Archive of SID

خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۱۲ شماره ۳ پاییز ۹۵ (۲۴۷-۲۴۳)

مقاله کوتاه

آلودگی باکتریایی فرآورده‌های پلاکتی تهیه شده با کیسه جانبی (همراه و بدون کیسه نمونه‌گیری) در دو مقطع زمانی مختلف در مرکز انتقال خون کرمان

محمد صادق رازقی[۱]، نازنین چترآبنوس[۲]، سعید سلیمانی[۳]، احسان کافی[۲]

چکیده

سابقه و هدف

آلودگی باکتریایی در پلاکت‌های کنسانتره، از عوارض شایع و خطرناک انتقال خون در جهان است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی آلودگی باکتریایی فرآورده‌های پلاکتی تهیه شده در پایگاه انتقال خون کرمان با روش کشت بود.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه توصیفی- مقطعی به صورت تصادفی، ۶۳۰ نمونه فرآورده پلاکتی در دو گروه (۳۶۰ نمونه با استفاده از کیسه جانبی بدون کیسه نمونه‌گیری و ۲۷۰ نمونه با استفاده از کیسه جانبی همراه با کیسه نمونه‌گیری) وارد مطالعه گردید. این نمونه‌ها در محیط‌های ائوزین متیلن بلو و بلادآگار کشت و پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، بررسی شدند. تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۱۹ و آزمون‌های آمار توصیفی انجام شد.

یافته‌ها

از مجموع ۶۳۰ نمونه کشت داده شده، تعداد ۵ مورد(۱/۳۹٪) آلوده تشخیص داده شد که همگی مربوط به نمونه‌های پلاکت تهیه شده از کیسه‌های جانبی، بدون کیسه نمونه‌گیری بود. باکتری‌های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس(۳ مورد) و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس(۲ مورد) از نمونه‌ها جدا شدند.

نتیجه‌گیری

با توجه به پیشرفت‌هایی که در زمینه جمع‌آوری، تهیه و ذخیره پلاکت‌های کنسانتره به وجود آمده است، عفونت باکتریایی ناشی از انتقال پلاکت‌های آلوده به طور چشمگیری کاهش یافته که ارتقاء فرآیندها و استقرار GMP ، نقش عمده‌ای در این کاهش داشته است.

کلمات کلیدی: خون، انتقال پلاکت، انتقال خون، اهداکنندگان خون

تاریخ دریافت: ۹۴/ ۲/ ۶
تاریخ پذیرش: ۹۵/۳/۱۲

۱- کارشناس ارشد ایمونولوژی ـ مربی دانشکده علوم پزشکی سیرجان ـ دانشگاه علوم پزشکی کرمان ـ کرمان ـ ایران
۲- کارشناس ارشد ایمونولوژی ـ دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان ـ کرمان ـ ایران
۳- مؤلف مسئول: کارشناس ارشد ایمونولوژی ـ دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان و مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون و پایگاه منطقه‌ای آموزشی انتقال خون کرمان ـ بلوار ۲۲ بهمن ـ کرمان ـ ایران ـ کدپستی: ۷۶۱۶۸۵۹۹۷۹

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

آلودگی باکتریایی در پلاکت‌های کنسانتره (PC)، از عوارض نسبتاً شایع و بسیار خطرناک انتقال خون در جهان است(۲، ۱).

باکتری منتقل شده از طریق انتقال خون، بیشتر توسط پلاکت‌های تزریقی صورت می‌گیرد تا سایر فرآورده‌ها، چرا که این محصولات بایستی در دمای ۲۰ الی ۲۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شوند و این دما شرایط مناسب جهت زیست و عملکرد باکتری‌ها می‌باشد(۴، ۳).

اکثر باکتری‌های جدا شده از واحدهای پلاکتی آلوده شده با عوامل باکتریایی، جزیی از فلور طبیعی پوست می‌باشند. تصور بر این است که این ارگانیسم‌ها در هنگام سوزن زدن جهت خونگیری به کیسه خون وارد می‌شوند. عوامل میکروبی مانند استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، استافیلوکوکوس اورئوس و گونه‌های مختلف جنس باسیلوس به عنوان عوامل آلوده کننده در کشت‌های خون مورد مطالعه مطرح می‌باشند(۳).

