	p>0,05
pH	7,17±0,04	7,13±0,05	p<0,05

Kết quả ở bảng 3.16 cho thấy:

- Không có sự khác biệt về các chỉ số SLTC, SLBC và SLHC ở các khối tiêu cầu điều chế tại các thời điểm trước 8 giờ và trong thời gian 8 giờ đến 24 giờ kể từ khi thu gom máu (p>0,05).

- Độ pH của KTC điều chế tại các thời điểm trước 8 giờ và trong thời gian 8 giờ đến 24 giờ kể từ khi thu gom máu có sự khác biệt. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p<0,05.

3.2.1.3 Ảnh hưởng của một số yếu tố từ người hiến máu tới chất lượng KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần

Ảnh hưởng của một số yếu tố từ người hiến máu tới chất lượng KTC được trình bày ở các bảng 3.17; 3.18 và 3.19

Bảng 3.17 Ảnh hưởng của số lượng TC người hiến máu tới chất lượng KTC điều chế từ máu toàn phần

	TC≤300 G/l (n=65)	TC>300 G/l (n=55)	p
SLTC (10^{10} /đơn vị)	5,34 ± 1,88	6,91 ± 2,08	p<0,05
SLTC (G/l)	785 ± 275	1016 ± 306	p<0,05

Kết quả ở bảng 3.17 cho thấy:

SLTC trong KTC điều chế từ các đơn vị máu toàn phần có $SLTC \leq 300G/l$ và các đơn vị máu toàn phần có $SLTC > 300G/l$ có sự khác biệt. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Bảng 3.18 Ảnh hưởng của MCV người hiến máu tới chất lượng KTC

	MCV < 85fl (n= 23)	85fl ≤ MCV ≤ 95fl (n=82)	MCV > 95fl (n= 15)	p
SLTC (10^{10} /đơn vị)	5,86 ± 2,11	6,20 ± 2,14	5,62 ± 2,05	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
SLBC (10^9 /đơn vị)	0,03 ± 0,02	0,04 ± 0,03	0,03 ± 0,03	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
SLHC (10^{10} /đơn vị)	0,013 ± 0,006	0,018 ± 0,012	0,013 ± 0,007	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
	p ₁	p ₂	p ₃	

Kết quả bảng 3.18 cho thấy:

Không có sự khác biệt về SLTC, SLBC, SLHC của KTC điều chế từ các đơn vị máu toàn phần có $MCV < 85fl$; $85fl \leq MCV \leq 95fl$ và nhóm có $MCV > 95fl$.

Bảng 3.19 *Mối tương quan giữa SLTC trong KTC với HC, BC, Hct người hiến máu*

		SLTC	HC	BC	Hct
SLTC	r	1			
	p				
	n	120			
HC	r	0,055	1		
	p	0,548			
	n	120	120		
BC	r	-0,048	0,154	1	
	p	0,599	0,093		
	n	120	120	120	
Hct	r	0,070	0,554	0,066	1
	p	0,444	0,000	0,471	
	n	120	120	120	120

Kết quả bảng 3.19 cho thấy:

- Không có mối tương quan giữa SLTC của KTC với SLHC người hiến máu ($r=0,055$, $p=0,548$).

- Tương quan yếu giữa SLTC của KTC với BC ($r=-0,048$, $p=0,599$) và Hct ($r=0,070$, $p=0,444$) người hiến máu.

3.2.1.4 Ảnh hưởng của thời gian bảo quản tới chất lượng KTC điều chế từ các đơn vị máu toàn phần

Bảng 3.20 *Kết quả biến đổi SLTC trong KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần theo ngày bảo quản*

	SLTC (G/l)	SLTC (10^{10} /đơn vị)
Ngày 1 (n=30)	765±181	4,3±1,4
Ngày 3 (n=30)	717±198	4,1±1,4
	$P_{1-3}<0,05$	$p_{1-3}<0,05$
Ngày 5 (n=30)	680±190	3,8±1,3
	$p_{1-5}<0,05$ $p_{3-5}>0,05$	$p_{1-5}<0,05$ $p_{3-5}>0,05$

Kết quả bảng 3.20 cho thấy:

SLTC thay đổi theo các ngày trong quá trình bảo quản. So sánh SLTC ở các ngày thứ ba, ngày thứ năm với ngày thứ nhất thấy có sự khác biệt ($p < 0,05$).

SLTC ngày bảo quản thứ năm không có sự khác biệt với SLTC ngày bảo quản thứ ba ($p > 0,05$).

Bảng 3.21 Kết quả các chỉ số TC trong KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần theo ngày bảo quản

	PDW (%)	MPV (fl)	P-LCR (%)
Ngày 1 (n=30)	9,21±1,28	7,67±0,80	11,34±5,00
Ngày 3 (n=30)	10,03±1,49	8,28±0,83	14,40±5,76
	$p_{1-3} < 0,05$	$p_{1-3} < 0,05$	$p_{1-3} < 0,05$
Ngày 5 (n=30)	10,13±2,34	8,48±0,94	15,90±6,23
	$p_{1-5} < 0,05$	$p_{1-5} < 0,05$	$p_{1-5} < 0,05$
	$p_{3-5} > 0,05$	$p_{3-5} < 0,05$	$p_{3-5} < 0,05$

Kết quả ở bảng 3.21 cho thấy:

- Các chỉ số tiểu cầu: PDW, MPV, P-LCR có sự thay đổi, tăng lên theo ngày bảo quản. So sánh giữa các ngày bảo quản ngày thứ nhất, ngày thứ ba, ngày thứ năm có sự khác nhau rõ rệt ($p < 0,05$).

- Chỉ số PDW ở ngày bảo quản thứ năm không có sự khác biệt so với PDW ngày bảo quản thứ ba ($p > 0,05$).

Bảng 3.22 Biến đổi SLHC và SLHC trong KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần theo ngày bảo quản

	SLHC (T/l)	SLBC (G/l)
Ngày 1 (n=30)	0,025±0,017	0,58±0,24
Ngày 3 (n=30)	0,024±0,008	0,58±0,28
	p>0,05	p>0,05
Ngày 5 (n=30)	0,021±0,010	0,48±0,26
	p ₁₋₅ >0,05	p ₁₋₅ >0,05
	p ₃₋₅ >0,05	p ₃₋₅ >0,05

Kết quả ở bảng 3.22 cho thấy:

SLHC và SLBC ở các ngày bảo quản thứ nhất, thứ ba và ngày bảo quản thứ năm không có sự khác biệt (p>0,05).

Bảng 3.23 Thay đổi pH, nồng độ glucose, lactate trong KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần theo ngày bảo quản

	Ngày 1 (n=30)	Ngày 3 (n=30)	Ngày 5 (n=30)
pH	7,15±0,09 (6,97 ÷ 7,35)	7,08±0,12 (6,7 ÷ 7,16)	7,04±0,14 (6,68 ÷ 7,26)
		p ₁₋₃ <0,05	p ₁₋₅ <0,05 p ₃₋₅ <0,05
Glucose (mmol/l)	22,28±2,17 (19,0 ÷ 27,8)	19,30±2,05 (14,3 ÷ 23)	18,38±2,93 (11,6 ÷ 23,6)
		p ₁₋₃ <0,05	p ₁₋₅ <0,05 p ₃₋₅ <0,05
Lactate (mmol/l)	6,26±1,44 (4,2 ÷ 91)	8,93±2,99 (4,7 ÷ 16,8)	11,42±3,09 (6,2 ÷ 18,2)
		p ₁₋₃ <0,05	p ₁₋₅ <0,05 p ₃₋₅ <0,05

Kết quả tại bảng 3.23 cho thấy:

- Độ pH giảm dần theo ngày trong thời gian bảo quản, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Độ pH thấp nhất trong cả thời gian bảo quản là 6,68, cao nhất 7,35.

- Nồng độ glucose khác biệt nhau giữa các ngày trong thời gian bảo quản ($p < 0,05$). Nồng độ glucose cao nhất trong thời gian bảo quản là 27,8 mmol/l, thấp nhất 11,6 mmol/l, không có sự thay đổi đột ngột nồng độ glucose.

- Nồng độ lactate trong KTC tăng trong thời gian bảo quản, so sánh giữa các ngày có sự thay đổi rõ ($p < 0,05$).

Bảng 3.24 *Mối tương quan giữa pH, glucose, lactate trong KTC điều chế từ máu toàn phần theo ngày bảo quản*

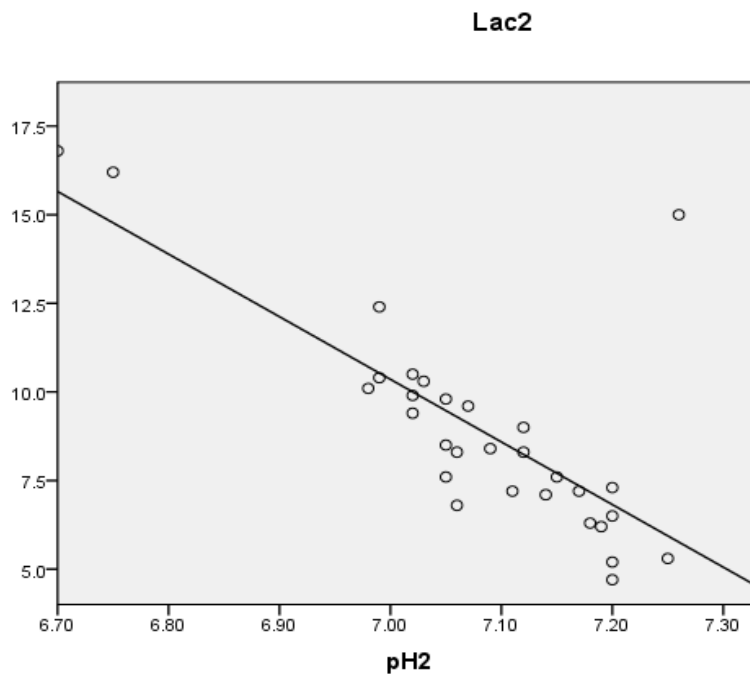
			pH	Glucose	Lactate
Ngày 1	pH	r	1		
		p			
		n	30		
Ngày 1	Glucose	r	0,330	1	
		p	0,075		
		n	30	30	
Ngày 1	Lactate	r	-0,286	-0,128	1
		p	0,125	0,501	
		n	30	30	30
Ngày 3	pH	r	1		
		p			
		n	30		
Ngày 3	Glucose	r	0,777	1	
		p	0,000		
		n	30	30	
Ngày 3	Lactate	r	-0,741	-0,539	1
		p	0,000	0,002	
		n	30	30	30
Ngày 5	pH	r	1		
		p			
		n	30		
Ngày 5	Glucose	r	0,786	1	
		p	0,000		
		n	30	30	
Ngày 5	Lactate	r	-0,798	-0,571	1
		p	0,000	0,001	
		n	30	30	30

Kết quả ở bảng 3.24 cho thấy:

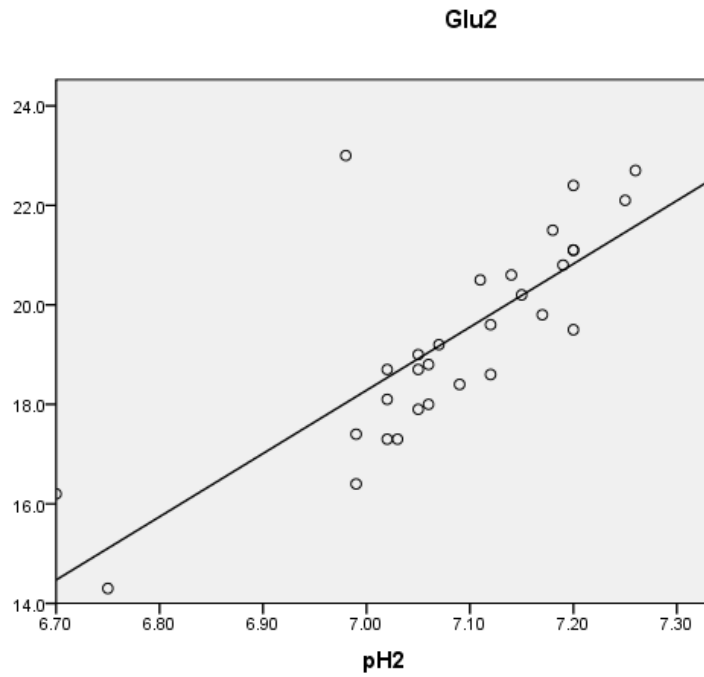
Độ pH và nồng độ glucose trong KTC có một tương quan cao, thể hiện rõ ở ngày bảo quản thứ ba và thứ năm, ngày bảo quản thứ năm mối tương quan giữa độ pH và nồng độ glucose là $r=0,786$, $p=0,000$.

Có mối tương quan cao theo chiều nghịch giữa độ pH và nồng độ lactate, hệ số tương quan ở ngày bảo quản thứ ba và năm tương ứng là $r=-0,741$, $p=0,000$; $r=-0,798$, $p=0,000$.

Mối tương quan giữa nồng độ glucose và nồng độ lactate là $r=-0,571$, $p=0,001$.



Biểu đồ 3.8 Mối tương quan giữa pH và lactate



Biểu đồ 3.9 Mối tương quan giữa pH và glucose

Bảng 3.25 Thay đổi các chỉ số pO₂ và pCO₂ trong KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần theo ngày bảo quản

	pO ₂ (mmHg)	pCO ₂ (mmHg)
Ngày 1 (n=30)	82,67±17,91	51,47±10,18
Ngày 3 (n=30)	77,17±20,42	50,40±8,85
	p ₁₋₃ >0,05	p ₁₋₃ >0,05
Ngày 5 (n=30)	86,30±19,83	47,43±9,31
	p ₁₋₅ >0,05 p ₃₋₅ <0,05	p ₁₋₅ <0,05 p ₃₋₅ <0,05

Kết quả ở bảng 3.25 cho thấy:

- pO_2 giảm ở ngày bảo quản thứ ba nhưng không có sự thay đổi rõ rệt so với ngày thứ nhất ($p>0,05$), sau đó pO_2 tăng trở lại. Khác biệt rõ giữa pO_2 ngày thứ năm và ngày ba ($p<0,05$).

- pCO_2 giảm dần trong thời gian bảo quản, thấp nhất ở ngày bảo quản thứ năm: pCO_2 là $47,43\pm 9,31$ mmHg. So sánh pCO_2 ngày thứ năm với ngày thứ nhất và ngày thứ ba có sự thay đổi rõ ($p<0,05$).

Bảng 3.26: Thay đổi nồng độ Na^+ và K^+ trong KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần theo ngày bảo quản

	Na^+ (mmol/l)	K^+ (mmol/l)
Ngày 1 (n=30)	$149,83\pm 1,74$	$2,64\pm 0,16$
Ngày 3 (n=30)	$150,13\pm 1,33$	$2,61\pm 0,17$
	$p_{1-3}>0,05$	$p_{1-3}>0,05$
Ngày 5 (n=30)	$150,90\pm 1,97$	$2,63\pm 0,17$
	$p_{1-5}<0,05$	$p_{1-5}>0,05$
	$p_{3-5}<0,05$	$p_{3-5}>0,05$

Kết quả ở bảng 3.26 cho thấy:

- Nồng độ Na^+ tăng trong thời gian bảo quản, sự khác biệt nồng độ Na^+ giữa ngày bảo quản thứ năm và ngày nhất, ngày thứ năm và ngày thứ ba có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$).

- Nồng độ K^+ giữa các ngày bảo quản không khác nhau ($p>0,05$).

3.2.2 Ảnh hưởng của một số yếu tố tới chất lượng KTC gạn tách từ người hiến tiểu cầu bằng máy tách tế bào

3.2.2.1 Ảnh hưởng của loại máy tách tiểu cầu tới chất lượng KTC

Ảnh hưởng của loại máy tách tiểu cầu tới chất lượng KTC được trình bày ở các bảng 3.27 và 3.28

Bảng 3.27 So sánh SLTC trong KTC gạn tách từ người hiến máu bằng các loại máy tách tế bào.

	Trima (n=32)	Comtec (n=35)	Haemonetic (n=30)	p
SLTC (10^{11} /đơn vị)	3,20±0,24	3,30±0,32	3,37±0,24	$p_{1-2}>0,05$ $p_{1-3}>0,05$ $p_{2-3}>0,05$
Nồng độ TC (G/l)	1295±95	1191±98	1325±84	$p_{1-2}>0,05$ $p_{1-3}>0,05$ $p_{2-3}>0,05$
	p1	p2	p3	

Kết quả ở bảng 3.27 cho thấy:

- Không có sự khác biệt về SLTC trong các KTC gạn tách bằng ba loại máy Trima, Comtec, Haemonetic ($p>0,05$).

- Không có sự khác biệt về nồng độ TC của các KTC gạn tách bằng ba loại máy ($p>0,05$).

Bảng 3.28: So sánh một số chỉ tiêu chất lượng KTC gạn tách từ người hiến máu bằng các loại máy tách tế bào

	Trima (n=32)	Comtec (n=35)	Haemonetic (n=30)	p
SLBC (10^9 /đơn vị)	0,032±0,005	0,038±0,004	0,072±0,004	$p_{1-2}>0,05$ $p_{1-3}<0,05$ $p_{2-3}<0,05$
SLHC (10^{10} /đơn vị)	0,06±0,04	0,06±0,03	0,10±0,03	$p_{1-2}>0,05$ $p_{1-3}<0,05$ $p_{2-3}<0,05$
pH	7,15±0,07	7,14±0,07	7,15±0,05	$p_{1-2}>0,05$ $p_{1-3}>0,05$ $p_{2-3}>0,05$
Thể tích KTC (ml)	250,00±00	277,23±18,14	266,72±13,41	$p_{1-2}<0,05$ $p_{1-3}<0,05$ $p_{2-3}>0,05$

Kết quả ở bảng 3.28 cho thấy:

- Không có sự khác biệt về SLBC, SLHC trong các KTC gạn tách bằng hai loại máy Trima và Comtec ($p > 0,05$).

- KTC gạn tách bằng máy Haemonetic có SLBC, SLHC còn lại trong KTC cao hơn KTC gạn tách bằng máy Trima và Comtec. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

- Độ pH giữa các KTC gạn tách bằng ba loại máy Trima, Comtec, Haemonetic tương đương ($P > 0,05$).

- Thể tích KTC gạn tách bằng máy Comtec và Haemonetic cao hơn thể tích khối tiêu cầu gạn tách bằng máy Trima. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$

- Thể tích KTC gạn tách bằng máy Comtec và Haemonetic tương đương ($P > 0,05$).

