جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۲ شماره ۶ زمستان ۸۴ (۲۳۷-۲۳۳)

بررسی آلودگی باکتریایی در پلاکت‌های کنسانتره با استفاده از روش کشت در مرکز انتقال خون تهران

دکتر جهانگیر احمدی[۱]، حمیدرضا قلی‌زاده[۲]، ربابه فارسه[۳]، دکتر شهین شریفی[۴]

چکیده

سابقه و هدف

علی‌رغم پیشرفت‌هایی که در زمینه جمع‌آوری، تهیه و ذخیره پلاکت‌های کنسانتره به‌وجود آمده است، عفونت باکتریایی ناشی از انتقال پلاکت‌های آلوده هنوز هم به‌عنوان یک مشکل جدی در طب انتقال خون مطرح می‌باشد. در این مطالعه آلودگی باکتریایی پلاکت‌های متراکم تهیه شده در مرکز انتقال خون تهران به‌وسیله کشت میکروبی بررسی شده است.

مواد وروش‌ها

مطالعه انجام شده توصیفی بود. تعداد ۷۷۰۰ نمونه پلاکتی، در محیط‌های بلادآگار و ائوزین متیلن‌بلو کشت و پس از ۴۸ ساعت، در ۳۷ درجه سانتی‌گراد بررسی شدند. در صورت رشد کلونی، نوع باکتری با استفاده از آزمون‌های افتراقی مشخص گردید. همچنین نمونه‌ها هم‌زمان به محیط تیوگلیکولات منتقل و در طول ۷ روز از لحاظ کدورت و تغییر رنگ بررسی شدند. در صورت ایجاد تغییر، به محیط‌های بلادآگار و ائوزین متیلن‌بلو انتقال یافتند و در نهایت میزان آلودگی و نسبت باکتری‌های آلوده‌کننده تعیین شد. از ۷۷۰۰ نمونه، سه‌چهارم (۵۷۷۵ نمونه) فقط از کورد کیسه و یک چهارم (۱۹۲۵ نمونه) از کیسه و کورد آن برداشته شد.

یافته‌ها

از ۷۷۰۰ نمونه پلاکتی کشت داده شده، ۱۴ نمونه (۰/۱۸٪) آلوده تشخیص داده شد. بنابراین میزان آلودگی ۱ در ۵۵۰ پلاکت آزمایش شده به‌دست آمد. با توجه به این که در موارد وجود آلودگی در کیسه، کورد مربوط به آن نیز آلوده بوده است، لذا تفاوتی در نمونه‌گیری از کورد یا کیسه مشاهده نمی‌شود. باکتری‌های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس (۴ مورد)، استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس (۲مورد)، آسینه‌توباکتر (۵ مورد) و باسیلوس (۳ مورد) از نمونه‌ها جدا شدند.

نتیجه گیری

نتایج نشان دادند که انجام آزمایش غربالگری در مراکز انتقال خون و یا بیمارستان‌ها برای تشخیص آلودگی میکروبی در پلاکت‌های کنسانتره، قبل از مصرف ضروری است.

کلمات کلیدی: انتقال خون، کنسانتره پلاکتی، آلودگی باکتریایی

تاریخ دریافت: ۸۳/۱۲/۲۳
تاریخ پذیرش: ۸۴/ ۹ / ۲

۱ – مؤلف مسؤول: مشاور علمی سابق سازمان انتقال خون ایران- بیمارستان آراد- صندوق پستی ۱۵۶۱۸۱۶۴۱۳
۲ – کارشناس ارشد هماتولوژی – مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
۳- کارشناس ارشد هماتولوژی- دانشگاه خدمات بهداشتی و درمانی تبریز، مرکز بهداشت و درمان شهرستان آذرشهر
۴- متخصص آسیب شناسی بالینی و تشریحی- مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران و پایگاه منطقه‌ای آموزشی تهران

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

آلودگی باکتریایی در پلاکت‌های کنسانتره (PC)[1] از عوارض نسبتاً شایع و بسیارخطرناک انتقال خون است (۱). در دهۀ گذشته به علت افزایش شیوع ایدز، توجه به کیفیت فرآورده‌های خونی برای اجتناب از آلودگی به ویروس HIV افزایش یافته است. به‌همین دلیل به آلودگی باکتریایی که می‌تواند عامل ایجاد مشکلات اساسی در فرد باشد، اهمیت زیادی داده نشده است (۲).

