

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 7391-4 : 2005

ISO 10993-4 : 2002

Xuất bản lần 1

**ĐÁNH GIÁ SINH HỌC TRANG THIẾT BỊ Y TẾ –
PHẦN 4: CHỌN PHÉP THỬ TƯƠNG TÁC VỚI MÁU**

*Biological evaluation of medical devices –
Part 4: Selection of test for interactions with blood*

HÀ NỘI – 2008

Mục lục

Trang

Lời nói đầu.....	4
Lời giới thiệu	6
1 Phạm vi áp dụng.....	7
2 Tài liệu viện dẫn	7
3 Thuật ngữ, định nghĩa	8
4 Thuật ngữ viết tắt.....	9
5 Loại dụng cụ tiếp xúc với máu [như được phân loại trong TCVN 7391-1 : 2004 (ISO 10993-1 : 2003)].....	10
6 Đặc trưng tương tác máu	12
Phụ lục A (tham khảo) Đánh giá tiền lâm sàng dụng cụ tim mạch và các bộ phận nhân tạo.....	23
Phụ lục B (tham khảo) Các phép thử phòng thí nghiệm, nguyên lý, cơ sở khoa học và giải thích	29
Phụ lục C (tham khảo) Đánh giá các đặc điểm tan huyết của trang thiết bị y tế và các bộ phận của chúng	38
Thư mục tài liệu tham khảo	48

Lời nói đầu

TCVN 7391-4 : 2005 hoàn toàn tương đương với ISO 10993-4 : 2002.

TCVN 7391-4 : 2005 do Tiểu ban Kỹ thuật Tiêu chuẩn TCVN/TC210/SC1 *Trang thiết bị y tế* biên soạn, trên cơ sở dự thảo đề nghị của Viện Trang thiết bị và Công trình y tế – Bộ Y tế, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng xét duyệt, Bộ Khoa học và Công nghệ ban hành.

TCVN 7391 gồm các tiêu chuẩn sau, với tên chung *Đánh giá sinh học trang thiết bị y tế*:

- TCVN 7391-1 : 2004 (ISO 10993-1 : 2003) Phần 1: Đánh giá và thử nghiệm.
- TCVN 7391-2 : 2005 (ISO 10993-2 : 1992) Phần 2: Yêu cầu sử dụng động vật.
- TCVN 7391-3 : 2005 (ISO 10993-3 : 2003) Phần 3: Phép thử độc tính di truyền, khả năng gây ung thư và độc tính sinh sản.
- TCVN 7391-4 : 2005 (ISO 10993-4 : 2002) Phần 4: Chọn phép thử tương tác với máu.
- TCVN 7391-5 : 2005 (ISO 10993-5 : 1999) Phần 5: Phép thử độc tính tế bào *in vitro*.
- TCVN 7391-7 : 2004 (ISO 10993-7 : 1995) Phần 7: Dư lượng sau tiệt trùng bằng etylen oxit.

Bộ tiêu chuẩn ISO 10993 còn các tiêu chuẩn sau:

- ISO 10993-6 : 1994 Biological evaluation of medical devices – Part 6: Tests for local effects after implantation.
- ISO 10993-9 : 1999 Biological evaluation of medical devices – Part 9: Framework for identification and quantification of potential degradation products.
- ISO 10993-10 : 2002 Biological evaluation of medical devices – Part 10: Tests for irritation and delayed-type hypersensitivity .
- ISO 10993-11 : 1993 Biological evaluation of medical devices – Part 11: Tests for systemic toxicity.

- ISO 10993-12 : 2002 Biological evaluation of medical devices – Part 12: Sample preparation and reference materials.
- ISO 10993-13 : 1998 Biological evaluation of medical devices – Part 13: Identification and quantification of degradation products from polymeric medical devices.
- ISO 10993-14 : 2001 Biological evaluation of medical devices – Part 14: Identification and quantification of degradation products from ceramics.
- ISO 10993-15 : 2000 Biological evaluation of medical devices – Part 15: Identification and quantification of degradation products from metals and alloys.
- ISO 10993-16 : 1997 Biological evaluation of medical devices – Part 16: Toxicokinetic study design for degradation products and leachables.
- ISO 10993-17 : 2002 Biological evaluation of medical devices – Part 17: Establishment of allowable limits for leachable substances.
- ISO 10993-18 : 2005 Biological evaluation of medical devices – Part 18: Chemical characterization of materials.

và ISO đang biên soạn:

- ISO 10993-19 Biological evaluation of medical devices – Part 19: Physico-chemical, mechanical and morphological characterization.
- ISO 10993-20 Biological evaluation of medical devices – Part 20: Principles and methods for immunotoxicology testing of medical devices.

Tiêu chuẩn này được chuyển đổi năm 2008 từ Tiêu chuẩn Việt Nam cùng số hiệu thành Tiêu chuẩn Quốc gia theo quy định tại khoản 1 Điều 69 của Luật Tiêu chuẩn và Quy chuẩn kỹ thuật và điểm a khoản 1 Điều 6 Nghị định số 127/2007/NĐ-CP ngày 1/8/2007 của Chính phủ quy định chi tiết thi hành một số điều của Luật Tiêu chuẩn và Quy chuẩn kỹ thuật.

Lời giới thiệu

Việc lựa chọn và thiết kế các phép thử tương tác giữa trang thiết bị y tế với máu phải tính đến thiết kế thiết bị, vật liệu, lợi ích y tế, môi trường sử dụng và các nguy cơ. Mức độ yêu cầu được đưa ra trong các tiêu chuẩn chuyên sâu.

Tài liệu đầu tiên để xây dựng phần này của TCVN 7391 (ISO 10993) đã được công bố là *Hướng dẫn tương tác giữa máu và vật liệu*, Báo cáo của Viện Nghiên cứu Quốc gia về Tim, Phổi và Máu^[29]; chương 9 và 10. Ấn phẩm này đã được biên tập lại^[32].

Đánh giá sinh học trang thiết bị y tế – Phần 4: Chọn phép thử tương tác với máu

Biological evaluation of medical devices –

Part 4: Selection of test for interactions with blood

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định các yêu cầu chung để đánh giá các tương tác của trang thiết bị y tế với máu.

Tiêu chuẩn này mô tả:

- a) cách phân loại trang thiết bị nha khoa và y tế có tiếp xúc với máu khi sử dụng, dựa trên mục đích sử dụng và khoảng thời gian tiếp xúc như đã được định nghĩa trong TCVN 7391-1 : 2004 (ISO 10993-1 : 2003);
- b) các nguyên tắc cơ bản kiểm soát đánh giá tương tác của trang thiết bị với máu;
- c) cơ sở chọn lọc cấu trúc các phép thử theo loại cụ thể, cùng với các nguyên tắc và cơ sở khoa học của các phép thử đó.

Các yêu cầu thử nghiệm chi tiết không được quy định do những hạn chế hiểu biết và độ chính xác của các phép thử tương tác của các trang thiết bị với máu. Tiêu chuẩn này mô tả đánh giá sinh học nói chung và có thể không cung cấp đủ các hướng dẫn cho các phương pháp thử một loại trang thiết bị cụ thể.

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau là rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm công bố thì áp dụng bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi.

TCVN 7391-4 : 2005

TCVN 7391-1 : 2004 (ISO 10993-1 : 2003) Đánh giá sinh học trang thiết bị y tế – Đánh giá và thử nghiệm.

TCVN 7391-2 : 2005 (ISO 10993-2 : 1992) Đánh giá sinh học trang thiết bị y tế – Yêu cầu sử dụng động vật.

3 Thuật ngữ, định nghĩa

Tiêu chuẩn này áp dụng các thuật ngữ và định nghĩa được đề cập trong TCVN 7391-1 : 2004 (ISO 10993-1 : 2003) và các thuật ngữ, định nghĩa sau đây:

3.1

Tương tác máu/trang thiết bị (blood/device interaction)

Các tương tác của máu hoặc bất kỳ thành phần nào của máu với trang thiết bị ảnh hưởng tới máu hoặc mô, hoặc cơ quan nội tạng, hoặc với chính trang thiết bị.

CHÚ THÍCH: Những tác động như vậy có thể hoặc không gây ra những hậu quả không mong muốn hoặc có ý nghĩa về mặt lâm sàng. Phụ lục A chứa thông tin chi tiết hơn về các tương tác này.

3.2

Ex vivo (ex vivo)

Thuật ngữ này được dùng cho một hệ thống thử chuyển máu trực tiếp từ đối tượng thử là người hoặc động vật vào một khoang thử nằm bên ngoài cơ thể.

CHÚ THÍCH: Nếu sử dụng một mô hình động vật thì máu có thể được chuyển trực tiếp trở lại động vật đó (tái tuần hoàn) hoặc được thu vào ống nghiệm để đánh giá (truyền đơn).

3.3

Chứng huyết khối (thrombosis)

Hiện tượng *in vivo* gây ra tắc nghẽn một phần hoặc toàn bộ mạch máu hoặc trang thiết bị do một cục máu đông.

CHÚ THÍCH 1: Đặc trưng chứng huyết khối bao gồm các phương pháp *ex vivo* và *in vivo* trong động vật hoặc trong lâm sàng.

CHÚ THÍCH 2: Một cục máu đông tạo thành bởi một hỗn hợp các tế bào hồng cầu, tiểu cầu kết, sợi huyết và các thành phần của tế bào.

3.4

Sự đông lại (coagulation)

Hiện tượng gây ra do kích hoạt dây chuyền các yếu tố đông máu.

CHÚ THÍCH: Các yếu tố đông máu và hệ thống tan sợi huyết có thể được đo sau khi tiếp xúc với các trang thiết bị *in vitro* hoặc *in vivo*.

3.5**Tiểu cầu (platelet)**

Tế bào không nhân có trong hệ tuần hoàn, kết dính với bề mặt và ngưng tập để hình thành nút cầm máu nhằm giảm thiểu sự chảy máu.

CHÚ THÍCH: Thử nghiệm tiểu cầu bao gồm việc đếm số lượng tiểu cầu cũng như phân tích cấu trúc và chức năng của chúng. Thử nghiệm có thể bao gồm phân tích các yếu tố tiểu cầu, hoặc các thành phần trên bề mặt tiểu cầu được giải phóng từ khối tiểu cầu hoặc gắn kết với bề mặt trang thiết bị.

3.6**Huyết học (heamatology)**

Nghiên cứu về máu, bao gồm việc định lượng thành phần tế bào và huyết tương của máu.

3.7**Hệ thống bổ thể (complement system)**

Phần của hệ thống miễn dịch bẩm sinh, bao gồm một vài protein huyết tương, các enzym và thụ thể tế bào.

CHÚ THÍCH: Các phần tử phản ứng lại kích thích được sinh ra từ các thành phần bổ thể liên quan đến sự viêm, thực bào và dung bào.

4 Thuật ngữ viết tắt

Bb	sản phẩm của quá trình hoạt hoá bổ thể theo con đường thay thế
β -TG	beta-thromboglobulin
C4d	sản phẩm của quá trình hoạt hoá bổ thể theo con đường cổ điển
C3a, C5a	các sản phẩm do phân tách bổ thể từ C3 và C5 (chủ động)
CD62L	L-selectin
CH-50	50 % tổng số bổ thể tan huyết
CT	chụp X-quang cắt lớp bằng máy tính
D-Dimer	các sản phẩm phân huỷ sợi huyết đặc hiệu (F XIII sợi huyết liên kết ngang)
ECMO	máy cấp oxy màng máu nhân tạo
ELISA	khảo nghiệm hấp phụ miễn dịch nhờ gắn enzym
EM	kính hiển vi điện tử
FDP	sản phẩm thoái giáng của sợi huyết/tiền sợi huyết
FPA	fibrino peptit A

TCVN 7391-4 : 2005

F ₁₊₂	mảnh prothrombin hoạt hoá 1 + 2
IC3b	sản phẩm hoạt hoá bổ thể C trung tâm
IVC	tĩnh mạch chủ dưới
MRI	chụp cộng hưởng từ
PAC-1	kháng thể đơn dòng nhận dạng glycoprotein IIb/IIIa bề mặt bị hoạt hoá của tiểu cầu
PET	chụp bức xạ positron cắt lớp
PF-4	yếu tố tiểu cầu 4
PRP	huyết tương giàu tiểu cầu
PT	thời gian prothrombin
PTT	thời gian thromboplastin từng phần
P-selectin	thụ quan được tiếp cận trong phản ứng giải phóng tế bào màng trong hoặc tiểu cầu
RIA	khảo nghiệm miễn dịch phóng xạ
S-12	kháng thể đơn dòng nhận dạng P-selectin thành phần màng hạt alpha tiếp cận trong phản ứng giải phóng tiểu cầu
SC5b-9	sản phẩm hoạt hoá bổ thể theo con đường cuối cùng
TAT	phức hợp thrombin-antithrombin
TCC	phức hợp bổ thể cuối cùng
TT	thời gian thrombin
VWF	yếu tố von Willebrand

5 Loại trang thiết bị tiếp xúc với máu [như được phân loại trong TCVN 7391-1 : 2004 (ISO 10993-1 : 2003)]

5.1 Trang thiết bị không tiếp xúc

Trang thiết bị chẩn đoán *in vitro* là một ví dụ về trang thiết bị không tiếp xúc.

5.2 Trang thiết bị truyền ngoài

Trang thiết bị tiếp xúc với máu tuần hoàn và giữ vai trò như một ống dẫn vào hệ thống mạch máu. Có nhiều ví dụ về các trang thiết bị này nhưng không giới hạn với trang thiết bị đề cập trong TCVN 7391-1 : 2004 (ISO 10993-1 : 2003).

a) Trang thiết bị truyền ngoài giữ vai trò là một đường máu gián tiếp bao gồm nhưng không giới hạn:

- ống thông,
 - bộ kéo dẫn,
 - trang thiết bị thu máu,
 - trang thiết bị lưu giữ và bảo quản máu và các sản phẩm của máu (như ống, kim tiêm và túi),
 - màng lọc tế bào.
- b) trang thiết bị truyền ngoài tiếp xúc với máu tuần hoàn bao gồm nhưng không giới hạn:
- dụng cụ lấy nội mạc,
 - bộ theo dõi máu,
 - ống thông,
 - dây dẫn,
 - đèn nội soi mạch,
 - siêu âm mạch,
 - hệ thống laser mạch,
 - ống thông để chụp động mạch vành ngược dòng,
 - tuần hoàn tim phổi ngoài cơ thể,
 - máy tạo ôxy màng máu nhân tạo,
 - thiết bị thẩm tách máu/lọc máu,
 - máy gạn máu,
 - thiết bị hấp thụ các chất đặc hiệu từ máu,
 - thiết bị can thiệp tim và mạch,
 - hệ thống hỗ trợ tuần hoàn dưới da.

5.3 Trang thiết bị cấy ghép

Các trang thiết bị cấy ghép được đặt chủ yếu hoặc toàn bộ trong hệ thống mạch. Bao gồm các ví dụ sau nhưng không giới hạn:

- vòng tạo hình khuyên,
- van tim dạng cơ học hoặc dạng mô,
- mảnh ghép mạch bằng bộ phận giả hoặc bằng mô,
- trang thiết bị trợ giúp tuần hoàn (dụng cụ trợ giúp tâm thất, tim nhân tạo, bơm bóng nội động mạch chủ),

TCVN 7391-4 : 2005

- lọc tĩnh mạch chủ dưới,
- thiết bị làm tắc mạch,
- mảnh ghép nội mạch,
- máy khử rung tim và máy khử rung tim có thể cấy ghép,
- cầu nối,
- nhánh nối động tĩnh mạch,
- bộ theo dõi máu,
- ống thông truyền thuốc bên trong,
- dây dẫn chính của máy tạo nhịp,
- máy tạo ôxy màng nội mạch (phổi nhân tạo)
- lọc bạch cầu.

6 Đặc trưng tương tác máu

6.1 Yêu cầu chung

6.1.1 Biểu đồ Hình 1 được sử dụng để xác định liệu việc thử nghiệm tương tác với máu có cần thiết hay không.

Tương tác máu có thể phân thành năm loại dựa trên quá trình gốc hoặc hệ thống được đo.

Bảng 1 và 2 liệt kê những ví dụ về các trang thiết bị tiếp xúc với máu tuần hoàn và các loại thử nghiệm thích hợp với trang thiết bị này.