3.2.2.2 Ảnh hưởng của một số yếu tố từ người hiến máu tới chất lượng KTC

Kết quả ảnh hưởng của một số yếu tố từ người hiến máu tới chất lượng KTC gạn tách bằng máy Trima được trình bày ở các bảng 3.29; 3.30; 3.31 và 3.32

Bảng 3.29 Ảnh hưởng của SLTC người hiến máu tới chất lượng KTC gạn tách bằng máy tách tế bào

	TC >300G/l (n=30)	TC ≤ 300G/l (n=32)	p
SLTC (10^{11} /đơn vị)	3,25±0,25	3,20±0,24	$p > 0,05$
SLBC (10^9 /đơn vị)	0,023±0,003	0,032±0,005	$p > 0,05$
SLHC (10^{10} /đơn vị)	0,04±0,02	0,06±0,04	$p < 0,05$
pH	7,14±0,06	7,15±0,07	$p > 0,05$

Kết quả ở bảng 3.29 cho thấy:

- SLTC, SLBC, độ pH trong KTC được gạn tách từ hai nhóm người hiến máu có SLTC >300G/l và ≤300G/l tương đương nhau ($p > 0,05$).

- SLHC trong KTC gạn tách từ người hiến máu có SLTC ≤300G/l cao hơn SLHC trong KTC gạn tách từ người hiến máu có SLTC >300G/l. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê $p < 0,05$.

Bảng 3.30 Ảnh hưởng của cân nặng người hiến máu tới chất lượng KTC gạn tách bằng máy tách tế bào

	Cân nặng >60 kg (n=32)	Cân nặng ≤ 60 kg (n=34)	p
SLTC (10^{11} /đơn vị)	3,20±0,24	3,25±0,26	$p > 0,05$
SLBC (10^9 /đơn vị)	0,032±0,005	0,035±0,008	$p > 0,05$
SLHC (10^{10} /đơn vị)	0,06±0,04	0,05±0,04	$p > 0,05$
pH	7,15±0,07	7,15±0,07	$p > 0,05$

Kết quả ở bảng 3.20 cho thấy:

SLTC, SLBC, SLHC trong KTC gạn tách từ hai nhóm người hiến máu có cân nặng >60 kg và người hiến máu có cân nặng ≤60 kg tương đương nhau ($p > 0,05$).

Bảng 3.31 Ảnh hưởng của giới tính người hiến máu tới chất lượng KTC gạn tách bằng máy tách tế bào

	Nam (n=30)	Nữ (n=30)	p
SLTC (10^{11} /đơn vị)	3,30±0,21	3,27±0,35	$p > 0,05$
SLBC (10^9 /đơn vị)	0,028±0,003	0,052±0,010	$p > 0,05$
SLHC (10^{10} /đơn vị)	0,04±0,02	0,04±0,02	$p > 0,05$
pH	7,15±0,07	7,15±0,05	$p > 0,05$

Kết quả ở bảng 3.31 cho thấy:

SLTC, SLBC, SLHC, pH trong KTC gạn tách từ hai giới nam và nữ tương đương nhau ($p > 0,05$).

Bảng 3.32 Mối tương quan giữa Hct, HC, MCV người hiến máu với SLTC của KTC gạn tách bằng máy tách tế bào

	SLTC	Hct	HC	MCV
SLTC r p n	1 159			
Hct r p n	-0,034 0,666 159	1 159		
HC r p n	0,003 0,973 159	0,718 0,000 159	1 159	
MCV r p n	-0,094 0,239 159	0,403 0,000 159	-0,315 0,000 159	1 159

Kết quả ở bảng 3.32 cho thấy:

- Không có mối tương quan giữa SLTC của KTC với Hct người hiến máu ($r = -0,034$, $p = 0,666$).

- HC, MCV của người hiến máu không có mối tương quan với SLTC của KTC thu hoạch được, các chỉ số tương quan tương ứng là 0,003 và -0,094.

3.2.2.3 Ảnh hưởng của thời gian bảo quản tới chất lượng KTC gạn tách bằng máy tách tế bào

Bảng 3.33 Các chỉ số tiêu cầu của KTC gạn tách bằng máy tách tế bào theo ngày bảo quản

	Ngày 1 (n=30)	Ngày 3 (n=30)	Ngày 5 (n=30)
SLTC (G/l)	1401±331	1365±311	1196±234
		$p_{1-3}>0,05$	$p_{1-5}<0,05$ $p_{3-5}<0,05$
PDW (%)	9,55±0,91	11,56±1,43	13,13±2,07
		$p_{1-3}<0,05$	$p_{1-5}<0,05$ $p_{3-5}<0,05$
MPV (fl)	7,91±0,61	9,23±0,83	9,84±0,93
		$p_{1-3}<0,05$	$p_{1-5}<0,05$ $p_{3-5}<0,05$
P-LCR (%)	0,127±0,039	0,207±0,057	0,253±0,067
		$p_{1-3}<0,05$	$p_{1-5}<0,05$ $p_{3-5}<0,05$

Kết quả ở bảng 3.33 cho thấy:

- SLTC ở ngày bảo quản thứ ba giảm không có ý nghĩa với SLTC ở ngày bảo quản thứ nhất ($p>0,05$), nhưng ở ngày bảo quản thứ năm SLTC giảm mạnh so với ngày bảo quản thứ nhất và thứ ba ($p<0,05$).

- Các chỉ số tiêu cầu PDW, MPV, P-LCR tăng mạnh ngay ở ngày bảo quản thứ ba so với ngày thứ nhất, tiếp tục tăng ở ngày bảo quản thứ năm so với ngày bảo quản thứ ba. Sự gia tăng các chỉ số tiêu cầu PDW, MPV, P-LCR có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$).

*Bảng 3.34 Biến đổi SLBC và SLHC của KTC
gạn tách bằng máy tách tế bào theo ngày bảo quản*

	Ngày 1 (n=30)	Ngày 3 (n=30)	Ngày 5 (n=30)
SLHC (T/l)	0,005 ± 0,002	0,008 ± 0,003	0,006 ± 0,005
		p>0,05	p ₁₋₅ >0,05 p ₃₋₅ >0,05
SLBC (G/l)	0,26 ± 0,17	0,21 ± 0,14	0,19 ± 0,21
		p>0,05	p ₁₋₅ >0,05 p ₃₋₅ >0,05

Kết quả ở bảng 3.34 cho thấy:

SLBC, SLHC trong KTC ở các ngày bảo quản thứ nhất, thứ ba và ngày thứ năm không khác biệt nhau (p>0,05).

*Bảng 3.35 Kết quả một số chỉ số hóa sinh của KTC
gạn tách bằng máy tách tế bào theo ngày bảo quản*

	Ngày 1 (n=30)	Ngày 3 (n=30)	Ngày 5 (n=30)
pH	6,99±0,11	6,88±0,16	6,83±0,18
		p ₁₋₃ <0,05	p ₁₋₅ <0,05 p ₃₋₅ <0,05
Glucose (mmol/l)	19,25±2,97	10,80±3,92	7,14±5,17
		p ₁₋₃ <0,05	p ₁₋₅ <0,05 p ₃₋₅ <0,05
Lactate (mmol/l)	3,21±0,87	14,07±4,39	18,63±6,05
		p ₁₋₃ <0,05	p ₁₋₅ <0,05 p ₃₋₅ <0,05

Kết quả tại ở bảng 3.35 cho thấy:

Độ pH giảm có ý nghĩa thống kê khi so sánh giữa các ngày trong thời gian bảo quản (p<0,05).

Nồng độ glucose giảm khi so sánh kết quả ở ngày bảo quản thứ ba so với ngày bảo quản thứ nhất, kết quả ở ngày bảo quản thứ năm với ngày bảo quản thứ ba. Sự khác biệt có ý nghĩa với $p < 0,05$

Nồng độ lactate tăng có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) khi so sánh các kết quả thực hiện tại ba thời điểm là ngày bảo quản thứ nhất, thứ ba và thứ năm.

Bảng 3.36 Mối tương quan giữa pH và các chỉ số tiêu cầu của KTC gạn tách bằng máy tách tế bào theo ngày bảo quản

	Ngày 1				Ngày 3				Ngày 5			
pH	SLTC	PDW	MPV	P-LCR	SLTC	PDW	MPV	P-LCR	SLTC	PDW	MPV	P-LCR
r	0,77	-0,21	-0,29	-0,26	0,51	-0,49	-0,41	-0,43	0,32	-0,61	-0,59	-0,62
p	0,00	0,26	0,12	0,17	0,01	0,01	0,02	0,02	0,09	0,00	0,00	0,00
n	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30

Kết quả ở bảng 3.36 cho thấy:

- Có mối tương quan cao theo chiều thuận giữa độ pH và SLTC, hệ số tương quan $r=0,77$, $p=0,00$.

- Mối tương quan cao theo chiều nghịch giữa độ pH và các chỉ số tiêu cầu PDW, MPV, P-LCR ở ngày bảo quản thứ năm hệ số tương quan tương ứng là -0,61; -0,59 và -0,62

Bảng 3.37 Mối tương quan giữa pH và glucose, lactate

	Ngày 1		Ngày 3		Ngày 5	
pH	Glucose	lactate	Glucose	lactate	Glucose	Lactate
r	0,534	-0,500	0,549	-0,548	0,519	-0,668
p	0,002	0,005	0,002	0,002	0,003	0,000
n	30	30	30	30	30	30
Glucose						
r		-0,117		-0,721		-0,728
p		0,539		0,000		0,000
n		30		30		30

Kết quả ở bảng 3.37 cho thấy:

- Độ pH tương quan cao với nồng độ lactate trong KTC hệ số tương quan tại các thời điểm đều $>0,5$

- Nồng độ lactate tương quan cao với nồng độ glucose. Hệ số tương quan cao nhất ở ngày bảo quản thứ năm ($r=-0,728$, $p=0,000$).

Bảng 3.38 Thay đổi các chỉ số pO_2 và pCO_2 của KTC gạn tách bằng máy tách tế bào theo ngày bảo quản

	Ngày 1 (n=30)	Ngày 3 (n=30)	Ngày 5 (n=30)
pO_2 (mmHg)	59,73±31,64	53,47±20,70	90,83±39,66
		$p_{1-3}>0,05$	$p_{1-5}<0,05$ $p_{3-5}<0,05$
pCO_2 (mmHg)	74,47±14,42	84,77±19,20	69,30±18,19
		$p_{1-3}<0,05$	$p_{1-5}>0,05$ $p_{3-5}<0,05$

Kết quả ở bảng 3.38 cho thấy:

- pO_2 ở ngày bảo quản thứ nhất và thứ ba tương đương nhau ($p>0,05$), ở ngày bảo quản thứ năm pO_2 tăng lên so với ngày bảo quản thứ nhất và thứ ba. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê $p<0,05$

- pCO_2 ở ngày bảo quản thứ ba tăng mạnh so với ngày bảo quản thứ nhất, nhưng giảm so với ngày thứ năm ($p<0,05$). So sánh pCO_2 ở ngày bảo quản thứ nhất và thứ năm tương đương ($p>0,05$).

*Bảng 3.39 Thay đổi nồng độ Na⁺ và K⁺ của KTC
gạn tách bằng máy tách tế bào theo ngày bảo quản*

	Ngày 1 (n=30)	Ngày 3 (n=30)	Ngày 5 (n=30)
Na ⁺ (mmol/l)	141,47±1,83	142,20±1,78	143,63±2,14
		p ₁₋₃ <0,05	p ₁₋₅ <0,05 p ₃₋₅ <0,05
K ⁺ (mmol/l)	2,83±0,21	3,30±0,37	3,68±0,57
		p ₁₋₃ <0,05	p ₁₋₅ <0,05 p ₃₋₅ <0,05

Kết quả ở bảng 3.39 cho thấy:

- Nồng độ Na⁺ tăng ở các ngày trong thời gian bảo quản, so sánh nồng độ Na⁺ tại các ngày bảo quản thứ nhất, thứ ba và thứ năm khác biệt nhau có ý nghĩa thống kê (p<0,05).

- Nồng độ K⁺ ở ngày bảo quản thứ ba tăng so với ngày bảo quản thứ nhất (p<0,05), tiếp tục tăng lên ở ngày bảo quản thứ năm khi so sánh với ngày bảo quản thứ ba (p<0,05)

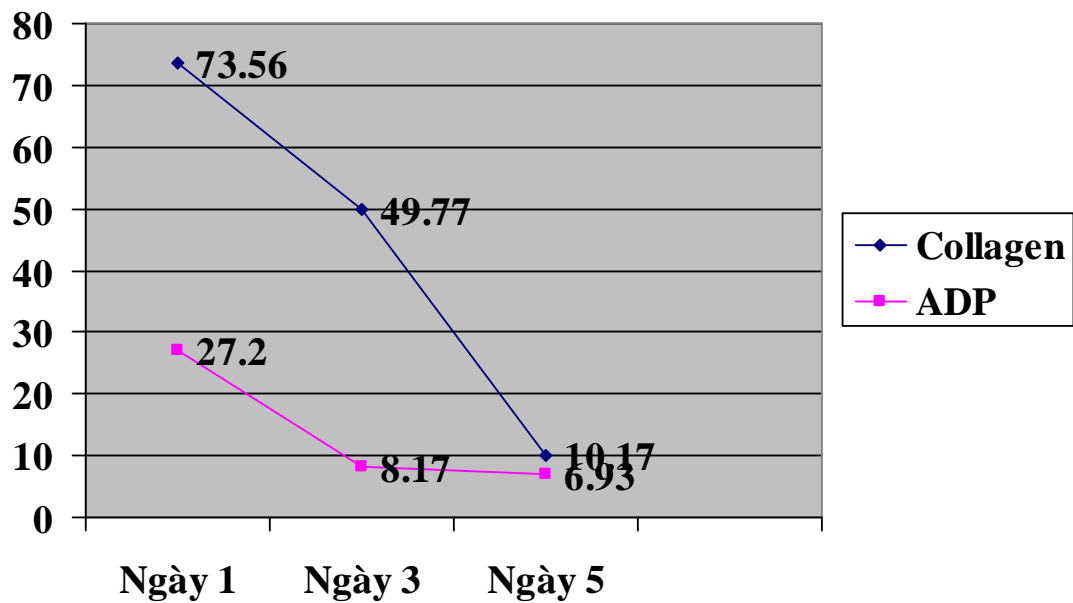
*Bảng 3.40 Độ ngưng tập tiểu cầu của KTC
gạn tách bằng máy tách tế bào theo ngày bảo quản*

	Ngày 1 (n=30)	Ngày 3 (n=30)	Ngày 5 (n=30)
Collagen (%)	73,56±21,91	49,77±27,71	10,17±11,90
		p ₁₋₃ <0,05	p ₁₋₅ <0,05 p ₃₋₅ <0,05
ADP (%)	27,20±9,07	8,17±6,62	6,93±3,78
		p ₁₋₃ <0,05	p ₁₋₅ <0,05 p ₃₋₅ >0,05

Kết quả ở bảng 3.40 cho thấy:

- Độ ngưng tập tiểu cầu với collagen ở ngày thứ nhất $73,56 \pm 21,91\%$, độ ngưng tập với collagen giảm có ý nghĩa thống kê khi so sánh ở các ngày bảo quản ($p < 0,05$).

- Độ ngưng tập tiểu cầu với ADP ở ngày bảo quản thứ nhất là $27,20 \pm 9,07\%$, độ ngưng tập với ADP giảm có ý nghĩa thống kê khi so sánh ở các ngày bảo quản ($p < 0,05$).



Biểu đồ 3.10 Kết quả độ ngưng tập tiểu cầu

3.3 Kết quả nuôi cấy vi khuẩn

Kết quả nuôi cấy vi khuẩn của KTC được trình bày ở bảng 3.41

Bảng 3.41 Kết quả nuôi cấy vi khuẩn KTC

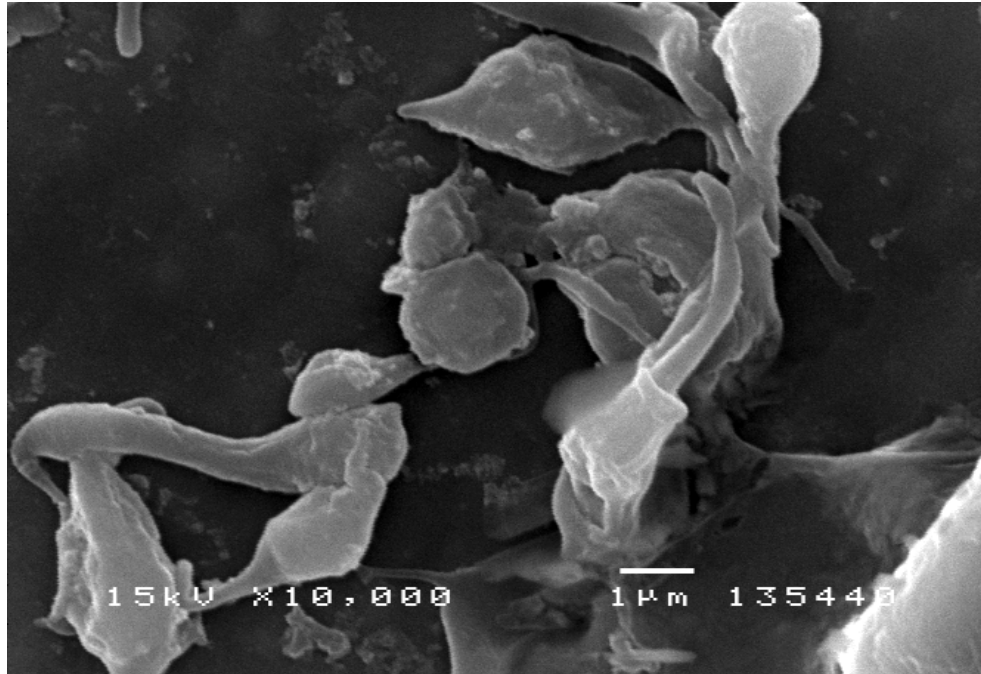
	Ngày 1		Ngày 3		Ngày 5	
	KTC từ ĐVMTP (n=210)	KTC gạn bằng máy (n=292)	KTC từ ĐVMTP (n=30)	KTC gạn bằng máy (n=30)	KTC từ ĐVMTP (n=30)	KTC gạn bằng máy (n=30)
Vi khuẩn	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính
Nấm	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính

Kết quả ở bảng 3.41 cho thấy:

210 lượt nuôi cấy vi khuẩn từ KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần và 292 lượt nuôi cấy từ KTC gạn tách từ người hiến máu ngay sau khi các KTC này được điều chế đều cho kết quả âm tính với vi khuẩn và nấm.