افزایش احتمال رشد عمده باکتری‌ها با افزایش تعداد روزهای نگهداری و ذخیره‌سازی همراه با گزارش ثانویه مرگ و میر مرتبط با آلودگی پلاکت‌ها، موجب بازنگری و تجدید نظر در دستورالعمل‌ها و مقررات اداره کل غذا و دارو جهت کم کردن زمان نگهداری پلاکت‌ها از ۷ روز به ۵ روز گردید(۶، ۵).

با توجه به این که در پایگاه انتقال خون کرمان، فرآورده‌های پلاکتی تهیه شده تا سه روز تاریخ مصرف دارند و هم چنین نظر به عوارض خطرناک آلودگی باکتریایی این فرآورده‌ها، بر آن شدیم تا با بررسی و ارزیابی میزان آلودگی باکتریایی فرآورده‌های پلاکتی تهیه شده در پایگاه انتقال خون کرمان و عوامل مرتبط به آن، نتایج را با موارد سال ۸۶-۱۳۸۵ مقایسه و نتایج کاربردی آن را مورد استفاده قرار دهیم.

مواد و روش‌ها

مطالعه از نوع توصیفی- مقطعی(Cross-sectional) بود. تعداد ۶۳۰ نمونه پلاکتی در دو مقطع زمانی طی سال‌های ۱۳۸۶-۱۳۸۵ و ۱۳۹۱-۱۳۹۰ به ترتیب ۳۶۰ نمونه(با استفاده از کیسه جانبی بدون کیسه نمونه‌گیری) و ۲۷۰ نمونه با استفاده از کیسه‌های جدید خونگیری همراه با کیسه نمونه‌گیری در پایگاه مرکزی انتقال خون کرمان که با روش PRP-PC (Platelet Rich Plasma-Platelet Concentrate) تهیه و به صورت تصادفی جمع‌آوری شده بودند، کشت داده شدند. آلودگی باکتریایی در کیسه‌ها به طور مستقیم مورد بررسی قرار گرفت. محیط‌های کشت مورد نیاز به صورت هفتگی و با توجه به آمار پلاکت‌های دریافتی از واحد پخش خون تهیه گردید که این محیط‌های کشت شامل محیط تیوگلیکولات، بلادآگار، EMB و محیط‌های افتراقی مورد نیاز جهت شناسایی باکتری مورد نظر بود. مراحل خونگیری طبق دستورالعمل سازمان انتقال خون انجام گردید.

نمونه‌ها در محیط‌های ائوزین‌بلو و بلادآگار کشت داده شدند. هم چنین به طور هم زمان نمونه‌ها به محیط تیوگلیکولات به نسبت ۱:۱۰ منتقل شدند.

پلیت‌ها بعد از ۴۸ ساعت از لحاظ رشد کلونی بررسی شدند که در صورت کشت مثبت، نوع باکتری با استفاده از آزمایش‌های باکتری‌شناسی و بیوشیمیایی استاندارد مشخص گردید. جهت شناسایی استاف اورئوس از سایر استافیلوکوک‌ها، از آزمایش کواگولاز استفاده شد. برای افتراق استاف‌های اپیدرمیدیس و ساپروفیتیکوس با توجه به این که هر دو کواگولاز منفی هستند، بر اساس واکنش نسبت به آنتی‌بیوتیک نوبیوسین از یکدیگر تمیز داده شدند(استاف اپیدرمیدیس نسبت به آنتی‌بیوتیک حساس و استاف ساپروفیتیکوس نسبت به آن مقاوم است). لوله‌های تیوگلیکولات در طول ۷ روز از لحاظ کدورت و تغییر رنگ بررسی شدند که در صورت تغییر به محیط‌های بلادآگار و ائوزین‌بلو انتقال داده شدند و بعد از ۴۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها

طبق نتایج، میزان آلودگی در پلاکت‌های کنسانتره مورد بررسی ۱/۳۹٪ (۵ مورد آلوده) بود که همگی مربوط به نمونه‌های پلاکت تهیه شده از کیسه جانبی بدون کیسه نمونه‌گیری بودند(جدول ۱). باکتری‌های جدا شده عبارت

www.SID.ir

Archive of SID

بودند از:

۱- استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس (۳ مورد)

۲- استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس (۲ مورد)

هم چنین طبق نتایج، در نمونه‌های پلاکت تهیه شده از کیسه جانبی همراه با کیسه نمونه‌گیری، هیچ‌گونه آلودگی مشاهده نشد(جدول ۱).

