

خون

دوره ۵ شماره ۳ پاییز ۸۷ (۱۸۴-۱۷۹)

ارزیابی کاربرد صحیح ویرکن در کاهش میزان آلودگی باکتریایی واحدهای پلاکتی

مجتبی ساده^۱، دکتر فرهاد رازجو^۲، دکتر مهتاب مقصدلو^۳، دکتر جمیله نوروزی

چکیده

سابقه و هدف

آلودگی باکتریایی فرآورده‌های خون به عنوان یک مشکل عمده در طب انتقال خون مطرح می‌باشد. استقرار قوانین اصول صحیح تولید و استفاده صحیح از مواد ضد عفونی کننده یکی از اقدامات موثر جهت کاستن عوامل باکتریایی در مراکز تولید فرآورده‌های خونی می‌باشد. در این تحقیق ضمن شناسایی میکروارگانیسم‌های موجود در محیط و تجهیزات مورد استفاده در روند تولید پلاکت، رقت و زمان اثر مناسب محلول ویرکن تعیین و سپس به ارزیابی تاثیر کاربرد صحیح و نظارت شده آن بر کاهش میزان آلودگی فرآورده نهایی (پلاکت) پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

مطالعه انجام شده مداخله‌ای بود. در این تحقیق از ۱۶۹ محل واقع بر سطوح کار، تجهیزات و سطح خارجی کیسه‌های پلاکت، به صورت اتفاقی نمونه‌برداری انجام و علاوه بر تعیین هویت باکتری‌ها، واحد کلنی در میلی لیتر آن‌ها تعیین شد. با تلقیح رقت‌های مختلف از محلول ویرکن (۱، ۱/۱۰، ۱/۱۰۰) بر سوسپانسیون‌ها و سوش‌های کنترل شده، مناسب‌ترین رقت و اثر زمان ویرکن مشخص شد. در مرحله دوم تمامی سطوح (مشابه مرحله اول) به مدت یک هفته با رقت مناسب محلول ویرکن ضد عفونی شد و از ۱۰۱ محل، اقدام به نمونه‌برداری و نهایتاً بررسی میکروبی گردید. در مرحله آخر، تعداد ۱۱۰۰ عدد کورد از پلاکت‌ها جدا و طبق دستورالعمل کنترل کیفی میکروبی (پلاکت‌ها)، مورد ارزیابی قرار گرفتند. کلیه اطلاعات جمع‌آوری شده وارد نرم‌افزار SPSS گردید و با استفاده از آزمون کای دو و دقیق فیشر مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

از محل‌های نمونه‌برداری شده (قبل از ضد عفونی نمودن با ویرکن)، تعداد ۹۶ مورد باسیل گرم مثبت (۵۶/۸٪)، ۱۰۱ مورد کوکسی گرم مثبت (۵۹/۸٪)، ۱۵۹ مورد باسیل گرم منفی (۹۴/۸٪) و ۱۳۹ مورد کوکسی گرم منفی (۸۲/۲٪) جدا گردید. در مرحله بعد از ضد عفونی نمودن به ترتیب باکتری‌های فوق به تعداد ۲۵ مورد (۲۴/۸٪)، ۱۷ مورد (۱۶/۸٪)، صفر مورد (۰٪) و ۶ مورد (۵/۹٪) جدا شد. در مقایسه نتایج هر دو مرحله با هم، کاهش شیوع باکتری‌ها به ترتیب، میزان ۳۲٪ در باسیل‌های گرم مثبت، ۴۳٪ در کوکسی‌های گرم مثبت، ۹۴/۸٪ در باسیل‌های گرم منفی، ۷۶/۹٪ در کوکسی‌های گرم منفی به دست آمد. در نهایت از ۱۱۰۰ عدد کورد پلاکت بعد از ضد عفونی نمودن، تعداد ۴ مورد آلودگی باکتریایی به میزان شیوع (۰/۰۰۳۶٪) جدا شد که در مقایسه با شیوع آلودگی قبل از ضد عفونی (۱٪) اختلاف معنی‌داری حاصل گردید.