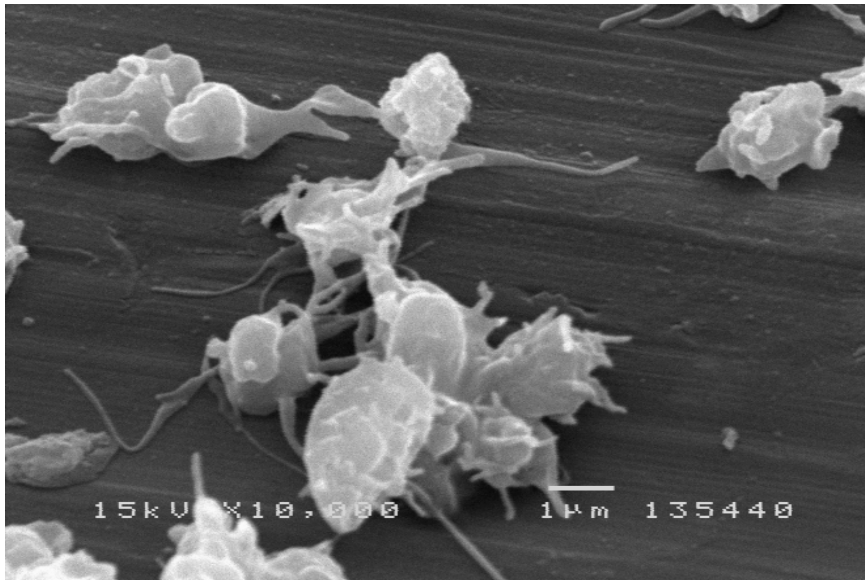
60 lượt nuôi cấy vi khuẩn từ các KTC bảo quản ở ngày bảo quản thứ ba và 60 lượt nuôi cấy vi khuẩn từ các KTC bảo quản ở ngày bảo quản thứ năm đều không mọc vi khuẩn và nấm.

3.4 Hình ảnh TC trong thời gian bảo quản



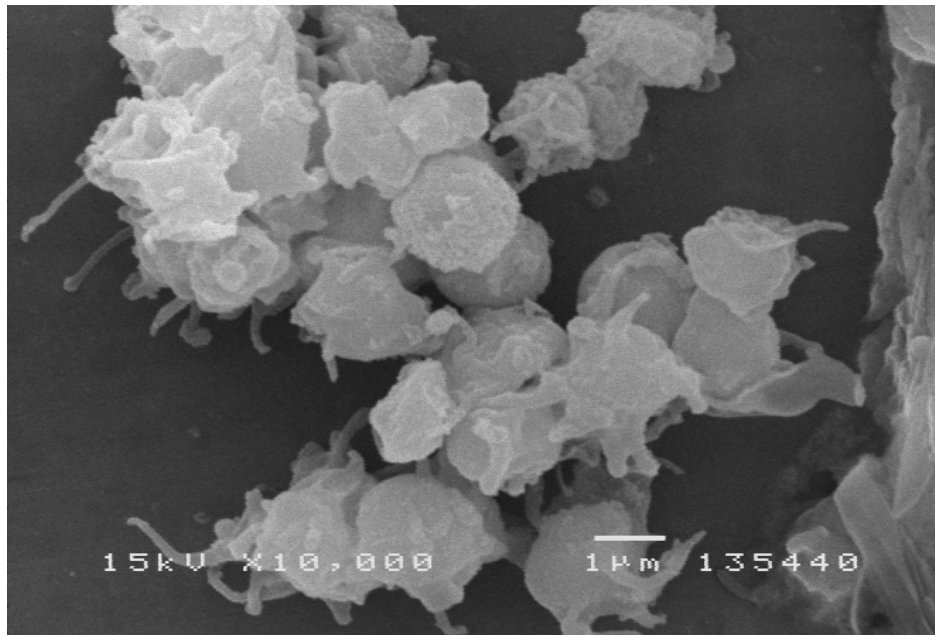
Ảnh 3.1 Hình ảnh tiểu cầu bảo quản ngày thứ nhất

Quan sát hình ảnh tiểu cầu trên kính hiển vi điện tử bảo quản ở ngày thứ nhất thấy đa số tiểu cầu ở trạng thái không hoạt động là những tế bào dẹt, đa dạng, không nhân kích thước 2 - 4 μm , cấu trúc bao gồm: màng tiểu cầu, hệ thống vi ống, vi sợi, các hạt đặc và hệ thống các kênh mở. Tiểu cầu bảo quản ở ngày thứ nhất màng tiểu cầu vẫn còn nguyên vẹn, các hệ thống ống, hệ thống kênh mở rất rõ ràng .



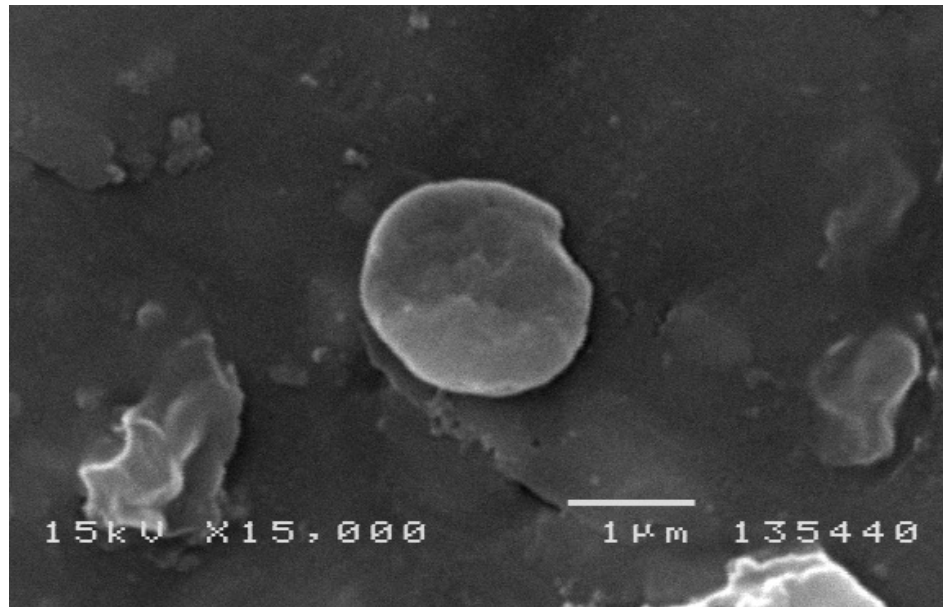
Ảnh 3.2 Hình ảnh tiểu cầu bảo quản ngày thứ ba

Ảnh 3.2 tiểu cầu ở ngày bảo quản thứ ba cho thấy hình ảnh đa số tiểu cầu đang ở trạng thái hoạt động rất mạnh, cấu trúc của tiểu cầu gồm: màng còn nguyên vẹn, bề mặt sù sì, có nhiều hệ thống kênh mở rõ ràng, có nhiều giả túc đang vươn ra bám với những tiểu cầu bên cạnh.

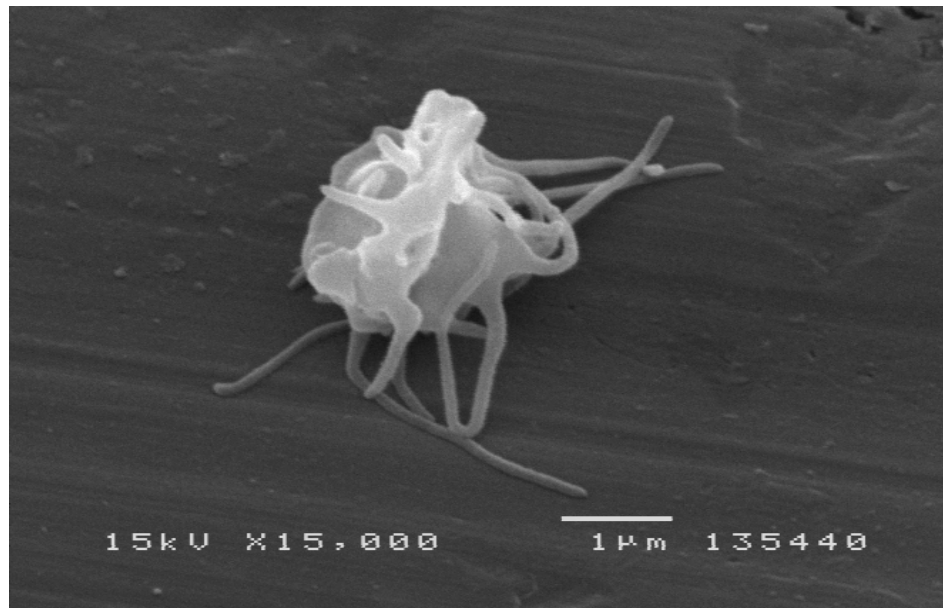


Ảnh 3.3 Hình ảnh tiểu cầu bảo quản ngày thứ năm

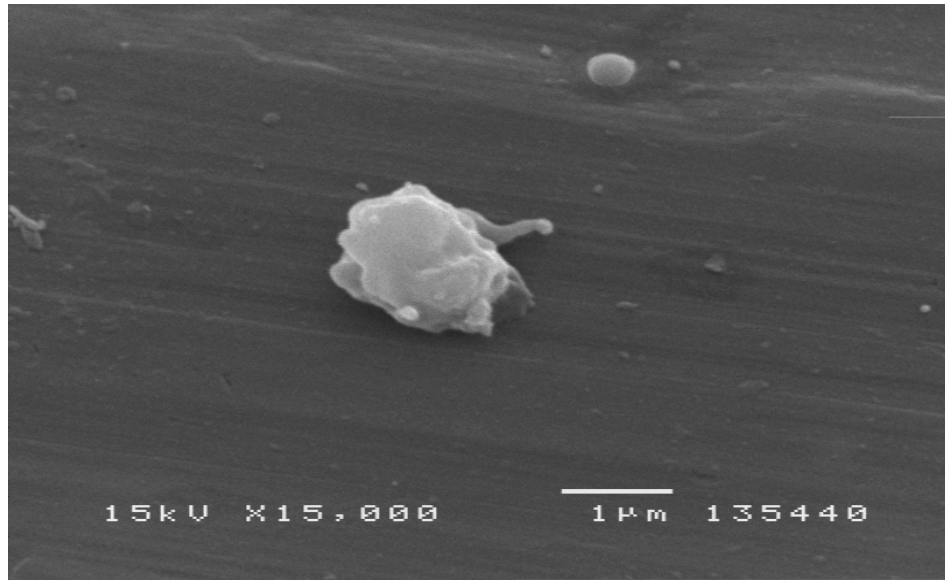
Ảnh 3.3 tiểu cầu ở ngày bảo quản thứ năm cho thấy hình ảnh đa số tiểu cầu đang ở trạng thái hoạt động, cấu trúc của tiểu cầu thay đổi khá nhiều tiểu cầu trương to lên, hình cầu, hệ thống kênh mở không rõ ràng, giả túc ngắn hơn so với ngày thứ ba và có hiện tượng đứt gãy.



Ảnh 3.4 Hình ảnh điển hình của tiểu cầu nhóm 1



Ảnh 3.5 Hình ảnh điển hình của tiểu cầu nhóm 2



Ảnh 3.6 Hình ảnh điện hình của tiểu cầu nhóm 3

Bảng 3.42 Tỷ lệ phân loại theo nhóm của hình ảnh tiểu cầu trong các ngày bảo quản

	Nhóm 1 (%)	Nhóm 2 (%)	Nhóm 3 (%)
Ngày 1	91	9	0
Ngày 3	46	52	2
Ngày 5	8	70	22
p	$p_{1-3}<0,05$ $p_{1-5}<0,05$ $p_{3-5}<0,05$	$p_{1-3}<0,05$ $p_{1-5}<0,05$ $p_{3-5}<0,05$	$p_{1-3}<0,05$ $p_{1-5}<0,05$ $p_{3-5}<0,05$

Kết quả ở bảng 3.42 cho thấy:

Tỷ lệ tiểu cầu ở nhóm 1 giảm mạnh theo ngày bảo quản. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$).

Tỷ lệ tiểu cầu ở nhóm 2 và 3 tăng mạnh theo ngày bảo quản ($p<0,05$).

Chương 4

BÀN LUẬN

4.1 Nghiên cứu chất lượng khối tiểu cầu

Trong nghiên cứu của chúng tôi KTC được điều chế bằng hai phương pháp, KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần bằng phương pháp buffy coat và KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào tự động. Tổng cộng có 210 KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần và 292 KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào.

Các chỉ số được sử dụng để đánh giá chất lượng KTC gồm: thể tích KTC, SLTC, SLBC, SLHC, độ pH [35],[36],[38].

4.1.1 Thể tích KTC

Tiểu cầu được bảo quản trong huyết tương của người hiến máu. KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần thường được bảo quản trong 40 đến 70 ml huyết tương [122],[123], lý do chính để sử dụng mức thể tích này được dựa trên các nghiên cứu về khả năng thẩm thấu khí O₂ và CO₂ của túi chứa tiểu cầu để đảm bảo duy trì độ pH. Túi chứa TC cần được đảm bảo độ trao đổi khí O₂ và CO₂ tốt, có rất ít nguy cơ làm cạn kiệt khả năng đệm của huyết tương vì chuyển hoá của TC chủ yếu theo con đường hiếu khí [82]. Thể tích KTC lớn hơn 35 ml làm cho chức năng tiểu cầu tốt hơn cả trong ống nghiệm và cơ thể, nếu thể tích KTC nhỏ hơn 30 ml sẽ làm giảm đáng kể khả năng kết tập tiểu cầu, cùng với nồng độ lactate tăng [124],[125],[126],[127]. Thể tích KTC trong khoảng 40ml đến 70 ml là tối ưu để duy trì khả năng đệm và là thể tích nhỏ nhất để bảo quản tiểu cầu và làm giảm nguy cơ quá tải về thể tích của hệ thống tuần hoàn người nhận, tiết kiệm được huyết tương để có thể sử dụng cho mục đích khác.

Trong nghiên cứu của chúng tôi thể tích trung bình của KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250 ml và 350 ml lần lượt là: $50,20 \pm 1,89$ ml và $67,98 \pm 0,18$ ml, thể tích KTC lớn nhất là 68 ml, thấp nhất là 50 ml (bảng 3.2 và 3.4). Như vậy thể tích của các KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần đáp ứng tiêu chuẩn Việt Nam [38], cũng như tiêu chuẩn châu Âu [35]. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu của Phạm Tuấn Dương và cộng sự (2012)[128]. So sánh với kết quả nghiên cứu của Singh RP (2009), thể tích KTC là $68,81 \pm 22,95$ ml thì kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng không có sự khác biệt [122]. Một số đơn vị KTC có thể tích cao, nhưng thể tích cao hơn không có bất kỳ ảnh hưởng có hại lên chức năng tiểu cầu và duy trì pH trong suốt thời gian bảo quản bằng các tác dụng đệm của nó [122].

Thể tích trung bình của KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào trình bày tại các bảng 3.7; 3.9 và 3.11 là $250,76 \pm 5,73$ ml; $274,08 \pm 18,37$ ml; $263,19 \pm 11,94$ ml tương ứng với các loại máy Trima, Comtec, Haemonetic đáp ứng tiêu chuẩn chất lượng Việt Nam và châu Âu. Kết quả tại các bảng 3.8; 3.10 và 3.12 cho thấy 100% các KTC gạn tách từ một người hiến máu đạt tiêu chuẩn về thể tích KTC.

4.1.2 Số lượng tiểu cầu trong KTC

Số lượng tiểu cầu của KTC là chỉ số đầu tiên phải quan tâm sau khi điều chế, SLTC đạt tiêu chuẩn quy định là tiêu chuẩn chính để đánh giá chất lượng của chế phẩm tiểu cầu.

Trong nghiên cứu của chúng tôi tại các bảng 3.2 và bảng 3.4 SLTC trung bình trong một KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250 ml và 350 ml tương ứng là $4,27 \pm 1,10 \times 10^{10}$ TC/đv và $6,06 \pm 2,12 \times 10^{10}$ TC/đv. Kết quả này cho thấy các đơn vị KTC thu được đạt được tiêu chuẩn chung cho một đơn vị KTC về SLTC so với tiêu chuẩn Việt Nam [38] và cũng phù hợp với tiêu chuẩn của châu Âu [35]. Tuy nhiên độ dao động giữa SLTC cao nhất

trong một đơn vị KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250 ml là $7,37 \times 10^{10}$ TC/đv và thấp nhất là $2,19 \times 10^{10}$ TC/đv, SLTC cao nhất trong một đơn vị KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 350 ml là $11,98 \times 10^{10}$ TC/đv và thấp nhất $2,20 \times 10^{10}$ TC/đv là khá rộng. Biểu đồ 3.2 và 3.3 thể hiện rõ sự phân bố không tập trung của các KTC về SLTC/đv, đặc biệt cầu các KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 350 ml có độ xiên quá lớn (0,939), điều này cho thấy chỉ tiêu chất lượng về SLTC trong KTC có thể bị ảnh hưởng bởi rất nhiều yếu tố như: số lượng TC trong đơn vị máu toàn phần, thời gian từ khi lấy máu tới khi điều chế KTC, thời gian và tốc độ ly tâm....Ảnh hưởng của các yếu tố này được làm rõ sẽ nâng cao được chất lượng KTC.

Một chỉ số quan trọng khác mà kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy đó là tỷ lệ KTC đạt tiêu chuẩn chất lượng về SLTC, trong bảng 3.3 và bảng 3.5 là 77,8% và 82,5% (tương ứng với các đơn vị máu toàn phần 250 ml và 350 ml) đáp ứng được tiêu chuẩn ít nhất 75% KTC được kiểm tra đạt tiêu chuẩn về SLTC [38].

Kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với các nghiên cứu của Phạm Tuấn Dương (2012), SLTC của các khối tiểu cầu điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250 ml và 350 ml là $15,24 \pm 1,35 \times 10^9$ TC/đv và $16,72 \pm 3,01 \times 10^9$ TC/đv, tỷ lệ KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250 ml đạt tiêu chuẩn chất lượng là 76,25% [128]. Kết quả nghiên cứu của Ravindra P. Singh (2009), 16,1% các đơn vị KTC không đạt tiêu chuẩn chất lượng [122]. Tỷ lệ KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 350 ml đạt tiêu chuẩn chất lượng trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn của Phạm Tuấn Dương (82.5% so với 90%) [128], tuy SLTC trung bình trong một KTC là như nhau, điều này có thể được lý giải là do độ dao động về SLTC trong các KTC nghiên cứu của chúng tôi là khá rộng như đã bàn luận ở trên.

SLTC trong KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào tự động.