تخمین زده شده که در آمریکا، هر سال حدود ۱۵۰ نفر در اثر آلودگی باکتریایی جان خود را از دست می‌دهند (۳). براساس گزارش FDA[2]، از ۱۸۲ مورد مرگ و میر ناشی از انتقال خون در بین سال‌های ۱۹۸۶ تا ۱۹۹۱، ۲۹ مورد (۱۶٪) به‌دلیل آلودگی باکتریایی خون و از این تعداد ۲۱ مورد (۷۲٪) به علت تزریق پلاکت و بقیه مربوط به فرآورده‌های گلبول قرمز بوده است (۴).

چون پلاکت کنسانتره در دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شود، شیوع آلودگی در پلاکت حدود ۵۰ تا ۱۰۰ برابر بیشتر از دیگر فرآورده‌های خونی که در سرما قرار می‌گیرند می‌باشد (۶-۳).

به‌دلیل افزایش گزارش‌هایی که از واکنش‌های بعد از انتقال پلاکت‌های آلوده و حتی مرگ ومیر ناشی ازآن وجود دارد، بررسی میزان آلودگی در پلاکت‌های کنسانتره در مراکزانتقال خون ضروری است (۷). تظاهرات بالینی بعد از انتقال پلاکت کنسانتره آلوده، از واکنش‌های تب‌زای خود محدودشونده تاشوک سپتیک ویا حتی مرگ متغیراست(۸).

باکتری‌ها اغلب در طی مرحله خون‌گیری به کیسه‌های خون وارد می‌شوند و اکثراً فلور طبیعی پوست[3] می‌باشند (۶، ۴، ۳). از آن‌جا که مواد ضدعفونی کننده پوست، نمی‌توانند به‌طور مطلق و صددرصد پوست را ضدعفونی نمایند، مراکز انتقال خون باید آزمایش‌هایی را برای تشخیص آلودگی باکتریایی در غربالگری واحدهای پلاکتی انجام دهند (۴). این آزمایش‌ها باید ساده، سریع، ارزان و آن‌قدرحساس باشند که بتوان به کمک آن‌ها آلودگی محصولات خونی با اکثر باکتری‌ها را تشخیص داد. اما چنین آزمایش‌هایی که تمامی ویژگی‌ها را دارا باشند وجود ندارد (۱۰، ۹).

در حال حاضر هیچ آزمایش غربالگری رایجی برای تشخیص باکتری‌ها در کنسانتره‌های پلاکتی وجود ندارد (۳). استفاده از روش کشت هرچند نیاز به زمان زیادی دارد، لیکن به‌دلیل حساس بودن می‌توان ازآن بهره برد (۴).

ما از این روش برای تشخیص میزان آلودگی در پایگاه انتقال خون تهران استفاده کردیم. این تحقیق در تابستان سال ۱۳۷۹ انجام شد.

مواد و روش ها

مطالعه انجام شده از نوع توصیفی بود. تعداد ۷۷۰۰ نمونه پلاکتی که با روش PRP-PC[4] تهیه و به‌صورت تصادفی جمع‌آوری شده بودند، کشت داده شدند (۱۱، ۵). با توجه به محدودیت تولید پلاکت و مصرف بالای آن، امکان بررسی آلودگی باکتریال کیسه‌ها به‌طور مستقیم نبود. به‌همین دلیل پیشنهاد شد که سه‌چهارم نمونه‌ها (۵۷۷۵ نمونه) فقط از کورد کیسه و یک‌چهارم مابقی (۱۹۲۵ نمونه) از کیسه و کورد برداشته شود. همچنین به این ترتیب امکان مقایسه بین آلودگی کیسه و کورد نیز فراهم شد. ابتدا کیسه‌ها و کوردها به مدت ۳ روز در حرارت ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس آن‌ها را در الکل ۷۰ درجه به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده و با استفاده از سرنگ‌های استریل یک بار مصرف، از آن‌ها نمونه تهیه شد. نمونه‌ها در محیط‌های ائوزین متیلن‌بلو[5] و بلادآگار به‌صورت قطره‌ای (۰/۲-۰/۱ میلی‌لیتر) کشت داده شد. همچنین هم‌زمان نمونه‌ها به نسبت ۱ به ۱۰ به محیط تیوگلیکولات[6] منتقل شدند.

پلیت‌ها بعد از ۴۸ ساعت از لحاظ رشد کلونی بررسی شدند که در صورت کشت مثبت، نوع باکتری با استفاده از آزمایش‌های افتراقی مشخص گردید.