نتیجه‌گیری

اقدامات فوق توانسته است با کاهش لگاریتمی عوامل باکتریایی موجود در روند تولید واحدهای پلاکتی، تاییدی بر کاربرد روش مذکور در کاستن از میزان آلودگی باکتریایی فرآورده نهایی (پلاکت‌ها) باشد. با کاهش موثر باکتری‌های گرم منفی، واکنش‌های ناشی از فرآورده‌های خون به ویژه پلاکت به حداقل می‌رسد.

کلمات کلیدی: ویرکن، پلاکت، انتقال خون، باکتری

تاریخ دریافت: ۸۶/ ۱/۱۸

تاریخ پذیرش: ۸۷/ ۱/۲۸

۱- مؤلف مسؤول: کارشناس ارشد میکروبیولوژی - مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران و بیمارستان شهید دکتر فیاض‌بخش - کیلومتر هفت جاده قدیم کرج - کدپستی: ۱۳۷۹۶۱۳۵۴۱

۲- متخصص آسیب‌شناسی - استادیار مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران

۳- متخصص پزشکی اجتماعی - استادیار مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران

۴- PhD میکروبیولوژی - استاد دانشگاه علوم پزشکی ایران و دانشگاه آزاد تهران

مقدمه

آلودگی باکتریایی فرآورده‌های خونی، به ویژه واحدهای پلاکتی به عنوان یک مشکل عمده در طب انتقال خون مطرح می‌باشد. به طوری که تخمین زده شده است میزان شیوع آلودگی باکتریایی در واحدهای پلاکتی حدوداً یک در هزار واحد است. هم چنین خطر سرایت عفونت از طریق پلاکت‌های آلوده به عوامل باکتریایی در مقایسه با خطر انتقال HBV، HCV، HTLV و HIV در هر واحد پلاکتی ۵۰ تا ۲۵۰ برابر بیشتر است (۱). یکی از اقدامات مؤثر در کاهش عفونت باکتریایی خون و فرآورده‌های آن، استفاده از مواد ضد عفونی کننده مناسب برای کاستن عوامل آلودگی باکتریایی موجود در روند تهیه فرآورده‌های خونی به ویژه پلاکت‌ها می‌باشد که ویرکن یکی از این مواد محسوب می‌شود (۲، ۱). ویرکن به دلیل داشتن بنیان آلی خاص، دارا بودن مواد اکسیدان و اسیدهای کاتالیزور آلی و نداشتن آثار و عوارض فارمودینامیکی، کارسینوژنی و سایر ویژگی‌های بارز، علاوه بر این که در رقت‌های پایین (۱ و ۱/۲۵۰) قدرت کشندگی باکتری‌ها، ویروس‌ها و قارچ‌ها را حفظ می‌نماید، از عوامل محیطی نظیر دمای محیط و سایر ترکیبات تاثیر نمی‌پذیرد (۳). در این مطالعه سعی شده است ضمن شناسایی میکروارگانیسم‌های بومی موجود در محیط و تجهیزات مورد استفاده در روند تولید پلاکت، ابتدا رقت و زمان اثر مناسب محلول ویرکن را تعیین و سپس به ارزیابی تاثیر کاربرد صحیح و نظارت شده آن بر کاهش میزان آلودگی فرآورده نهایی (پلاکت‌ها) بپردازیم (۴، ۵).