SLTC trong KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào Trima trong nghiên cứu của chúng tôi là $3,25 \pm 0,26 \times 10^{11}$ TC/đv, nồng độ TC trong KTC 1295 ± 95 G/l; nồng độ cao nhất 1496 G/l (bảng 3.7) đạt tiêu chuẩn chất lượng VN cũng như tiêu chuẩn châu Âu. Kết quả tương đương với các nghiên cứu của Trần Ngọc Quế (2010), SLTC trong một đơn vị là $3,13 \pm 0,28 \times 10^{11}$ TC/đv, nồng độ tiểu cầu 1225 ± 100 G/l [129]; kết quả của Burgstaler EA (2004), là $3,35 \times 10^{11}$ TC/đv [130]. Biểu đồ 3.5 cho thấy đa số các KTC gạn tách bằng máy Trima có SLTC tập trung chủ yếu trong khoảng 3,00 đến $3,50 \times 10^{11}$ TC/đv là một kết quả rất ổn định. Lee MK (2003), tỷ lệ KTC gạn tách từ người hiến bằng máy tách tế bào Trima có SLTC thấp hơn $3,00 \times 10^{11}$ TC/đv chiếm 9% đến 13% của các KTC thu nhận được. Tác giả cho rằng quản lý trình độ và sự hiểu biết thấu đáo về công nghệ tách tế bào bằng máy là cần thiết để tăng năng suất tiểu cầu lên trên $3,00 \times 10^{11}$ TC/đv [131]. Nghiên cứu của chúng tôi cũng cho kết quả tương tự (bảng 3.8) là 7,5% KTC không đạt tiêu chuẩn chất lượng theo quy định.

Số lượng tiểu cầu trong KTC gạn tách bằng hai loại máy Comtec và Haemonetic với thứ tự là $3,26 \pm 0,27$ và $3,48 \pm 0,23 \times 10^{11}$ TC/đv (bảng 3.9 và 3.11) không có KTC nào có nồng độ TC cao hơn 1500G/l như vậy các KTC đạt tiêu chuẩn VN và quy định của châu Âu. Tỷ lệ KTC đạt tiêu chuẩn chất lượng theo thông tư 26/2013/TT-BYT là rất cao, lần lượt là 91,8% và 98,3% tương ứng với các loại máy tách tế bào Comtec và Haemonetic. KTC gạn tách từ một người hiến với số lượng tiểu cầu như vậy đáp ứng rất tốt cho việc điều trị các trường hợp bệnh nhân xuất huyết giảm tiểu cầu, rối loạn đông máu. Kết quả này tương đương với kết quả nghiên cứu của một số tác giả: Bùi Minh Đức (2010), nghiên cứu chất lượng KTC gạn tách bằng máy

Haemonetic SLTC thu được là $3,76 \pm 0,43 \times 10^{11}$ TC/đv; 100% KTC thu được có SLTC cao hơn $3,00 \times 10^{11}$ TC/đv [132]. Phùng Thị Hoàng Yến, Nguyễn Duy Thăng và cộng sự (2012), nghiên cứu hiệu quả sản xuất KTC trên máy tách tế bào tự động Comtec SLTC trung bình thu được là $341,1 \pm 50,2$ G/đv, không có đơn vị KTC nào có SLTC dưới 250 G/đv [133]. Hà Hữu Nguyễn (2014), mật độ tiểu cầu trung bình trong KTC gạn tách trên máy Comtec (1041 ± 128 G/l), Haemanetic (1069 ± 143 G/l) [134].

Col D. Swary (2009), SLTC trong KTC gạn tách bằng máy Haemonetic là $3,33 \times 10^{11}$ TC/đv, kết quả này tương đương kết quả nghiên cứu của chúng tôi. Tuy nhiên độ dao động về SLTC trong các KTC rất lớn $2,30 \times 10^{11}$ TC/đv đến $5,80 \times 10^{11}$ TC/đv và tỷ lệ KTC đạt SLTC cao hơn $3,00 \times 10^{11}$ TC/đv chỉ là 67,5% [60]. Trong nghiên cứu của chúng tôi độ dao động về SLTC trong khối TC là $2,95 \times 10^{11}$ TC/đv đến $4,07 \times 10^{11}$ TC/đv và tỷ lệ KTC đạt SLTC cao hơn $3,00 \times 10^{11}$ TC/đv là 98,3% (bảng 3.12). So sánh với nghiên cứu của Chaudhary R. (2005), SLTC trung bình trong KTC gạn tách bằng máy Haemonetic là $2,88 \pm 0,75 \times 10^{11}$ TC/đv thì kết quả của chúng tôi cao hơn [135]. Điều này có thể được lý giải là do mục tiêu tách KTC là khác nhau, mục tiêu của chúng tôi là thu nhận KTC có SLTC cao hơn $3,00 \times 10^{11}$ TC/đv.

Tóm lại: KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250 ml và 350 ml, cũng như KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào tự động đều có SLTC/đv và nồng độ tiểu cầu đạt tiêu chuẩn chất lượng Việt Nam tại thông tư 26/2013/TT-BYT về hướng dẫn hoạt động truyền máu. Tuy nhiên độ dao động về SLTC trong các KTC còn rộng.

4.1.3 Số lượng bạch cầu, hồng cầu trong khối tiểu cầu.

4.1.3.1 Số lượng bạch cầu trong khối tiểu cầu

Số lượng bạch cầu còn lại là tiêu chuẩn quan trọng để đánh giá chất lượng KTC [47],[122],[136]. Các tác giả đều cho rằng chất lượng của TC

trong thời gian bảo quản liên quan rất nhiều đến SLBC còn lại trong KTC vì bạch cầu hạt có đời sống ngắn (48-72 giờ), khi bạch cầu chết sẽ giải phóng ra nhiều chất hóa học trung gian vào huyết tương và sẽ tác động lên màng tiểu cầu làm giảm hoạt lực của tiểu cầu, bên cạnh đó khi các men được giải phóng ra từ bạch cầu sẽ làm thay đổi pH, gây biến đổi hình thái và cấu trúc của tiểu cầu. Việc giảm bạch cầu trong KTC cũng là một mục tiêu, một tiêu chuẩn quan trọng của KTC vì giảm được số lượng bạch cầu trong KTC là có thể phòng lây nhiễm HIV, HTLV, CMV vì bạch cầu là tế bào đích của các virus này. Giảm số lượng bạch cầu cũng sẽ hạn chế được các tai biến truyền BC do bất đồng nhóm máu hệ bạch cầu. Thông tư 26/2013/TT-BYT về hướng dẫn hoạt động truyền máu quy định: SLBC trong mỗi đơn vị KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần bằng phương pháp buffy coat phải ít hơn $0,05 \times 10^9$ BC/đv và có ít nhất 75% số đơn vị KTC được kiểm tra phải đạt tiêu chuẩn này [38].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tại bảng 3.2 SLBC trong KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250 ml là $0,024 \pm 0,012 \times 10^9$ BC/đv. SLBC trong KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 350 ml là $0,037 \pm 0,027 \times 10^9$ BC/đv (bảng 3.4). Trong đó tỷ lệ đạt yêu cầu chất lượng là 97,8% (bảng 3.3) và 77,5% (bảng 3.5) tương ứng với các đơn vị máu toàn phần 250ml và 350 ml. Như vậy chất lượng KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần hoàn toàn đạt yêu cầu chất lượng về SLBC. Kết quả này tương đương khi so sánh với kết quả nghiên cứu của Rivindra P. Singh (2009), $2,08 \pm 0,39 \times 10^7$ BC/đv [122]. So sánh với kết quả nghiên cứu của Phạm Tuấn Dương (2012), và Trần Thị Thủy [2014], thấy tỷ lệ đạt tiêu chuẩn về SLBC ở KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250ml trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn (của hai tác giả lần lượt là 87,5% và 91,7%), trong khi tỷ lệ đạt tiêu chuẩn ở KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 350 thấp hơn của hai tác giả trên (của hai tác giả lần lượt là 90% và 93,6%) [122],[128].

KTC gạn tách bằng máy tách tế bào sẽ gạn tách tiểu cầu và một phần huyết tương còn hồng cầu, bạch cầu, phần lớn huyết tương sẽ được trả lại cho người hiến, các thành phần tách ra được bảo quản trong túi dẻo đặc biệt. Loại bỏ bạch cầu ra khỏi KTC là một mục tiêu hết sức quan trọng do vậy các hãng sản xuất kit gạn tách tiểu cầu đã kết hợp lắp thêm thiết bị mục đích để làm giảm tới mức tối đa số lượng bạch cầu trong KTC.

Số lượng bạch cầu trong KTC gạn tách trên ba loại máy Trima, Comtec, Haemonetic trong nghiên cứu của chúng tôi lần lượt là $0,034 \pm 0,006 \times 10^9$ (bảng 3.7); $0,035 \pm 0,005 \times 10^9$ (bảng 3.9) và $0,060 \pm 0,004 \times 10^9$ BC/đv (bảng 3.11). Tỷ lệ các KTC đạt yêu cầu chất lượng về SLBC là 100% theo tiêu chuẩn châu Âu [35]. Kết quả của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của các tác giả: Bùi Minh Đức (2010), nghiên cứu KTC tách bằng máy Haemonetic [132]. Phùng Thị Hoàng Yến (2012), khi thực hiện trên máy Comtec [133]. Hà Hữu Nguyễn (2012), nghiên cứu gạn tách KTC bằng hai loại máy Trima và Comtec [138]. C.Coffe (2001), cũng có kết quả SLBC tương tự khi gạn tách KTC bằng máy Comtec [139].

So sánh với kết quả nghiên cứu của Rivindra P. Singh (2009), số lượng bạch cầu trong KTC gạn tách bằng máy là $4,8 \pm 0,8 \times 10^6$ /đv thì kết quả của chúng tôi thấp hơn [122].

4.1.3.2 Số lượng hồng cầu trong khối tiểu cầu

Do điều kiện nhiệt độ yêu cầu khi bảo quản tiểu cầu từ 22-24⁰C, vì vậy khi bảo quản dài ngày hồng cầu sẽ bị vỡ nên cần hạn chế tối đa hồng cầu còn lại trong sản phẩm. SLHC còn lại trong sản phẩm KTC theo kết quả nghiên cứu của chúng tôi rất thấp, bảng 3.2 và bảng 3.4 số lượng hồng cầu trong khối tiểu cầu điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250 ml và 350 ml tương ứng là $0,012 \pm 0,007$ và $0,016 \pm 0,010 \times 10^{10}$ HC/đv. SLHC trong KTC gạn tách từ một người hiến bằng máy tách tế bào Trima, Comtec và Haemonetic lần lượt

là $0,05 \pm 0,03$; $0,05 \pm 0,03$ và $0,09 \pm 0,03 \times 10^{10}$ HC/đv, với một lượng nhỏ như vậy thì sẽ không ảnh hưởng tới chất lượng KTC trong khi bảo quản. Một số tác giả cũng có chung nhận định này khi nghiên cứu về số lượng hồng cầu còn lại trong KTC: Phạm Tuấn Dương (2012), SLHC còn lại trong KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250ml và 350 ml tương ứng là $0,008$ và $0,007 \times 10^{10}$ HC/đv [128]. Bùi Minh Đức (2010), số lượng hồng cầu còn lại trong sản phẩm KTC là rất thấp $0,026 \pm 0,026 \times 10^{12}$ HC/đv [132]. Phùng Thị Hoàng Yến (2012), SLHC còn lại trong KTC gạn tách bằng máy Comtec là $0,021 \pm 0,014 \times 10^{12}$ HC/đv [133].

4.1.4 Độ pH của khối tiểu cầu

Độ pH là một chỉ số quan trọng và có giá trị cho đánh giá chất lượng KTC. Hướng dẫn của châu Âu và Hoa Kỳ yêu cầu độ pH như là một tham số cần thiết để kiểm soát chất lượng KTC, AABB khuyến cáo các KTC có độ $\text{pH} < 6,2$ không được sử dụng [36]. Yêu cầu chất lượng KTC theo tiêu chuẩn châu Âu độ pH của KTC $> 6,4$ và không truyền KTC khi độ $\text{pH} > 7,6$ [35]. Murphy S. (1986), thay đổi hình thái tiểu cầu bắt đầu xảy ra khi pH 6,8 và đạt tối đa khi $\text{pH} = 6,0$ tiểu cầu thay đổi hình dạng từ hình đĩa sang hình cầu, tiểu cầu chuyển dạng thành hình cầu và không thể hồi phục nếu $\text{pH} < 6$. Độ pH tăng lên mức 7,4 đến 7,6 trong các KTC, tiểu cầu cũng chuyển dạng hình đĩa sang hình cầu và kết thành từng khối [85].

Kết quả tại bảng 3.2 và bảng 3.4 KTC được điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250 ml và 350 ml có độ pH lần lượt là $7,16 \pm 0,04$ (cao nhất 7,24 thấp nhất 7,02) và $7,15 \pm 0,04$ (cao nhất 7,24 thấp nhất 6,99). KTC gạn tách bằng các máy Trima, Comtec, Haemonetic có độ pH lần lượt là $7,15 \pm 0,06$; $7,14 \pm 0,07$ và $7,14 \pm 0,05$ so sánh với tiêu chuẩn độ pH tại thông tư 26/2013/TT-BYT về hướng dẫn hoạt động truyền máu thì 100% các KTC đạt tiêu chuẩn chất lượng.

Tóm lại: Nghiên cứu chất lượng KTC trên cơ sở các chỉ số thể tích KTC, SLTC, SLBC, SLHC còn lại và độ pH trong mỗi đơn vị chúng tôi thu được kết quả: KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần và KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào tự động chất lượng đều đạt cao hơn chỉ tiêu chất lượng đề ra tại thông tư 26/2013/TT-BYT về hướng dẫn hoạt động truyền máu. Hiện nay xu hướng sử dụng KTC gạn tách bằng máy từ người hiến máu ngày càng nhiều, nhưng vì chi phí cao và yêu cầu phải trang bị phương tiện cần thiết để gạn tách. Nên KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần vẫn nên được tiếp tục sử dụng cho điều trị, tránh lãng phí một nguồn tiểu cầu lớn.

4.2 Một số yếu tố ảnh hưởng tới chất lượng khối tiểu cầu.

4.2.1 Một số yếu tố ảnh hưởng tới chất lượng khối tiểu cầu điều chế từ đơn vị máu toàn phần.

4.2.1.1 Ảnh hưởng của thể tích đơn vị máu toàn phần.

Để đảm bảo an toàn truyền máu, thuận lợi cho việc điều chế các chế phẩm máu. Việc tiếp nhận thể tích máu lớn hơn hoặc bằng 350 ml là rất cần thiết. Tuy nhiên theo nghiên cứu của Hà Hữu Nguyễn (2014), nghiên cứu tình hình tiếp nhận máu tại viện Huyết học - Truyền máu Trung ương giai đoạn 2009-2013 cho thấy tỷ lệ tiếp nhận đơn vị máu thể tích 350 ml còn thấp và có xu hướng giảm (năm 2009 là 40,2%, năm 2013 là 37,3%), đồng thời tỷ lệ tiếp nhận máu thể tích 250 ml lại tăng (năm 2009 là 56,3%, năm 2013 là 61,3%) [140]. Do vậy cần thiết phải đánh giá chất lượng KTC được điều chế từ các đơn vị máu toàn phần thể tích khác nhau. Để so sánh chúng tôi qui đổi SLTC trong một đơn vị thành số lượng tiểu cầu được điều chế từ 100 ml máu toàn phần.

Kết quả tại bảng 3.13 SLTC trong KTC được điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250 ml và đơn vị máu toàn phần 350 ml tương đương nhau

($p > 0.05$). (SLTC tương ứng là $17,07 \pm 4,41 \times 10^{10}$ TC và $17,31 \pm 6,10 \times 10^{10}$ TC). Bảng 3.14 cho thấy tỷ lệ KTC đạt yêu cầu chất lượng về SLTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250 ml và 350 ml tương ứng là 77,8 % và 82,5% hai tỷ lệ này không có sự khác biệt nhau. Mặc dù kết quả so sánh tỷ lệ đạt yêu cầu chất lượng về SLBC của chế phẩm KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250 ml và 350 ml khác nhau (bảng 3.14) với tỷ lệ tương ứng là 97,8% và 77,5%, nhưng cả hai loại vẫn đạt tiêu chuẩn chất lượng theo quy định [38]. Theo chúng tôi có sự khác biệt này là do thể tích của KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250 ml thấp hơn thể tích của KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 350 ml ($50,20 \pm 1,89$ ml và $67,98 \pm 0,18$ ml) do đó tổng SLBC trong một KTC sẽ khác nhau. Nhưng KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250 ml lại có nhược điểm là để đạt được một lần truyền KTC (150 đến 200 ml) cần truyền nhiều túi khác nhau vì vậy làm tăng nguy cơ gây miễn dịch cho bệnh nhân.

Tóm lại: Không có sự khác biệt về chất lượng KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250 ml và 350 ml về tiêu chuẩn SLTC. Tỷ lệ KTC đạt tiêu chuẩn chất lượng về SLBC cao hơn ở KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250 ml. Tuy nhiên cả hai loại KTC đều đạt tiêu chuẩn chất lượng quy định tại thông tư 26/2013/TT-BYT về hướng dẫn hoạt động truyền máu.

4.2.1.2 Ảnh hưởng của thời gian từ khi thu gom máu tới khi điều chế khối tiểu cầu.

Mở rộng thời gian để điều chế các chế phẩm máu từ đơn vị máu toàn phần mang lại một lợi thế cho hoạt động của các trung tâm truyền máu, tiết kiệm chi phí liên quan ví dụ: chi phí đi lại, vận chuyển để đảm bảo thời gian. Khối tiểu cầu có thể được điều chế từ tất cả các đơn vị máu toàn phần, không phụ thuộc vào khoảng cách từ nơi tiếp nhận máu tới các trung tâm truyền máu, KTC sẽ được điều chế tập trung, giảm đáng kể công việc trong phòng

sản xuất, chủ động được thời gian sản xuất, cho phép xử lý máu trong giờ làm việc bình thường.

Thibault (2006), khối tiểu cầu được điều chế từ máu toàn phần trong vòng 24 giờ không có sự khác biệt về chất lượng khi so sánh với KTC được điều chế trong vòng 8 giờ sau khi thu gom máu [50]. Walther-Wenke (2010), bảo quản đơn vị máu toàn phần ở nhiệt độ phòng kéo dài có thể làm tăng sự phát triển của vi khuẩn ở các túi máu [141]. Tuy nhiên Sanz C (1997), bạch cầu trong máu toàn phần trong thời gian bảo quản ở nhiệt độ phòng sẽ thực bào các vi khuẩn, miễn là các tế bào bạch cầu bị loại bỏ tối đa trong quá trình điều chế [142].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tại bảng 3.15 thấy các chỉ tiêu chất lượng SLTC, SLBC, SLHC trong các KTC điều chế trong thời gian trước 8 giờ từ khi thu gom của đơn vị máu toàn phần 250 ml là $4,21 \pm 1,08 \times 10^{11}/\text{đv}$; $0,027 \pm 0,013 \times 10^9 \text{BC}/\text{đv}$, $0,012 \pm 0,006 \times 10^{10} \text{HC}/\text{đv}$. Kết quả điều chế trong thời gian 8 giờ đến 24 giờ từ khi thu gom tương ứng là $4,31 \pm 1,12 \times 10^{11}/\text{đv}$; $0,022 \pm 0,009 \times 10^9 \text{BC}/\text{đv}$, $0,013 \pm 0,009 \times 10^{10} \text{HC}/\text{đv}$.