جدول ۱: مقایسه توزیع فراوانی آلودگی

نتیجه کشت	نمونه پلاکت	
	کیسه جانبی بدون کیسه Sampling pouch (سال ۱۳۸۶-۱۳۸۵)	کیسه جانبی همراه با کیسه Sampling pouch (سال ۱۳۹۱)
منفی	۳۵۵	۲۷۰
درصد فراوانی	۹۸/۶۱	۱۰۰
مثبت	۵	۰
درصد فراوانی	۱/۳۹	۰
جمع	۳۶۰	۲۷۰

بحث

باکتری‌ها به عنوان مهم‌ترین عامل عفونی در انتقال خون شناخته شده‌اند و آلودگی باکتریایی فرآورده‌های خونی و مخصوصاً پلاکت‌ها، خطر جدی در طب انتقال خون هستند. تخمین زده می‌شود میزان شیوع آلودگی در پلاکت ۱ در ۲۰۰۰ تا ۳۰۰۰ واحد پلاکتی باشد(۳). اکثر باکتری‌های جدا شده از واحدهای پلاکتی آلوده شده با عوامل باکتریایی، جزئی از فلور طبیعی پوست می‌باشند. تصور بر این است که این ارگانیسم‌ها در هنگام سوزن زدن جهت خونگیری به کیسه خون وارد می‌شوند. عوامل میکروبی مانند استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، استافیلوکوکوس اورئوس و گونه‌های مختلف جنس باسیلوس به عنوان عوامل آلوده کننده در کشت‌های خون مورد مطالعه مطرح می‌باشند(۳). در سال‌های گذشته، با وجود تمامی تمهیداتی که در مراحل تهیه پلاکت انجام می‌گرفت تا از آلودگی میکروبی جلوگیری شود، با این حال به دلیل این که پلاکت تغلیظ شده از اهداکنندگان متعددی تهیه می‌شود که ممکن است باکتریمی بدون علامت داشته باشند و از طرفی دیگر شرایط نگهداری پلاکت بایستی در حرارت محیط باشد، بنابراین احتمال آلودگی میکروبی در روند تولید و به دنبال آن تکثیر باکتری‌ها در حرارت محیط زیاد بود(۷).

در این مطالعه، با توجه به مقایسه نتایج با یافته‌های قبلی در این مرکز، کنترل کیفی سازمان انتقال خون رشد چشمگیری در کیفیت فرآیندهای انتقال خون را نشان می‌دهد به طوری که میزان آلودگی با رعایت استانداردهای بین‌المللی GMP (Good Manufacturing Practice) که در تمام پایگاه‌های انتقال خون سراسر کشور به صورت یکسان اعمال می‌شود در مقایسه با قبل، به طور چشمگیری کاهش(صفر درصد) یافته است.

بیشتر باکتری‌های جدا شده فلور نرمال پوست بوده که در اثر ناکافی بودن و استاندارد نبودن عمل ضد عفونی محل خونگیری، وارد کیسه می‌شوند(۸، ۳). هم چنین در مواردی به علت باکتریمی در دهنده خون، پلاکت‌ها آلوده می‌شوند. منابع دیگر آلودگی، آلودگی‌های اتفاقی است که در طی مراحل تهیه فرآورده به وجود می‌آید(۹).