مواد و روش‌ها

مطالعه انجام شده مداخله‌ای بود. در این مطالعه ابتدا از ۱۶۹ محل در بخش‌های خونگیری، تهیه فرآورده، روتین و پنخس در پایگاه انتقال خون تهران شامل بازوی اهداکننده‌ها قبل و بعد از استفاده از بتادین، محلول بتادین، سواب‌ها، میزهای کار، سطح کیسه‌های پلاکت، اپلیکاتورها، ترالی و شیکرها، سبدهای پلاستیکی مخصوص حمل و نقل کیسه‌های خون و فرآورده‌ها، الکل داخل تانک‌ها، داخل و رویه سانتریفوژهای مخصوص پلاکت، داخل و رویه

یخچال‌ها، روتاتورهای پلاکت، و دستگاه‌های سیل، رویه میزهای تفکیک پلاکت، دست پرسنل و دستکش آن‌ها، در کنار چراغ الکلی به وسیله سواب به طور تصادفی نمونه‌برداری انجام و به محیط‌های CASO برات و CASO آگار منتقل شد. بعد از ۲۴ ساعت گرماگذاری در ۳۷°C، نمونه‌های دارای کدورت بر روی محیط‌های کشت ائوزین متیلن بلو و بلاد آگار پاساژ داده شدند. به دنبال آن ضمن انجام اقدامات تشخیصی میکروشناسی بر روی سویه‌های رشد کرده بلافاصله عملیات جداسازی و تعیین هویت باکتری‌ها انجام شد.

در مرحله بعد برای ارزیابی اثر میزان رقت‌های ویرکن و تاثیر زمان مجاورت آن بر روی باکتری‌های جدا شده در مرحله قبل، ابتدا با استفاده از محلول ۰/۰۱ کلروباریم اقدام به تهیه سوسپانسیونی از میکروب‌های جدا شده بر اساس رقت عدد نیم مک فارلند نموده، سپس رقت‌های ۱ و ۱/۱۰ و ۱/۱۰۰ از ویرکن را با سوسپانسیون تهیه شده مجاور ساخته و در نهایت به مطالعه نتایج رشد و عدم رشد باکتری‌ها در زمان‌های ۱۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه پرداختیم.

در مرحله بعد کلیه محل‌ها و لوازم درگیر در روند تولید پلاکت را به مدت یک هفته و به‌طور روزانه با ویرکن به رقت ۱ ضد عفونی نموده و بعد از گذشت نیم ساعت (همانند مرحله قبل از ضد عفونی) اقدام به نمونه‌برداری تصادفی از ۱۰۱ محل نمودیم. با به کارگیری روش‌های میکروشناسی، به جداسازی و تشخیص میکروب‌های به دست آمده اقدام کردیم و در مرحله نهایی تعداد ۱۱۰۰ عدد کورد از کیسه‌های پلاکت تولید شده (بعد از ضد عفونی محیط با ویرکن) را جدا و طبق دستورالعمل‌های کنترل کیفی پلاکت‌ها، آن‌ها را از نظر آلودگی باکتریایی مورد ارزیابی قرار دادیم. برای این منظور ابتدا محتوی داخل کورد را برای ترکیب و یکنواخت شدن با محتوی داخل کیسه، به درون کیسه خالی کرده و مجدداً با هدایت دوباره پلاکت‌ها به درون کورد، آن‌ها را جدا نمودیم و به مدت ده دقیقه در داخل ظرف حاوی الکل ۷۰ درجه قرار دادیم. سپس با استفاده از سرنگ استریل به میزان ۰/۵ میلی لیتر از پلاکت داخل کورد را به عنوان نمونه برداشته و در کنار شعله به ۵ میلی لیتر محیط تایوگلیکولات تلقیح و به

خون

دوره ۵، شماره ۱، بهار ۸۷

کوکسی‌های گرم منفی (به تعداد ۱۳۹ مورد، ۸۲/۲٪) تقسیم‌بندی شدند.