Kết quả tại bảng 3.16 thấy các chỉ tiêu chất lượng SLTC, SLBC, SLHC trong các KTC điều chế trong thời gian trước 8 giờ từ khi thu gom của đơn vị máu toàn phần 350 ml là $6,35 \pm 2,04 \times 10^{11}/\text{đv}$; $0,041 \pm 0,003 \times 10^9 \text{BC}/\text{đv}$, $0,018 \pm 0,010 \times 10^{10} \text{HC}/\text{đv}$. Kết quả điều chế trong thời gian 8 giờ đến 24 giờ từ khi thu gom tương ứng là $5,76 \pm 2,17 \times 10^{11}/\text{đv}$; $0,032 \pm 0,026 \times 10^9 \text{BC}/\text{đv}$, $0,015 \pm 0,010 \times 10^{10} \text{HC}/\text{đv}$. So sánh thấy các chỉ tiêu chất lượng này không khác nhau khi điều chế trước thời gian 8 giờ và trong thời gian 8 giờ đến 24 giờ kể từ khi thu gom đơn vị máu toàn phần ($p > 0.05$). Sandgren P (2008), báo cáo kết quả tương tự, không có sự khác biệt về SLTC trong KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần được điều chế trước 8 giờ và bảo quản qua đêm [51]. Perez (2004), có sự khác biệt rất ít về chất lượng KTC được điều

chế tại thời điểm 4 giờ và 18 giờ sau khi thu gom máu [53].

Kết quả nghiên cứu tại bảng 3.15 và 3.16 độ pH ở KTC được điều chế trong thời gian 8 giờ đến 24 giờ thấp hơn độ pH của KTC được điều chế trước 8 giờ có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Điều này có thể do mức tiêu thụ glucose tăng và sản xuất lactate tăng bởi các hoạt động chuyển hóa của tế bào hồng cầu, bạch cầu trong thời gian bảo quản máu toàn phần dẫn đến giảm độ pH của KTC điều chế trong thời gian 8 giờ đến 24 giờ sau khi thu gom. Tuy nhiên các KTC này vẫn đạt tiêu chuẩn qui định về độ pH. Nor Raihan (2014), độ pH của KTC sản xuất từ đơn vị máu toàn phần mới thu gom và bảo quản qua đêm khác biệt nhau, giá trị tương ứng là $7,62 \pm 0,08$ và $7,48 \pm 0,07$ [47].

Sản xuất các chế phẩm máu trong thời gian trước 8 giờ và trong thời gian 8 giờ đến 24 giờ từ khi thu gom máu không phải là bất lợi cho chất lượng KTC, các KTC chỉ khác nhau về độ pH, mặc dù vậy độ pH vẫn trong giới hạn của tiêu chuẩn chất lượng. Tuy nhiên sản xuất các chế phẩm máu trước 8 giờ kể từ khi thu gom máu có lợi thế là hồng cầu có thể được bảo quản lạnh trong vòng 8 giờ, huyết tương có thể được đông lạnh nhanh chóng, dẫn đến yếu tố VIII ở mức độ cao hơn, người ta biết rằng kết quả bảo quản máu toàn phần hoặc không đông lạnh plasma yếu tố VIII có thể mất tới 1% mỗi giờ [49],[143].

Tóm lại: Chất lượng KTC điều chế trước 8 giờ tương đương với chất lượng KTC điều chế trong thời gian 8 giờ đến 24 giờ kể từ khi thu gom máu toàn phần ở các chỉ tiêu SLTC, SLBC, SLHC. Nhưng KTC điều chế trong thời gian 8 giờ đến 24 giờ có độ pH thấp hơn KTC điều chế trước 8 giờ, tuy nhiên độ pH của tất cả các KTC đều trong giới hạn cho phép.

4.2.1.3 Ảnh hưởng của một số yếu tố từ người hiến máu tới chất lượng KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần.

** Ảnh hưởng của số lượng tiểu cầu người hiến máu tới chất lượng khối tiểu*

cầu điều chế từ đơn vị máu toàn phần.

SLTC trong KTC là mối quan tâm hàng đầu về chất lượng KTC, kết quả tại bảng 3.3 và 3.5 cho thấy có một số lượng đáng kể KTC (22,2% KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250 ml và 17,5% KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 350 ml) chưa đáp ứng được tiêu chuẩn chất lượng theo thông tư 26/TT-BYT. Vấn đề đặt ra là có hay không ảnh hưởng của các yếu tố người hiến máu như SLTC, SLHC, MCV, SLBC tới chất lượng KTC.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ở bảng 3.17 có sự khác biệt rõ về SLTC trong KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần có $SLTC \leq 300 G/l$ và đơn vị máu toàn phần có $SLTC > 300 G/l$ (SLTC trong KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần có $SLTC \leq 300 G/l$ là $5,34 \pm 1,88 \times 10^{10}$ TC/đv thấp hơn SLTC trong KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần có $SLTC > 300 G/l$ là $6,91 \pm 2,08 \times 10^{10}$ TC/đv). Như vậy kiểm tra SLTC người hiến máu trước khi điều chế sẽ tối ưu hóa được chất lượng KTC thu được. Das SS (2013), SLTC trong khối tiểu cầu có tương quan đáng kể với SLTC của người hiến máu, để đạt được SLTC là $4,5 \times 10^{10}$ TC/đv thì số lượng tiểu cầu người hiến phải $> 200 \times 10^6 /ml$ [39].

Vì KTC điều chế từ máu toàn phần bằng phương pháp ly tâm phân lớp nên MCV của người hiến máu có thể ảnh hưởng tới chất lượng của KTC, chúng có thể ảnh hưởng đến SLTC hoặc ảnh hưởng tới SLHC còn lại trong KTC. Các đơn vị máu toàn phần để điều chế KTC trong nghiên cứu có MCV thấp nhất là 64,90 fl, cao nhất là 106,00 fl (bảng 3.1), được chúng tôi chia thành ba nhóm: nhóm có $MCV < 85$ fl; nhóm $85 \text{ fl} \leq MCV \leq 95$ fl và nhóm có $MCV > 95$ fl. Kết quả tại bảng 3.18 cho thấy không có sự khác biệt về SLTC trong KTC điều chế từ ba nhóm với kết quả tương ứng là $5,86 \pm 2,11 \times 10^{10}$ TC/đv, $6,20 \pm 2,14 \times 10^{10}$ TC/đv và $5,62 \pm 2,05 \times 10^{10}$ TC/đv. SLHC còn lại trong các KTC điều chế từ máu toàn phần có $MCV < 85$ fl tương đương với SLHC còn lại trong các KTC điều chế từ máu toàn phần có $85 \text{ fl} \leq MCV \leq 95$ fl và $MCV > 95$ fl ($p > 0,05$).

Kết quả bảng 3.19 cho thấy không có mối tương quan giữa SLHC, Hct và SLBC người hiến tới chất lượng KTC với các chỉ số tương quan rất thấp tương ứng là 0,055; -0,048 và 0,070. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Das SS [39].

Tóm lại: Có mối liên hệ trực tiếp giữa SLTC người hiến máu với SLTC trong KTC được điều chế từ máu toàn phần. Không có mối tương quan giữa SLTC thu hoạch được với SLHC, SLBC, SLHC, Hct và MCV của người hiến máu.

4.2.2 Một số yếu tố ảnh hưởng tới chất lượng khối tiểu cầu gạn tách từ người hiến tiểu cầu bằng máy tách tế bào.

4.2.2.1 Ảnh hưởng của loại máy tách tế bào tới chất lượng khối tiểu cầu.

Công nghệ máy tách tế bào tự động đã tiến bộ rất nhanh trong những năm vừa qua, theo cơ quan Quản lý thực phẩm và dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) mỗi hệ thống máy tách tế bào tự động được sử dụng để gạn tách từng loại chế phẩm máu khác nhau [144]. Trong nghiên cứu của chúng tôi ba loại máy được sử dụng để gạn tách tiểu cầu là Trima, Comtec và Haemonetic chất lượng KTC thu thập được từ ba loại máy này đều nằm trong giới hạn cho phép như chúng tôi đã bàn luận ở phần 4.1. So sánh chất lượng KTC thu được từ ba loại máy thấy rằng SLTC trong mỗi KTC thu được là tương đương nhau ở cả ba loại máy ($p > 0,05$), nồng độ TC trong KTC được gạn tách bằng ba loại máy cũng là tương đương (bảng 3.27). Tuy nhiên SLBC còn lại trong KTC là khác nhau, kết quả tại bảng 3.28 cho thấy SLBC còn lại của KTC gạn tách bằng máy Trima và Comtec ít hơn trong KTC gạn tách bằng máy Haemonetic (các giá trị lần lượt là $0,032 \pm 0,005 \times 10^9 \text{BC}/\text{đv}$; $0,038 \pm 0,004 \times 10^9 \text{BC}/\text{đv}$ và $0,072 \pm 0,004 \times 10^9 \text{BC}/\text{đv}$). Các thiết bị này đạt được mức độ cao của sự khác biệt SLBC vì một số nguyên tắc thiết kế Trima và Comtec được lắp thêm bộ lọc bạch cầu mục đích giảm tới mức tối đa SLBC trong KTC [62],[139]. SLHC còn lại trong KTC rất ít, tuy nhiên KTC gạn tách bằng máy

Haemonetic có SLHC còn lại cao hơn so với KTC gạn tách bằng máy Trima và Comtec. Thể tích KTC gạn tách bằng máy Trima là thấp nhất 250 ± 00 ml.

Lee MK. (2003), không có sự khác biệt về SLTC của KTC gạn tách bằng máy Trima và Haemonetic [131]. Theo nghiên cứu của một số tác giả để lựa chọn một loại máy dùng cho gạn tách KTC ngoài nghiên cứu chất lượng KTC gạn tách được, còn chú ý tới các yếu tố: thể tích máu xử lý, thể tích chất chống đông ACD sử dụng, thời gian gạn tách, giá thành test kit sử dụng để lựa chọn một loại máy gạn tách phù hợp nhất [144],[145],[146].

Tóm lại: KTC gạn tách bằng ba loại máy tách tế bào Trima, Comtec, Haemonetic từ người hiến máu đều đạt yêu cầu về chất lượng theo tiêu chuẩn Việt Nam. SLTC trong KTC gạn tách bằng ba loại máy tương đương nhau, nhưng KTC gạn tách bằng máy Trima có SLBC và SLHC còn lại thấp nhất và thể tích KTC nhỏ nhất.

4.2.2.2 Ảnh hưởng của một số yếu tố từ người hiến máu tới chất lượng KTC gạn tách bằng máy.

* Ảnh hưởng của SLTC người hiến máu tới chất lượng KTC

KTC gạn tách từ một người hiến máu bằng máy tách tế bào ngày nay trở thành nguồn cung cấp tiểu cầu chính cho điều trị ở nhiều quốc gia, tại Mỹ KTC máy gạn tách từ một người cho chiếm tỷ lệ 79% trong các KTC được sử dụng [147],[148]. Nghiên cứu tìm ra các yếu tố từ người hiến máu ảnh hưởng tới chất lượng KTC cho phép chọn lọc tốt hơn người hiến để có được một sản lượng tiểu cầu cao. Các thiết bị để gạn tách tiểu cầu đã được lập trình để tính toán SLTC thu được dựa trên các chỉ số SLTC người hiến, chiều cao, cân nặng, hematocrit. Một số nghiên cứu đã báo cáo sản lượng tiểu cầu phụ thuộc vào số lượng tiểu cầu người hiến như: Mangwanas (2014), tìm thấy một mối liên quan trực tiếp giữa sản lượng tiểu cầu và số lượng TC người hiến ($r = 0,577$; $p < 0,001$) [43]. R Arun (2013), có một mối liên quan giữa SLTC người

hiển với SLTC thu được ($r = 0,284$; $p < 0,01$) [147].

Trong nghiên cứu của chúng tôi tiêu cầu trung bình trước khi gạn tách của người hiến là 291 ± 45 G/l (bảng 3.6) và thể tích máu trung bình là 4463 ± 432 ml. Với nồng độ và thể tích máu này hoàn toàn có thể cung cấp đủ SLTC mà chúng tôi cài đặt, để gạn tách được một đơn vị KTC có $3,00 \times 10^{11}$ TC/đv cần khoảng 2.000 ml máu người hiến có SLTC $150 \times 10^5/\text{mm}^3$ hoặc 1.000 ml máu có SLTC $> 300 \times 10^5/\text{mm}^3$, trong một lần hiến không quá 50% SLTC [149]. Có thể SLTC của người hiến máu thấp sẽ làm tăng số chu kỳ gạn tách để đạt được SLTC/đv vì vậy làm cho SLHC trong KTC tăng lên, giải thích cho kết quả bảng 3.29 SLHC trong KTC gạn tách ở người hiến máu có SLTC ≤ 300 G/l cao hơn SLHC trong KTC gạn tách từ người hiến máu có SLTC > 300 G/l.

Trong nghiên cứu của chúng tôi bảng 3.29 thấy SLTC trong KTC gạn tách từ người có SLTC > 300 G/l là $3,25 \pm 0,25 \times 10^{11}$ TC/đv, từ người có SLTC ≤ 300 G/l là $3,20 \pm 0,24 \times 10^{11}$ TC/đv không có sự khác biệt.

Một yếu tố khác của người hiến có thể ảnh hưởng đến SLTC thu được là cân nặng. Mangwanas (2014), Patel J (2013), không có mối liên quan giữa cân nặng và SLTC thu được với hệ số tương quan tương ứng là $r = 0,092$ và $r = 0,023$ [43],[45]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi bảng 3.30 cũng thấy không có sự khác biệt về chất lượng KTC gạn tách từ nhóm người hiến máu có cân nặng > 60 kg và nhóm có cân nặng ≤ 60 kg với kết quả SLTC lần lượt là $3,20 \pm 0,24 \times 10^{11}$ TC/đv và $3,25 \pm 0,26 \times 10^{11}$ TC/đv .

Nghiên cứu của Lasky LC (1981), tìm thấy giới tính ảnh hưởng đến SLTC thu được và phụ nữ cho năng suất TC cao hơn [150]. Sự khác biệt về SLTC liên quan tới giới tính được mô tả lần đầu tiên vào năm 1977, SLTC trung bình ở nữ cao hơn ở nam giới trong tất cả các lứa tuổi và có xu hướng giảm sau thời kỳ mãn kinh [151],[152]. Không có sự khác biệt về SLTC của

nam và nữ ở tuổi dưới 16, trái lại SLTC ở nữ cao hơn nam ở tuổi 15 đến 64 và trên 64 tuổi [153]. Cơ chế của sự khác biệt chưa rõ ràng, tuy nhiên sự khác biệt về hormon có thể có vai trò [150],[154]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tại bảng 3.31 cho thấy SLTC trong KTC gạn tách từ nam tương đương SLTC trong KTC gạn tách từ nữ với các giá trị tương ứng $3,30 \pm 0,21 \times 10^{11}\text{TC}/\text{đv}$ và $3,27 \pm 0,35 \times 10^{11}\text{TC}/\text{đv}$, kết quả tương tự kết quả nghiên cứu của R. Arun (2013), không có mối liên quan giữa SLTC thu hoạch được và giới tính ($r=0,054$, $p= 0,541$) [147].

Không có mối tương quan giữa hematocrit, HC và MCV với số lượng TC thu được [45],[147]. Nghiên cứu của chúng tôi cũng cho kết quả tương tự với hệ số tương quan r tương ứng là -0,034; 0,003 và -0,094 (bảng 3.32).

Tóm lại: Chất lượng KTC gạn tách từ một người hiến máu bằng máy tách tế bào không bị ảnh hưởng bởi SLTC người hiến máu. Không có mối tương quan giữa cân nặng, giới tính, SLHC, MCV và Hct của người hiến máu với SLTC trong KTC gạn tách được.

4.2.3 Ảnh hưởng của thời gian bảo quản tới chất lượng KTC

4.2.3.1 Thay đổi số lượng và các chỉ số tiểu cầu trong thời gian bảo quản

Rất nhiều nghiên cứu đã chứng minh bảo quản tiểu cầu ở nhiệt độ 22°C và lắc liên tục là điều kiện tốt nhất cho việc bảo quản KTC, AABB [36], Hiệp hội truyền máu châu Âu [35], Thông tư 26/2013/TT-BYT [38] quy định KTC phải được bảo quản ở 22°C và lắc liên tục.

Trong thời gian bảo quản tiểu cầu, một số lượng TC nhất định sẽ bị mất đi do nhiều nguyên nhân tác động, tiểu cầu có thể chết tự nhiên vì đời sống tế bào của TC chỉ kéo dài 8 đến 10 ngày, có thể chết do ảnh hưởng của điều kiện bảo quản như nhiệt độ, chế độ lắc, dung dịch bảo quản. Tổn thương tiểu cầu trong thời gian bảo quản lúc nào cũng xảy ra, làm cho SLTC giảm, theo dõi

SLTC là rất quan trọng để đảm bảo một lượng TC thích hợp đã được truyền vào cho bệnh nhân.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tại bảng 3.20 thấy: KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần SLTC giảm đi qua các ngày bảo quản. Ở ngày bảo quản thứ nhất SLTC là $4,3 \pm 1,4 \times 10^{10}$ TC/đv, giảm rõ rệt ở ngày bảo quản thứ ba và thứ năm ($p < 0,05$) với các giá trị tương ứng là $4,1 \pm 1,4 \times 10^{10}$ TC/đv và $3,8 \pm 1,3 \times 10^{10}$ TC/đv. Kết quả này cũng phù hợp với kết quả các nghiên cứu của Saira Baslir (2014), Soleimay F.A (2011) [96],[155].

Bảng 3.33 cho thấy KTC gạn tách từ một người hiến bằng máy tách tế bào, SLTC trong KTC ở ngày bảo quản thứ ba giảm so với ngày thứ nhất (SLTC là 1365 ± 331 G/l so với ngày thứ nhất là 1401 ± 331 G/l), nhưng sự thay đổi này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$), tuy nhiên đến ngày bảo quản thứ năm thì SLTC trung bình giảm có ý nghĩa thống kê. Tác giả Hà Hữu Nguyễn (2014) nghiên cứu sự thay đổi SLTC trong KTC trong quá trình bảo quản cũng có kết quả tương tự [134].