روش‌های مختلفی برای تشخیص آلودگی باکتریایی در پلاکت‌های کنسانتره وجود دارد از جمله؛ روش کشت گلد استاندارد، رنگ‌آمیزی گرم، اندازه‌گیری pH ، سنجش میزان گلوکز و روش‌های مولکولی(۱). در ایران با توجه به این که اغلب اوقات کیسه‌های ذخیره خون CLX (The Clorox Company) وجود ندارد، نیمه عمر پلاکت‌ها ۳ روزه است(۹). موارد مثبت کاذب می‌تواند به دلیل آلودگی هنگام کشت ایجاد شود. در این مطالعه با توجه به آلودگی مشاهده شده(۵ مورد) در بررسی انجام گرفته در سال ۱۳۸۶-۱۳۸۵ بر روی ۳۶۰ نمونه پلاکتی(با استفاده از کیسه جانبی بدون کیسه نمونه‌گیری)، برای کاهش موارد فوق، علاوه بر استفاده از هودهای بیولوژیک، به کار بردن سرنگ‌های استریل یک بار مصرف، استفاده از محیط‌های کشت تجارتی و استریل، پلیت‌های پلاستیکی یک بار مصرف، استفاده از الکل به منظور از بین بردن میکرو ارگانیسم‌های احتمالی روی سطوح کیسه‌ها، روش‌های زیر نیز به کار رفت: استفاده از ظروف استریل یک بار مصرف جهت نگهداری محلول‌های ضد عفونی کننده دست

www.SID.ir

Archive of SID

اهداکنندگان و دور ریختن این ظروف بعد از اتمام هر شیفت کاری و هم چنین کیسه‌های خونگیری همراه با کیسه نمونه‌گیری(sampling pouch) جهت حذف ۳۰ میلی‌لیتر اول خون و نتایج آن با یافته‌های بررسی قبلی مقایسه گردید. این نوع کیسه علاوه بر دارا بودن کیسه‌های اصلی و جانبی که به منظور جدا کردن و نگهداری گلبول قرمز متراکم، پلاسمای تازه منجمد شده و پلاکت به کار می‌رود، شامل یک کیسه فرعی کوچک به نام sampling pouch یا کیسه نمونه‌گیری به حجم تقریبی ۳۰ میلی‌لیتر می‌باشند که وجود این کیسه فرعی به دو علت بود، اول این که چند میلی‌لیتر خونی که در ابتدا گرفته می‌شود ممکن است به دلیل آلودگی سطح پوست به میکروارگانیسم‌های موجود در محل خونگیری و ورود سوزن، هم چنین ضد عفونی نکردن درست محل خونگیری، باعث رشد و تکثیر عوامل عفونت‌زا شده که به این وسیله این مقدار خون از مسیر اصلی جمع‌آوری خارج گشته و در نهایت به بیمار هم تزریق نمی‌شود. دوم این که جهت نمونه‌گیری، از کیسه‌ی فرعی مزبور استفاده می‌شود که روشی کاملا بی‌خطر و مطمئن از نظر آلودگی پرسنل خونگیری در اثر تماس با خون اهداکننده می‌باشد.

نتیجه‌گیری

با توجه به پیشرفت‌هایی که در زمینه جمع‌آوری، تهیه و ذخیره پلاکت‌های کنسانتره به وجود آمده است، عفونت باکتریایی ناشی از انتقال پلاکت‌های آلوده به طور چشمگیری کاهش یافته که در واقع ارتقاء فرآیندها و رعایت بالاترین استانداردهای بین‌المللی GMP ، نقش عمده‌ای در کاهش چشمگیر آلودگی در میان اهداکنندگان خون نسبت به سال‌های قبل داشته است. با این حال، با اجرای برگزاری دوره‌های آموزش خونگیری و نحوه اجرای صحیح استاندارد ضدعفونی دست پرسنل خونگیر، استفاده از ظروف استریل یکبار مصرف جهت نگهداری محلول‌های ضدعفونی کننده دست اهداکنندگان، دور ریختن این ظروف بعد از اتمام هر شیفت کاری و هم‌چنین استفاده از کیسه‌های خونی جدید، می‌توان گام‌های مؤثرتری در افزایش ضریب سلامت محصولات خونی برداشت.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نویسندگان مقاله، مراتب تقدیر و تشکر خود را از پشتیبانی مدیر سازمان انتقال خون کرمان آقای دکتر محمدرضا مهدی‌زاده و پرسنل آن مجموعه خانم عزیزه پورجعفری اظهار می‌نمایند.