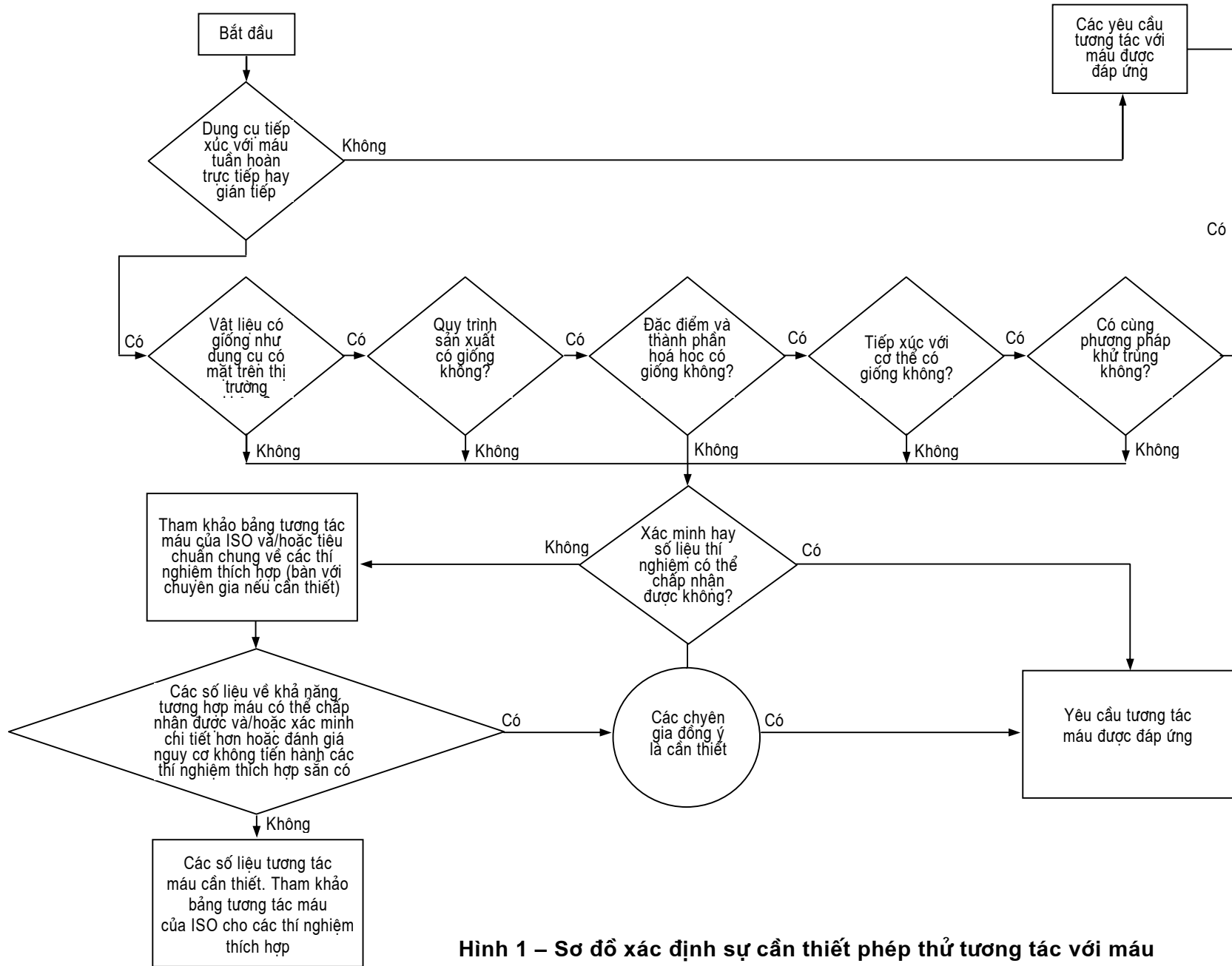
CHÚ THÍCH: Vì đây là tiêu chuẩn chung, các cơ sở hợp lý có thể được phát triển để chứng minh sự lựa chọn là đúng trên trang thiết bị đặc trưng. Thử nghiệm chứng huyết khối thông thường là phương pháp thích hợp hơn đặc trưng cho trang thiết bị. Trong nhiều trường hợp, có thể sử dụng cách phân tích nguyên nhân để thay thế một vài kết hợp của thử nghiệm đông máu, tiểu cầu, huyết học và hệ thống bổ thể cho thử nghiệm chứng huyết khối.

Đối với trang thiết bị y tế đã có tiêu chuẩn riêng thì yêu cầu đánh giá sinh học và phương pháp thử nêu trong tiêu chuẩn riêng đó phải ưu tiên hơn so với các yêu cầu khái quát được gợi ý trong tiêu chuẩn này.

6.1.2 Khi có thể, phép thử nên dùng một mô hình hoặc hệ thống phù hợp mô phỏng hình học và các điều kiện tiếp xúc của trang thiết bị với máu trong ứng dụng lâm sàng, bao gồm thời gian tiếp xúc, nhiệt độ, điều kiện vô trùng và điều kiện dòng chảy. Đối với trang thiết bị có hình dạng xác

định thì tỉ lệ của tham số thử nghiệm (nồng độ/đơn vị thể tích) với diện tích bề mặt tiếp xúc (cm^2) phải được đánh giá.

Chỉ thử các phần tiếp xúc với máu. Các phương pháp thử và các thông số đã chọn phải tuân theo trình độ phát triển khoa học kỹ thuật hiện tại.



Hình 1 – Sơ đồ xác định sự cần thiết phép thử tương tác với máu

**Bảng 1 – Trang thiết bị hoặc bộ phận tiếp xúc với máu tuần hoàn
và các loại thử nghiệm phù hợp – Trang thiết bị truyền ngoài**

Ví dụ trang thiết bị	Loại phép thử				
	Huyết khối	Đông máu	Tiểu cầu	Huyết học	Hệ thống bổ thể
Các trang thiết bị atherectomy				x ^a	
Bộ theo dõi máu	x			x ^a	
Thiết bị lưu trữ và bảo quản máu, trang thiết bị thu máu, bộ kéo dẫn		x	x	x ^a	
Hệ thống máy tạo ôxy màng máu nhân tạo, thiết bị thẩm tách/lọc máu, dụng cụ hỗ trợ tuần hoàn dưới da	x	x	x	x	x
Ống thông, vòng dẫn, đèn nội soi mạch, siêu âm nội soi mạch, hệ thống lazer, ống thông truyền để chụp động mạch vành ngược dòng	x	x		x ^a	
Màng lọc tế bào		x	x	x ^a	
Trang thiết bị hấp thụ các chất đặc hiệu từ máu		x	x	x	x
Máy gạn máu		x	x	x	x

^a Chỉ với thử nghiệm tan huyết.

**Bảng 2 – Trang thiết bị hoặc bộ phận tiếp xúc với máu tuần hoàn
và các loại thử nghiệm phù hợp – Trang thiết bị cấy ghép**

Ví dụ trang thiết bị	Loại phép thử				
	Huyết khối	Đông máu	Tiểu cầu	Huyết học	Hệ thống bổ thể
Vòng tạo hình khuyên, van tim cơ học	x			x ^a	
Bơm bóng nội động mạch chủ	x	x	x	x	x
Tim nhân tạo, trang thiết bị hỗ trợ tâm thất	x			x	
Trang thiết bị làm tắc mạch				x ^a	
Mảnh ghép nội mạch	x			x ^a	
Máy khử rung tim và máy khử rung tim có thể cấy ghép được	x			x ^a	
Dây dẫn chính của máy tạo nhịp	x			x ^a	
Màng lọc bỏ bạch cầu		x	x	x ^a	
Miếng ghép và miếng vá mạch nhân tạo (tổng hợp), bao gồm nhánh chuyển động tĩnh mạch	x			x ^a	
Cầu nối	x			x ^a	
Van tim bằng mô	x			x ^a	
Miếng ghép hoặc miếng vá bằng mô, bao gồm nhánh chuyển động tĩnh mạch	x			x ^a	
Màng lọc tĩnh mạch chủ dưới	x			x ^a	

^a Chỉ với thử nghiệm tan huyết.

TCVN 7391-4 : 2005

6.1.3 Phép thử đối chứng phải được sử dụng trừ khi xác định thấy là không cần. Khi có thể, việc thử nghiệm phải bao gồm cả dụng cụ liên quan đã được sử dụng hoặc thử nghiệm vật liệu đối chứng đặc trưng^[7].

Vật liệu đối chứng được sử dụng phải bao gồm cả đối chứng âm tính và dương tính. Mọi vật liệu và trang thiết bị được thử phải đáp ứng tất cả các đặc tính đảm bảo chất lượng và kiểm tra chất lượng của nhà sản xuất và phòng thí nghiệm. Mọi vật liệu và trang thiết bị thử phải được nhận biết về nguồn gốc, nhà sản xuất, hạng và loại.

6.1.4 Thử nghiệm các vật liệu sẽ dùng cho thành phần của một trang thiết bị có thể được tiến hành với mục đích sàng lọc. Tuy nhiên, các phép thử ban đầu như vậy không thể thay thế cho yêu cầu mà một trang thiết bị hoàn chỉnh hoặc cấu phần của trang thiết bị phải được thử nghiệm trong các điều kiện mô phỏng hoặc phóng đại ứng dụng lâm sàng.

6.1.5 Các phép thử không mô phỏng các điều kiện của một trang thiết bị khi sử dụng có thể sẽ không tiên đoán chính xác bản chất của tương tác máu/trang thiết bị có thể xảy ra trong ứng dụng lâm sàng. Ví dụ, một số phép thử ngắn hạn *in vitro* hoặc *ex vivo* là dự đoán yếu kém cho tương tác máu/trang thiết bị lâu dài *in vivo*^{[25],[26]}.

6.1.6 Tiếp tục từ điều trên, các trang thiết bị có mục đích sử dụng là *ex vivo* (truyền ngoài) phải được thử *ex vivo* và trang thiết bị có mục đích sử dụng là *in vivo* (cấy ghép) phải được thử *in vivo* trong một mô hình động vật mô phỏng càng gần với các điều kiện sử dụng lâm sàng càng tốt.

6.1.7 Các phép thử *in vitro* được xem là có ích trong việc sàng lọc các trang thiết bị truyền ngoài hoặc cấy ghép, nhưng không thể là yếu tố tiên đoán chính xác của tương tác máu/trang thiết bị xảy ra sau khi tiếp xúc kéo dài hoặc tiếp xúc lặp lại hoặc tiếp xúc vĩnh viễn (xem 6.3.1). Trang thiết bị không tiếp xúc thì không cần đánh giá tương tác máu/trang thiết bị. Trang thiết bị tiếp xúc nhanh với hệ tuần hoàn (ví dụ như lưới trích, kim tiêm dưới da, ống mao quản) nhìn chung không cần thử nghiệm tương tác máu /trang thiết bị.

6.1.8 Các khuyến nghị trong 6.1.6 và 6.1.7 cùng với điều 5, Hình 1 và Bảng 2 đóng vai trò hướng dẫn chọn các phép thử liệt kê trong 6.2.1.

6.1.9 Các thiết bị phòng thí nghiệm dùng một lần để thu máu và tiến hành các phép thử *in vitro* của máu phải được đánh giá để đảm bảo rằng không có hiện tượng nhiễu đáng kể nào với phép thử đang được tiến hành.

6.1.10 Nếu các phép thử được lựa chọn theo cách đã mô tả và tiến hành thử nghiệm trong điều kiện mô phỏng các ứng dụng lâm sàng, thì kết quả thử nghiệm như vậy có xác suất lớn nhất để

tiên đoán hiệu suất lâm sàng của trang thiết bị. Tuy nhiên, sự khác nhau về loài và các yếu tố khác có thể giới hạn khả năng tiên đoán của bất kỳ phép thử nào.

6.1.11 Do có sự khác nhau về loài trong phản ứng máu, nên máu người phải được dùng nếu có thể. Khi cần động vật mẫu, ví dụ để đánh giá trang thiết bị dùng cho tiếp xúc kéo dài hoặc tiếp xúc lặp lại hoặc tiếp xúc vĩnh viễn nên xem xét sự khác nhau về loài trong phản ứng máu.

Các giá trị và độ phản ứng máu trong người và các động vật linh trưởng rất giống nhau^[26]. Sử dụng động vật, ví dụ như thỏ, lợn, bê, cừu hoặc chó có thể cho các kết quả mong muốn. Do sự khác nhau về loài có thể có ý nghĩa (ví dụ như sự kết dính tiểu cầu, huyết khối^[20] và làm tan huyết có khuynh hướng xảy ra dễ dàng hơn ở các loài chó hơn là người), nên tất cả các nghiên cứu động vật phải được giải thích thận trọng. Loài và số lượng loài được sử dụng phải hợp lý [xem TCVN 7391-2 : 2005 (ISO10993-2)].

CHÚ THÍCH: Sử dụng linh trưởng cho thử nghiệm tính tương hợp máu *in vitro* và trang thiết bị y tế bị nghiêm cấm bởi luật của các nước thuộc Cộng đồng Châu Âu (EU) (86/609/EEC) và luật của một số quốc gia khác.

6.1.12 Tránh sử dụng các chất chống đông trong các phép thử *in vitro* và *ex vivo* trừ khi trang thiết bị được thiết kế để thực hiện khi có các chất này. Việc lựa chọn và nồng độ của các chất chống đông được dùng ảnh hưởng đến tương tác máu/trang thiết bị và việc lựa chọn này phải được xác minh đúng đắn. Các trang thiết bị dùng với các chất chống đông phải được đánh giá bằng các chất chống đông với khoảng nồng độ dùng trong lâm sàng.

6.1.13 Biến đổi trong một trang thiết bị được chấp nhận về mặt lâm sàng phải được xem xét ảnh hưởng của chúng đến các tương tác máu/trang thiết bị và các chức năng lâm sàng. Ví dụ, các biến đổi như vậy bao gồm các thay đổi trong thiết kế, hình học, các thay đổi bề mặt hoặc thành phần hoá học của vật liệu và thay đổi về cấu trúc, độ xốp hoặc các đặc tính khác.

6.1.14 Số lượng đủ các lần lặp lại một phép thử với các đối chứng phù hợp phải được tiến hành để cho phép đánh giá thống kê số liệu. Sự biến đổi trong một số phương pháp thử cần các phép thử đó được lặp lại một số lần vừa đủ để xác định được mức ý nghĩa. Hơn nữa, các nghiên cứu lặp lại qua một giai đoạn tiếp xúc kéo dài của máu/trang thiết bị cung cấp thông tin về sự phụ thuộc thời gian của các tương tác.

6.2 Các loại phép thử và tương tác máu

6.2.1 Phép thử được khuyến nghị cho tương tác giữa trang thiết bị với máu

Các phép thử khuyến nghị được tổ chức trên cơ sở loại trang thiết bị theo Bảng 3 và 4.

Bảng 3 – Những phương pháp thử trang thiết bị truyền ngoài

Loại thử nghiệm	Phương pháp đánh giá	Chú thích
Huyết khối	Phần trăm tắc mạch	
	Chậm dòng chảy	
	Phân tích trọng lượng (khối lượng cục máu đông)	
	Kính hiển vi quang học (tiểu cầu gắn, bạch cầu, ngưng tập, hồng cầu, sợi huyết, ...)	
	Sụt áp qua dụng cụ	
	Kháng thể được đánh dấu với các thành phần huyết khối	
	Kính hiển vi điện tử quét (EM) (kết dính và ngưng tập tiểu cầu, hình thái tiểu cầu và bạch cầu, sợi huyết)	
Đông máu	PTT (không bị hoạt hoá)	
	Tạo thrombin: khảo nghiệm yếu tố đông máu đặc hiệu: FPA, D-dimer, F ₁₊₂ , TAT	
Tiểu cầu	Đếm/dính tiểu cầu	
	Ngưng tập tiểu cầu	
	Thời gian chảy máu	
	Phân tích chức năng tiểu cầu	
	PF-4, β -TG, tromboxan B2	
	Đánh dấu hoạt hoá tiểu cầu	
	Vi hạt tiểu cầu	
	Tạo hình ảnh gamma của các tiểu cầu đánh dấu phóng xạ, sự sống sót của tiểu cầu bị đánh dấu phóng xạ	Đánh dấu được đề nghị cho sử dụng lâu dài hoặc lặp lại (hơn 24 h đến 30 ngày) và tiếp xúc thường xuyên (hơn 30 ngày)
Huyết học	Đếm bạch cầu có hoặc không biệt hoá	
	Hoạt hoá bạch cầu	
	Tan huyết	
	Đếm tế bào lưới; sản phẩm được giải phóng do hoạt hoá đặc hiệu các tế bào máu ngoại vi (ví dụ bạch cầu hạt)	
Hệ thống bổ thể	C3a, C5a, TCC, Bb, iC3b, C4d, SC5b-9, CH50, C3 convertase, C5 convertase	

Bảng 4 – Những phương pháp thử trang thiết bị cấy ghép

Loại thử nghiệm	Phương pháp đánh giá	Chú thích
Huyết khối	Kính hiển vi điện tử quét (kết dính và ngưng tập tiểu cầu); tiểu cầu và hình thái bạch cầu; sợi huyết	
	Phần trăm tắc mạch	
	Chậm dòng chảy	
	Kháng thể được đánh dấu với các thành phần huyết khối	
	Khảo nghiệm trang thiết bị (đại thể và vi thể); mô bệnh học	
	Khảo nghiệm cơ quan đích (đại thể và vi thể); mô bệnh học	
Đông máu	Khảo nghiệm đông máu đặc hiệu: FPA, D-dimer, F ₁₊₂ , PAC-1, S-12, TAT	
	PTT (không bị hoạt hoá), PT, TT; Tiền sợi huyết huyết tương; FDP	
Tiểu cầu	PF-4, β -TG, thromboxan B2	
	Yếu tố đánh dấu hoạt hoá tiểu cầu	
	Vi hạt tiểu cầu	
	Tạo hình ảnh gamma của các tiểu cầu đánh dấu phóng xạ, sự sống sót của tiểu cầu bị đánh dấu phóng xạ	
	Phân tích chức năng tiểu cầu	
	Đếm/dính tiểu cầu	
	Ngưng tập tiểu cầu	
Huyết học	Đếm bạch cầu có hoặc không biệt hoá	
	Hoạt hoá bạch cầu	
	Tan huyết	
	Đếm tế bào lưới; sản phẩm được giải phóng do hoạt hoá đặc hiệu các tế bào máu ngoại vi (ví dụ bạch cầu hạt)	
Hệ thống bổ thể	C3a, C5a, TCC, Bb, iC3b, C4d, SC5b-9, CH50, C3 convertase, C5 convertase	

Dựa trên các quá trình hoặc hệ thống chủ yếu được đo các phép thử này được phân thành 5 loại sau:

- a) huyết khối (xem 3.3);
- b) đông máu (xem 3.4);
- c) tiểu cầu (xem 3.5);
- d) huyết học (xem 3.6)
- e) hệ thống bổ thể (xem 3.7).

TCVN 7391-4 : 2005

Các nguyên lý và cơ sở khoa học của các phép thử này được trình bày trong Phụ lục B.

6.2.2 Trang thiết bị không tiếp xúc

Những trang thiết bị này không cần thử nghiệm tương tác máu/trang thiết bị. Bộ thử dùng một lần phải được đánh giá để loại bỏ nhiễu của vật liệu với độ chính xác thử.

6.2.3 Trang thiết bị truyền ngoài

Sau khi sử dụng Bảng 1 và 2 để xác định loại tương tác máu liên quan cho một loại trang thiết bị cụ thể, Bảng 3 có thể được dùng như một hướng dẫn để chọn các phép thử thích hợp cho các trang thiết bị truyền ngoài như một chức năng của tương tác máu phù hợp để đánh giá (xem 6.1.6). Tiêu chí chọn phép thử phụ thuộc vào trang thiết bị cụ thể được đánh giá.

6.2.4 Trang thiết bị cấy ghép

Sau khi sử dụng Bảng 1 và 2 để xác định loại tương tác máu liên quan cho một loại trang thiết bị cụ thể, Bảng 4 có thể dùng để hướng dẫn chọn các phép thử thích hợp cho các trang thiết bị cấy ghép như một chức năng của các tương tác máu phù hợp để đánh giá (xem 6.1.6). Tiêu chí chọn phép thử phụ thuộc vào trang thiết bị cụ thể được đánh giá.