Ngoài những nguyên nhân làm giảm SLTC trong thời gian bảo quản như đời sống TC ngắn, ảnh hưởng của điều kiện bảo quản như nhiệt độ, lắc liên tục, dung dịch bảo quản. Murphy (1986), cho rằng giảm SLTC nguyên nhân chính là do giảm độ pH [85]. Chúng tôi cũng thấy một mối tương quan cao giữa độ pH và SLTC (bảng 3.36) hệ số tương quan giữa pH và SLTC của KTC gạn tách bằng máy từ một người hiến là $r = 0,77$; $p = 0,00$.

** Thay đổi các chỉ số tiểu cầu trong thời gian bảo quản*

Singh H (2003), các chỉ số tiểu cầu MPV, PDW, P-LCR được sử dụng như dấu hiệu cho việc kiểm soát chất lượng của KTC, chúng phản ánh trong thời gian bảo quản có sự thay đổi hình dạng của tiểu cầu, đặc biệt là khi phân tích có kết hợp với pH [95]. Chỉ số tiểu cầu tương quan với thay đổi độ pH bao gồm MPV và PDW, nhất là các chỉ số PDW, P-LCR có tương quan rất

chặt ($r > 0,6$). Tulika Chandra (2001), MPV tăng trong các KTC bảo quản, PDW là một dấu hiệu của sự biến đổi kích thước tiểu cầu, có thể là dấu hiệu của tiểu cầu hoạt động [89].

Trong kết quả nghiên cứu của chúng tôi bảng 3.21 các chỉ số PDW, MPV và P-LCR của TC trong KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần tăng rất mạnh ở ngày bảo quản thứ ba và năm so với ngày bảo quản thứ nhất (ở ngày bảo quản thứ nhất PDW, MPV và P-LCR tương ứng là: $9,21 \pm 1,28\%$; $7,67 \pm 0,80$ fl và $11,34 \pm 5,00\%$; các chỉ số này ở ngày bảo quản thứ năm là: $10,13 \pm 2,34\%$, $8,48 \pm 0,94$ fl và $15,90 \pm 6,23\%$).

Tương tự như vậy là sự biến đổi các chỉ số PDW, MPV, P-LCR của TC trong KTC gạn tách bằng máy từ một người hiến tại bảng 3.33 (ở ngày bảo quản thứ nhất PDW, MPV và P-LCR tương ứng là: $9,55 \pm 0,91\%$; $7,91 \pm 0,61$ fl và $0,127 \pm 0,039\%$; các chỉ số này ở ngày bảo quản thứ năm là: $13,13 \pm 2,07\%$, $9,84 \pm 0,93$ fl và $0,253 \pm 0,067\%$). Các chỉ số này có mối tương quan cao với sự thay đổi của độ pH (bảng 3.36) nhất là ở ngày bảo quản thứ ba, chỉ số tương quan tương ứng với PDW, MPV và P-LCR là $r = -0,49$; $-0,41$ và $-0,43$.

R. Fijnheer (1989), trong năm ngày đầu tiên của quá trình bảo quản tiểu cầu MPV tăng 4,6 đến 5,0 fl, sau đó bắt đầu giảm. Sau năm ngày bảo quản có sự gia tăng TC bị phá huỷ, có sự chuyển đổi chậm hình thái tiểu cầu từ dạng hình đĩa sang hình cầu, sự chuyển đổi này tăng tốc từ ngày thứ năm đến ngày thứ bảy, sau 11 ngày chỉ có tiểu cầu hình cầu được phát hiện [156].

Chúng tôi quan sát hình thái tiểu cầu bằng kính hiển vi điện tử ở độ phóng đại 10.000 và 15.000 lần, tiểu cầu ở ngày đầu bảo quản vẫn giữ nguyên được hình thái bình thường của tiểu cầu (ảnh 3.1). Kết quả tại bảng 3.42 cho thấy ở ngày bảo quản thứ nhất 91% tiểu cầu thuộc nhóm 1. Các tiểu cầu này ở trạng thái không hoạt động tế bào dẹt, đa dạng, không nhân kích thước 2 - 4

µm, cấu trúc bao gồm: màng tiểu cầu, hệ thống vi ống, vi sợi, các hạt đặc và hệ thống các kênh mở, màng tiểu cầu vẫn còn nguyên vẹn, các hệ thống ống, hệ thống kênh mở rất rõ ràng (ảnh 3.4). 9% tiểu cầu thuộc nhóm 2 là các tiểu cầu bắt đầu có nhiều biến đổi như: hệ thống kênh mở không còn rõ rệt, tế bào trương to hơn bình thường, giả túc vươn xa đến các tế bào bên cạnh (ảnh 3.5). Không có TC thuộc nhóm 3 là các tiểu cầu bắt đầu trương phồng, tiểu cầu mất dạng hình đĩa, hệ thống kênh mở mất, giả túc ngắn và có hiện tượng đứt gãy (ảnh 3.6). Ngày thứ ba trong quá trình bảo quản cho thấy có sự thay đổi rõ về hình thái tiểu cầu (ảnh 3.2). Tỷ lệ tiểu cầu nhóm 1 giảm còn 46%; 52% thuộc nhóm 2 và 2% thuộc nhóm 3. Đến ngày bảo quản thứ năm sự thay đổi hình thái tiểu cầu diễn ra mạnh mẽ có tới 70% tiểu cầu thuộc nhóm 2, đặc biệt tiểu cầu thuộc nhóm 3 là 22% các TC này đã chuyển dạng từ hình đĩa sang hình cầu và bắt đầu bị phá hủy, điều này cho thấy chất lượng KTC giảm mạnh qua các ngày bảo quản. Holme S (1978), tiểu cầu thay đổi hình thái từ hình đĩa sang hình cầu sẽ mất đáng kể khả năng phục hồi khi được truyền [98].

Tóm lại: Trong thời gian bảo quản SLTC giảm, thay đổi các chỉ số tiểu cầu PDW tăng, MPV tăng, P-LCR tăng. Thay đổi hình thái tiểu cầu quan sát trên kính hiển vi điện tử, tiểu cầu chuyển dạng từ hình đĩa sang hình cầu. Chúng tôi thấy rằng để đạt được hiệu quả cao nhất trong sử dụng KTC, nên sử dụng KTC sau khi điều chế càng sớm càng tốt.

4.2.3.2 Thay đổi SLHC, SLBC trong thời gian bảo quản

SLHC, đặc biệt là SLBC còn lại trong KTC có ảnh hưởng rất lớn đến chất lượng KTC như đã bàn luận ở mục 4.1.3. Trong thời gian bảo quản KTC một số nghiên cứu thấy rằng mức thấp của hồng cầu hoặc bạch cầu không ảnh hưởng tới tiêu thụ glucose, sản xuất lactate hoặc giảm pH [157],[158]. Vì vậy duy trì SLBC ở mức độ thấp đảm bảo khả năng sống của TC trong thời gian bảo quản không bị tổn hại. Kết quả bảng 3.22 SLHC và SLBC trong KTC

điều chế từ đơn vị máu toàn phần có xu hướng giảm theo ngày trong thời gian bảo quản, SLHC và SLBC tương ứng trong ngày bảo quản thứ nhất là $0,025 \pm 0,017$ T/l và $0,58 \pm 0,24$ G/l; trong ngày bảo quản thứ năm là $0,021 \pm 0,010$ T/l và $0,48 \pm 0,26$ G/l, tuy nhiên sự giảm về số lượng này là không khác biệt ($p > 0,05$).

Tương tự như vậy kết quả bảng 3.34 SLHC và SLBC tương ứng trong ngày bảo quản thứ nhất của KTC gạn tách từ người hiến bằng máy là $0,005 \pm 0,002$ T/l và $0,26 \pm 0,17$ G/l; trong ngày bảo quản thứ năm là $0,006 \pm 0,005$ T/l và $0,19 \pm 0,21$ G/l. Tuy nhiên sự giảm về số lượng này là không khác biệt ($p > 0,05$).

Kết quả này theo chúng tôi do KTC đạt tiêu chuẩn rất cao về SLHC và SLBC còn lại, KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần bằng phương pháp buffy coat ưu điểm của phương pháp là lượng BC còn lại trong KTC ít hơn đáng kể so với phương pháp huyết tương giàu tiểu cầu [54],[122]. Soleimany F.A (2011), trong nghiên cứu của mình theo dõi biến đổi SLBC của KTC điều chế bằng phương pháp buffy coat trong thời gian bảo quản có kết quả tương tự (SLBC ngay sau khi điều chế là $28 \pm 0,5 \times 10^6$ BC/đv; ngày thứ nhất $22 \pm 0,86 \times 10^6$; ngày thứ ba $22 \pm 0,7 \times 10^6$ BC/đv và ngày thứ năm là $21 \pm 0,95 \times 10^6$ BC/đv) [155].

4.2.3.3 Thay đổi nồng độ glucose trong thời gian bảo quản

Kết quả bảng 3.23 cho thấy KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần bảo quản ở 22°C và lắc liên tục, nồng độ glucose ở ngày bảo quản thứ nhất là $22,28 \pm 2,17$ mmol/l, nồng độ glucose giảm mạnh ở các ngày bảo quản thứ ba và thứ năm với các giá trị tương ứng là $19,30 \pm 2,05$ mmol/l và $18,38 \pm 2,93$ mmol/l. Kết quả này cũng phù hợp với các nghiên cứu của Tulika Chandra (2011), Dana V.D (2010) [89],[109]. Với KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy kết quả tại bảng 3.35 cũng cho thấy nồng độ glucose ở ngày bảo

quản thứ nhất là $19,25 \pm 2,97$ mmol/l, nồng độ glucose giảm mạnh ở các ngày bảo quản thứ ba và thứ năm với các giá trị tương ứng là $10,80 \pm 3,92$ mmol/l và $7,14 \pm 5,17$ mmol/l. Kết quả này cũng phù hợp với các nghiên cứu của Larry J. (2003), Nitin Agarwal (2014) [88],[160].

Tiểu cầu sử dụng năng lượng từ ATP, chất này được hình thành từ chuyển hoá của glucose, acid béo và acid amin. Tiêu thụ glucose là chuyển hoá chính của tiểu cầu, glucose đóng vai trò quan trọng trong thời gian bảo quản tiểu cầu, nếu KTC được cung cấp đầy đủ oxy thì glucose có trong KTC sẽ chuyển hoá theo chu trình Crebs, nhờ vậy tiểu cầu sẽ được cung cấp đủ năng lượng và có thể đảm bảo cho tiểu cầu sống và thực hiện chức năng của nó. Nếu KTC không được cung cấp đủ oxy thì glucose sẽ chuyển hoá theo con đường yếm khí và sản phẩm của quá trình chuyển hoá sẽ sinh ra lactate dẫn tới thay đổi pH của KTC. Sự tiêu thụ glucose có mối tương quan thuận với tạo thành lactate, do đó mức độ tiêu thụ glucose càng cao thì sự tạo thành lactate càng nhiều, đây chính là nguyên nhân dẫn đến giảm độ pH và gây ra các tổn thương cho tiểu cầu bảo quản.

Việc theo dõi nồng độ glucose trong KTC nhất là KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần là rất quan trọng vì glucose ngoài việc dùng để đánh giá chuyển hoá của TC trong bảo quản, còn là một chỉ thị quan trọng trong việc đánh giá nhiễm khuẩn của KTC. Nếu thay đổi nồng độ của glucose trong khối tiểu cầu rõ ràng và đột ngột là biểu hiện của KTC đã nhiễm khuẩn [87]. Theo Wagner S.J (1996) và Burstain J.M (1997) khi nồng độ glucose của KTC giảm thấp hơn 250 mg/dl thì có khả năng nhiễm khuẩn KTC [87],[161]. Tuy nhiên độ nhạy cũng như độ đặc hiệu trong việc phát hiện vi khuẩn trong KTC thấp hơn so với nhuộm gram và soi trên kính hiển vi huỳnh quang hoặc nuôi cấy vi khuẩn. Trong nghiên cứu này không có KTC bị nhiễm khuẩn vì không có những thay đổi đột ngột của nồng độ glucose (bảng 3.23 và 3.35).

Tóm lại: TC trong KTC bảo quản sử dụng năng lượng chính từ chuyển hóa glucose. Nồng độ glucose giảm tại các ngày thứ ba và thứ năm trong thời gian bảo quản. Do nồng độ glucose còn là một chỉ thị đánh giá nhiễm khuẩn của KTC, tuy vậy không có sự giảm đột ngột nồng độ glucose trong thời gian bảo quản.

4.2.3.4 Thay đổi nồng độ lactate khối tiểu cầu trong thời gian bảo quản

Tích lũy lactate gây ra giảm độ pH trong KTC bảo quản, hiện tượng này gây ra tổn thương hình thái tiểu cầu và tiểu cầu mất khả năng tồn tại trong cơ thể [88],[89]. Bertolini F. (1993), thêm một lượng lactate vào KTC sau khi điều chế 6 giờ, theo dõi hình thái và chức năng tiểu cầu trong 7 ngày đưa ra kết luận: sự gia tăng của các dấu hiệu kích hoạt tiểu cầu trong thời gian bảo quản, phản ánh những tổn thương khác nhau của tiểu cầu từ những KTC được thêm lactate vào [162].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi thấy nồng độ lactate tăng mạnh trong thời gian bảo quản, KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần các giá trị nồng độ lactate tại các thời điểm ngày thứ nhất, ngày thứ ba và ngày thứ năm trong thời gian bảo quản tương ứng là: $6,26 \pm 1,44$; $8,93 \pm 2,99$ và $11,42 \pm 3,09$ mmol/l (bảng 3.23). Bảng 3.35 nồng độ lactate tại các thời điểm ngày thứ nhất, ngày thứ ba và ngày thứ năm trong thời gian bảo quản của KTC gạn tách từ người hiến bằng máy tương ứng là: $3,21 \pm 0,87$; $14,07 \pm 4,39$ và $18,63 \pm 6,05$ mmol/l.

Sự gia tăng nồng độ lactate là do tiểu cầu được bảo quản ở 22°C và lắc liên tục, chúng duy trì hoạt động trao đổi chất tốt hơn so với các tế bào được bảo quản trong nhiệt độ thấp, chuyển hoá glucose càng nhiều thì tích lũy lactate càng nhanh [88],[89]. Kết quả bảng 3.24 và bảng 3.37 glucose và lactate có mối tương quan cao theo chiều nghịch thể hiện ở hệ số tương quan ở ngày bảo quản thứ năm tương ứng là $r=-0,571$ và $r=-0,728$.

4.2.3.5 Thay đổi pH trong thời gian bảo quản khối tiêu cầu

Điều quan trọng trong thời gian bảo quản KTC là độ pH phải nằm trong phạm vi chấp nhận 6.4 đến 7.4 để giữ được chức năng tiêu cầu. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tất cả các KTC đến cuối thời gian bảo quản đều có độ pH trong phạm vi này. KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần pH cuối thời gian bảo quản cao nhất là 7,26, thấp nhất là 6,68. KTC gạn tách từ một người hiến bằng máy tách tế bào cao nhất là 7,24 thấp nhất là 6,68. So sánh độ pH ở ngày bảo quản thứ ba và thứ năm với độ pH của ngày thứ nhất, thấy độ pH giảm rõ rệt theo thời gian bảo quản ($p < 0,05$). Kết quả tại bảng 3.23 KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần độ pH ở ngày bảo quản thứ nhất là $7,15 \pm 0,09$; độ pH ở ngày bảo quản thứ ba và thứ năm có các giá trị tương ứng là $7,08 \pm 0,12$ và $7,04 \pm 0,14$. Kết quả này tương đương với kết quả nghiên cứu của Tulika Chandra [89]. Harprits S. (2003), cũng có kết quả tương tự độ pH của KTC giảm theo ngày trong quá trình bảo quản, ngày thứ nhất là $7,19 \pm 0,12$ ngày thứ ba $7,11 \pm 0,31$; ngày thứ năm là $6,96 \pm 0,45$ và ngày thứ bảy là $6,86 \pm 0,51$ [163].

Kết quả tại bảng 3.35 KTC gạn tách từ người hiến bằng máy độ pH ở ngày bảo quản thứ nhất là $6,99 \pm 0,11$; ở ngày bảo quản thứ ba và năm tương ứng là $6,88 \pm 0,16$ và $6,83 \pm 0,18$. Hà Hữu Nguyễn (2012), theo dõi biến đổi pH ở KTC gạn tách bằng máy Trima và Comtec cho kết quả tương tự [138].

Độ pH KTC bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố như: nhiễm khuẩn, thời gian bảo quản khối tiêu cầu. Nghiên cứu của Thomas M. (2007), độ pH cung cấp một tín hiệu cảnh báo để ngăn chặn truyền một KTC bị nhiễm khuẩn, pH trong KTC bị nhiễm khuẩn bắt đầu giảm sau khi vi khuẩn đạt đến nồng độ 10^6 đến 10^7 /ml, pH tiếp tục giảm xuống 6,7 tới 6,5 sau đó bắt đầu có sự gia tăng độ pH trong KTC. Trong trường hợp nhiễm *Klebsiella pneumoniae* độ pH trở lại giá trị ban đầu của nó sau ba ngày bị nhiễm khuẩn và tăng lên đến 7,3 đến

7,4 vào ngày thứ bảy của thời gian bảo quản. Theo chúng tôi độ pH của KTC giảm trong thời gian bảo quản trong nghiên cứu này không bị ảnh hưởng do nhiễm khuẩn vì không có sự giảm đột ngột giá trị pH trong kết quả nghiên cứu, các kết quả cấy khuẩn bảng 3.41 của chúng tôi đều âm tính [164].

LJ Dumont (2004), sự tạo thành acid lactic trong các KTC liên quan chặt với người hiến tiểu cầu, điều này giải thích một số KTC trong thời gian bảo quản có chất lượng không tốt [165]. Những yếu tố khác như số lượng tiểu cầu trong túi tiểu cầu, diện tích bề mặt túi chứa tiểu cầu, cũng như đặc điểm thấm khí của túi bảo quản ảnh hưởng trực tiếp đến chuyển hoá glucose của tiểu cầu, là nguyên nhân chính dẫn đến giảm pH trong thời gian bảo quản [75],[84],[88],[166]. Sản xuất lactate tăng trong điều kiện túi bảo quản tiểu cầu thiếu oxy, sự giảm pH có thể bị chậm lại nếu túi chứa tiểu cầu tăng tính thấm khí O₂ và CO₂. Kết quả nghiên cứu tại bảng 3.24 và 3.37 cho thấy độ pH tương quan chặt với nồng độ glucose và nồng độ lactate, tại các ngày bảo quản thứ ba và thứ năm hệ số tương quan $r > 0,5$. Biểu đồ 3.8 và 3.9 cho thấy mối tương quan giữa độ pH và nồng độ lactate là mối tương quan nghịch, mối tương quan giữa độ pH và nồng độ glucose là mối tương quan thuận, tiêu thụ glucose càng nhiều thì độ pH càng giảm.