لوله‌های تیوگلیکولات در طول ۷ روز از لحاظ کدورت و تغییر رنگ بررسی شدند که در صورت تغییر به محیط‌های بلادآگار و ائوزین متیلن‌بلو انتقال داده شدند و بعد از

1- Platelet Concentrate
2- Food and Drug Administration
3- Normal Skin Flora
4- Platelet Rich Plasma-Platelet Concentrate
5- Eosin-Methylene blue
6- Thioglycolate

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

۴۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفتند (۴).

یافته ها

نتایج نشان داد که میزان آلودگی در پلاکت‌های کنسانتره آزمایش شده، ۰/۱۸٪ (۱۴ نمونه آلوده) است. باکتری‌های جدا شده عبارت بودند از:

۱- استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس (۴ مورد، ۲۸٪). یک مورد مربوط به آلودگی کیسه و کورد آن (هر دو مثبت) و بقیه مربوط به آلودگی کوردها بود.

۲- استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس (۲ مورد، ۱۵٪). هر دو مورد مربوط به آلودگی کوردها بود.

۳- آسینه توباکتر (۵ مورد، ۳۶٪). یک مورد مربوط به آلودگی کیسه و کورد آن (هر دو مثبت) و بقیه مربوط به آلودگی کوردها بود.

۴- باسیلوس *sp.* (۳ مورد، ۲۱٪). یک مورد مربوط به آلودگی کیسه و کورد آن (هر دو مثبت) و بقیه مربوط به آلودگی کوردها بود.

با توجه به این‌که در موارد وجود آلودگی در کیسه، کورد مربوط به آن نیز آلوده بوده‌است، لذا تفاوتی در نمونه‌گیری از کورد یا کیسه مشاهده نمی‌شود.

بحث

امروزه باکتری‌ها به‌عنوان مهم‌ترین عامل عفونی در انتقال خون شناخته شده‌اند و آلودگی باکتریایی فرآورده‌های خونی و مخصوصاً پلاکت‌ها، خطری جدی در طب انتقال خون است. مطالعات نشان می‌دهند میزان آلودگی در پلاکت‌های کنسانتره از ۰٪ تا ۱۰٪ متفاوت است (۸). تخمین زده می‌شود میزان شیوع آلودگی در پلاکت ۱ در ۱۰۰۰ تا ۱ در ۳۰۰۰ واحد پلاکتی باشد (۱۲). اختلافاتی که در میزان آلودگی پلاکت‌ها وجود دارد بستگی به شرایط خون‌گیری، تکنیک‌های تهیه و نگهداری پلاکت، روش‌های بررسی و زمان نمونه‌گیری دارد (۱۳، ۸). در مطالعه ما میزان آلودگی ۱ در ۵۵۰ واحد پلاکتی آزمایش شده می‌باشد.

اکثر باکتری‌های جدا شده از کنسانتره‌های پلاکتی، ارگانیسم‌هایی هستند که از خون تام جدا شده‌اند. اما چون پلاکت‌ها در دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شوند، میزان آلودگی در آن‌ها به مراتب بیشتر است. بیشتر باکتری‌های جدا شده فلور نرمال پوست بوده که در اثر ناکافی بودن و استاندارد نبودن عمل ضدعفونی محل خون‌گیری وارد کیسه می‌شوند (۱۴، ۱۳، ۶، ۴، ۳). همچنین در مواردی به‌علت باکتریمی در دهنده خون، پلاکت‌ها آلوده می‌شوند. منابع دیگر آلودگی، آلودگی‌های اتفاقی است که در طی مراحل تهیه فرآورده به‌وجود می‌آید. مثل ورود باکتری از طریق منافذی که در اثر ناقص بودن عمل Seal به‌وجود آمده و یا استفاده از مواد نگهدارنده غیراستریل در کیسه و خون‌گیری از محل‌های التهابی روی پوست دهنده. باکتری‌های دیگری مثل استافیلوکوک کوآگولاز منفی، استافیلوکوک اورئوس، کورینه باکتریوم، انتروباکتر، باسیلوس، سراشیا و سودوموناس از پلاکت‌ها جدا شده‌اند (۱۳). روش‌های دیگری نیز در تشخیص آلودگی باکتریایی در کنسانتره‌های پلاکتی وجود دارد مثل رنگ‌آمیزی گرم و رنگ‌آمیزی آکریدین اورنج[1]، برچسب‌های حساس به CO_2، استفاده از سیستم Bact / Alert، نوارهای معرف (Reagent strips) و بیولوژی مولکولی (۱۶- ۱۴، ۷، ۳). اکثر این روش‌ها آن‌قدر حساس نیستند که در مراکز انتقال خون استفاده شوند. محدودهٔ تشخیصی رنگ‌آمیزی گرم 10^5CFu/ml تا 10^6، رنگ‌آمیزی آکریدین اورنج 10^4CFu/ml تا 10^5، بیولوژی مولکولی 10^4CFu/ml تا 10^5، و نوارهای معرف 10^7CFu/ml تا 10^8 می‌باشد (۴). روش‌های جدید براساس سنجش میزان تولید CO_2 در لوله‌های کشت می‌باشد که نتایج سریع‌تر به‌دست می‌آید(۱۶).