6.2.5 Các chỉ dẫn và hạn chế

Khảo nghiệm miễn dịch có sẵn cho thử nghiệm máu người, nhưng nhìn chung là không có sẵn cho các loài khác. Bộ thử cho người thường không phản ứng chéo với các loài khác trừ một số linh trưởng. Nên thận trọng khi thiết kế các hệ thống thử để đảm bảo đảm rằng một hệ thống hiện đại đo sự hoạt hoá do vật liệu thử chứ không phải do một yếu tố nhân tạo của hệ thống. Các mô phỏng *in vitro* và *ex vivo* với máu người thường tạo ra mức độ huyết tương của các chất phân tích mà cần độ pha loãng thấp, trung bình hoặc cao phụ thuộc vào các điều kiện thực nghiệm để đo trong phổ giá trị của khảo nghiệm miễn dịch. Cần chú ý chỉ thông báo những kết quả đo được trong phổ giá trị của các khảo nghiệm. Cũng phải tiến hành thận trọng để bảo đảm rằng khoảng pha loãng của mẫu thử đã được đo.

Sự không nhất quán trong đánh giá các tương tác máu/trang thiết bị có thể xảy ra do đặc trưng vật liệu không chính xác hoặc xử lý không thích hợp trước khi tiến hành các phép thử máu. Ví dụ, các nghiên cứu có thể chỉ dựa vào một loại phép thử duy nhất hoặc có thể cho phép ứng dụng vật liệu ngoại lai không liên quan đến vật liệu hoặc trang thiết bị đang thử. Vật liệu được dùng trong môi trường dòng thấp (tĩnh mạch) có thể tương tác với máu một cách khác hẳn khi sử dụng trong trạng thái dòng cao (động mạch). Những thay đổi trong thiết kế và/hoặc các điều kiện dòng chảy có thể thay đổi khả năng tương tác máu *in vivo* của một loại vật liệu.

6.3 Loại phép thử

6.3.1 Phép thử *in vitro*

Các biến số phải được xem xét khi sử dụng các phương pháp thử *in vitro* bao gồm huyết cầu đặc, các chất chống đông, thu mẫu, tuổi của mẫu, dự trữ mẫu, thông khí và độ pH, nhiệt độ, trình tự của các nghiên cứu thử đối chứng, tỷ lệ thể tích với bề mặt và điều kiện biến động dịch lỏng (đặc biệt là tốc độ dịch chuyển vách). Các phép thử được thực hiện với sự trì hoãn tối thiểu, thường trong vòng 4 h, vì một số đặc điểm của máu thay đổi mạnh sau khi thu mẫu.

6.3.2 Phép thử *ex vivo*

Các phép thử *ex vivo* phải được tiến hành khi mục đích sử dụng của trang thiết bị là *ex vivo*, ví dụ một trang thiết bị truyền ngoài. Thử nghiệm *ex vivo* cũng có thể có ích khi mục đích sử dụng của trang thiết bị là *in vivo*, ví dụ một cấy ghép như mảnh ghép mạch. Tuy nhiên, cách sử dụng như vậy không nên thay cho một phép thử cấy ghép.

Các hệ thống thử *ex vivo* có sẵn để kiểm tra sự kết dính tiểu cầu, tạo cục máu đông, lắng tiền sợi huyết, nút nghẽn, kết dính tế bào bạch cầu, tiêu thụ tiểu cầu và hoạt hoá tiểu cầu [20], [30], [48]. Tốc độ dòng máu có thể đo bằng Doppler hoặc bằng theo dõi dòng chảy điện từ. Những biến đổi tốc độ dòng chảy có thể chỉ ra phạm vi và diễn biến của hiện tượng lắng đọng và tạo cục máu đông.

Các hệ thống thử *ex vivo* sử dụng các thành phần của máu được đánh dấu phóng xạ để theo dõi tương tác máu/trang thiết bị. Tiểu cầu và tiền sợi huyết là các thành phần của máu được đánh dấu phóng xạ phổ biến nhất. Sự biến đổi độ phản ứng của tiểu cầu bằng các thủ tục đánh dấu có thể được giảm thiểu nếu chú ý nghiêm ngặt vào chi tiết kỹ thuật^{[23], [24], [25]}.

Ưu điểm của các phép thử *ex vivo* so với các phép thử *in vitro* là khi sử dụng máu nguyên bản đang chảy (cung cấp các điều kiện dòng chảy sinh lý) thì có thể đánh giá được một số vật liệu vì các khoang có thể bị thay đổi, và có thể theo dõi được một số sự kiện trong thời gian thực tế. Một số nhược điểm là khả năng biến đổi tốc độ dòng chảy của máu từ thực nghiệm này đến thực nghiệm khác, hoạt tính máu biến đổi từ động vật này sang động vật khác và khoảng thời gian có thể đánh giá được thường tương đối ngắn. Về vấn đề này nên sử dụng cả đối chứng dương tính và đối chứng âm tính trên cùng một động vật thử.

6.3.3 Phép thử *in vivo*

Thử nghiệm *in vivo* liên quan đến cấy ghép vật liệu hoặc trang thiết bị vào trong động vật. Các miếng vá mạch, miếng ghép mạch, vòng giả, van tim và các trang thiết bị hỗ trợ tuần hoàn là những ví dụ về các dạng được sử dụng trong thử nghiệm *in vivo*.

Sự thông suốt (của một ống dẫn) là phép đo phổ biến nhất về sự thành công hoặc thất bại trong hầu hết các thực nghiệm *in vivo*. Hiện tượng tắc mạch tính theo phần trăm và khối cục máu đông

TCVN 7391-4 : 2005

được xác định sau khi loại bỏ trang thiết bị. Khuynh hướng các cục đông được hình thành trên một trang thiết bị gây ra tắc mạch ở một cơ quan đích phải được đánh giá thận trọng bằng cách kiểm tra vi thể các cơ quan bị ảnh hưởng. Hơn nữa, việc đánh giá mô bệnh học các mô và cơ quan bao quanh là rất có ích. Thận là cơ quan đặc biệt có khả năng bị các cục máu đông dẫn đến tắc mạch từ các trang thiết bị cấy ghép ngược trở lại các động mạch thận (ví dụ các dụng cụ trợ giúp tâm thất, tim, mảnh ghép động mạch chủ nhân tạo) ^[19]. Các phương pháp đánh giá tương tác *in vivo* mà không cần dùng thực nghiệm đều có sẵn. Động mạch đồ được sử dụng để xác định tình trạng thông suốt của mảnh ghép hoặc sự lắng đọng cục máu đông trên các trang thiết bị. Tạo hình ảnh bằng phóng xạ có thể được sử dụng để điều khiển sự lắng đọng của tiểu cầu ở các thời điểm khác nhau *in vivo*; sự sống sót và tiêu thụ tiểu cầu có thể được sử dụng như là các nhân tố chỉ thị cho tương tác máu/trang thiết bị và sự ôxy hoá do hình thành nội mạc non hoặc hấp thụ protein.

Trong một số hệ thống thử *in vivo*, đặc điểm của vật liệu có thể không phải là yếu tố chính quyết định mối tương tác máu/trang thiết bị. Các thông số về dòng chảy, sự tương thích, độ xốp và thiết kế cấy ghép có thể quan trọng hơn tính tương hợp của bản thân vật liệu đó với máu. Ví dụ, các hệ thống dòng chảy thấp có thể cho các kết quả khác biệt đáng kể khi so sánh với cùng vật liệu được đánh giá trong một hệ thống dòng chảy cao. Trong những trường hợp như vậy, tiến hành hệ thống thử *in vivo* sẽ quan trọng hơn các kết quả thử *in vitro*.

Phụ lục A

(tham khảo)

Đánh giá tiền lâm sàng các trang thiết bị tim mạch và bộ phận nhân tạo

A.1 Nghiên cứu chung

A.1.1 Cơ sở

Phụ lục này cung cấp cơ sở để chọn phương pháp thử đánh giá tương tác trang thiết bị tim mạch với máu. Điều 6 của tiêu chuẩn này hướng dẫn thử nghiệm cần thiết và phản ứng của máu với trang thiết bị cụ thể và danh mục các phép thử đánh giá tương tác máu/trang thiết bị của các trang thiết bị không tiếp xúc, truyền ngoài và cấy ghép.

A.1.2 Phân loại

Phân loại dưới đây về tương tác máu/trang thiết bị được cung cấp làm cơ sở.

- a) Các tương tác tác động chủ yếu đến trang thiết bị y tế có hoặc không thể có ảnh hưởng không mong muốn đến trang thiết bị như sau:
 - 1) hấp phụ các protein huyết tương, lipit, canxi hoặc các chất khác từ máu lên bề mặt trang thiết bị; hoặc sự hấp thụ các chất đó vào trang thiết bị;
 - 2) sự kết dính tiểu cầu, bạch cầu hoặc hồng cầu lên bề mặt trang thiết bị hoặc sự hấp thụ của các thành phần của nó vào trang thiết bị;
 - 3) sự hình thành nội mạc giả hoặc bào mô trên bề mặt trang thiết bị;
 - 4) những biến đổi các đặc điểm cơ học và các đặc điểm khác của trang thiết bị.
- b) Các tương tác có ảnh hưởng không mong muốn tiềm tàng trên động vật hoặc người như sau:
 - 1) sự hoạt hoá tiểu cầu, bạch cầu hoặc các tế bào khác hoặc sự hoạt hoá quá trình đông máu, tan sợi huyết hoặc bổ thể;
 - 2) hình thành cục máu đông trên bề mặt trang thiết bị;
 - 3) làm nghẽn mạch bằng các vật liệu gây ra cục máu đông hoặc các vật liệu khác từ bề mặt khoang của trang thiết bị đến một vị trí bên trong hệ tuần hoàn;
 - 4) tổn thương tế bào huyết đang tuần hoàn gây ra bệnh thiếu máu, bệnh tan máu, giảm bạch cầu, giảm tiểu cầu hoặc biến đổi chức năng của các tế bào máu;
 - 5) tổn thương tế bào và mô kề cận trang thiết bị;

TCVN 7391-4 : 2005

- 6) sự tăng sinh nội mạc hoặc sự tích lũy của những mô khác trên hoặc gần trang thiết bị gây ra dòng máu chảy giảm hoặc tác động đến các chức năng khác của trang thiết bị;
- 7) sự kết dính hoặc sinh trưởng của vi khuẩn hoặc các tác nhân nhiễm trùng khác trên hoặc gần trang thiết bị.

A.1.3 Các ưu thế và hạn chế của động vật và thử nghiệm *in vitro*

Các mô hình động vật cho phép điều khiển liên tục trang thiết bị và nghiên cứu điều khiển hệ thống các biến số quan trọng. Tuy nhiên, việc lựa chọn một mô hình động vật thử có thể bị giới hạn bởi yêu cầu về kích cỡ, sự sẵn có các loài nhất định và giá thành. Điều quan trọng là nhà nghiên cứu phải xem xét kỹ sự khác nhau và giống nhau về sinh lý của các loài được chọn với sinh lý của con người, đặc biệt là sự giống nhau liên quan đến hiện tượng đông máu, các chức năng tiểu cầu và hiện tượng tan sợi huyết, và sự phản ứng với các nhân tố dược lý như thuốc mê, chất chống đông, các nhân tố tan cục máu đông và kháng tiểu cầu, và kháng sinh. Do có sự khác nhau về độ phản ứng của loài và phản ứng có thể thay đổi với các trang thiết bị khác nhau, nên các số liệu thu được từ một loài phải được xem xét cẩn thận. Nhóm động vật linh trưởng như khỉ đầu chó có các giá trị huyết học, cơ chế đông máu và hệ thống tim mạch tương tự con người^[30]. Một ưu điểm nữa của động vật linh trưởng là có rất nhiều thăm dò miễn dịch học phát hiện hiện tượng tắc mạch đã nghiên cứu ở người là phù hợp để sử dụng cho các nhóm động vật linh trưởng khác. Thăm dò này bao gồm PF-4, b-TG, FPA, TAT và F₁₊₂. Chó cũng là loài được sử dụng phổ biến và cung cấp những thông tin hữu ích; tuy nhiên, hiện tượng huyết khối liên quan đến trang thiết bị ở chó có khuynh hướng xảy ra dễ hơn so với người, đó là một sự khác biệt có thể được xem như là một ưu thế khi đánh giá biến chứng này. Lợn thường được xem như một động vật thử phù hợp vì những tương đồng về huyết học và tim mạch của nó với người. Ảnh hưởng của qui trình cấy ghép phẫu thuật lên các kết quả phải được giữ lại theo quy ước và xem xét kỹ lưỡng.

Do sự khác nhau của các loài về cầm máu, nhân tố và hoạt tính huyết học nên người ta thường sử dụng máu người trong các thử nghiệm *in vitro* bất kỳ khi nào có thể.

Sự hình thành cục máu đông là một quá trình động. Chính vì vậy, thử nghiệm *in vitro* là thích hợp để mô phỏng càng nhiều càng tốt các điều kiện động (ví dụ, lực dịch chuyển giữa máu và bề mặt vật liệu) trong đó xảy ra hiện tượng huyết khối. Phép thử tĩnh có thể có ích trong một số trường hợp đánh giá tác động của máu với vật liệu.

Vì các bệnh nhân mang các dụng cụ tim mạch có thể dùng thuốc chống đông hoặc chống tắc mạch, nên việc mô phỏng các điều kiện *in vitro* này là rất quan trọng.

A.1.4 Biên bản thử nghiệm trên động vật

Chứng huyết khối, sự hình thành cục máu đông, chảy máu và nhiễm trùng là những cản trở chính khi sử dụng và phát triển hơn nữa các bộ phận tim mạch nhân tạo tiên tiến. Đối với các trang thiết

bị có thời gian tiếp xúc máu hạn chế (< 24 h) thì các phép đo quan trọng liên quan đến phạm vi biến thiên cấp các biến số thực hiện, huyết động và huyết học, sự hình thành cục máu đông thô và tắc mạch có thể xảy ra. Đối với những dụng cụ tiếp xúc kéo dài hoặc lặp lại, hoặc tiếp xúc thường xuyên với máu (> 24 h), cần nhấn mạnh đến các kỹ thuật đo theo chuỗi có thể tạo ra thông tin về diễn biến thời gian của chứng huyết khối và quá trình tạo cục máu đông, sự tiêu thụ các thành phần máu đang tuần hoàn, sự phát triển hiện tượng tăng sinh nội mạc mạch và nhiễm trùng. Trong cả hai loại tiếp xúc ở trên thì việc đánh giá hiện tượng tan huyết và chức năng tiểu cầu là rất quan trọng. Sự tạo thành cục máu đông có thể bị tác động mạnh bởi kỹ thuật phẫu thuật, các hiện tượng tắc mạch và hoà tan cục máu đông, phụ thuộc thời gian có thể biến đổi, sự nhiễm trùng trang thiết bị bội nhiễm và những biến đổi có thể ở các bề mặt tiếp xúc, ví dụ sự tăng sinh nội mạc mạch và hiện tượng nội mô hoá.

Hậu quả của các tương tác giữa bề mặt nhân tạo với máu có thể trong phạm vi từ sự tắc mạch hoặc hình thành cục máu đông thô đến các ảnh hưởng không dễ phát hiện như hiện tượng tiêu thụ nhanh các yếu tố cầm máu; các yếu tố này có thể được bù lại (tổng số tiểu cầu bị tiêu thụ bởi trang thiết bị nhỏ đến mức nó không ảnh hưởng đến tổng số lượng tiểu cầu) hoặc dẫn đến hiện tượng suy kiệt tiểu cầu hoặc các yếu tố đông huyết tương (diện tích bề mặt trang thiết bị đủ lớn để tiêu thụ đủ tiểu cầu cho tổng số tiểu cầu bị tác động).

A.1.5 Biên bản thử nghiệm *in vitro*

Thử nghiệm *in vitro* cho phép tiến hành một số lượng vừa đủ các phép thử để có thể đánh giá thống kê mà không làm chết động vật và với giá thành tương đối thấp. Các phép đo liên quan đến phạm vi biến thiên cấp của các thay đổi huyết học, huyết động và thực hiện sự hình thành cục máu đông thô và hoạt hoá bổ thể. Phương pháp *in vitro* cho phép nghiên cứu động lực học của các yếu tố và các hoạt tính biến đổi bằng cách biến đổi khoảng thời gian tiếp xúc của vật liệu hoặc trang thiết bị với máu.

A.2 Ống thông

Ống thông được lồng vào một hoặc một số mạch máu chính để tạo con đường vận chuyển máu liên tục. Các ống này cũng được dùng trong tuần hoàn tim phổi ngoài cơ thể và các thủ thuật khác. Các ống này có thể được thử cấp hoặc trường diễn, và được nghiên cứu như các nhánh nối động tĩnh mạch (AV). Việc sử dụng các ống thông dường như gây ra một chút biến đổi mức độ các tế bào máu lưu thông hoặc các yếu tố đông máu hoặc hệ thống bổ thể. Ống thông giống như các thiết bị dẫn máu gián tiếp khác (5.2.1), nhìn chung đòi hỏi ít thử nghiệm hơn các trang thiết bị tiếp xúc trực tiếp với máu tuần hoàn (5.2.2, 5.3).

A.3 Ống thông và vòng dẫn

Hầu hết các phép thử được xem xét sau ống thông đều liên quan đến nghiên cứu ống thông và vòng dẫn. Vị trí hoặc chỗ đặt ống thông trong hệ thống động mạch hoặc tĩnh mạch có thể gây ra tác động quan trọng cho tương tác máu/trang thiết bị. Người ta khuyên rằng nên dùng động mạch hoặc tĩnh mạch đối diện làm đối chứng đồng thời. Chú ý không bỏ cục máu đông khi rút ống thông ra. Đánh giá tại chỗ có thể cho phép ước lượng phạm vi mà tổn thương vị trí đầu vào hoặc nội mạc mạch tham gia vào quá trình nghẽn mạch. Phép đo dòng chảy Doppler và chụp X quang mạch cũng có thể có ích. Các nghiên cứu động lực các thành phần máu được đánh dấu phóng xạ chỉ được giới thiệu khi ống thông đặt lâu dài trong cơ thể.