Nghiên cứu liên quan đến điều kiện bảo quản KTC hiện nay tập trung vào sự phát triển của dung dịch nuôi dưỡng tiểu cầu PAS (Platelet additive solution) đây có thể là một phương pháp duy trì chức năng tiểu cầu đồng thời kéo dài tuổi thọ của tiểu cầu [167]. Một PAS tối ưu chứa citrate, acetate, phosphate, kali và magie, lượng glucose được xác định bởi lượng plasma còn lại, có ít plasma thì PAS tốt hơn. PAS-III và composol PS là hai trong số những dung dịch nuôi dưỡng tiểu cầu có sẵn trên thị trường. Gulliksson [167], acetate được sử dụng như là một chất bổ sung cho chuyển hóa của tiểu cầu, cũng làm giảm sản xuất lactate của các tiểu cầu và do sự hình thành

bicarbonate duy trì độ pH ổn định trong thời gian bảo quản. Tiêu cầu bảo quản trong PAS ở nồng độ citrate 8 mmol/l chỉ sản xuất một lượng lactate bằng một nửa lượng lactate tạo ra từ tiêu cầu bảo quản trong PAS nồng độ citrate 14 đến 26 mmol/l. Với tiêu cầu gạn tách từ người hiến bằng máy tách tế bào với chất chống đông ACD sự hiện diện của phosphat trong PAS như là một yếu tố quan trọng để tránh giảm thấp adenine nucleotide. Vandemaar [168], (2001) các tiêu cầu được bảo quản trong composol PS có độ pH hằng định hơn trong suốt thời gian bảo quản.

Tóm lại: Trong thời gian bảo quản KTC thì nồng độ pH là một biến thay đổi theo chiều hướng giảm có ý nghĩa thống kê qua các ngày bảo quản. Sự sụt giảm pH tương quan cao với tiêu thụ glucose và tăng nồng độ lactate. Sự sụt giảm độ pH là một dấu hiệu của chất lượng KTC suy giảm.

4.2.3.6 Thay đổi pO_2 và pCO_2 trong thời gian bảo quản

Trong thời gian bảo quản hoạt động trao đổi chất của tiêu cầu tiếp tục diễn ra, hoạt động này dẫn tới tiêu thụ oxy và sản xuất khí CO_2 làm cho pO_2 giảm và pCO_2 tăng lên trong KTC.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tại bảng 3.25 cho thấy không có sự khác biệt mức pO_2 ở ngày bảo quản thứ nhất và thứ ba ($p > 0.05$) với các giá trị tương ứng là $82,67 \pm 17,91$ mmHg và $77,17 \pm 20,42$ mmHg. So sánh kết quả pO_2 ở ngày bảo quản thứ năm với ngày bảo quản thứ nhất cũng cho thấy không có sự khác biệt ($p > 0,05$), các giá trị tương ứng là $82,67 \pm 17,91$ và $86,30 \pm 19,83$ từ kết quả so sánh này, chúng tôi nhận định oxy được cung cấp một cách đầy đủ cho KTC trong quá trình bảo quản. Kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với các kết quả nghiên cứu của Haprit Singh (2003), Teresinha J.C (2003) [163],[169].

Kết quả bảng 3.25 cũng cho thấy pCO_2 trung bình ở ngày bảo quản thứ nhất là $54,47 \pm 10,18$ mmHg và ngày bảo quản thứ ba là $50,40 \pm 8,85$ mmHg

không có sự khác biệt nhau. Ở ngày bảo quản thứ năm $p\text{CO}_2$ giảm hẳn so với ngày bảo quản thứ nhất và thứ ba, giá trị $p\text{CO}_2$ trung bình ở ngày bảo quản thứ năm là $47,43 \pm 9,31$ mmHg. Điều này chứng tỏ không có sự tích tụ CO_2 trong KTC bảo quản. CO_2 sản xuất theo con đường oxy hóa được chuyển đổi thành bicarbonate hoạt động như hệ thống đệm của huyết tương KTC làm thay đổi độ pH, không có sự thay đổi $p\text{CO}_2$ làm cho KTC sẽ giữ được một độ pH ổn định. Có được kết quả này theo chúng tôi tiểu cầu đã được bảo quản trong một loại túi bảo quản thích hợp (túi chất liệu PVC của hãng Terumo). Yêu cầu độ thấm thấu oxy cho túi bảo quản tiểu cầu là khoảng 30% cao hơn so với túi máu chính. Với CO_2 túi bảo quản tiểu cầu cần tính thấm thấu lớn hơn khoảng 16% so với túi chứa máu chính. Túi bảo quản tiểu cầu phải có kích thước phù hợp và phải được lắc liên tục để tận dụng lợi thế tăng độ thấm thấu khí. Độ pH giảm xuống rất nhanh trong túi bảo quản tiểu cầu nếu nó nhỏ và không được lắc liên tục, gây hậu quả tiểu cầu tiếp xúc không tốt với bề mặt trao đổi khí. KTC không được lắc liên tục sản xuất lactate và yếu tố 4 tiểu cầu tăng, trong khi mức độ ATP và độ pH giảm nhanh, quá trình trao đổi chất kỵ khí tăng lên mặc dù oxy khuếch tán qua thành túi là đủ [74], [75], [76], [122].

Kết quả tại bảng 3.38 $p\text{O}_2$ của KTC gạn tách từ người hiến bằng máy tách tế bào ở ngày bảo quản thứ nhất và thứ ba là tương đương nhau, nhưng ở ngày bảo quản thứ năm tăng rất mạnh so với ngày thứ nhất và thứ ba. Các giá trị tương ứng các ngày bảo quản thứ nhất, thứ ba và thứ năm là $59,73 \pm 31,68$; $53,47 \pm 20,70$ và $90,83 \pm 39,66$ mmHg kết quả này cũng chứng tỏ rằng oxy được cung cấp một cách đầy đủ cho KTC. $p\text{CO}_2$ ở ngày bảo quản thứ ba là $84,77 \pm 19,20$ mmHg cao hơn có ý nghĩa thống kê ở ngày bảo quản thứ nhất ($74,47 \pm 14,42$ mmHg). Theo chúng tôi có sự gia tăng $p\text{CO}_2$ ở ngày bảo quản thứ ba là do KTC gạn tách từ người hiến tiểu cầu bằng máy có số lượng tiểu

cầu rất cao $>3,0 \times 10^{11}$ TC/đv, trong điều kiện bảo quản 22°C , được cung cấp đủ oxy thì quá trình chuyển hóa glucose xảy ra rất mạnh vì tiêu thụ glucose là chuyển hóa chính của tiểu cầu, 85% nhu cầu năng lượng của chúng có được nhờ chuyển hóa hiếu khí, tạo ra sản phẩm cuối là CO_2 và H_2O . CO_2 được tạo ra vượt quá khả năng khuếch tán của túi chứa tiểu cầu. Điều này cũng phù hợp với kết quả bảng 3.35 nồng độ glucose trong KTC giảm mạnh sau ba ngày bảo quản, nồng độ glucose từ $19,25 \pm 2,97$ mmol/l ngày thứ nhất xuống $10,80 \pm 3,92$ mmol/l ngày thứ ba của thời gian bảo quản. Sau đó nhờ tính thẩm thấu khí CO_2 tốt của túi bảo quản mà $p\text{CO}_2$ ở ngày bảo quản thứ năm giảm xuống ($69,30 \pm 18,19$ mmHg) tương đương với ngày bảo quản thứ nhất, một phần có thể là sự chuyển hóa của tiểu cầu lúc này đã giảm đi do chức năng tiểu cầu giảm.

Tóm lại: $p\text{O}_2$ được duy trì tốt trong thời gian bảo quản KTC, cung cấp đủ oxy cho hoạt động của tiểu cầu. Ở KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần $p\text{O}_2$ không thay đổi ở ngày bảo quản thứ nhất và ngày thứ ba, tăng ở ngày bảo quản thứ năm. Ở KTC gạn tách bằng máy sự biến đổi của $p\text{O}_2$ cũng tương tự.

Không có sự tích tụ CO_2 ở trong túi tiểu cầu bảo quản, ở KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần $p\text{CO}_2$ giảm tại các ngày của thời gian bảo quản. Ở KTC gạn tách bằng máy nhờ tính thẩm thấu khí CO_2 tốt của túi bảo quản mà $p\text{CO}_2$ sau khi tăng ở ngày bảo quản thứ ba đã trở về bình thường ở ngày bảo quản thứ năm.

4.2.3.7 Thay đổi nồng độ Na^+ và K^+ trong thời gian bảo quản khối tiểu cầu.

Một trong các biến chứng do truyền máu đó là mất cân bằng K^+ có thể gặp do máu truyền đã có tăng K^+ đặc biệt khi KTC được bảo quản ở 22°C các tế bào hồng cầu, bạch cầu có thể bị phân hủy nhanh. Trong nghiên cứu của chúng tôi không có sự thay đổi nồng độ K^+ ở KTC điều chế từ đơn vị máu

toàn phần trong thời gian bảo quản, nhưng trong KTC gạn tách bằng máy kết quả tại bảng 3.39 cho thấy nồng độ K^+ tăng tại các ngày bảo quản thứ ba và thứ năm so với ngày bảo quản thứ nhất, với các giá trị tương ứng là $2,83 \pm 0,21$ mmol/l; $3,30 \pm 0,37$ mmol/l và $3,68 \pm 0,57$ mmol/l. Kết quả nghiên cứu tại các bảng 3.26 và 3.39 cũng cho thấy ở ngày bảo quản thứ năm nồng độ Na^+ tăng so với ngày bảo quản thứ nhất. Do vậy để tránh tác dụng phụ có hại cho bệnh nhân, KTC cần được sử dụng sớm sau khi gạn tách.

4.2.3.8 Độ ngưng tập tiểu cầu

Bản chất của hiện tượng ngưng tập tiểu cầu là hiện tượng dính. Đo độ ngưng tập tiểu cầu là một xét nghiệm rất có giá trị và thông dụng nhất để đánh giá chức năng tiểu cầu, cùng với SLTC đạt tiêu chuẩn qui định là những tiêu chuẩn chính để đánh giá chất lượng của KTC. Trong nghiên cứu này chúng tôi đo độ ngưng tập tiểu cầu với hai chất kích tập là collagen và ADP. Xét nghiệm chỉ thực hiện được với KTC gạn tách từ một người hiến máu bằng máy tách tế bào tự động, KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần không có hiện tượng ngưng tập hoặc rất yếu. Điều này theo chúng tôi nguyên nhân là do trong quá trình điều chế tiểu cầu đã bị tổn thương và hoạt hóa rất mạnh.

Cơ chế ngưng tập tiểu cầu với ADP rất phức tạp và vẫn đang được tiếp tục nghiên cứu [170],[171]. Nhưng ngày nay người ta đã biết nhiều về các phản ứng lý-hóa xảy ra khi tiểu cầu tiếp xúc với ADP, trước tiên là ADP gắn vào các receptor trên bề mặt tiểu cầu, sau đó ADP gây ra sự cảm ứng của một liên kết receptor là fibrinogen với GPIIb/IIIa có mặt ở lớp ngoài của màng tiểu cầu đã hoạt hóa, từ đó gây ngưng tập tiểu cầu, đồng thời phải có mặt của ion canxi. Như vậy điều kiện để tiểu cầu ngưng tập với ADP ngoài sự toàn vẹn của màng tiểu cầu thì cần thiết phải có mặt fibrinogen, các yếu tố đông máu huyết tương, ion canxi và chất kích tập tiểu cầu [19],[172].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tại bảng 3.40 thấy độ ngưng tập tiểu cầu với ADP nồng độ 10 μ M thấp ngay từ ngày đầu tiên của thời gian bảo quản ($27,20 \pm 9,07\%$), độ ngưng tập tiếp tục giảm thấp với một sự khác biệt rõ ($p < 0,05$) ở ngày bảo quản thứ 3 là $8,17 \pm 6,62\%$; ngày thứ 5 là $6,93 \pm 3,78\%$. Ngưng tập tiểu cầu với ADP thấp ngay từ ngày đầu có thể do nhiều nguyên nhân, một trong những nguyên nhân có thể là sự có mặt của dextran trong dung dịch ACD sử dụng liên tục trong quá trình gạn tách. Dextran là loại đường có trọng lượng phân tử cao, thường có ái lực bao phủ lên bề mặt các tế bào. Khi dextran bao phủ bề mặt tiểu cầu, chúng chiếm các thụ thể của tiểu cầu làm mất các vị trí gắn của các chất kích thích gây ngưng tập tiểu cầu [173]. Nếu thực sự tác động của dextran đóng vai trò trong sự thay đổi ngưng tập tiểu cầu với ADP thì khi KTC được truyền cho bệnh nhân, đậm độ dextran sẽ giảm đi khi hòa với dòng chảy của máu, khi đó dextran được rửa, tách bớt khỏi màng TC khi đó chức năng tiểu cầu in vivo sẽ được cải thiện nhiều.

Collagen được coi là một chất chủ vận mạnh, có các thụ thể khác nhau trên màng tiểu cầu (GPIa/IIa, GP VI), hiện tượng dính với collagen của tiểu cầu thường xảy ra tức khắc và rất mạnh, không cần có mặt của ion canxi. Do vậy nếu chức năng của tiểu cầu giảm thì ái lực của tiểu cầu với collagen cũng giảm [173].

Kết quả của ngưng tập tiểu cầu với collagen nồng độ 2 μ g/ml trong nghiên cứu của chúng tôi được xem là bình thường vào ngày đầu tiên ($73,56 \pm 21,91\%$), nhưng giảm một cách khác biệt vào ngày bảo quản thứ ba ($49,77 \pm 27,71\%$) và thứ năm ($10,17 \pm 11,90\%$). Các kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Teresinha JS. (2003), đo độ ngưng tập tiểu cầu bằng chất kích tập collagen nồng độ 2 μ g/ml tại các thời điểm bảo quản 0 giờ, 24 giờ và 48 giờ thấy độ ngưng tập tiểu cầu giảm đáng kể, kết quả tương ứng là $62,7 \pm 5,0\%$; $48,2 \pm 2,7\%$ và $33,4 \pm 6,2\%$ [169]. Maria Jose DC. (2011), độ

ngung tập tiểu cầu với ADP thấy đáng kể ngay từ ngày đầu tiên của thời gian bảo quản 18% ở ngày thứ nhất giảm xuống 7% vào ngày thứ ba và 6% vào ngày thứ năm. Giá trị trung bình của độ ngưng tập TC với collagen là 54% vào ngày thứ nhất; 20,5% vào ngày thứ ba và 9% vào ngày bảo quản thứ năm [170]. Teresinha (2003), thay đổi ngưng tập tiểu cầu được quan sát thấy sau 24 giờ bảo quản, trong khi SLTC trong các KTC chỉ có sự thay đổi đáng kể sau 48 giờ bảo quản, vì vậy sự thay đổi của các biến sinh hóa trong môi trường đặc biệt là pH được chứng thực trong việc kích thích làm giảm chức năng tiểu cầu [169]. Nhiều nghiên cứu khác cũng chỉ ra rằng sự suy giảm chức năng tiểu cầu liên quan đến các yếu tố chuyển hóa phức tạp của các tế bào này trong thời gian bảo quản [169],[174],[175]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng phù hợp với nhận định này, kết quả tại bảng 3.40 ngưng tập tiểu cầu giảm mạnh ở ngày bảo quản thứ ba ($p < 0,05$), trong khi đó SLTC ở ngày bảo quản thứ ba không có thay đổi với SLTC ở ngày bảo quản thứ nhất ($p > 0,05$) bảng 3.33.

Jilma Stohlawetz (2008), chức năng tiểu cầu thấp có thể khôi phục lại trong cơ thể 24 giờ sau khi truyền máu. Mặt khác thời gian bảo quản của KTC ngắn thì khả năng cầm máu tốt hơn [176].

Tóm lại: Độ ngưng tập tiểu cầu giảm mạnh trong thời gian bảo quản, độ ngưng tập tiểu cầu với collagen ở ngày bảo quản thứ nhất là $73,56 \pm 21,91\%$, ở ngày bảo quản thứ ba là $49,77 \pm 27,71\%$ và ngày bảo quản thứ năm là $10,17 \pm 11,90\%$. Độ ngưng tập tiểu cầu với ADP ở ngày bảo quản thứ nhất là $27,20 \pm 9,07\%$ ngày bảo quản thứ năm là $6,93 \pm 3,78\%$.

4.3 Nhiễm khuẩn khối tiểu cầu

Một trong những lý do chính mà KTC có thời hạn sử dụng ngắn, trong vòng năm ngày sau khi điều chế là nguy cơ nhiễm khuẩn KTC. Bởi vì điều kiện bảo quản tiêu chuẩn cho tiểu cầu là tiểu cầu được lưu trữ ở 22°C , dung

dịch nuôi dưỡng phổ biến nhất là treo trong huyết tương điều này là điều kiện lý tưởng thúc đẩy sự tăng trưởng của hầu hết các loài vi khuẩn, thậm chí với số lượng rất nhỏ.

Sự xuất hiện của nhiễm trùng nặng ở người nhận liên quan với mức vi khuẩn trong các KTC, một mức vi khuẩn $> 10^5/\text{ml}$ trong túi tiểu cầu được coi là một nguy cơ nghiêm trọng. Tình trạng của bệnh nhân cũng ảnh hưởng đến tình trạng lâm sàng của truyền khối tiểu cầu bị nhiễm khuẩn, trong đó trở lên nghiêm trọng hơn khi hệ miễn dịch bị tổn thương. Số lượng vi khuẩn được truyền vào không phải lúc nào cũng tương quan với các triệu chứng, đặc biệt là trong trường hợp bệnh nhân giảm bạch cầu hạt trung tính hoặc bệnh sốt đang điều trị kháng sinh mà trong đó có dấu hiệu nhiễm trùng huyết bị bỏ qua. Như vậy lợi ích lớn hơn khi ngăn ngừa nguy cơ nhiễm khuẩn bằng cách nghiêm chỉnh theo dõi sự nhiễm khuẩn của các sản phẩm máu chứ không phải là đánh giá các hậu quả lâm sàng của nó [178].

Ness P. (2001), nhiễm khuẩn do truyền tiểu cầu chiếm tỷ lệ 1/15.098 lần truyền, tỷ lệ nhiễm khuẩn do truyền KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần cao hơn so với truyền KTC gạn tách từ một người hiến bằng máy tách tế bào là 5,39 lần. Tác giả kết luận sử dụng KTC gạn tách từ một người hiến bằng máy tách tế bào là phương pháp tốt nhất làm giảm nhiễm khuẩn do truyền tiểu cầu, kết hợp với các biện pháp khác như vô trùng tốt để loại bỏ vi khuẩn [99].