روش کشت می‌تواند وجود حتی یک ارگانیسم را مشخص کند و نسبتاً به‌راحتی قابل استفاده است. با این وجود تشخیص ارگانیسم‌ها شاید به ۱ تا ۲ روز وقت نیاز داشته باشد که می‌تواند از مصرف واحدهایی که مدت زمان کشت آن‌ها تمام نشده، جلوگیری کند (۹).

علی‌رغم این‌که روش کشت از حساسیت بالایی برخوردار است، به‌دلیل نیاز به زمان زیاد، در عمل

1- Acridine orange

نمی‌توان از آن در بیمارستان‌ها و مراکز انتقال خون استفاده کرد (۴).

مطالعات نشان می‌دهد اگر نمونه‌گیری در آخرین روز ذخیره‌سازی پلاکت متراکم صورت گیرد، شانس تشخیص آلودگی بیشتر است (۹، ۶). بعضی باکتری‌ها مانند استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس رشد کندی دارند، بنابراین باید به آن‌ها فرصت کافی داده شود تا تعدادشان به حداقل قابل تشخیص توسط روش کشت برسد (۹). در این بررسی نمونه‌برداری در روز آخر ذخیره یعنی روز سوم انجام شد. (در ایران با توجه به این که اغلب اوقات کیسه‌های CLX وجود ندارد، Shelf life پلاکت‌ها سه روزه است. لیکن اگر کیسه‌های جمع‌آوری خون و پلاکت از نوع CLX باشند، این مدت ۵ روز خواهد بود). موارد مثبت کاذب می‌تواند به‌دلیل آلودگی هنگام کشت ایجادشود(۱۳).

در این مطالعه برای کاهش موارد فوق، روش‌های زیر را به‌کار بردیم: استفاده از هودهای بیولوژیک[1]، به‌کاربردن سرنگ‌های استریل یک بار مصرف، استفاده از محیط‌های کشت تجارتی و استریل، مصرف کردن پلیت‌های پلاستیکی یک‌بار مصرف و استفاده از الکل به منظور از بین بردن میکروارگانیسم‌های احتمالی روی سطوح کیسه‌ها و کوردها.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست آمده، باید عمل ضدعفونی کردن پوست ناحیه خون‌گیری با دقت بیشتری صورت گیرد و همچنین انجام آزمایش غربالی برای تشخیص آلودگی میکروبی در پلاکت کنسانتره قبل از مصرف ضروری است.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نویسندگان مقاله، مراتب تقدیر و تشکر خود را از خانم رقیه شریفی مسؤول بخش میکروب شناسی پایگاه انتقال خون تهران اظهار می‌نمایند.

References :