A.4 Máy tạo ôxy cho máu nhân tạo, thiết bị thẩm tách máu, thiết bị chữa bệnh và các trang thiết bị hấp thụ các chất đặc hiệu từ máu

Phản ứng cầm máu với tim phổi nhân tạo có thể có ý nghĩa quan trọng và tức thời. Nhiều sự thay đổi như hút máu, thành phần của dịch môi bơm máu, sự giảm nhiệt, sự tiếp xúc của máu với không khí và thời gian tiếp xúc đều ảnh hưởng đến các giá trị thử nghiệm. Các cục máu đông trong các đường chảy ra có thể được phát hiện bằng cách đặt dụng cụ lọc máu *ex vivo* theo định kỳ, hoặc sử dụng bức xạ siêu âm hoặc các kỹ thuật không xâm nhập khác. Sự tích lũy các cục máu đông có thể được đánh giá trực tiếp trong các đường phụ bằng cách điều khiển các nhân tố thực hiện như giảm áp suất qua tốc độ truyền và tạo ôxy. Sự suy giảm chức năng nhanh khác thường mắc phải của tiểu cầu liên quan đến sự giải phóng hạt alpha chọn lọc được quan sát thấy ở bệnh nhân sử dụng tim phổi nhân tạo^[31]; thời gian chảy máu và các xét nghiệm khác về chức năng tiểu cầu và sự giải phóng tiểu cầu là đặc biệt có ích.

Sự hoạt hoá bổ thể gây ra bởi thiết bị thẩm tách máu và tim phổi nhân tạo. Chấn thương phổi và sự ứ đọng bạch cầu phổi nghiêm trọng về mặt lâm sàng cùng với sự suy giảm hoạt động có thể xảy ra. Vì những lý do đó, nên việc xác định rõ sự hoạt hoá bổ thể bằng các trang thiết bị này là rất có ích.

Thiết bị trị bệnh và các trang thiết bị hấp thụ các chất đặc hiệu từ máu, do tỷ lệ bề mặt so với thể tích cao, nên có thể hoạt hoá tiềm tàng các con đường bổ thể, đông máu, tiểu cầu và bạch cầu. Việc kiểm tra mối tương tác máu/trang thiết bị nên theo cùng những nguyên lý giống nhau như máy tạo ôxy của máu nhân tạo và thiết bị thẩm tách máu.

A.5 Trang thiết bị hỗ trợ tâm thất và tim nhân tạo

Các trang thiết bị này có thể gây ra biến đổi đáng kể trong thành phần khác nhau của máu. Các yếu tố gây ra ảnh hưởng bao gồm diện tích bề mặt bên ngoài lớn mà máu tiếp xúc được, chế độ dòng chảy cao và những vùng dòng máu chảy bị ngắt quãng như sự xoáy lốc hoặc dòng chảy bị

tách riêng. Phép thử các trang thiết bị như vậy có thể bao gồm đo sự tan huyết, nồng độ tiểu cầu tiền sợi huyết, sự hình thành cục máu đông, sự sống sót và hoạt hoá tiểu cầu, sự hoạt hoá bổ thể và tình trạng gan, thận, phổi và chức năng hệ thần kinh trung ương. Kiểm tra bệnh lý chi tiết khi phục hồi sau phẫu thuật là một phần quan trọng của đánh giá này^{[40],[41]}.

A.6 Bộ phận van tim nhân tạo

Các nghiên cứu về thuỷ lực học *in vitro*, vào trong cơ thể hay không đều quan trọng trong việc đánh giá các bộ phận van tim nhân tạo.

Một trong số các sàng lọc hiệu quả nhất đối với sự suy giảm chức năng van nhân tạo là việc khám bệnh lâm sàng^[42]. Siêu âm tim kiểu 2D và M sử dụng bức xạ siêu âm để tạo hình ảnh tim. Tín hiệu phản xạ từ các mô với các trở kháng âm học khác nhau nhận được và được xử lý để tạo hình ảnh. Cấu trúc của các van tim nhân tạo có thể được kiểm tra. Bộ phận nhân tạo phát ra các tín hiệu âm mạnh và sự dịch chuyển của cục máu đông thường có thể được mô tả rõ ràng. Tuy nhiên chất lượng hình ảnh có thể phụ thuộc vào từng van tim đang được kiểm tra. Siêu âm tim cũng có thể có ích trong việc đánh giá chức năng van tim nhân tạo được làm từ mô. Hiện tượng sùi, cục và bằng chứng làm dày các lá van sẽ được làm sáng tỏ. Sử dụng siêu âm tim dòng máu chảy thông thường và Doppler dòng chảy màu có thể nhận biết và định lượng sơ bộ sự đảo ngược máu do hở van tim^[42].

Phép đo sự sống sót và sự ngưng tập của tiểu cầu, phép thử tắc mạch máu và tan huyết, đo huyết áp và dòng máu chảy và sinh thiết van tim và mô kế cận cũng được khuyến nghị^{[41],[43]}.

A.7 Các mô ghép mạch máu

Cả vật liệu xốp và không xốp đều có thể được cấy ghép ở các vị trí khác nhau trong hệ thống động mạch hoặc tĩnh mạch. Sự chọn vị trí cấy ghép chủ yếu được xác định bởi mục đích sử dụng của các bộ phận nhân tạo. Độ lưu thông của một đoạn ghép nhất định được tăng lên bởi đường kính lớn hơn và chiều dài ngắn hơn. Nhìn chung, đối với đoạn ghép có đường kính trong nhỏ hơn 4 mm thì chiều dài nên vượt quá đường kính 10 lần đối với mẫu hợp lệ (tức là chiều dài 40 mm cho đoạn ghép đường kính 4 mm). Độ lưu thông có thể kiểm chứng bằng cách bắt mạch ngoại biên tại một số vị trí và bằng cách chụp X quang mạch định kỳ. Sóng siêu âm, MRI và PET cũng có thể có ích. Các kết quả nghiên cứu ghi lại hình ảnh tiểu cầu được đánh dấu phóng xạ tương quan với diện tích bề mặt đoạn ghép không được nội mạc hoá ở khi đầu chó^[30]. Các tiểu cầu đánh dấu phóng xạ có thể tạo điều kiện thuận lợi để ghi hình ảnh hiện tượng tích tụ các cục đông mà không cần xâm nhập vào trong. Phép đo theo chuỗi số lượng tiểu cầu, thành phần do tiểu cầu phóng ra, sản phẩm phân huỷ của sợi huyết/tiền sợi huyết và các loài có hiện tượng ngưng tụ được hoạt hoá cũng được đề nghị. Giải phẫu các phần mạch kế cận và mô ghép để nghiên cứu

TCVN 7391-4 : 2005

trắc lượng hình thái phản ứng tăng sinh và sự nguyên vẹn nội mạc có thể cung cấp các thông tin có giá trị. Đánh giá hệ thống các mặt cắt dọc và ngang của các vùng giữ đoạn ghép đại diện và được nối mạch máu ở đầu cận và ngoại biên là cần thiết để đánh giá kỹ lưỡng một trang thiết bị^[43].

A.8 Lọc IVC, thanh dẫn và ghép thanh dẫn

Những trang thiết bị này cũng được nghiên cứu bằng chụp X quang mạch và bức xạ siêu âm. Các kỹ thuật khác có ích cho đánh giá đoạn ghép mạch (xem A.7) cũng thích hợp ở đây^[43].

Phụ lục B

(tham khảo)

Các phép thử phòng thí nghiệm – Nguyên lý, cơ sở khoa học và giải thích

B.1 Quy định chung

B.1.1 Cơ sở

Nguyên lý và cơ sở khoa học của các phép thử liệt kê trong 6.2.1 được mô tả ở đây. Các phương pháp chi tiết được tìm thấy trong các tài liệu tiêu chuẩn của phòng xét nghiệm y học và bệnh học lâm sàng. Các tài liệu tham khảo từ [17] đến [44] và từ [46] đến [49] và [59] mô tả các thí nghiệm có thể có ích trong việc đánh giá tương tác máu/trang thiết bị. Do tính biến đổi sinh học và các hạn chế kỹ thuật, nên độ chính xác của nhiều phép thử này còn hạn chế.

B.1.2 Nguyên lý cho thử nghiệm *in vitro*

Các hệ thống động và tĩnh, ví dụ vòng tuần hoàn và hệ thống ly tâm được sử dụng^{[50],[54]}.

B.1.3 Điều kiện thử

Để sử dụng các phép thử đánh giá tương tác máu/trang thiết bị *in vitro*, máu chống đông hoặc huyết tương lấy từ các đối tượng người bình thường hoặc các động vật thử trước tiên nên để tiếp cận với vật liệu hoặc trang thiết bị trong các điều kiện chuẩn bao gồm thời gian, nhiệt độ và tốc độ dòng chảy. Một lượng máu hoặc huyết tương đã tiếp cận được thử ngay sau khi tiếp cận. Điều kiện tiếp cận phải dựa trên mục đích sử dụng của trang thiết bị đó.

Trong quá trình chuẩn bị cần thiết cho phép thử, phải tránh hoạt hoá hoặc giải phóng bất kỳ thành phần nào của máu trước khi thử nghiệm. Tuy nhiên, các điều kiện thích hợp phụ thuộc vào thiết bị hoặc vật liệu thử và mục đích sử dụng cuối cùng của nó.

B.1.4 Phân loại

Khi đánh giá thiết bị truyền ngoài và thiết bị cấy ghép tại vị trí đang được sử dụng, máu lấy ra được chống đông và xét nghiệm được thực hiện như mô tả nhưng không có giai đoạn tiếp cận trước. Các phép thử được phân thành 5 loại, như được định nghĩa ở 6.2.1 theo quá trình hoặc hệ thống đang được kiểm tra: chứng huyết khối, sự đông máu tiểu cầu và các chức năng của tiểu cầu, huyết học và hệ thống bổ thể.

B.2 Chứng huyết khối

B.2.1 Độ tắc mạch tính theo phần trăm

Độ tắc mạch tính theo phần trăm được xác định bằng mắt thường sau khi loại bỏ một thiết bị vừa được sử dụng. Đây là một phép đo mức độ nghiêm trọng của quá trình tắc mạch trong một ống dẫn. Thiếu sự tắc mạch không hẳn đã loại bỏ được sự tồn tại của quá trình tắc mạch, vì cục máu đông có thể đã được hình thành hoặc chuyển khỏi vị trí trước khi đo độ tắc mạch tính theo phần trăm. Hiện tượng tắc mạch có thể xảy ra không chỉ do chứng huyết khối, mà còn do sự tăng sinh nội mạc mạch, đặc biệt là ở các vị trí bao nối trong các mô ghép mạch; cần kiểm tra vi thể để nhận biết bản chất của quá trình tắc mạch. Xác định vùng bề mặt bị bao phủ bởi cục máu đông và vùng bề mặt không có cục máu đông là các phép thử bán định lượng có thể được sử dụng trên cơ sở so sánh.

B.2.2 Giảm dòng máu chảy

Dòng máu chảy (tốc độ hoặc thể tích) được đo sau một giai đoạn sử dụng. Các phép đo có thể thực hiện trong hoặc trước và sau khi sử dụng. Cơ sở và giải thích tương tự như B.2.1.

B.2.3 Phân tích trọng lượng (khối lượng cục máu đông)

Phương pháp này được tiến hành sau khi loại bỏ trang thiết bị khỏi vị trí đang được sử dụng. Cơ sở và giải thích tương tự như B.2.1.

B.2.4 Kính hiển vi quang học

Bằng kỹ thuật này, có thể thu được thông tin về mật độ tế bào, các tế bào ngưng tập và sợi huyết dính vào các vật liệu cũng như sự phân bố địa lý của các chất lắng đọng này trên vật liệu hoặc trang thiết bị. Phương pháp này là phương pháp định lượng sơ bộ.

B.2.5 Giảm áp qua trang thiết bị

Phương pháp đo này được áp dụng trước và sau một thời gian sử dụng. Cơ sở và giải thích tương tự như B.2.1.

B.2.6 Kính hiển vi điện tử quét (SEM)

Cơ sở và giải thích tương tự như B.2.4. Phương pháp này có ưu điểm so với phương pháp ở B.2.4 vì nó cung cấp chi tiết cấu trúc tinh vi của các thành phần đang được kiểm tra. Kết luận về số lượng đòi hỏi các xác định mô phỏng vừa đủ để thiết lập được độ tái lập.

B.2.7 Gắn kháng thể

Tiếp theo sự đánh giá định tính vi thể của sự lắng đọng sợi huyết và tiểu cầu trên vật liệu, có thể ước lượng bằng cách đo lường kháng thể đánh dấu đặc hiệu cho các thụ thể sợi huyết hoặc màng tiểu cầu. Do mục đích này các vật liệu được rửa sau khi tiếp xúc với máu để xoá đi các thành phần máu không kết dính trước khi gắn kháng thể được đánh dấu.

B.2.8 Thu hồi và kiểm tra trang thiết bị

Phương pháp này rất quan trọng khi đánh giá các phản ứng sinh học với các trang thiết bị cấy ghép. Sự phân bố, kích cỡ và bản chất vi thể của cặn tế bào và protein có thể được xác định tốt nhất bằng kiểm tra cẩn thận và chi tiết. Các quy trình cần thiết đã được xuất bản^{[40],[41]}.

B.2.9 Khám nghiệm các cơ quan ngoại vi

Cơ sở của phương pháp này là để kiểm tra các ảnh hưởng ngoại vi của các trang thiết bị cấy ghép. Những ảnh hưởng này bao gồm sự hình thành các cục máu đông và sự tắc mạch do các bộ phận của trang thiết bị.

B.2.10 Kỹ thuật tạo hình ảnh – Chụp X quang mạch, siêu âm nội mạch, siêu âm Doppler, CT và MRI

Có thể lựa chọn trong số các phương pháp này để xác định trạng thái thông suốt hoặc mức độ hẹp lại của một đoạn ghép hoặc một ống dẫn khác và để phát hiện sự lắng đọng cục máu đông trên các trang thiết bị khi sử dụng *in vitro*.

B.3 Sự đông máu

Các phương pháp đông máu dựa trên việc sử dụng máu (tươi, không chống đông), máu chống đông (thường dùng xitrat), huyết tương giàu tiểu cầu hoặc nghèo tiểu cầu. Vì hầu hết các xét nghiệm đông máu chuẩn đều được thiết kế để phát hiện sự rối loạn đông máu lâm sàng gây ra chảy máu chậm đông hoặc chảy máu kéo dài hoặc đông máu quá mức, nên các phương pháp đánh giá tương tác máu/trang thiết bị phải được biến đổi phù hợp để tránh quá trình đông máu nhanh gây ra bởi các vật liệu sinh học. Các chất phản ứng qua phép thử dựa trên thời gian thromboplastin từng phần được hoạt hoá bao gồm một chất hoạt hoá như cao lanh, celit hoặc axit ellagic. Các chất phản ứng với các chất hoạt hoá như vậy cần tránh vì chúng có khuynh hướng

TCVN 7391-4 : 2005

che đầy quá trình đông máu do các vật liệu và trang thiết bị gây ra. Vật liệu được thử đóng vai trò như chất hoạt hoá; cần phải có đối chứng (không có vật liệu).

Máu tiếp xúc với vật liệu thử hoặc trong khoang tĩnh, ví dụ như một tế bào đĩa song song, hoặc trong một hệ thống mạch đóng có bề mặt bên trong của ống là vật liệu thử. Sau thời gian tiếp xúc xác định trước với bề mặt thử, có thể tiến hành các phép thử bề mặt và máu ^[54].

B.3.1 Thời gian thromboplastin từng phần (PTT)

Thời gian thromboplastin từng phần^[38] là thời gian đông của huyết tương khi thêm canxi vào huyết tương đã xitrat hoá khi thêm thromboplastin từng phần. Thromboplastin từng phần là một dịch huyền phù photpholipit thường được chiết từ thromboplastin mô, đó là một dịch đồng nhất từ não hoặc phổi động vật có vú. Làm ngắn PTT sau khi tiếp xúc với vật liệu trong điều kiện chuẩn chỉ ra sự hoạt hoá giai đoạn tiếp xúc của quá trình đông máu. PTT kéo dài cho thấy sự suy giảm bất kỳ một yếu tố đông máu I (tiền sợi huyết), II (prothrombin), V, VIII, IX, X, XI, hoặc XII nhưng không giảm các nhân tố VII hoặc VIII. Heparin và các chất chống đông khác cũng được làm kéo dài PTT.

Sử dụng các chất phản ứng thromboplastin từng phần thay bằng các chất đang hoạt hoá như cao lanh hoặc celit có sẵn ở dạng sản phẩm thương mại. Khi dùng các tác nhân này phép thử được gọi là thời gian thromboplastin từng phần được hoạt hoá (APTT). APTT không có giá trị khi đánh giá *in vitro* sự tương tác giữa máu/trang thiết bị vì các chất đang hoạt hoá che khuất bất kỳ sự hoạt hoá nào bởi trang thiết bị hoặc các bộ phận của trang thiết bị đó.

B.3.2 Thời gian prothrombin (PT)

Phép thử này đo prothrombin và các yếu tố thứ yếu. Khi có mặt thromboplastin của mô thì thời gian đông máu phụ thuộc vào nồng độ prothrombin, yếu tố V, yếu tố VII và yếu tố X (giả sử hoạt động của tiền sợi huyết, hiện tượng tan sợi huyết và chất chống đông bình thường). Thời gian prothrombin kéo dài nhìn chung chỉ ra sự suy giảm prothrombin hoặc yếu tố V, VII, X hoặc tiền sợi huyết. Bộ thử là thương phẩm có sẵn.

B.3.3 Thời gian thrombin (TT)

Thời gian thrombin^[38] là thời gian cần để huyết tương đông khi thêm dung dịch thrombin vào. Thời gian prothrombin được kéo dài cùng với sự giảm tiền sợi huyết (dưới 100 mg/dl), sự khác thường về chất lượng của tiền sợi huyết và mức FDP hoặc heparin tăng cao. Phép thử này chỉ có ích khi đánh giá các trang thiết bị cấy ghép.

B.3.4 Tạo thrombin

Các vật liệu tiếp xúc với hệ thống đông còn nguyên khi có mặt photpholipit (xem B.3.1) sẽ hình thành thrombin có thể đo bằng sự chuyển đổi một chất của nhiễm sắc. Phương pháp này biến đổi ít hơn phương pháp thử đông máu thông thường.

B.3.5 Tiền sợi huyết

Rối loạn tiền sợi huyết, không tiền sợi huyết và giảm tiền sợi huyết là nguyên nhân gây nên PT, PTT và TT kéo dài^[21].