Trong kết quả nghiên cứu của chúng tôi tại bảng 3.41 thấy 210 lượt nuôi cấy mẫu từ KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần, 292 lượt nuôi cấy mẫu KTC gạn tách từ người hiến bằng máy tách tế bào ngay sau khi các KTC được điều chế, không phát hiện được vi khuẩn, nấm. Ở ngày bảo quản thứ ba và thứ năm 120 lượt nuôi cấy được thực hiện đều cho kết quả âm tính. Có nhiều phương pháp để phát hiện vi khuẩn, nuôi cấy là phương pháp đáng tin

cây để phát hiện vi khuẩn [105],[164],[179],[180]. Chúng tôi thực hiện nuôi cấy trên hệ thống BacT/ALERT (Biomeriex, Pháp), cho phép phát hiện cả vi khuẩn hiếu khí, kỵ khí cũng như nấm. Kết quả nuôi cấy tương tự cũng được công bố trong nghiên cứu của Hà Hữu Nguyễn (2012), KTC được gạn tách bằng máy Trima, Comtec sau 1; 3; 5 ngày bảo quản nuôi cấy vi khuẩn đều cho kết quả âm tính [138]. Trần Thị Thủy (2014), 100% KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần được kiểm tra cấy khuẩn sau 1 ngày và 3 ngày điều chế đều cho kết quả âm tính [137].

Cũng giống như phát hiện virus, phát hiện vi khuẩn là một thách thức thực sự. Vi khuẩn có thể có mặt dưới giới hạn phát hiện ($<1\text{CFU/ml}$) tại thời điểm nuôi cấy và có thể sinh sôi một cách đáng kể trong khoảng thời gian năm ngày bảo quản. Kết quả nuôi cấy so sánh với một số dấu hiệu phát hiện KTC bị nhiễm khuẩn như đo độ pH, nồng độ glucose chúng tôi thấy có sự phù hợp. Kết quả tại bảng 3.23 và 3.35 độ pH của KTC không có sự thay đổi đột ngột trong suốt thời gian bảo quản, tương tự như vậy là kết quả nồng độ glucose.

Để có được kết quả này theo chúng tôi lựa chọn người hiến máu, qui trình vô khuẩn trong quá trình lấy máu đã được thực hiện tốt vì nhiễm khuẩn của KTC thường là kết quả của nhiễm vi khuẩn từ da người hiến máu tại thời điểm lấy máu tĩnh mạch. Đồng thời sử dụng túi nhựa lấy máu đã tạo được một hệ thống kín cho phép lấy máu cũng như điều chế các sản phẩm máu từ một đơn vị máu tránh được nguy cơ nhiễm khuẩn. Việc sử dụng các thiết bị tự động nối dây vô trùng trong điều chế các sản phẩm cũng giúp cho các chế phẩm giảm thiểu các nguy cơ nhiễm khuẩn.

KẾT LUẬN

Qua kết quả nghiên cứu chất lượng và một số yếu tố ảnh hưởng tới chất lượng của 502 KTC được điều chế, gạn tách tại viện Huyết học và Truyền máu Trung ương chúng tôi có một số kết luận sau:

1. KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần và KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào tự động đạt tiêu chuẩn chất lượng Việt Nam tại thông tư 26/2013/TT-BYT hướng dẫn hoạt động truyền máu.

- KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250ml và 350 ml có các chỉ số chất lượng tương ứng là:

- + Thể tích/đv: $50,20 \pm 1,89$ ml và $67,98 \pm 0,18$ ml.
- + SLTC/đv: $4,27 \pm 1,10 \times 10^{10}$ và $6,06 \pm 2,12 \times 10^{10}$ TC.
- + SLBC/đv: $0,024 \pm 0,012 \times 10^9$ và $0,037 \pm 0,027 \times 10^9$ BC.
- + Độ pH: $7,16 \pm 0,04$ và $7,15 \pm 0,04$.

+ Tất cả các KTC nuôi cấy phát hiện vi khuẩn đều có kết quả âm tính.

- Khối tiểu cầu gạn tách từ người hiến máu bằng các loại máy tách tế bào Trima, Comtec, Haemonetic có các chỉ số chất lượng tương ứng là:

- + Thể tích/đv: $250,76 \pm 5,73$ ml; $274,08 \pm 18,37$ ml và $263,19 \pm 11,94$ ml .
- + SLTC/đv: $3,25 \pm 0,26 \times 10^{11}$; $3,26 \pm 0,27 \times 10^{11}$ và $3,48 \pm 0,23 \times 10^{11}$ TC.
- + Nồng độ tiểu cầu: 1295 ± 95 ; 1191 ± 98 và 1325 ± 84 G/l.
- + Độ pH: $7,15 \pm 0,06$; $7,14 \pm 0,07$ và $7,14 \pm 0,05$.

+ Tất cả các KTC nuôi cấy phát hiện vi khuẩn đều có kết quả âm tính.

2. Một số yếu tố ảnh hưởng tới chất lượng khối tiểu cầu

- KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần:

+ Ảnh hưởng của thời gian từ khi thu gom máu tới khi điều chế KTC: KTC điều chế trong thời gian 8 giờ đến 24 giờ có độ pH thấp hơn KTC điều chế trước 8 giờ ($7,17 \pm 0,03$ và $7,17 \pm 0,04$ so với $7,14 \pm 0,05$ và $7,13 \pm 0,05$).

+ SLTC người hiến máu: SLTC/đv của KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần có $SLTC \leq 300$ G/l thấp hơn SLTC/đv của KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần có $SLTC > 300$ G/l ($5,34 \pm 1,88$ so với $6,91 \pm 2,08 \times 10^{10}$ TC/đv).

+ Các yếu tố thể tích đơn vị máu toàn phần, SLHC, Hct và MCV của người hiến máu không ảnh hưởng tới chất lượng KTC.

- *KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào tự động:*

+ Ảnh hưởng bởi loại máy tách tế bào: KTC gạn tách bằng máy Trima có SLBC, SLHC còn lại thấp nhất và thể tích KTC nhỏ nhất so với KTC gạn tách bằng máy Comtec hoặc Haemonetic.

+ Không bị ảnh hưởng bởi các yếu tố: SLTC, cân nặng, giới tính, SLHC, MCV và Hct của người hiến máu.

- *Trong thời gian bảo quản một số chỉ số hóa sinh của KTC bị thay đổi. Tiểu cầu thay đổi hình thái và giảm chức năng.*

+ Nồng độ glucose giảm mạnh tại ngày bảo quản thứ ba và thứ năm so với ngày bảo quản thứ nhất.

+ Nồng độ lactate tăng cao ở ngày bảo quản thứ ba và năm.

+ Độ pH giảm qua các ngày bảo quản.

+ pO_2 được duy trì tốt, không có sự tích tụ CO_2 trong túi TC bảo quản.

+ Trong thời gian bảo quản SLTC giảm, PDW, MPV, P-LCR tăng.

Quan sát trên kính hiển vi điện tử TC chuyển dạng từ hình đĩa sang hình cầu.

+ Độ ngưng tập TC với collagen và ADP giảm mạnh qua các ngày bảo quản (kết quả tương ứng ngày bảo quản thứ nhất và thứ năm là: $73,56 \pm 21,91$; $27,20 \pm 9,07$ và $10,17 \pm 11,90$; $6,93 \pm 3,78\%$).

KIẾN NGHỊ

1. Điều chế KTC từ đơn vị máu toàn phần trước 8 giờ kể từ khi thu gom máu.
2. Sử dụng KTC trước 5 ngày từ khi điều chế để đảm bảo chất lượng KTC.

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ.....	1
Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1 Đặc điểm sinh lý, sinh hóa của tiểu cầu.....	3
1.1.1 Đặc điểm sinh sản của tiểu cầu	3
1.1.2 Cấu trúc tiểu cầu	4
1.1.3 Chức năng tiểu cầu	8
1.1.4 Sinh hóa của tiểu cầu	11
1.2 Chất lượng khối tiểu cầu và các yếu tố ảnh hưởng	16
1.2.1 Chất lượng khối tiểu cầu.....	16
1.2.2 Các yếu tố ảnh hưởng chất lượng khối tiểu cầu.....	24
1.2.3 Các xét nghiệm kiểm tra, đánh giá chất lượng khối tiểu cầu.	35
Chương 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	37
2.1 Đối tượng nghiên cứu.....	37
2.1.1 Nghiên cứu chất lượng khối tiểu cầu điều chế từ đơn vị máu toàn phần	37
2.1.2 Nghiên cứu chất lượng KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào tự động.....	38
2.1.3 Nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng chất lượng KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần.	39
2.1.4 Nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng tới chất lượng KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào tự động.....	39
2.1.5 Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian bảo quản	40
2.2 Phương pháp nghiên cứu.....	40
2.2.1 Phương pháp nghiên cứu	40
2.2.2 Các chỉ số sử dụng cho nghiên cứu.	40
2.2.3 Phương pháp xác định các chỉ số nghiên cứu	42
2.2.4 Mô hình nghiên cứu.....	49
2.2.5 Xử lý số liệu	49

2.2.6 Địa điểm nghiên cứu.....	49
Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.....	51
3.1. Chất lượng khối tiểu cầu.....	51
3.1.1 Chất lượng khối tiểu cầu điều chế từ đơn vị máu toàn phần	51
3.1.2 Chất lượng KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào.....	56
3.2 Một số yếu tố ảnh hưởng tới chất lượng KTC.....	64
3.2.1 Một số yếu tố ảnh hưởng tới chất lượng KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần	64
3.2.2 Ảnh hưởng của một số yếu tố tới chất lượng KTC gạn tách từ người hiến tiểu cầu bằng máy tách tế bào	75
3.3 Kết quả nuôi cấy vi khuẩn.....	86
3.4 Hình ảnh TC trong thời gian bảo quản.....	87
CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN.....	91
4.1 Nghiên cứu chất lượng khối tiểu cầu.....	91
4.1.1 Thử tích KTC.....	91
4.1.2 Số lượng tiểu cầu trong KTC	92
4.1.3 Số lượng bạch cầu, hồng cầu trong khối tiểu cầu.	95
4.1.4 Độ pH của khối tiểu cầu.....	98
4.2 Một số yếu tố ảnh hưởng tới chất lượng khối tiểu cầu.....	99
4.2.1 Một số yếu tố ảnh hưởng tới chất lượng khối tiểu cầu điều chế từ đơn vị máu toàn phần.	99
4.2.2 Một số yếu tố ảnh hưởng tới chất lượng khối tiểu cầu gạn tách từ người hiến tiểu cầu bằng máy tách tế bào.	104
4.2.3 Ảnh hưởng của thời gian bảo quản tới chất lượng KTC.....	107
4.3 Nhiễm khuẩn khối tiểu cầu.....	121
KẾT LUẬN.....	124
KIẾN NGHỊ.....	126
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ	
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1: Các thụ thể bề mặt chính của tiểu cầu.....	6
Bảng 1.2: Thành phần của hạt α	7
Bảng 1.3 Kích thước và tỷ trọng một số thành phần máu	17
Bảng 1.4: Yêu cầu chất lượng và tần suất kiểm tra KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần theo tiêu chuẩn châu Âu.....	22
Bảng 1.5 Chất lượng KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào theo tiêu chuẩn châu Âu.....	22
Bảng 3.1 Một số chỉ số xét nghiệm huyết học của đơn vị máu toàn phần	51
Bảng 3.2 Chất lượng KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250ml.....	52
Bảng 3.3 Tỷ lệ KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250 ml đạt yêu cầu chất lượng theo tiêu chuẩn Việt Nam.....	54
Bảng 3.4 Chất lượng KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 350ml.....	54
Bảng 3.5 Tỷ lệ KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 350 ml đạt yêu cầu chất lượng theo tiêu chuẩn Việt Nam.....	56
Bảng 3.6 Đặc điểm người hiến máu để gạn tách KTC	57
Bảng 3.7 Kết quả kiểm tra chất lượng KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào Trima.....	58
Bảng 3.8 Tỷ lệ KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào Trima đạt yêu cầu chất lượng theo tiêu chuẩn Việt Nam	60
Bảng 3.9 Chất lượng KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào Comtec	60
Bảng 3.10 Tỷ lệ KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy Comtec đạt yêu cầu chất lượng theo tiêu chuẩn Việt Nam.....	62
Bảng 3.11 Chất lượng KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy tách tế bào Haemonetic.....	62
Bảng 3.12: Tỷ lệ KTC gạn tách từ người hiến máu bằng máy Haemonetic đạt yêu cầu chất lượng theo tiêu chuẩn Việt Nam	64

Bảng 3.13 So sánh chất lượng KTC điều chế từ 100 ml máu toàn phần của đơn vị máu toàn phần 250 ml và 350 ml	65
Bảng 3.14: So sánh tỷ lệ đạt yêu cầu chất lượng về SLTC và SLBC của KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250 ml và 350 ml	65
Bảng 3.15 So sánh ảnh hưởng của thời gian điều chế tới chất lượng KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250ml	66
Bảng 3.16 So sánh ảnh hưởng của thời gian điều chế tới chất lượng KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 350ml	67
Bảng 3.17 Ảnh hưởng của số lượng TC người hiến máu tới chất lượng KTC điều chế từ máu toàn phần	67
Bảng 3.18 Ảnh hưởng của MCV người hiến máu tới chất lượng KTC	68
Bảng 3.19 Mối tương quan giữa SLTC trong KTC với HC, BC, Hct người hiến máu	69
Bảng 3.20 Kết quả biến đổi SLTC trong KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần theo ngày bảo quản.....	69
Bảng 3.21 Kết quả các chỉ số TC trong KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần theo ngày bảo quản.....	70
Bảng 3.22 Biến đổi SLBC và SLHC trong KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần theo ngày bảo quản.....	71
Bảng 3.23 Thay đổi pH, nồng độ glucose, lactate trong KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần theo ngày bảo quản	71
Bảng 3.24 Mối tương quan giữa pH, glucose, lactate trong KTC điều chế từ máu toàn phần theo ngày bảo quản	72
Bảng 3.25 Thay đổi các chỉ số pO ₂ và pCO ₂ trong KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần theo ngày bảo quản	74
Bảng 3.26: Thay đổi nồng độ Na ⁺ và K ⁺ trong KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần theo ngày bảo quản.....	75
Bảng 3.27 So sánh SLTC trong KTC gạn tách từ người hiến máu bằng các loại máy tách tế bào.	76

Bảng 3.28: So sánh một số chỉ tiêu chất lượng KTC gạn tách từ người hiến máu bằng các loại máy tách tế bào.....	76
Bảng 3.29 Ảnh hưởng của SLTC người hiến máu tới chất lượng KTC gạn tách bằng máy tách tế bào	77
Bảng 3.30 Ảnh hưởng của cân nặng người hiến máu tới chất lượng KTC gạn tách bằng máy tách tế bào	78
Bảng 3.31 Ảnh hưởng của giới tính người hiến máu tới chất lượng KTC gạn tách bằng máy tách tế bào	78
Bảng 3.32 Mối tương quan giữa HC, HCT, MCV người hiến máu với SLTC của KTC gạn tách bằng máy tách tế bào	79
Bảng 3.33 Các chỉ số tiêu cầu của KTC gạn tách bằng máy tách tế bào theo ngày bảo quản.....	80
Bảng 3.34 Biến đổi SLBC và SLHC của KTC gạn tách bằng máy tách tế bào theo ngày bảo quản	81
Bảng 3.35 Kết quả một số chỉ số hóa sinh của KTC gạn tách bằng máy tách tế bào theo ngày bảo quản.....	81
Bảng 3.36 Mối tương quan giữa pH và các chỉ số tiêu cầu của KTC gạn tách bằng máy tách tế bào theo ngày bảo quản	82
Bảng 3.37 Mối tương quan giữa pH và glucose, lactate.....	82
Bảng 3.38 Thay đổi các chỉ số pO ₂ và pCO ₂ của KTC gạn tách bằng máy tách tế bào theo ngày bảo quản	83
Bảng 3.39 Thay đổi nồng độ Na ⁺ và K ⁺ của KTC gạn tách bằng máy tách tế bào theo ngày bảo quản.....	84
Bảng 3.40 Độ ngưng tập tiêu cầu của KTC gạn tách bằng máy tách tế bào theo ngày bảo quản	84
Bảng 3.41 Kết quả nuôi cấy vi khuẩn KTC	86
Bảng 3.42 Tỷ lệ phân loại theo nhóm của hình ảnh tiêu cầu trong các ngày bảo quản	90

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 3.1: Đặc điểm thể tích đơn vị máu toàn phần dùng điều chế KTC ...	52
Biểu đồ 3.2: Biểu đồ phân bố SLTC trong một đơn vị KTC điều chế từ đơn vị máu toàn phần 250 ml.....	53
Biểu đồ 3.3: Phân bố SLTC trong một đơn vị KTC điều chế từ máu toàn phần 350 ml.....	55
Biểu đồ 3.4: Đặc điểm KTC gạn tách bằng các loại máy.....	57
Biểu đồ 3.5: Phân bố SLTC trong một đơn vị tiểu cầu gạn tách bằng máy Trima	59
Biểu đồ 3.6: Phân bố SLTC trong một đơn vị tiểu cầu gạn tách bằng máy Comtec.....	61
Biểu đồ 3.7: Phân bố SLTC trong một đơn vị tiểu cầu gạn tách bằng máy Hamonetic.....	63
Biểu đồ 3.8: Mối tương quan giữa pH và lactate	73
Biểu đồ 3.9: Mối tương quan giữa pH và glucose.....	74
Biểu đồ 3.10 Kết quả độ ngưng tập tiểu cầu	85

DANH MỤC HÌNH, SƠ ĐỒ, ẢNH

Hình 1.1: Sơ đồ sinh tiêu cầu.....	3
Hình 1.2: Cấu trúc tiêu cầu.....	5
Hình 1.3: Chuyển hóa của acid arachidonic.....	13
Ảnh 2.1: Máy xét nghiệm GEM-3000	45
Sơ đồ 2.1 Mô hình nghiên cứu	50
Ảnh 3.1 Hình ảnh tiêu cầu bảo quản ngày thứ nhất	87
Ảnh 3.2 Hình ảnh tiêu cầu bảo quản ngày thứ ba.....	88
Ảnh 3.3 Hình ảnh tiêu cầu bảo quản ngày thứ năm	88
Ảnh 3.4 Hình ảnh điển hình của tiêu cầu nhóm 1	89
Ảnh 3.5 Hình ảnh điển hình của tiêu cầu nhóm 2	89
Ảnh 3.6 Hình ảnh điển hình của tiêu cầu nhóm 3	90