1- Kuehnert MJ, Roth VR, Haley NR,Gregory KR, Elder KV, Schreiber GB, *et al*. Transfusion-transmitted bacterial infection in the United States, 1998 through 2000. Transfusion 2001; 41: 1493-8.
2- Blajchman MA. Bacterial contamination of blood products and the value of pre-transfusion testing. Immunological investigations 1995; 24(1,2): 163-70.
3- Burstain JM, Brecher ME, Workman K, Foster M, Faber GH, Mair D. Rapid identification. Identification of bacterially contaminated platelets using reagent strips. Transfusion 1997; 37: 255-58.
4- Liu HW, Yuen KY, Shui-Yiny cheng T, Lee KB, Chau KM, Ho PL, *et al*. Reduction of platelet transfusion-associated sepsis by short-term bacterial culture. Vox Sang 1999; 77: 1-5.
5- Harris JR. Blood separation and plasma fractionnation, Wiley-Liss, 1991.
6- Yomtovian R, Lazatus HM Goodnough LT, Hirschler NV, Morrissey AM, Jacobs MR. A prospective microbiologic surveillance program to detect and prevent the transfusion of bacterially contaminated platelets. Transfusion 1993; 33(11): 902-8.
7- Gong J, Hogman CF, Lundholm M, Gustafsson I. Novel automated microbial screening of platelet concentrates. APMIS 1994; 102(1): 72-8.
8- Leiby DA, Kerr KL, Campos JM, Dodd RY. A retrospective analysis of microbial contaminants in outdated random-donor platelets from multiple sites. Transfusion 1997; 37: 259-63.
9- Wagner SJ, Robinette D. Evaluation of an automated microbiologic blood culture device for detection of bacteria in platelet components. Transfusion 1998; 38: 674-9.
10- Yomtovian R. Novel methods for detection of platelet bacterial contamination. Vox Sang 2002; 83(suppl), 129-131.
11- Depalma L. Platelet collection and storage. In: Smith DM, Summers SH, editors. Platelets American Association of Blood Banks. 1988. chapter 41(73-91)
12- Burns KM, Werch JB. Bacterial contamination of platelet units. Arch Pathol Lab Med 2004; 128: 279-281.
13- Sazama K. Bacteria in blood for transfusion. Arch. Pathol. Lab. Med 1994; 118: 350-65.
14- Yomtovian R. Bacterial contamination of blood: Lessons from the past and road map for the future. Transfusion 2004; 44: 450-60.
15- Brecher ME, Hogan JJ, Boothe G, Kerr A, McClannan L, Jacobs MR, *et al*. Platelet bacterial contamination and the use of a chemiluminescence – linked universal bacterial ribosomal RNA gene probe. Transfusion 1994; 34(9): 750-4.
16- Hogman CF, Gong J. Studies of one invasive and two noninvasive methods for detection of bacterial contamination of platelet concentrates. Vox Sang 1994; 67: 351-5.

1- Biological Safety Cabinet

Evaluation of bacterial contamination of platelet concentrates collected at Tehran Regional Blood Center

Ahmadi J.[1](MD) ,Gholizadeh H.R [2](MS) , Farseh R.[3](MS), Sharifi Sh.[4](MD)

[1]*Arad Hospital*
[2]*Iranian Blood Transfusion Organization-Research Ccenter*
[3]*Tabriz University of Medical and Health Services*
[4]*Tehran Regional Educational Blood Transfusion Center*

Abstract

Background and objectives

In spite of major advances in the field of quality assurance in the process of collection, preparation and storage of platelets, bacterial infection following platelet transfusion remains a major problem in transfusion medicine. The present study was carried out in order to evaluate bacterial contamination of platelet concentrates collected at Tehran Regional Educational Blood Transfusion Center.

Materials and Methods

Bacterial growth of samples of platelet concentrates was studied in blood agar, EMB and thioglycollate broth after 48 hours at 37°C. The use of differentiation tests was made when any bacterial growth was observed. Simultaneously, the samples were also cultured in thioglycollate broth and studied for any turbidity or color change within 7 days. Any changes made the samples to be cultured in blood agar and EMB. Finally, the contamination rate and the ratio of contaminating bacteria were determined. Out of 7700 samples, three fourth (5775 samples) were taken from the cord and one fourth (1925) from both the bag and the cord.

Results

Out of 7700 samples of platelet concentrates studied, 14 (0.18%) were found positive for bacterial contamination. The contamination rate was estimated to be one in every 550 tested platelets (0.18%). Since in cases of blood bag contamination, the cord had been contaminated as well, there was then no difference on whether the sample was taken from the bag or cord. The bacteria identified were as follows: *Staph. epidermidis (n=4), Staph. saprophyticus (n=2), Acinetobacter (n=5), Bacillus sp. (n=3).*

Conclusions

The results show that screening platelet concentrates for bacterial contamination is necessary for blood transfusion centers and hospital blood banks.

Key words: Blood transfusion, Platelet concentrates, Bacterial contamination
SJIBTO 2006; 2(6):233-237

Received: 14 Mar 2005
Accepted: 23 Nov 2005

Correspondence: Ahmadi J. , MD- Arad hospital.
P.O.Box: 1561816413, Tehran, Iran. Tel: (09821) 22257438; Fax : (09821) 22257438