B.3.6 Các sản phẩm thoái giáng của sợi huyết và tiền sợi huyết (FDP)

Sự tan sợi huyết sinh lý thông thường tạo ra FDPs X, Y, C, D và E ở nồng độ thấp hơn 2 mg/ml trong huyết tương. Mức độ FDP thấp thông thường được duy trì bởi tốc độ thấp của phản ứng phân huỷ và tốc độ cao của quá trình thải FDP khỏi hệ tuần hoàn. Sự phân huỷ sợi huyết và tiền sợi huyết bệnh lý, do hoạt hoá plasminogen tăng tạo ra FDP ở nồng độ từ 2 mg/ml đến 40 mg/ml hoặc lớn hơn. Phép thử này chỉ có ích khi đánh giá các trang thiết bị cấy ghép. Người ta khuyến nghị nên dùng các phương pháp có sẵn trên thị trường^{[51], [52]}.

B.3.7 Khảo nghiệm yếu tố đông máu đặc hiệu

Sự giảm có ý nghĩa (ví dụ thấp hơn 50 % so với mức bình thường hoặc mức đối chứng) của các yếu tố đông máu sau khi máu tiếp xúc với vật liệu hoặc trang thiết bị trong điều kiện chuẩn chỉ ra sự tiêu thụ nhanh các yếu tố đó do sự hấp phụ, đông máu hoặc các cơ chế khác.

B.3.8 FPA, D-dimer, F₁₊₂, TAT

Mức độ FPA, D-dimer hoặc F₁₊₂ cao chỉ ra sự hoạt hoá cơ chế đông máu. FPA và F₁₊₂ chỉ ra sự hoạt hoá của prothrombin thành thrombin. Phức hợp TAT cao chỉ ra sự hoạt hoá quá trình đông máu và sự tạo thành một phức hợp giữa thrombin đang được tạo ra và kháng thrombin đang tuần hoàn. D-dimer là các sản phẩm phân huỷ bị cắt plasmin của sợi huyết liên kết chéo F XIII (đông máu và tan sợi huyết). Người ta khuyến nghị nên dùng các phương pháp ELISA và RIA.

B.4 Tiểu cầu và chức năng tiểu cầu

Nhất thiết phải tránh các tác động trong quá trình chuẩn bị huyền phù tiểu cầu.

B.4.1 Tổng số tiểu cầu

Xác định số lượng tiểu cầu rất quan trọng^{[21],[49],[59]} vì vai trò thiết yếu của tiểu cầu trong quá trình cầm máu. Sự giảm mạnh tổng số tiểu cầu của máu khi tiếp xúc với trang thiết bị xảy ra do sự kết dính tiểu cầu, ngưng tập tiểu cầu, sự ẩn diện tiểu cầu (ví dụ như ở lách) hoặc sự đông máu trên

TCVN 7391-4 : 2005

vật liệu hoặc thiết bị. Hiện tượng giảm số tiểu cầu khi sử dụng một thiết bị được cấy ghép cũng có thể do sự tiêu huỷ nhanh hoặc loại bỏ tiểu cầu khỏi hệ tuần hoàn. Đếm tiểu cầu được thực hiện bằng cách sử dụng chất chống đông là EDTA.

Các kỹ thuật lấy máu phải tái lập được. Tiểu cầu có thể trở nên hoạt động mạnh trong một loạt điều kiện, bao gồm cả quá trình thu máu không đúng cách. Các phép thử để xác minh độ phản ứng của tiểu cầu bình thường được tiến hành bằng máy đo ngưng tập tiểu cầu. Các mẫu tiểu cầu giảm độ phản ứng thường dễ dàng phát hiện bằng phương pháp này, nhưng các tiểu cầu tăng hoạt động thường không phát hiện được. Các phép thử ngưng tập tiểu cầu có thể được biến đổi (bằng cách giảm thích hợp nồng độ tiểu cầu hoặc các yếu tố ngưng tập) để xác định liệu tiểu cầu có trở nên tăng hoạt động sau khi tiếp xúc với một vật liệu hoặc trang thiết bị hay không.

B.4.2 Ngưng tập tiểu cầu

Ngưng tập tiểu cầu^[38] bị kích tập bằng cách thêm các yếu tố gây ngưng tập vào PRP đang được khuấy liên tục (ví dụ như ADP, epinephrin, collagen, thrombin,...). Vì tiểu cầu ngưng tập lại nên huyết tương nhanh chóng trở nên trong hơn. Một hệ thống quang học máy đo ngưng tập tiểu cầu được dùng để phát hiện thay đổi độ truyền ánh sáng và một máy ghi hình ảnh hiển thị những biến đổi độ truyền ánh sáng từ điểm nền. Ngưng tập tiểu cầu bị chậm hoặc bị giảm có thể do hoạt hoá tiểu cầu và tạo hạt, tăng FDP hoặc dùng các loại thuốc nhất định (ví dụ aspirin, các loại thuốc chống viêm nhiễm không phải steriot). Điều quan trọng phải ghi nhớ là ngưng tập tiểu cầu bởi một số tác nhân biến đổi hoặc có thể không có trong một số loài động vật. Ngưng tập tiểu cầu tự phát xảy ra khi không thêm chất kích thích là một điều kiện bất thường, chỉ ra sự hoạt hoá tiểu cầu. Ngưng tập tiểu cầu có thể được sàng lọc tự động bằng phương pháp WU/HOAK^[52].

B.4.3 Sự kết dính tế bào máu

Sự kết dính tế bào máu^[34] là một phép đo tính tương hợp của máu với một vật liệu khi được xem xét với sự tắc mạch ngoại biên hoặc bằng chứng của sự hoạt hoá một hoặc nhiều yếu tố huyết học.

Các phương pháp khác nhau đã được thiết kế để đo sự kết dính của tế bào với bề mặt, ví dụ như phương pháp K-score Kuniki^[53]. Hầu hết các phương pháp này dựa trên sự quan sát một tỷ lệ tiểu cầu nhất định bị loại khỏi máu nguyên bản bình thường do truyền qua một cột chứa các hạt thuỷ tinh trong điều kiện dòng chảy hoặc áp suất được kiểm soát. Nguyên lý này được áp dụng để xác định lượng kết dính các tế bào máu khác lên polyme được phủ trên các hạt thuỷ tinh. Bằng phương pháp này người ta đã thông báo rằng^[34] sự kết dính các tế bào lympho ngoại vi của loài chó và bạch cầu đa nhân (PMNs) vào các hạt được bao phủ bằng poly(hydroxyetyl metacrylat) (PHEMA) thấp hơn các hạt được phủ bởi polysteren và các polyme nhất định khác. Tế bào lympho và PMNs được tách ra để sử dụng trong nghiên cứu này.

Một phương pháp thay thế là đếm trực tiếp tiểu cầu kết dính vào một bề mặt thử. Sau khi tiếp xúc với máu hoặc huyết tương giàu tiểu cầu trong điều kiện chuẩn, bề mặt thử được rửa để loại bỏ các tế bào không kết dính, sau đó cố định và quan sát dưới kính hiển vi quang học hoặc kính hiển vi điện tử quét. Số lượng các tiểu cầu kết dính trên một đơn vị diện tích đếm trực tiếp và hình thái học của các tiểu cầu này (ví dụ như lượng phân bố, mức độ tạo thành cụm) được ghi lại. Có thể dùng một phương pháp thay thế khác, đó là sử dụng tiểu cầu đã được đánh dấu các chất phóng xạ ^{51}Cr hoặc ^{111}In ^{[33],[55],[56]}.

B.4.4 Hoạt hoá tiểu cầu

Sử dụng vật liệu hoặc một vài thiết bị có thể gây ra sự hoạt hoá tiểu cầu, có thể dẫn đến:

- giải phóng các chất hạt tiểu cầu, ví dụ BTG (Beta thromboglobulin), yếu tố tiểu cầu 4 (PF4) và serotonin,
- hình thái học tiểu cầu biến đổi,
- sự hình thành vi hạt tiểu cầu.

Các tiểu cầu bị hoạt hoá là tiền thrombo. Hoạt hoá tiểu cầu có thể đánh giá bằng biện pháp khác nhau: kiểm tra vi thể (hiển vi điện tử hoặc quang học) hình thái học tiểu cầu của các tiểu cầu gắn với vật liệu hoặc trang thiết bị, đo BTG, PF4 và serotonin, và đánh giá hoạt hoá tiểu cầu bằng đo tế bào dòng (đối với sự hình thành vi hạt) biểu hiện P-selectin (GMP-140) hoặc biểu hiện glycoprotein Ib và IIb/IIIa hoạt hoá bằng các kháng thể đơn dòng. Các epitop khác nhau của tiểu cầu hoạt hoá được nhận dạng bằng đo tế bào dòng dùng hai kháng thể: một đặc hiệu cho tiểu cầu (ví dụ GP Ib hoặc GP IIb/IIIa) và một đặc hiệu cho hoạt hoá tiểu cầu (P-selectin)^{[56],[60]}.

B.4.5 Thời gian chảy máu

Dùng kim chích máu có bán sẵn, vô trùng, sử dụng một lần để tạo vết rạch ở da có chiều dài và độ sâu chuẩn trong các điều kiện chuẩn đã nâng cao đáng kể khả năng tái lập và giá trị của phép thử này. Một kết quả kéo dài chỉ ra chức năng tiểu cầu giảm hoặc tổng số tiểu cầu giảm; tổng số tiểu cầu bị giảm có thể xác định riêng (B.4.1). Thời gian chảy máu kéo dài kết hợp với tổng số tiểu cầu bình thường được quan sát phối hợp với một số thiết bị truyền ngoài có thời gian tiếp cận hạn chế (ví dụ tim phổi nhân tạo)^[31]. Phép thử này phù hợp khi tiến hành trên một số động vật thực nghiệm. Các phép đo thời gian chảy máu *in vitro* cũng là phù hợp.

B.4.6 Phân tích chức năng tiểu cầu

Thời gian chảy máu cổ điển đã được dùng làm nguyên lý cho một phương pháp tự động. Toàn bộ máu được hút ra qua một bộ lọc collagen với một lỗ 150 μm . Tiểu cầu gắn và ngưng tập đến khi

TCVN 7391-4 : 2005

lỗ đó bị đóng. Áp lực và nhiệt độ máu được tiêu chuẩn hoá và chống đông không ảnh hưởng đến phép thử này. Phép thử này phù hợp với máu động vật.

B.4.7 Ghi hình ảnh các tiểu cầu được đánh dấu phóng xạ bằng tia gamma

Sự giải phóng tia gamma cao của đồng vị phóng xạ ^{111}In có thể được sử dụng cho mục đích ghi hình ảnh của tiểu cầu được đánh dấu phóng xạ^{[23],[30]}. Phương pháp này có thể giúp định vị và xác định số lượng tiểu cầu lắng trên một trang thiết bị. Kỹ thuật này là có ích cho cả các trang thiết bị truyền ngoài cũng như trang thiết bị cấy ghép.

B.4.8 Tuổi thọ của tiểu cầu (sống sót)

Tiểu cầu thu được từ máu của bệnh nhân và được đánh dấu với các đồng vị phóng xạ ^{51}Cr hoặc ^{111}In ^{[23], [24], [32], [57]}. Cả hai nguyên tố này đánh dấu tiểu cầu ở tất cả các độ tuổi có trong mẫu máu, không bị trôi hết khỏi tiểu cầu và không bị các tế bào khác chiếm lấy hoặc tái sử dụng trong suốt quá trình tạo tiểu cầu. Indi 111 có ưu điểm là giải phóng tia gamma mạnh, cần đánh dấu ít tiểu cầu hơn và có thể đếm bề mặt để đánh giá sự lắng đọng của tiểu cầu cục bộ kết hợp với nghiên cứu tuổi thọ của tiểu cầu. Tuổi thọ của tiểu cầu giảm chỉ ra sự loại nhanh tiểu cầu khỏi hệ tuần hoàn bởi các quá trình miễn dịch, tắc mạch hoặc các quá trình khác.

B.5 Huyết học

B.5.1 Bạch cầu

Hoạt hoá bạch cầu có thể được xác định bằng vi thể bề mặt trang thiết bị hoặc bạch cầu bị hoạt hoá và sử dụng đo tế bào dòng chảy để đánh giá các bạch cầu được đánh dấu tăng, như L-selectin và CD 11b và sự rối loạn về lượng trong nhóm tế bào lympho.

B.5.2 Sự tan huyết

Tan huyết được xem là một phép thử sàng lọc đặc biệt quan trọng vì mức độ haemoglobin huyết tương tăng. Nếu phép thử này được thực hiện đúng, thì mức độ haemoglobin huyết tương tăng đó là dấu hiệu của hiện tượng tan huyết và phản ánh tính mềm yếu của màng tế bào hồng cầu khi tiếp xúc với vật liệu và trang thiết bị (xem Phụ lục C).

B.5.3 Đếm hồng cầu lưới

Tổng số hồng cầu lưới tăng cao là dấu hiệu của sự sản sinh nhanh hồng cầu ở tuỷ xương. Đây có thể là phản ứng với hiện tượng hồng cầu bị giảm do mất máu trường diễn (chảy máu), tiêu huyết hoặc các cơ chế khác^[61].

B.6 Hệ thống bổ thể – CH 50 và C3a, C5a, TCC, Bb, iC3b, C4d, SC5b-9

Sự giảm CH 50 là chỉ thị của tiêu thụ toàn bộ bổ thể. Mức độ cao của bất kỳ thành phần bổ thể nào chỉ ra sự hoạt hoá của hệ thống bổ thể. Một số vật liệu hoạt hoá bổ thể và các thành phần của bổ thể bị hoạt hoá đến lượt nó lại hoạt hoá bạch cầu, gây ngưng tập bạch cầu và bị cô lập trong phổi.

Phép đo các sản phẩm tách bổ thể có nhược điểm về đặc hiệu loài và mức độ nền cao khi được tiến hành sau khi thử nghiệm *in vitro*. Phương pháp CH-50 cổ điển có ích với huyết thanh người, bò, lợn và thỏ.

Phương pháp chức năng khác đo hoạt hoá bổ thể *in vitro* là sự hình thành enzym convertaza bổ thể C3 hoặc C5 xác định bởi quá trình biến đổi chất.

ASTM F 1984-99 và ASTM F 2065-00 ^{[13],[14]} trình bày sự hoạt hoá bổ thể.

Phụ lục C

(tham khảo)

Đánh giá các đặc điểm tan huyết của trang thiết bị y tế và các bộ phận của trang thiết bị y tế

C.1 Nghiên cứu chung

Nhiều tài liệu mô tả tương tác máu/vật liệu. Tuy nhiên có rất ít phương pháp để tin cậy, lặp lại và dự đoán được trên thực tế lâm sàng. Phụ lục này sẽ xem xét các phương pháp tan huyết đã biết và bàn luận các yếu tố đặc trưng khả năng tan huyết của các vật liệu và trang thiết bị nha khoa và y tế.

C.2 Thuật ngữ và định nghĩa

Phụ lục này áp dụng các định nghĩa sau

C.2.1

Chất chống đông (anticoagulant)

Yếu tố ngăn cản hoặc làm chậm sự đông máu.

Xem [62].

VÍ DỤ: Heparin hoặc xitrat.

C.2.2

Áp lực thẩm thấu, (oncotic pressure)

Áp lực keo (colloidal osmotic pressure)

Tác động tổng của protein hoặc các chất đại phân tử khác đến tính thẩm thấu của huyết tương.

Xem [62].

C.2.3

Haematocrit (haematocrit)

Tỷ lệ thể tích hồng cầu với thể tích chung của toàn bộ máu trong một mẫu nhất định.

C.2.4

Tan huyết (haemolysis)

Sự giải phóng haemoglobin từ hồng cầu, do sự phá huỷ hoặc là qua màng tế bào bị phá huỷ một phần hoặc màng tế bào nguyên.

C.2.5**Vật liệu chuẩn âm tính** (negative reference material)

Polyetylen mật độ cao hoặc chất thay thế được đánh giá tương tự.

CHÚ THÍCH: Xem ISO 10993-12.

C.2.6**Hồng cầu khối** (packed erythrocytes)

Thành phần nhận được bằng cách ly tâm từ một đơn vị máu người sau khi loại bỏ huyết tương nổi trên bề mặt.

CHÚ THÍCH: Đặc điểm của hồng cầu người khi truyền máu: phần thể tích hồng cầu có thành phần là 0,65 đến 0,80. Đơn vị chứa tất cả hồng cầu của đơn vị gốc, lớn hơn phần bạch cầu của nó (khoảng 2,5 đến 3,0 x 10⁹ tế bào) và một lượng tiểu cầu thay đổi phụ thuộc vào phương pháp ly tâm.

C.2.7**Hồng cầu rửa** (washed erythrocytes)

Dịch treo hồng cầu nhận được từ máu toàn phần sau khi loại bỏ huyết tương và rửa trong dung dịch đẳng trương.

CHÚ THÍCH: Đây là dịch treo hồng cầu trong đó hầu hết huyết tương, bạch cầu, tiểu cầu bị loại bỏ. Lượng huyết tương còn lại phụ thuộc vào phương pháp rửa. Thời gian dự trữ sau khi rửa càng ngắn càng tốt và không quá 24 h ở 1 °C đến 6 °C.

C.2.8**Máu toàn phần** (whole blood)

Máu không bị tách phần, được rút ra từ một người cho đã chọn, chứa xitrat hoặc heparin như là một chất chống đông.

C.3 Nguyên nhân tan huyết**C.3.1 Áp lực thẩm thấu**

Màng hồng cầu là một màng bán thấm. Sự khác nhau về áp lực sẽ xảy ra khi hai dung dịch có nồng độ khác nhau bị ngăn cách bởi màng hồng cầu. Áp lực thẩm thấu xảy ra khi các thành phần hữu hình không qua được màng tế bào. Sự khác nhau về áp lực này có thể làm tiểu cầu phồng lên và màng tế bào vỡ ra cùng với sự giải phóng haemoglobin tự do^[62].

TCVN 7391-4 : 2005

C.3.2 Lực động học

Các yếu tố ảnh hưởng đến tốc độ dòng máu, lực dịch chuyển và các lực khác có thể làm biến dạng màng hồng cầu có thể gây vỡ màng.