بعد از ضدعفونی، از سطوح نمونه برداری شده به ترتیب، باسیل‌های گرم مثبت به تعداد (۲۵ مورد، ۲۴/۸٪)، کوکسی‌های گرم مثبت (به تعداد ۱۷ مورد، ۱۶/۸٪)، باسیل‌های گرم منفی (به تعداد صفر مورد) و کوکسی‌های گرم منفی (به تعداد ۶ مورد، ۵/۹٪) ایزوله و تعیین هویت گردیدند. در مقایسه هر دو مرحله با هم، در این مطالعه به کاهش شیوع باکتری‌ها به ترتیب به میزان (۳۲٪) و با (۰/۰۰۲) در باسیل‌های گرم مثبت، (۴۳٪) با (۰/۰۰۱) $p=$ در کوکسی‌های گرم مثبت، (۹۴/۸٪) با (۰/۰۰۸) $p=$ در باسیل‌های گرم منفی و (۷۶/۹٪) با (۰/۰۰۶) $p=$ در کوکسی‌های گرم منفی دست یافتیم (جدول ۱).

در مرحله آخر تعداد ۱۱۰۰ عدد کورد پلاکت که در روند تولید پلاکت (پس از ضدعفونی نمونه با ویرکن) جدا شده بودند، با رعایت و کنترل آزمایش‌های غربالگری و بر اساس دستورالعمل‌های میکروبی‌شناسی بخش کنترل کیفی مورد ارزیابی قرار گرفتند. از میان کوردهای جدا شده با ۴ مورد کورد آلوده به باکتری مواجه شدیم (۰/۰۰۳۶) که دو مورد آن‌ها، باسیل گرم مثبت و دو مورد دیگر استافیلوکوک ساپروفیتیکوس بودند.

مقایسه این آمار با آمار آلودگی پلاکتی در واحد کنترل کیفی پایگاه تهران (قبل از این مطالعه) که معادل ۱٪ بود، بیان‌گر اثر بخشی استفاده صحیح از پودر ویرکن در کاهش آلودگی باکتریایی بود (۰/۰۰۱۷) $p=$.

مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار دادیم. نهایتاً این محیط‌ها را زیر هود و کنار شعله از نظر کدورت بررسی نمودیم. شایان ذکر است برای به دست آوردن آمار آلودگی پلاکت‌ها قبل از استفاده از ویرکن به آمار واحد کنترل کیفی پایگاه تهران استناد گردیده است. کلیه اطلاعات جمع‌آوری شده وارد نرم‌افزار SPSS گردید و با استفاده از آزمون آماری کای‌دو و دقیق فیشر مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

نتایج حاصل از تأثیر رقت‌های مختلف ویرکن در زمان‌های متفاوت بر باکتری‌های جدا شده از مرحله اول مطالعه نشان داد که ویرکن با رقت ۱ و زمان تماس حداکثر تا نیم ساعت، قادر به از بین بردن اکثر باکتری‌ها بوده است. با این حال طولانی‌تر کردن زمان اثر ویرکن تا یک ساعت و با غلظت ۱ می‌تواند تمامی باکتری‌های مقاوم، به خصوص باکتری‌های اسپوردار را از بین ببرد. باکتری‌های جدا شده از محل‌های نمونه‌برداری شده (قبل از ضدعفونی نمودن با ویرکن) شامل پروتئوس، استافیلوکوک، استرپتوکوک، ایتروباکتر، اشریشیاکلی، کلبسیلا، باسیل‌های گرم مثبت اسپوردار و بدون اسپور، دیپلوکوک‌های گرم مثبت بودند. در چهار گروه، باسیل‌های گرم مثبت (به تعداد ۹۶ مورد، ۵۶/۸٪)، کوکسی‌های گرم مثبت (به تعداد ۱۰۱ مورد، ۵۹/۸٪)، باسیل گرم منفی (به تعداد ۱۵۹ مورد، ۹۴/۸٪) و

جدول ۱: توزیع فراوانی میکروارگانیسم‌ها قبل و بعد از کاربرد صحیح محلول ویرکن

نوع میکروارگانیسم	زمان نمونه‌برداری	تعداد باکتری‌های ایزوله شده	فراوانی نسبی	کاهش
باسیل‌های گرم مثبت	قبل	۹۶	۵۶/۸٪	۳۲٪
	بعد	۲۵	۲۴/۸٪	
کوکسی‌های گرم مثبت	قبل	۱۰۱	۵۹/۸٪	۴۳٪
	بعد	۱۷	۱۶/۸٪	
باسیل‌های گرم منفی	قبل	۱۵۹	۹۴/۸٪	۹۴/۸٪
	بعد	۰	۰	
کوکسی‌های گرم منفی	قبل	۱۳۹	۸۲/۲٪	۷۶/۹٪
	بعد	۶	۵/۹٪	