References:

1- Girgis SA, Ismail GA, Bahgat FE, Ali IK, Rashad SS, Ahmed SF. Rapid Detection of Bacterial Contamination in Platelet Concentrates, by Polymerase Chain Reaction and DNA Sequencing in Comparison to Conventional Automated Culture. In J Curr Microbiol App Sci 2014; 3(4): 38-52.
2- Pietersz RN, Reesink HW, Panzer S, Oknaian S, Kuperman S, Gabriel C, *et al*. Bacterial contamination in platelet concentrates. Vox Sang 2014; 106(3): 256-83.
3- Vedy D, Robert D, Gasparini D, Canellini G, Waldvogel S, Tissot JD and *et al*. Bacterial contamination of platelet concentrates: pathogen detection and inactivation methods. Hematol Rev 2009; 1(1): e5.
4- Besson Faure I. Rapid screening for bacterial contamination of blood products. J Lab Med 2006; 30(2): 91-100. [Article in German]
5- Brecher ME, Means N, Jere CS, Heath D, Rothenberg S, Stutzman LC.t al. Evaluation of an automated culture system for detecting bacterial contamination of platelets: an analysis with 15 contaminating organisms. Transfusion 2001; 41(4): 477-82.
6- Yomtovian RA, Palavecino EL, Dysktra AH, Downes KA, Morrissey AM, Bajaksouzian S, *et al*. Evolution of surveillance methods for detection of bacterial contamination of platelets in a university hospital, 1991 through 2004. Transfusion. 2006; 46(5): 719-30.
7- Rahimkhani M, Alizadeh Mohammad Shir Z, Erfani Y. Microbial contamination detection methods in platelet concentrates. Sci J Iran Blood Transfus Organ 2008; 4(4): 265-74. [Article in Farsi]
8- Schrezenmeier H, Walther-Wenke G, Müller TH, Weinauer F, Younis A, Holland-Letz T, *et al*. Bacterial contamination of platelet concentrates: results of a prospective multicenter study comparing pooled whole blood-derived platelets and apheresis platelets. Transfusion 2007; 47(4): 644-52.
9- Ahmadi J, Gholizadeh HR, Farseh R, Sharifi Sh. Evaluation of bacterial contamination of platelet concentrates collected at Tehran Regional Blood Center. Sci J Iran Blood Transfus Organ 2006; 2(6): 233-37. [Article in Farsi]

www.SID.ir

Archive of SID

Sci J Iran Blood Transfus Organ 2016; 13(3): 243-247

Short Communication

Evaluation of Bacterial contamination of platelet products by triple packs with and without sampling pouch in two different periods in Kerman Blood Center

Razeghi M.S.[1], ChatrAbnous N.[2], Soleimani S.[2,3,4], Kafi E.[2]

[1]Sirjan Faculty of Medical Sciences, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
[2]School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
[3]Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran
[4]Regional Educational Blood Transfusion Center, Kerman, Iran

Abstract

Background and Objectives

Bacterial infection following platelet transfusion is a major problem in transfusion medicine. The present study was carried out in order to evaluate the bacterial contamination of platelet concentrates collected at Kerman Regional Educational Blood Center.

Materials and Methods

In this cross-sectional study, 630 random samples of platelet transfusion in both groups (360 subjects using triple bags without sampling pouch and 270 samples using triple bags with sampling pouch) were selected. Bacterial growth of samples of platelet concentrates was studied in blood agar, EMB and thioglycollate broth after 48 hours at 37°C. SPSS 19 has been used for data analysis.

Results

Out of 630 samples of platelet concentrates studied, 5 (1.39%) were found positive for bacterial contamination all taken from the platelet samples prepared by triple bags without sampling pouch. The bacteria identified were as follows: Staph. Epidermidis (n = 3), Staph. saprophyticus (n= 2). In the platelet samples made from triple bags with sampling pouch, there was no contamination.

Conclusions

Due to advances in the collection, preparation and storage of platelet concentrates, transmitted bacterial infection caused by contaminated platelets dropped significantly. This is due to the efforts of effective quality control processes to improve the quality of blood transfusion.

Key words: Blood, Platelet Transfusion, Blood Transfusion, Blood Donors

Received: 26 Apr 2015
Accepted: 1 Jun 2016

Correspondence: Soleimani S., MSc of Immunology. School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences & Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine and Regional Educational Blood Transfusion Center.
Postal Code: 7616859979, Kerman, Iran. Tel: (+98341) 3230712; Fax: (+98341) 3230017
E-mail: *saeed.soleimanyamoli@gmail.com*

www.SID.ir