C.3.3 Yếu tố sinh hoá

Những thay đổi cấu trúc màng ở mức độ phân tử có thể thay đổi sức bền và độ đàn hồi của màng hồng cầu. Suy giảm các yếu tố dinh dưỡng hoặc năng lượng trao đổi chất (ATP) có thể gây mất dạng đĩa và sự hình thành bong nhỏ của haemoglobin. Các hoá chất khác, các chất độc của vi khuẩn, pH và thay đổi trao đổi chất gây ra bởi nhiệt độ có thể làm tổn thương màng hồng cầu^[63]. Những thay đổi này có thể gây vỡ màng ở áp lực thẩm thấu thấp hơn mong đợi. Một phép thử áp lực tại đó màng hồng cầu bị vỡ (tính mong manh thẩm thấu) có thể được thực hiện.

C.4 Ý nghĩa lâm sàng của hiện tượng tan huyết

C.4.1 Tác động độc

Mức độ tăng của haemoglobin tự do trong huyết tương có thể gây độc hoặc khởi đầu các quá trình có thể ảnh hưởng cho thận và các cơ quan khác^[62]. Nồng độ haemoglobin tự do trong huyết tương không chỉ là thước đo mức độ tổn thương hồng cầu, mà còn gián tiếp chỉ ra sự tổn hại đến các yếu tố khác trong máu.

C.4.1 Chứng huyết khối

Tan huyết nội mạch có thể thúc đẩy chứng huyết khối do giải phóng photpholipit^[66]. Khi tan huyết gây ra sự giảm hồng cầu có ý nghĩa lâm sàng thì có thể gây ra bệnh thiếu máu và giảm khả năng vận chuyển ôxy cùng với những hậu quả theo sau của nó đến não và các cơ quan hoặc mô khác.

C.5 Xác định việc đánh giá thành công/thất bại với hiện tượng tan huyết

Tan huyết là một hàm số của các đặc tính về thời gian và vật chất, chẳng hạn như năng lượng bề mặt, hình thái bề mặt và hoá học bề mặt. Tan huyết cũng là một hàm số của co dãn đứt gãy, tương tác thành tế bào, đặc tính của các tầng protein được hấp thụ, độ ổn định của dòng, nhu cầu khí và những biến đổi chất lượng máu của nguồn, tuổi và thành phần hoá học của máu^{[67],[68],[69]}. Những biến số này phải được điều khiển thích hợp cho các so sánh khả năng tan huyết trong số các vật liệu và trang thiết bị y tế. Phổ của các phương pháp đánh giá tan huyết biến đổi từ các mô hình đơn giản đến phức tạp. Các mô hình *in vitro* và *in vivo* với máu chảy đã được công bố. Nghiên cứu tiềm năng tan huyết là những so sánh tương đối áp vào các vật liệu hoặc trang thiết bị y tế được thử trong cùng một mô hình tại một phòng thí nghiệm cụ thể hơn là phép đo

tuyệt đối. Các phương pháp thử *in vitro* có thể định lượng được mức độ nhỏ haemoglobin huyết tương mà không thể đo được mức độ đó trong điều kiện *in vivo* (ví dụ do gắn kết haemoglobin huyết tương với haptoglobin và loại bỏ nhanh khỏi cơ thể). Cũng nên xem xét việc đo lactat dehydrogenaza và haptoglobin như các chỉ định của hiện tượng tan huyết trong phép thử *in vivo*.

Không thể xác định được mức độ phổ biến cho lượng tan huyết có thể chấp nhận được và không thể chấp nhận được với tất cả các trang thiết bị và ứng dụng y tế. Ảnh hưởng của một trang thiết bị đến sự tan huyết có thể bị che đậy tạm thời bởi tổn thương phẫu thuật. Một trang thiết bị có thể gây ra lượng tan huyết đáng kể, nhưng đây là cách chữa trị duy nhất có thể trong một tình huống đe dọa đến sự sống. Về trực giác, một vật liệu tương hợp với máu sẽ không gây tan huyết. Trong thực tế, nhiều trang thiết bị gây tan huyết nhưng vì lợi ích lâm sàng của chúng còn có nhiều giá trị hơn và nguy cơ tan huyết. Chính vì vậy, khi một thiết bị gây ra tan huyết, điều quan trọng là phải khẳng định được rằng thiết bị đó cung cấp lợi ích lâm sàng và tan huyết nằm trong giới hạn có thể chấp nhận được về mặt lâm sàng. Các tiêu chí chấp nhận phải được xác minh là đúng dựa trên một số dạng đánh giá nguy cơ và lợi ích. Các câu hỏi sau giúp gợi ý để phát triển một đánh giá như vậy:

- a) Khoảng thời gian tiếp xúc của trang thiết bị với bệnh nhân là bao lâu?
- b) Vật liệu hoặc thiết bị gây tan huyết như thế nào? Tan huyết có tiếp diễn trong suốt thời gian thiết bị tiếp xúc với bệnh nhân hay không? Tan huyết có tiếp diễn sau khi loại bỏ thiết bị hay không?
- c) Các nguy cơ và lợi ích tương đối của các phương pháp có sẵn để xử lý điều kiện này là gì?
- d) Các đặc điểm tan huyết của những điều trị đã biết này là gì? Thiết bị đang bị đặt câu hỏi so với các cách điều trị khác như thế nào?
- e) Hiệu quả của thiết bị thử này so với các cách điều trị khác thế nào? Một trang thiết bị hiệu quả hơn có thể gây tan huyết nhiều hơn khi sử dụng, nhưng hiệu quả bổ sung có thể tăng lợi ích đối với bệnh nhân.

C.6 Thử nghiệm tan huyết, các nghiên cứu chung

C.6.1 Phương pháp

C.6.1.1 Quy định chung

Các phép thử *in vitro* được sử dụng để đánh giá sự huỷ hoại hồng cầu. Các phương pháp trực tiếp xác định sự tan huyết do các tương tác hoá lý với hồng cầu. Các phương pháp gián tiếp xác định tan huyết do các chất có thể chiết được từ vật phẩm đưa thử. ASTM F 756-00 là tiêu chuẩn riêng để thử nghiệm các đặc điểm tan huyết của vật liệu (chủ yếu do các yếu tố hoá học) và không đủ

TCVN 7391-4 : 2005

để kiểm tra toàn bộ trang thiết bị y tế. ASTM F 756-00^[10] (và thử nghiệm tan huyết được liệt kê trong GB/T 16175-1996^[11]) đã nêu ra như một ví dụ và điểm khởi đầu để phát triển một quy trình để thử nghiệm tan huyết cho một trang thiết bị cụ thể. Ngoài ra để thử nghiệm vật liệu của trang thiết bị, phải xem xét cả việc thử nghiệm động lực của toàn bộ trang thiết bị y tế để đánh giá tác động của các yếu tố cấu trúc, mục đích sử dụng và các yếu tố huyết động.

Ở dạng đơn giản nhất, đối với dịch huyền phù pha loãng nhiều lần của hồng cầu tiếp xúc với vật liệu thử, thì tan huyết thường được thông báo như một tỷ lệ của haemoglobin được giải phóng vào chất nổi được chuẩn hoá bởi toàn bộ haemoglobin có sẵn tại thời điểm ban đầu của phép thử [ví dụ như (nồng độ haemoglobin tự do/nồng độ haemoglobin toàn phần) × 100 %]. Nếu tất cả hồng cầu có mặt tại thời điểm ban đầu của thực nghiệm bị phá huỷ, thì xảy ra hiện tượng tan huyết là 100 %. Khi thử nghiệm các trang thiết bị y tế, trong đó không thể dùng được dịch treo hồng cầu pha loãng nhiều thì thể tích huyết cầu đặc và các nhân tố khác phải được giải thích trong chuẩn hoá của một chỉ dẫn tan huyết^[63].

Ít nhất, mỗi phòng thí nghiệm có thể đo nồng độ haemoglobin toàn phần trong máu và nồng độ haemoglobin trong huyết tương hoặc nồng độ haemoglobin nổi. Nồng độ của haemoglobin trong huyết tương ít có ý nghĩa hơn nồng độ haemoglobin toàn phần trong máu. Nồng độ haemoglobin tự do trong huyết tương thường từ 0 mg/dl đến 10 mg/dl *in vivo*, trong khi đó khoảng thông thường của nồng độ haemoglobin toàn phần trong máu từ 11 000 mg/dl đến 18 000 mg/dl. Vì lý do này, các phương pháp khác nhau đã được sử dụng để đo khoảng nồng độ haemoglobin cao thường dùng trong thử nghiệm tan huyết.

Về mặt kinh điển, ba phương pháp phân tích đã được sử dụng để xác định nồng độ haemoglobin toàn phần (Hb) trong máu^[70].

CHÚ THÍCH: Các nhà nghiên cứu nên nhận thức rằng các phép thử tan huyết có thể có tác động có hại bởi các chất hoá học trong vật liệu hoặc dung dịch thay đổi độ bền của hồng cầu (ví dụ, bởi các chất cố định như formadehit hoặc glutaraldehyt), gây cho haemoglobin kết tủa (ví dụ các ion đồng hoặc kẽm), hoặc thay đổi khoảng hấp thụ của haemoglobin (ví dụ bởi polyetylen glycol hoặc etanol)^{[64] [65]}.

C.6.1.2 Đo nồng độ haemoglobin toàn phần trong máu

C.6.1.2.1 Phương pháp cyanmetaemoglobin

Phương pháp cổ điển đầu tiên, phát hiện cyanmethaemoglobin được Ban tiêu chuẩn quốc tế về huyết học đưa ra^[71]. Phân tích cyanmethaemoglobin (haemoglobincyanit; HiCN) có ưu điểm là thuận tiện, dễ tự động hoá và sự có sẵn của tiêu chuẩn tham khảo chủ yếu (HiCN). Phương pháp dựa vào sự ôxy hoá Hb và sau đó hình thành haemoglobincyanit có phổ hấp thụ rộng ở bước

sóng 540 nm. Các tác nhân dung giải như chất tẩy rửa được sử dụng và quá trình giải phóng Hb từ hồng cầu làm giảm độ đục (một nguồn nhiễu được xem là hấp thụ giả ở bước sóng 540 nm) từ kết tủa protein. Với nồng độ haemoglobin toàn phần sự nhiễu phổ do huyết tương là thấp nhất và sự hấp thụ mẫu có thể so sánh trực tiếp với dung dịch chuẩn HiCN.

Khoảng hấp thụ rộng của HiCN trong vùng này có thể sử dụng quang kế loại lọc đơn giản cũng như thiết bị quang phổ kế băng hẹp để phát hiện tự động hoặc thủ công. Sử dụng chuẩn tham khảo HiCN cung cấp khả năng để so sánh trong số tất cả các phòng thí nghiệm áp dụng phương pháp này. Bất lợi chính là nguy cơ đối với sức khoẻ tiềm tàng khi sử dụng dung dịch xyanua. Tác nhân xiano bản thân nó là độc bởi các con đường tiếp xúc khác nhau và thêm nữa là giải phóng HCN sau khi axit hoá. Việc thải bỏ các tác nhân và các sản phẩm cũng trở thành một lo ngại và chi phí đáng kể.

C.6.1.2.2 Phương pháp oxyhaemoglobin

Hiện nay phương pháp cổ điển thứ hai để xác định nồng độ haemoglobin toàn phần không còn được áp dụng rộng rãi. Phương pháp oxyhaemoglobin phụ thuộc vào sự hình thành HbO₂ khi xử lý amôn hydroxit, và phát hiện quang phổ sản phẩm này. Định lượng oxyhaemoglobin trong dung dịch natri cacbonat pha loãng cũng đã được sử dụng. Không có sẵn chế phẩm tham khảo bền vững, nhưng điều này không quan trọng vì tất cả các phương pháp cần để đo là tỷ lệ phần trăm của haemoglobin toàn phần trong mẫu gốc có mặt trong huyết tương. Trong bất kỳ một trường hợp nào, một chuẩn ngắn hạn có thể được chuẩn bị từ một mẫu máu tươi.

C.6.1.2.3 Phương pháp sắt

Phương pháp cổ điển thứ ba để xác định nồng độ haemoglobin toàn phần dựa trên việc xác định nồng độ sắt haemoglobin trong dung dịch. Sắt đầu tiên bị tách khỏi Hb thường bằng axit hoặc bằng hoá tro. Sau đó sắt được chuẩn độ bằng TiCl₃ hoặc tạo phức với một nguyên tố để tạo màu mà có thể đo bằng quang phổ. Phương pháp này quá phức tạp cho một công việc thường xuyên và hiếm khi được sử dụng.

C.6.1.3 Đo nồng độ haemoglobin trong huyết tương hoặc nổi trên bề mặt

C.6.1.3.1 Kỹ thuật hoá học quang trực tiếp và bổ sung

Do các nhân tố khác nhau (ví dụ như truyền thống, giảm thiểu sự sử dụng, thải chất hoá học, sự sẵn có của các dung dịch chuẩn), hiện có khoảng 20 khảo nghiệm khác nhau được sử dụng để đo haemoglobin huyết tương như một chất chỉ thị của hiện tượng tan huyết, nhưng không có một phương pháp nào được áp dụng rộng rãi. Các khảo nghiệm có thể được phân thành hai loại lớn:

TCVN 7391-4 : 2005

những khảo nghiệm là kỹ thuật quang trực tiếp (ví dụ như dựa trên việc định lượng đỉnh hấp thụ oxyhaemoglobin ở các bước sóng 415, 541 hoặc 577 nm, trực tiếp hoặc qua việc sử dụng đo ảnh phổ dẫn xuất) và những khảo nghiệm được bổ sung các kỹ thuật hoá học (ví dụ như định lượng haemoglobin dựa trên một phản ứng hoá học với các nguyên tố chẳng hạn như chất tạo sắc giống benzidin và hydro peroxit hoặc sự hình thành cyanmethaemoglobin)^[72]. Tất cả các khảo nghiệm này có thể tiến hành tự động hoặc thủ công.

Một phương pháp phổ biến để xác định nồng độ haemoglobin là dựa trên tác động xúc tác của nó với quá trình ôxy hoá một dẫn xuất của benzidin, chẳng hạn như tetrametylbenzidin, bằng hydro peroxit. Tốc độ hình thành một sản phẩm có màu (được phát hiện bằng quang phổ ở bước sóng 600 nm) tỷ lệ trực tiếp với nồng độ haemoglobin. Ưu thế của phương pháp này là dễ tự động hoá (thiết bị thương mại), loại bỏ độc tính tiềm tàng và các tác nhân xyano không an toàn cho môi trường, và sự sẵn có của bộ chuẩn Hb đã được định cỡ áp dụng cho các chuẩn tham khảo chủ yếu HiCN. Giới hạn phát hiện của khảo nghiệm này (5,0 mg/dl) có thể so sánh với phương pháp xyanua haemoglobin^[70]. Nhược điểm chính của khảo nghiệm này là vẫn tiềm tàng nguy cơ ảnh hưởng đến sức khoẻ khi sử dụng thuốc nhuộm benzidin và chi phí liên quan đến sự thải bỏ các tác nhân và sản phẩm. Hơn nữa, phổ động học của phương pháp này đã được báo cáo là thấp (5 mg/dl đến 50 mg/dl)^[73] và sự ức chế phản ứng có thể (đến 40 %)^[74] xảy ra do các chất chống đông liên kết với canxi (ví dụ như xitrat, oxalat, EDTA)^[73], albumin^[75] hoặc các thành phần huyết tương không đặc hiệu khác^[74] có thể làm nhiều quá trình ôxy hoá H₂O₂.

Vì những lý do này, các phương pháp quang học trực tiếp như các phương pháp của các tác giả Harboe^[76], Cripps^[77] hoặc Taulier^[78] với độ nhạy có thể so sánh và khả năng tái sinh có thể được thay thế. Tuy nhiên, như chú thích ở trên, những biến đổi hoá học với haemoglobin và phổ của nó có thể xảy ra dẫn đến mất hiệu lực của vài khảo nghiệm haemoglobin. Hơn nữa, cần bù cho hiện tượng nhiễu cơ sở huyết tương nội sinh vì sự bù này cũng có thể thay đổi phổ haemoglobin^[72]. Nhà nghiên cứu cần nhận thức được những hạn chế này trong các khảo nghiệm haemoglobin huyết tương và đảm bảo đang sử dụng một kỹ thuật thích hợp^{[64],[65],[72],[75]}. Điều này bao gồm việc đánh giá bề mặt thử cho sự có mặt của một chất kết tủa và so sánh quang phổ (ví dụ từ 400 nm đến 700 nm) với quang phổ của oxyhaemoglobin tách biệt.

C.6.1.3.2 Phương pháp đo tủa miễn dịch

Phương pháp này dựa trên sự xác định haemoglobin huyết tương bằng cách đo tủa sử dụng một kháng thể thương phẩm. Phương pháp được dùng cho công việc thường xuyên. Phương pháp này có sự tương quan hợp lý và có thể so sánh với các kỹ thuật quang học^[79].

C.6.2 Bảo quản máu và các thành phần của máu

Điều này trình bày các kỹ thuật được Hiệp hội Ngân hàng máu Hoa Kỳ^[80] và Cộng đồng Châu Âu^[80] chứng minh là tốt nhất để bảo quản các thành phần máu người. Nhìn chung, vật liệu và các trang thiết bị nên được thử nghiệm bằng máu mà điều kiện hoá học của chúng bắt chước điều kiện trang thiết bị sẽ trải qua trong lâm sàng (ví dụ như việc lựa chọn dùng chất chống đông, sử dụng tối thiểu các chất bảo quản máu và pH phù hợp^[63]).

Dung dịch chống đông đã được phát triển để dùng khi thu máu nhằm ngăn cản sự đông máu và cho phép dự trữ hồng cầu trong một khoảng thời gian nhất định. Những dung dịch này thường chứa natri xitrat, axit xitric và glucoza; ngoài ra, một số có chứa adenin, guanodin, manitol, sucroza, sorbitol và/hoặc photphat và những yếu tố khác^{[82], [83], [84], [85], [86], [87]}. Mặc dù heparin không được sử dụng trong bảo quản máu nhưng nó thường được sử dụng để chống đông trong lâm sàng cho các bệnh nhân tiếp xúc với các thiết bị y tế.