بحث

نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان داد که ویرکن با رقت‌های پایین $\frac{1}{100}$ و $\frac{1}{200}$ تا زمان حداکثر ۶۰ دقیقه تمامی باکتری‌ها حتی باکتری‌های مقاوم و اسپوردار را در سوسپانسیون‌های تهیه شده از بین می‌برد. در حالی که در یک بررسی که در سال ۱۳۷۶ در مرکز پژوهش و پالایش پلاسماهای سازمان انتقال خون انجام شده بود برای از بین بردن باسیلوس‌ها با غلظت $\frac{1}{100}$ ، زمان ۲۴ ساعت برآورد گردیده بود.

لذا استفاده از نتایج طرح مذکور می‌تواند با انتخاب ماده ضد عفونی کننده مناسب سبب صرفه‌جویی در زمان و هزینه‌های جانی گردد. هم‌چنین پایداری نسبی باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی بعد از ضد عفونی با ویرکن، مؤید تأثیر قوی‌تر ویرکن بر باکتری‌های گرم منفی (با توجه به مکانیسم اثر آن بر دیواره باکتری‌ها) می‌باشد.

در مطالعه‌ای که توسط فوره در مورد منابع آلوده‌کننده پلاکت‌ها صورت گرفت، مشخص کرد که آلودگی پلاکت‌ها بیشتر در اثر آلودگی محل خونگیری، مکان خونگیری، وسایل خونگیری، وسایل حمل خون، سطح میزها، دیوارها، یخچال‌ها و دستگاه‌ها، به علت ناکافی بودن عمل ضد عفونی‌کنندگی می‌باشد. به علاوه پلاکت‌ها ممکن است در مرحله جمع‌آوری و تهیه نیز آلوده گردند (۶). هم‌چنین آلودگی ممکن است به علت باکتری‌ها یا عفونت مزمن در اهدا کننده بدون علامت رخ دهد. همین‌طور در این مطالعه نشان داده شد که نظارت به نحوه ضد عفونی محل‌ها و وسایلی که به نحوی در روند تهیه پلاکت‌ها اثر

می‌گذارند، توانسته است با کاستن از میزان آلودگی فرآورده نهایی (پلاکت‌ها)، بر کارایی این تحقیق صحنه گذارد. به کارگیری روش دستی (به جای روش‌های اتوماتیک)، هم‌چنین کم بودن نسبی تعداد پلاکت‌های بررسی شده به عنوان محدودیت در این مطالعه قابل ذکر است. در خاتمه پیشنهاد می‌شود که با تدوین دستورالعمل مناسب جهت ضد عفونی محیط تهیه فرآورده‌های خونی در پایگاه‌ها و به کارگیری آن‌ها، می‌توان سلامت خون و فرآورده‌ها را تضمین و ارتقا بخشید. ضمناً اقدامات فوق توانسته است با کاهش لگاریتمی عوامل باکتریایی موجود در روند تولید واحدهای پلاکتی، بر تأثیر روش فوق در کاستن از میزان آلودگی باکتریایی فرآورده نهایی تأکید نماید و با کاهش مؤثر باکتری‌های گرم منفی، واکنش‌های ناشی از فرآورده‌های خون به ویژه پلاکت به حداقل برسد.

نتیجه‌گیری

کاربرد صحیح و نظارت شده ویرکن جهت ضد عفونی می‌تواند با کاستن از عوامل باکتریایی دخیل در روند تولید پلاکت، سبب کاهش میزان آلودگی فرآورده نهایی (پلاکت) شود.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله نویسندگان مقاله از شورای پژوهشی و حوزه معاونت آموزشی و پژوهشی و همکاری صمیمانه تمامی بخش‌های پایگاه انتقال خون تهران تشکر و سپاسگزاری می‌نمایند.