Sự đông máu bị ngăn cản bởi gắn kết xitrat của canxi. Hồng cầu trao đổi chất glucoza trong quá trình dự trữ. Hai phân tử (ATP) được tạo ra bởi quá trình photphorit hoá (ADP) cho mỗi phân tử glucoza được trao đổi chất qua chu trình đường phân Embden-Myerhoff. Các phân tử ATP trợ giúp cho sự đòi hỏi năng lượng của hồng cầu để duy trì độ mỏng của màng hồng cầu và các chức năng vận chuyển màng nhất định. Chuyển từ ATP thành ADP giải phóng ra năng lượng cần thiết để hỗ trợ chức năng này. Để kéo dài thời gian dự trữ, giảm kiềm hoá bằng cách thêm axit xitric vào dung dịch chống đông. Điều này cung cấp nồng độ ion hydro cao một cách phù hợp tại thời điểm ban đầu của quá trình dự trữ hồng cầu ở 4 °C. Tăng độ axit trong khi dự trữ giảm tốc độ đường phân. Các anodesin nucleotit (ATP, ADP, AMP) bị tiêu khi dự trữ và thêm adenosin vào dung dịch chống đông cho phép tổng hợp bổ sung AMP, ADP và ATP.

Một phần đáng kể của glucoza và adenin bị loại với huyết tương khi hồng cầu cô lại. Khả năng sống của hồng cầu chỉ có thể được duy trì sau khi đã loại bỏ huyết tương nếu các tế bào không bị cô đặc quá mức. Nồng độ xitrat photphat đextroza (CPD) adenin bình thường không được có khi tỷ lệ thể tích hồng cầu cao hơn 0,80. Thậm chí nếu hơn 90 % huyết tương bị loại bỏ, thì khả năng sống sót của hồng cầu có thể được duy trì bằng cách thêm một chất bổ sung hoặc môi trường huyền phù vào. Muối ăn, adenin và glucoza là cần thiết cho khả năng sống sót trong khi manitol hoặc sucroza có thể được dùng để làm bền vững hơn màng tế bào và ngăn ngừa tan huyết^[80].

Sự thích hợp của túi chứa các sản phẩm máu được đánh giá bằng các phương pháp khác nhau để đo chất lượng của sản phẩm máu^{[70], [83]}. Túi chứa sản phẩm máu chứa một chất chống đông thích hợp và được giữ thẳng đứng ở nhiệt độ từ 1 °C đến 6 °C trong điều kiện tĩnh. Tại các thời điểm định sẵn, lượng haemoglobin tự do trong huyết tương tế bào được đo để đánh giá khả năng sống và chất lượng của sản phẩm được dự trữ. Chất lượng của sản phẩm được dự trữ có thể được tăng cường bằng cách lắc nhẹ mỗi tuần một lần. Đánh giá việc dự trữ trong túi chứa gián tiếp

TCVN 7391-4 : 2005

đánh giá độ thấm của túi chứa cacbon điôxit thải từ quá trình trao đổi chất của hồng cầu khi không có các yếu tố làm xáo trộn khác.

C.6.3 Bảo vệ các nhân viên làm việc với máu

Các quy trình được viết ra là cần thiết để bảo vệ các nhân viên tiếp nhận, giải quyết và làm việc với máu người có khả năng nhiễm khuẩn. Vật liệu bị nhiễm khuẩn tiềm tàng bao gồm máu, dịch và các sản phẩm của cơ thể, các thiết bị đã hoặc có thể tiếp xúc với máu hoặc các dịch cơ thể khác, và các vật liệu được dùng để nuôi cấy sinh vật gây ra nhiễm trùng trong máu^[88].

C.6.4 Lấy máu (trích máu từ tĩnh mạch)

Khi không thể đảm bảo 100 % vô trùng mặt da để trích máu tĩnh mạch, thì phải tuân thủ nghiêm những tiêu chuẩn chuẩn bị vùng da sẽ lấy máu tĩnh mạch. Đặc biệt quan trọng dung dịch làm vô trùng phải khô trên bề mặt da trước khi tiêm tĩnh mạch và không có tiếp xúc nào lên bề mặt da trước khi lồng kim lấy máu tĩnh mạch^[80].

Một hệ thống lấy máu kín (ví dụ như ống lấy máu chân không) phù hợp với việc thu máu hơn là để ngăn cản nhiễm vi sinh vật. Kim tiêm trong túi cao su đựng mẫu phải được đóng kín hoàn toàn sau khi rút kim tiêm, nếu không một phần chân không sau khi làm mát có thể kéo theo không khí nhiễm^[80].

CHÚ THÍCH: Dùng bơm tiêm có khả năng làm huyết tan nhẹ.

Máu lấy từ hệ thống mở có thể bị nhiễm từ không khí trong phòng và không được coi như vô trùng. Nhiễm vi khuẩn có thể gây ra tan huyết.

C.6.5 Chọn loài

Thử nghiệm tan huyết nên được tiến hành với hồng cầu người. Tuy nhiên, một vài nhân tố có thể làm cho sự lựa chọn như vậy khó khăn hoặc không thể nào thực hiện được. Ở một số nước trên thế giới, cung cấp máu người bị hạn chế và phải được dự trữ cho truyền máu người. Tiêu chí sức khoẻ cho người hiến máu và động vật hiến máu cũng được xem xét. Tất cả máu đều có khả năng sống hạn chế và có thể còn khó hơn để nhận được các tế bào máu người đúng lúc. Nếu sử dụng hồng cầu động vật, chú ý đảm bảo 100 % tan huyết để nhận được lượng haemoglobin toàn phần do sự khác nhau ở độ bền của màng trong số các loài động vật. Đối chứng âm tính gây ra tan huyết tối thiểu sao cho hoạt tính của vật liệu thử không bị che đậy. Hồng cầu thỏ và người được biết có đặc điểm tan huyết tương tự, trong khi đó hồng cầu khỉ nhạy hơn và hồng cầu lợn ít nhạy hơn^[89].

C.6.6 Đánh giá tan huyết – *in vitro*, *ex vivo* và *in vivo* tiếp xúc với máu hoặc các thành phần của máu

Tan huyết có thể được đánh giá bằng cách tiếp xúc với các vật liệu hoặc trang thiết bị trong điều kiện *in vitro*, *in vivo* và *ex vivo*. Các điều kiện *in vitro* được sử dụng để đánh giá vật liệu và trang thiết bị. Các điều kiện *ex vivo* và *in vivo* được sử dụng để đánh giá vật liệu và trang thiết bị từ nhiều vật liệu.

Có thể đánh giá *in vivo* và *ex vivo* trong mô hình động vật hoặc trong các thử nghiệm lâm sàng. Các thiết kế nghiên cứu sau đây có thể được xác minh là đúng. Trong trường hợp thứ nhất trang thiết bị thử có thể được so sánh với trang thiết bị có mặt trên thị trường dùng làm đối chứng tham khảo với các mức độ tan huyết có thể chấp nhận được. Trong trường hợp thứ hai vật thử được đánh giá cho hậu quả tan huyết có ý nghĩa lâm sàng.

Mục đích của các phép thử *in vivo* hoặc *ex vivo* là để đặc trưng khả năng gây tan huyết của một trang thiết bị y tế. Những nghiên cứu ban đầu có thể là *in vitro* và có thể sử dụng máu người mới lấy hoặc máu người đã để lâu hoặc máu từ một loài động vật. Đối với trang thiết bị y tế được chỉ định dùng cho *ex vivo* thì thực tế chung là để tái tuần hoàn máu qua trang thiết bị, sử dụng các điều kiện mô phỏng quá trình sử dụng đã định trong lâm sàng. Các nghiên cứu này được tiếp theo bởi mô phỏng *ex vivo* trong mô hình động vật cho một số trang thiết bị y tế hoặc bởi các nghiên cứu bị kiểm soát và hạn chế ở người. Cỡ của các trang thiết bị y tế và chức năng đã định ảnh hưởng đến thiết kế các nghiên cứu này.

C.6.7 Các phương pháp tiếp xúc trực tiếp trái ngược với các tiếp xúc gián tiếp

Điều kiện chiết đã sử dụng được tóm tắt trong ISO 10993-12. Một số phương pháp thử gây ra tiếp xúc trực tiếp của trang thiết bị với hồng cầu trong khi các phương pháp khác mô tả quá trình chuẩn bị một chất chiết mà sau đó sẽ tiếp xúc với hồng cầu. Chọn lọc phép thử nên dựa vào bản thân trang thiết bị và các điều kiện trong đó trang thiết bị này sẽ được sử dụng. Điều kiện bên ngoài được xem xét khi nhiệt độ tăng được tóm tắt trong ISO 10993-12.

Thư mục tài liệu tham khảo

Tiêu chuẩn quốc tế

- [1] ISO 5840 :1996, *Cardiovascular implants - Cardiac valve prostheses* (Cấy ghép tim mạch – Bộ van tim nhân tạo).
- [2] ISO 5841-1, *Cardiac pacemakers - Part 1: Implantable pacemakers* (Điều nhịp tim – Phần 1: Điều nhịp tim có thể cấy ghép).
- [3] ISO 5841-3, *Implants for surgery - Cardiac pacemakers - Part 3: Low-profile connectors (IS-1) for implantable pacemakers* (Cấy ghép đối với phẫu thuật – Điều nhịp tim – Phần 3: Bộ nối profin thấp (IS-1) cho điều nhịp có thể cấy ghép).
- [4] ISO 7198, *Cardiovascular implants - Tubular vascular prostheses* (Cấy ghép tim mạch – Bộ mạch ống nhân tạo).
- [5] ISO 7199, *Cardiovascular implants and artificial organs - Blood-gas exchangers (oxygenators)* [Cấy ghép tim mạch và cơ quan nhân tạo – Bộ trao đổi máu – khí (máy tạo oxy)].
- [6] ISO 10993-12, *Biological evaluation of medical devices - Part 12: Sample preparation and reference materials* (Đánh giá sinh học trang thiết bị y tế – Phần 12: Chuẩn bị mẫu và vật liệu đối chứng).
- [7] ISO 3826, *Plastics collapsible containers for human blood and blood components* (Túi nhựa có thể co giãn để chứa máu người và các thành phần của máu).

Tiêu chuẩn quốc gia

- [8] AANSI/AAMI CVP3-1981, *Cardiac valve prostheses* (Bộ van tim nhân tạo).
- [9] ANSI/AAMI VP20-1986, *Vascular graft prostheses* (Bộ phận đoạn mạch nhân tạo).
- [10] ASTM F 756-00, *Standard practice for assessment of hemolytic properties of materials* (Thực hành chuẩn để đánh giá thuộc tính tan huyết của vật liệu).
- [11] GB/T 16175-1996 *Organic silicone material material for medical use - Biological evaluation test methods* (Vật liệu silicon vô cơ để sử dụng trong y tế – Phương pháp thử đánh giá sinh học).
- [12] BS 5736-11:1990, *Evaluation of medical devices for biological hazards - Part 11: Method of test for haemolysis* (Đánh giá trang thiết bị y tế về nguy cơ sinh học – Phần 11: Phương pháp thử đối với tan huyết).

- [13] ASTM F1984-99, *Standard Practice for Testing for Whole Complement Activation in Serum by Solid Materials* (Thực hành chuẩn để thử nghiệm hoạt hoá bổ thể trong huyết thanh bằng vật liệu rắn).
- [14] ASTM F2065-00, *Standard Practice for Testing for Alternative Pathway Complement Activation in Serum by Solid Materials* (Thực hành để thử nghiệm hoạt hoá bổ thể đường xen kẽ trong huyết thanh bằng vật liệu rắn).
- [15] DIN 58 361-4:1980, *Transfusionsbehalttnisse and Zubehdr, Blutbeutel aus Kunststoffen, Sicherheitstechnische Anforderungen, PrQfung, Uberwachung and Kennzeichnung* (Chai chứa dịch và phụ kiện, túi chứa máu bằng chất dẻo, yêu cầu an toàn, phương pháp thử, giám sát và ghi nhãn).
- [16] NF 90-300 : 1981, *Materiel medico-chirurgical – Oxygenateurs* (Vật liệu cho phẫu thuật – Chai oxy).

Sách báo khoa học

- [17] BOSCH, T., SCHMIDT, B., BLUMENSTEIN, M. and GURLAND, H.J., *Thrombogenicity markers in clinical and ex vivo assessment of membrane biocompatibility* (Vật để ghi tạo đông máu trong đánh giá lâm sàng và ex vivo của màng tương hợp sinh học). *Contr. Nephrol.*, 59, 1987, pp. 90-98.
- [18] CHENOWETH, D.E., *Complement activation produced by biomaterials* (Kích hoạt bổ thể tạo nên bởi vật liệu sinh học). *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, 32: 226-232, 1986.
- [19] BURNS, G.L. PANTALOS, G.M. and OLSEN, D.B., *The calf as a model for thromboembolic events with the total artificial heart* (Bắp chân là mẫu trường hợp bệnh huyết khối tắc mạch với tim nhân tạo). *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, 33, 1987, pp. 398-403.
- [20] COOPER, S.L., FABRIZWS, D.J. and GRASEL, T.G., *Methods of assessment of thrombosis ex vivo* (Phương pháp đánh giá huyết khối ex vivo). In: Leonard E.F., Turitto V.T., and Vroman L.(Eds): *Blood in contact with natural and artificial surfaces*. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 516, 1987, pp. 572-585.
- [21] CORRIVEAU, D.M. and FRITSMA, G.A. (Eds): *Hemostasis and thrombosis in the clinical laboratory* (Cầm máu và đông máu trong phòng thí nghiệm lâm sàng). J.B. Lippincott, Philadelphia, 1988, p. 443.
- [22] DAWIDS, S. (Ed): *Test procedures for the blood compatibility of biomaterials* (Quy trình thử về tương thích máu của vật liệu sinh học). Kluwer, Dordrecht, Boston, 1993, p. 684.
- [23] DEWANJEE, M.K., *Methods of assessment of thrombosis in vivo* (Phương pháp đánh giá huyết khối in vivo), In: Leonard E.F., Turitto V.T. and Vroman L. (Eds): *Blood in contact with natural and artificial surfaces*. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 516, 1987, pp. 541-571.

TCVN 7391-4 : 2005

- [24] DEWANJEE, M.K., KAPADVANJWALA, M. and SANCHEZ, A., Quantitation of comparative thrombogenicity of dog, pig, and human platelets in a hemodialyser (So sánh định lượng khả năng tạo đông máu của huyết tương chó, lợn và người trong bộ thẩm tách máu). *Amer. Soc. Artif. Int. Organs J.*, 38, 1992, pp. 88-90.
- [25] DIDISHEIM, P., DEWANJEE, M.K., FRISK, C.S., KAYE, M.P. and FASS, D.N., Animal models for predicting clinical performance of biomaterials for cardiovascular use (Loại động vật để dự đoán thực hiện lâm sàng của vật liệu dùng cho tim mạch). In: Boretos J.W. and Eden M. (Eds). *Contemporary Biomaterials*, Noyes Publications, Park Ridge, NJ, USA, 1984, pp. 132-179.
- [26] DIDISHEIM, P., DEWANJEE, M.K., KAYE, M.P., FRISK, C.S., FASS, D.N., TIRRELL, M.V. and ZOLLMAN, P.E., Non predictability of long-term in vivo response from short-term in vitro or ex vivo blood/material interactions (Phản ứng dài hạn *in vivo* không dự đoán được từ các tương tác máu/vật liệu ngắn hạn *in vitro* hoặc *in vivo*). *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, 30, 1984, pp. 370-376.
- [27] DIDISHEIM, P., OLSEN, D.B., FARRAR, D.J., PORTNER, P.M., GRIFFITH, B.P., PENNINGTON, D.G., JOIST, J.H., SCHOEN, J.F., GRISTINA, A.G. and ANDERSON, J.M., Infections and thromboembolism with implantable cardiovascular devices (Sự lây nhiễm và chứng huyết khối tắc mạch với trang thiết bị tim mạch có thể cấy ghép). *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, 35, 1989, pp. 54-70.
- [28] DIDISHEIM, P., STROPP, J.Q., BOROWICK, J.H. and GRABOWSKI, E.F., Species differences in platelet adhesion to biomaterials: investigation by a two-stage technique (Sự khác nhau về loài trong bám dính huyết tương lên vật liệu sinh học: khảo sát bằng kỹ thuật hai giai đoạn), *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, 2, 1979, pp. 124-132.
- [29] Guidelines for blood/material interactions. Report of the National Heart, Lung and Blood Institute Working Group, U.S (Hướng dẫn đối với các tương tác máu/vật liệu. Báo cáo của nhóm công tác của Viện quốc gia về tim, phổi và máu, Vụ Phục vụ sức khoẻ và con người Hoa Kỳ). Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health. NIH Publication No. 85-2185, revised September 1985. Available from Biomaterials Program, Bioengineering Research Group, Division of Heart and Vascular Diseases, NHLBI, Two Rockledge Center, 6701 Rockledge Drive, Bethesda, MD 20892, USA.
- [30] HARKER, L.A., KELLY, A.B. and HANSON, S.R., Experimental arterial thrombosis in non-human primates (Huyết khối động mạch thực nghiệm trong động vật linh trưởng). *Circulation*, 83, Supplement IV, 1991, pp. 41-55.

- [31] HARKER, L.A., MALPASS, T.W., BRANSON, H.E., HESSEL, E.A. II and SLIGHTER, S.J., Mechanism of abnormal bleeding in patients undergoing cardiopulmonary bypass: Acquired transient platelet dysfunction associated with selective alpha granule release (Cơ chế chảy máu bất thường trong bệnh nhân có tim phổi nhân tạo: sự loạn chức năng nhất thời của tiểu cầu kết hợp với sự giải phóng hạt anpha có lựa chọn). *Blood*, 56, 1980, pp. 824-834.
- [32] HARKER, L.A., RATNER, B.D., and DIDISHEIM, P. (Eds): Cardiovascular Biomaterials and Biocompatibility. Supplement to *Cardiovasc* (Vật liệu sinh học và tương thích sinh học tim mạch. Bổ sung cho tim mạch). *Pathol.*, 2(3) (Suppl.), Jul-Sept 1993, pp. 1S-224S.
- [33] KARWATH, R., SCHURER, M. and WOLF, H., Measurement of platelet adhesiveness onto artificial surfaces using Cr-51 and In-111 labelled platelets (Phép đo độ bám dính của tiểu cầu lên bề mặt nhân tạo có sử dụng huyết tương có đánh dấu Cr-51 và In-111). *Studia Biophys.*, 131, 1989, pp. 117-123.
- [34] KATAOKA, K., MAEDA, M., NISHIMURA, T., NITADORI, TSURUTA, T., AKAIKE, T., and SAKURAI, Y., Estimation of cell adhesion on polymer surfaces with the use of "column method" (Đánh giá sự bám dính tế bào lên bề mặt polyme bằng "phương pháp khuôn lọc"). *J. Biomed. Mater. Res.*, 14, 1980, pp. 817-823.
- [35] KAY, L.A., *Essentials of Haemostasis and Thrombosis* (Yếu tố cần thiết của sự cầm máu và huyết khối). Churchill Livingstone, Edinburgh, 1988, pp. 290.
- [36] LEWIS, J.L., SWEENEY, J., BALDINI, L., FRIEDLAND, G.H., and SALZMAN, E.W., Assessment of thromboresistance of intravenous cannulae by 125 I-fibrinogen scanning (Đánh giá sự chống đông của canun tĩnh mạch bằng quét 125 I Tiền sợi huyết). *J. Biomed. Mater. Res.*, 19, 1985, p. 99.
- [37] MAHIOUT, A., MEINHOLD, H., JORRES, A., KRIEG, R., KESSEL., M., TRETZEL, J. and BAURMEISTER, U., Ex vivo model for preclinical evaluation of dialysers containing new membranes (Kiểu *ex vivo* để đánh giá tiền lâm sàng của màng thẩm tách có chứa đựng màng mới). *Life Support Systems*, 3, Suppl. 1, 1985, pp. 448-452.
- [38] MIALE, J.B., *Laboratory medicine hematology* (Huyết học y khoa phòng thử nghiệm). Sixth edition, CV Mosby, St. Louis, 1982.
- [39] PALATIANOS, G.M., DEWANJEE, M.K., and ROBINSON, R.P., et al. Quantification of platelet loss with Indium-111 labelled platelets in a hollow-fiber membrane oxygenator and arterial filter during extracorporeal circulation in a pig model (Định lượng sự hao hụt tiểu cầu bằng các tiểu cầu đánh dấu bằng Indi 111 trong máy tạo oxy loại màng có hố sợi và máy lọc nhân tạo khi tuần hoàn ngoài cơ thể trong loài lợn). *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, 35, 1989, pp. 667-670.

TCVN 7391-4 : 2005

- [40] SCHOEN, F.J., ANDERSON, J.M., DIDISHEIM, P., DOBBINS, J.J., GRISTINA, A.G., HARASAKI, H., and SIMMONS, R.L., Ventricular assist device (VAD) pathology analyses: guidelines for clinical studies (Dụng cụ trợ giúp thất (VAD) phân tích bệnh lý: Hướng dẫn nghiên cứu lâm sàng). *J. Appl. Mater.*, 1, 1990, pp. 49-56.
- [41] SCHOEN, F.J., *Interventional and surgical cardiovascular pathology*. Appendix: Pathologic analysis of the cardiovascular system and prosthetic devices (Bệnh lý học tĩnh mạch và giải phẫu tim mạch. Phụ lục: Phân tích bệnh lý của hệ thống tim mạch và thiết bị nhân tạo), W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1989, pp. 369-396.
- [42] ROSENGART, T.K., LANG, S.J., Valvular Heart Disease. In: Barrie, P.S., Shires, G.T., *Surgical Intensive Care* (Chăm sóc phẫu thuật sâu), Little, Brown and Company, Boston, 1993, pp. 577-612.
- [43] ANDERSON, J.M., Cardiovascular Device Retrieval and Evaluation. In: Harker, L.A., Ratner, B.D., Didisheim, P. (Eds): Cardiovascular Biomaterials and Biocompatibility (Dụng cụ tim mạch sự phục hồi và đánh giá). Supplement to *Cardiovasc. Pathol.*, 2, (3) (Suppl.), Jul-Sept 1993, pp. 199S-208S.
- [44] SPENCER, P.C., SCHMIDT, B., SAMTLEBEN, W., BOSCH, T. and GURLAND, H.J., Ex vivo model of hemodialysis membrane biocompatibility (Kiểu *ex vivo* tương thích sinh học của màng thẩm tách máu). *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, 31, 1985, pp. 495-498.
- [45] *Tripartite Biocompatibility Guidance for Medical Devices (Hướng dẫn tương thích sinh học ba bên đối với trang thiết bị y tế)*. Prepared by toxicology sub-group of the Tripartite Subcommittee on medical devices, September 1986.
- [46] WARD, R.A., SCHMIDT, B., BLUMENSTEIN, M., and GURLAND, H.J. Evaluation of phagocytic cell function in an ex vivo model of hemodialysis (Đánh giá chức năng tế bào thực bào trong kiểu *ex vivo* của sự thẩm tách máu). *Kidney International*, 37, 1990, pp. 776-782.
- [47] WHITE, R.A., Diagnosis and therapy of emergent vascular diseases (Chẩn đoán và điều trị bệnh mạch khẩn cấp). In: Shoemaker, W.C., Ayres, S., Holbrook, P.R., and Thompson, W.L., *Textbook of Critical Care*, 2nd edn. W.B. Saunders, Philadelphia, 1989, pp. 447-452.
- [48] ZINGG, W., IP, W.F., SEFTON, M.V., and MANCER, K., A chronic arteriovenous shunt for the testing of biomaterials and devices in dogs (Sun động tĩnh mạch trường diễn để thử nghiệm vật liệu sinh học và trang thiết bị trong chó). *Life Support Systems*, 4, 1986, pp. 221-229.
- [49] World Health Organization, *Recommended methods for the visual determination of white cells and platelet counts (Tổ chức y tế thế giới, các phương pháp được đề nghị để xác định bằng mắt tế bào trắng và đếm tiểu cầu)*. Document WHO/LAB/88.3, 1988.

- [50] ICH: *Note for Guidance on Validation of Analytical Procedures: Methodology* (CPMP/ICH/281/95) and *Note for Guidance on Validation of Analytical Methods: Definitions and Terminology* (CPMP/ICH/381/95) [ICH: Chú thích cho các hướng dẫn về đánh giá các qui trình phân tích: Phương pháp luận (CPMP/ICH/291/95) và chú thích cho các hướng dẫn về đánh giá các phương pháp phân tích: Định nghĩa và thuật ngữ (CPMP/ICH/391/95)], The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products.
- [51] GROTEMEYER, K.-H., VIAND, R., BEYKIRCH, K. Thrombozytenfunktion bei vasomotorischen Kopfschmerzen and Migranekopfschmerzen. *Dtsch. Med. Wschr.*, 108, 1983, pp. 775-778.
- [52] Wu, K.K., HOAK, J.C. A new method for the quantitative detection of platelet aggregates in patients with arterial insufficiency (Phương pháp mới để phát hiện định lượng ngưng tập tiểu cầu trong bệnh nhân có thiếu năng động mạch). *Lancet*, 1974 II, p. 924.
- [53] KUNICKI, T.J., TUCELLI, M., BECKER, G.A., ASTER, R.H., A study of variables affecting the quality of platelets stored at room temperature (Nghiên cứu khả năng có thể thay đổi của phẩm chất tiểu cầu đã bảo quản ở nhiệt độ phòng). *Transfusion*, 15, 1975, pp. 414-421.
- [54] CHANDLER, A.B., In Vitro thrombotic coagulation of the blood: a method for producing a thrombus (Đồng máu huyết khối *in vitro* và *ex vivo* trên bề mặt polyme). *Lab. Investigations*, 7, 1958, pp. 110-114.
- [55] GOODMAN, S.L., LELAH, M.D., LAMBRECHT, L.K., COOPER, S.L., ALBRECHT, R.M., In vitro vs. Ex vivo Platelet Deposition on Polymer Surfaces. *Scanning Electron Microscopy* (Sự lắng đọng của tiểu cầu *in vitro* và *ex vivo* trên bề mặt polyme), 1, 1984, pp. 279-290.
- [56] GOODMAN, S.L., COOPER, S.L., ALBRECHT, R.M., Activation of Platelets from Humans, Canines, and Macaques on Polymer Surfaces (Sự hoạt hoá của tiểu cầu từ người, răng nanh và khỉ macaca trên bề mặt polyme). *Progress in Artificial Organs*, ISAO Press, 1985.
- [57] ICSH Panel on Diagnostic Application of Radionuclides. Recommended method for ¹¹¹Indium Platelet survival studies (Panen ICSH trong ứng dụng chẩn đoán của hạt nhân phóng xạ. Phương pháp đề nghị để nghiên cứu tiểu cầu đánh dấu bằng In 111). *J. Nuclear Med.*, 29, 1988, pp. 564-566.
- [58] NCCLS and ICSH. *Methods for reticulocyte counting (Flow cytometry and supravital dyes)*, approved guideline [Các phương pháp để đếm hồng cầu lưới (tế bào kế lưu lượng và chất nhuộm màu), hướng dẫn đã phê chuẩn]. NCCLS document H44-A. Vol. 17, No. 15, 1997.
- [59] LEWIS, S.M., ROWAN, R.M., KUBOTA, F., Evaluation of a prototype for a reference platelet counter (Đánh giá nguyên mẫu đối với máy đếm tiểu cầu đối chứng). *J. Clin. Pathol.*, 43, 1990, pp. 932-936.

TCVN 7391-4 : 2005

- [60] CHIGNIER, E., PARISE, M., MCGREGOR, L., DELABRE, C., FAUCOMPRET, S., MCGREGOR, J., A P-Selectin I CD62P monoclonal antibody (LYP-20), in Tandem with Flow Cytometry Detects in vivo activated circulating rat platelets in severe vascular trauma [Kháng thể monoclonan AP Selectin/CD62P (LYP-20) trong bộ đôi với tế bào kế dòng phát hiện tiểu cầu chuột bị hoạt hoá tuần hoàn trong chấn thương mạch]. *Thrombosis and Haemostasis*, 72, 1994, pp. 745-749.
- [61] KUNDU, S., HELLERMAN, E., Sic, R., GARCIA, C., OSTGAARD, R., Characterization of an in vitro Platelet function Analyzer (Đặc tính của máy phân tích chức năng tiểu cầu *in vitro*), PFA-100. *Clin. Appl. Thrombosis/Hemostasis*, 2, 1996, pp. 241-249.

Sách báo khoa học viện dẫn trong Phụ lục C

- [62] *Taber's Cyclopedic Medical Dictionary (Từ điển Y khoa)*, 17th Edition, F.A. Davis Company, Philadelphia, PA, 1993.
- [63] MUELLER, M.R., SCHIMA, H., ENGELHARDT, H., SAIAT, A., OLSEN, D.B., LOSERT, U., WOLNER, E., In vitro Hematological Testing of Rotary Blood Pumps: Remarks on Standardization and Data Interpretation (Thử huyết học của bơm máu kiểu quay: các nhận xét về tiêu chuẩn hoá và sự giải thích dữ liệu), *Artif. Organs*, 17(2), 1993, pp. 102-110.
- [64] NORTHUP, S.J., Hemocompatibility: Not all devices are created equal (Hemocompatibility: Không phải là mọi thiết bị đều được đáp ứng). *Med. Devic Diagnost. Ind.*, Jan. 1997, pp. 145-150.
- [65] REED, K.W., YALKOWSKY, S.H., Lysis of human red blood cells in the presence of various cosolvents (Sự giảm dẫn tế bào hồng cầu của người trong sự hiện diện của các dung môi khác nhau). *J. Par. Sci. Technol.*, 39(2), 1985, pp. 64-68.
- [66] HOCH, J.R., SILVER, D., Hemostasis and Thrombosis (Cầm máu và huyết khối), In *Vascular Surgery: A Comprehensive Review*, 3rd edition, W.S. Moore, ed., W.B. Saunders, Philadelphia, 63-79, 1991.
- [67] OFFEMAN, R.D., WILLIAMS, M.C., Material effects in shear-induced hemolysis (Tác động của vật liệu trong sự tan huyết do dịch chuyển gây ra), *Biomater. Med. Dev. Art. Org.*, 7, 979, pp. 359-391.
- [68] LAMPERT, R.H., WILLIAMS, M.C., Effect of surface materials on shear-induced hemolysis (Phương pháp động học in vitro để đánh giá khả năng tan huyết của dung dịch tĩnh mạch), *J. Biomed. Mater. Res.*, 6, 1972, pp. 499-532.
- [69] OBENG, E.K., CADWALLADER, D.E., In vitro dynamic method for evaluating the hemolytic potential of intravenous solutions (Phương pháp động học in vitro để đánh giá khả năng tan huyết của dung dịch tĩnh mạch). *J. Parenteral Sci. Technol.*, 43, 1989, pp. 167-173.

- [70] HENRY, J.B., Hematology and Coagulation (Huyết học và sự đông máu), In: *Clinical Diagnosis & Management By Laboratory Methods*, 18th edn., W.B. Saunders Co., Philadelphia, PA, USA, 556-603, 1991.
- [71] International Committee for Standardization in Haematology (ICSH): Recommendations for reference method for haemoglobinometry in human blood (Ban tiêu chuẩn quốc tế về huyết học (ICSH): Các giới thiệu đối với phương pháp trọng tài để đo huyết cầu tố trong máu người). (ICSH Standard EP 6/2:1995) and specifications for international hemoglobin cyanide standard(4th edition) *J. Clin. Pathol.*, 49, 1996, pp. 279-274.
- [72] MALINAUSKAS, R.A. Plasma hemoglobin measurement techniques for the in vitro evaluation of blood damage caused by medical devices (Kỹ thuật đo huyết cầu tố của huyết tương trong đánh giá *in vitro* của tổn thương máu gây ra bởi trang thiết bị y tế), *Artif. Organs*, 21, 1997, pp. 1255-1267.
- [73] Sigma Diagnostics: *Plasma Hemoglobin: Quantitative, colorimetric determination in plasma at 600nm* (Chẩn đoán xichma: Huyết cầu tố huyết tương: Xác định định lượng, so màu trong huyết tương tại 600 nm) (Procedure No. 527, April 1991) Sigma Diagnostics, St. Louis, MO.
- [74] STANDEFER, J.C., VANDERJAGT, D. Use of tetramethylbenzidine in plasma hemoglobin assay (Sử dụng tetrametylbenzidin trong khảo nghiệm huyết cầu tố huyết tương). *Clin. Chem.*, 23, 1997, pp. 749-751.
- [75] FAIRBANKS, V.F., ZIESMER, S.C., O'BRIEN, P.C. Methods for measuring plasma hemoglobin in micromolar concentration compared (Các phương pháp đo huyết cầu tố huyết tương trong nồng độ vi phân tử gam). *Clin. Chem.* 1992; 38:132-140. (Erratum - Correction: Measurements of Plasma Hemoglobin, *Clin. Chem.*, 39, 1993, pp. 2027-2028.
- [76] HARBOE, M., A method for determination of haemoglobin in plasma by near-ultraviolet spectrophotometry (Phương pháp xác định huyết cầu tố trong huyết tương bằng quang phổ kế cận cực tím), *Scand. J. Clin. Lab Invest.*, 11, 1959, pp. 66-70.
- [77] CRIPPS, C.M. Rapid method for the estimation of plasma haemoglobin levels (Phương pháp nhanh để xác định huyết cầu tố huyết tương). *J. Clin. Pathol.*, 21, 1968, pp. 110-112.
- [78] TAULIER, A. [Value of derivative spectrophotometry for the determination of plasma and urinary haemoglobin. Comparison with the method using Allen's correction] [*Giá trị của quang phổ kế dẫn xuất để xác định huyết tương và huyết cầu tố nước tiểu. So sánh với phương pháp sử dụng hiệu chỉnh Allen*]. *Ann. Biol. Clin. (Paris)* 44, 1986, pp. 242-248 French.
- [79] LAMMERS, M., GRESSNER, A.M., Immunonephelometric quantification of free hemoglobin (Đánh giá định lượng kết tủa miễn dịch của huyết cầu tố tự do). *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*,

TCVN 7391-4 : 2005

25, 1987, pp. 363-367.

- [80] *Standards for Blood Banks and Transfusion Services (Tiêu chuẩn đối với ngân hàng máu và dịch vụ truyền)*, 16th edn. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks, 1994.
- [81] *Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components (Hướng dẫn để chuẩn bị, sử dụng và bảo hiểm chất lượng thành phần máu)*. Strasbourg: Council of Europe Publishing and Documentation Service, 1992, pp. 37-38.
- [82] Anticoagulant Citrate Dextrose Solution (*Dung dịch dextroza xitrat chống đông máu*). *U.S. Pharmacopeia* 23, 1995, p. 119.
- [83] Anticoagulant and preservative solutions for human blood: Anticoagulant acid-citrate-glucose solutions (ACD) and Anticoagulant citrate-phosphate-glucose solution (CPD) [*Dung dịch chống đông và dự phòng cho máu người: dung dịch chống đông axit-xitrat-gluco (ACD) và dung dịch chống đông xitrat-phôtphat-gluco (CPD)*]. *European Pharmacopoeia* 0209, 1997, pp. 400-403.
- [84] Anticoagulant Citrate Phosphate Dextrose Solution (*Dung dịch chống đông xitrat-phôtphat-dextroise*). *U.S. Pharmacopeia* 23, 1995, pp. 119-120.
- [85] Anticoagulant Citrate Phosphate Dextrose Adenine Solution (*Dung dịch chống đông xitrat-phôtphat-dextroise adenine*), *U.S. Pharmacopeia* 23, 1995, pp. 121-122.
- [86] Anticoagulant Heparin Solution (*Dung dịch chống đông heparin*). *U.S. Pharmacopeia* 23, 1995, p. 122.
- [87] Anticoagulant Sodium Citrate Solution (*Dung dịch chống đông xitrat*). *U.S. Pharmacopeia* 23, 1995, p. 122.
- [88] 29 CFR, Code of Federal Regulations (Mã điều luật Liên bang), 1910. 1030, *Bloodborne Pathogens*.
- [89] WENNBERG, A., HENSTEN-PETTERSEN, A., Sensitivity of erythrocytes from various species to in vitro hemolysis (Độ nhạy của hồng cầu từ các loài khác nhau với sự làm tan huyết in vitro), *J. Biomed. Mater. Res.*, 15, 1981, pp. 433-435.
- [90] *A Colour Atlas of Comparative, Diagnostic and Experimental Haematology (Đốt độ màu của huyết học so sánh, chẩn đoán và thực nghiệm)*, Mosby-Year Book Europe Limited, London, England, 1994.
- [91] Sterile plastic containers for human blood and blood components (*Hộp nhựa vô khuẩn để chứa máu và thành phần máu người*). *European Pharmacopoeia*, 3.2.3, 1997, pp. 175-179.