References :

- 1- Gharehbaghian A, Rezvan H, Nasizadeh S. Blood safety and surveillance. Tehran: Iranian Blood Transfusion Organization Research Center Publications; 2004.
- 2- Rezvan H. Viruses and blood transfusion. Tehran: Boshra Publications; 2003.
- 3- Ahmadi J, Gholizadeh HR, Farseh R, Sharifi Sh. Evaluation of bacterial contamination of platelet concentrates collected at Tehran Regional Blood Center. Blood 2006; 2 (6): 233-37.
- 4- Morrissey Rf, Briggs Phillips G. The use of liquid chemical germicides. Sterilization Technology Pub: Chapman and Halli; 1993:309-34.
- 5- Pelezar MJ, Chan E, Krieg NR. Control of micro organisms: chemical agents microbiology concepts and application: New York: Mc GrewHill; 1993. p. 221-40.
- 6- Favero MS, Bond WW. Sterilization and disinfection zinsser microbiology. Van Nostrand Reinhold 1992: 188-200.

Evaluation of the effect of Virkon disinfectant in reducing bacterial contamination of platelet components

Sadeh M.^{1,2}(MS), Razjou F.²(MD), Maghsudlu M.²(MD), Norouzi G.³(PhD)

¹Fayazbakhsh Hospital, Tehran, Iran

²Iranian Blood Transfusion Organization - Research Center, Tehran, Iran

³Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Background and Objectives

One of the main steps in reducing bacterial contamination of blood and blood components is the correct use of appropriate disinfectants at blood collection sites and blood processing areas. Virkon is one of the most effective disinfectants consisting of a high percentage of surfactant. The purpose of the present study was to test the bactericidal effect of Virkon on native species of bacteria seen in Iran by selecting a suitable concentration of Virkon.

Materials and Methods

This was an interventional study. 169 samples were taken from laboratory benches, instruments and outer surfaces of blood bags. After the growing bacteria were identified, their CFU/ml was also determined. Later, all the laboratory benches and instruments involved in the preparation of platelet components were disinfected using (1%) Virkon solution. 101 samples were taken from disinfected areas and swabs were plated on to standard bacteriological media and plates were read. 1100 segments from platelet bags were also separated and the platelet contents were plated and any bacterial growth were assessed using quality control department guidelines. Finally, all the data were analyzed using SPSS, Chi-square and Fischer exact test.

Results

Out of 169 samples which were plated before disinfection by Virkon, 96 were 56.8% gram positive b., 101 were 59.8% gram positive cocci, 159 were 94.8% gram negative b., and 139 were 82.2% gram negative cocci. Out of 101 samples post-disinfected by virkon solution, 25 came out to be 24.8% gram positive b., 17 were 16.8% gram positive cocci, and 6 were 5.9% gram negative b. Out of 1100 segments separated from platelet bags, 4 showed bacterial growth (0.0036%), 2 had gram positive b. growth, and 2 had staph.

Conclusions

By using correct concentration of Virkon solution and following the exact manufacture's instruction for use, we were able to observe log reduction in bacterial contamination of the areas where blood components were prepared. The reduction of bacterial contamination in platelet components prepared after disinfection of the working areas by Virkon solution should be emphasized.

Key words: Virkon, Platelets, Blood transfusion, Bacteria
SJIBTO 2008; 5(3): 179-184

Received: 7 Apr 2007

Accepted: 16 Apr 2008

Correspondence: Sadeh M., MS of Microbiology. Iranian Blood Transfusion Organization – Research Center and Fayazbakhsh Hospital.
 P.O.Box: 1379613541, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 66260240-9; Fax : (+9821) 66250743
 E-mail: M-Sadeh.15026@yahoo.com