خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۶ شماره ۴ زمستان ۸۸ (۲۶۵-۲۵۷)

مقاله پژوهشی

آلودگی باکتریایی واحدهای خون بند ناف ذخیره شده در بانک خون بند ناف رویان از سال ۱۳۸۳ تا ۱۳۸۶

محمد حسین احمدی[۱]، خدیجه اعتدالی[۲]، مرضیه ابراهیمی[۳]، سلاله صمیمی[۴]، منیره محمد[۵]، امین خوش اخلاق[۶]، طاهره زندیه[۷]، مرتضی ضرابی[۸]

چکیده

سابقه و هدف

خون بند ناف به طور موفقیت‌آمیزی از سال ۱۹۸۸ به عنوان یک منبع مهم برای سلول‌های بنیادی خونساز استفاده شده است. احتمال ایجاد آلودگی‌های باکتریایی در زمان خونگیری از بند ناف و نیز در طی فرآیندهای مربوط به پردازش آن وجود دارد. هدف از این تحقیق، بررسی و تعیین منشأ و نوع آلودگی باکتریایی نمونه‌های خون بند ناف در بانک خون بند ناف پژوهشکده رویان بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی، تعداد ۳۰۷۴ واحد خون بندناف که در مدت ۳ سال جمع‌آوری شده، از نظر آلودگی باکتریایی مورد بررسی قرار گرفت. به منظور شناخت منشأ آلودگی، ۸۰۰ کیسه بررسی و از هر کیسه دو نمونه کشت و باکتری‌های جدا شده تعیین سویه شدند. نتایج توسط آزمون کای‌دو و نرم‌افزار SPSS ۱۶ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

از مجموع ۳۰۷۴ واحد خون بند ناف، تعداد ۹۳ واحد(۳/۰۲٪ ، CI ٪ ۹۵ =۳/۶-۲/۳) آلودگی باکتریایی داشتند. در بررسی دوم از مجموع ۸۰۰ واحد، تعداد ۲۶ واحد(۳/۳٪) از نظر کشت میکروبی مثبت بودند که ۲۵ واحد(۹۶/۲٪) آن در مرحله خونگیری و ۱ مورد(۳/۸٪) پس از انجام فرآیند پردازش مثبت شده بود.

نتیجه گیری

در این تحقیق، بیشترین آلودگی مربوط به بخش زایمان بیمارستان‌ها بود که درحین خونگیری نادرست از بند ناف ایجاد شده بود و اکثریت این باکتری‌های جدا شده مربوط به فلور نرمال پوست و دستگاه تناسلی بودند؛ لذا با توجه به اهمیت و ارزش بالای سلول‌های خون بند ناف و عوارض خطرناک ناشی از پیوند نمونه عفونی، تدوین برنامه‌هایی به منظور آموزش جهت اخذ استریل نمونه، ضروری به نظر می‌رسد.

کلمات کلیدی: **بانک‌های خون، ذخیره کرایو، خون بند ناف**

تاریخ دریافت : ۸۸/ ۳/ ۹
تاریخ پذیرش : ۸۸/۶/۲۴

۱ـ مؤلف مسؤول: کارشناس ارشد میکروب شناسی پزشکی ـ آزمایشگاه میکروب‌شناسی بانک خون بند ناف رویان ـ صندوق پستی: ۳۱۶۵-۱۶۷۶۵
۲ـ کارشناس زیست‌شناسی ـ آزمایشگاه میکروب‌شناسی بانک خون بند ناف رویان
۳- PhD ایمونولوژی ـ استادیار گروه سلول‌های بنیادی پژوهشکده رویان
۴- کارشناس میکروبیولوژی ـ آزمایشگاه پردازش بانک خون بند ناف رویان
۵ـ کارشناس علوم آزمایشگاهی ـ آزمایشگاه پردازش بانک خون بند ناف رویان
۶ـ کارشناس زیست‌شناسی عمومی ـ آزمایشگاه پردازش بانک خون بند ناف رویان
۷ـ PhD بیوتکنولوژی ـ مسؤول کمیته کنترل کیفی بانک خون بند ناف رویان
۸ـ پزشک عمومی ـ استادیار بانک خون بند ناف رویان

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-25]

مقدمه

خون بند ناف به طور موفقیت‌آمیزی از سال ۱۹۸۸ به عنوان یک منبع برای سلول‌های بنیادی خونساز (هماتوپویتیک) جهت انجام پیوند برای گیرندگان خویشاوند و غیرخویشاوند مورد استفاده قرار گرفته است(۳-۱). در واقع خون بند ناف می‌تواند به عنوان جایگزین مناسبی برای سلول‌های بنیادی خونساز مغز استخوان و خون محیطی در انجام پیوند برای گیرنده‌های انتخابی قرار گیرد(۴). پیوند خون بندناف، حتی زمانی که سلول‌های مربوط به دهندگان نسبتاً ناسازگار از نظر کمپلکس اصلی سازگاری نسجی(MHC) مورد استفاده قرار می‌گیرند، با کاهش خطر ابتلا به فرم شدید بیماری "واکنش پیوند علیه میزبان(GVHD) "مرتبط شده است(۵). هم چنین با توجه به ویژگی‌های دیگر این خون، ذخیره‌سازی آن و تشکیل بانک‌های خون بند ناف پیشنهاد شده است. باید توجه داشت که آلودگی میکروبی(به خصوص آلودگی‌های باکتریایی) نمونه‌های ذخیره شده، خطر بسیار مهمی را برای افراد گیرنده پیوند که دارای سیستم ایمنی شدیداً سرکوب شده و ضعیف می‌باشند، ایجاد می‌کند. سازمان غذا و داروی امریکا (FDA)، تخمین زده که در مورد ۷ پیوندی که سالانه به مرگ منتهی می‌شود، می‌توان با حذف عفونتی که به واسطه آلودگی میکروبی سلول‌های دهنده ایجاد می‌شود، از مرگ این بیماران ممانعت کرد(۶).

هم چنین طبق گزارش‌های FDA ، از ۱۸۲ مورد مرگ و میر ناشی از انتقال خون در بین سال‌های ۱۹۸۶ تا ۱۹۹۱، ۲۹ مورد(۷۲٪) به علت تزریق پلاکت و بقیه مربوط به فرآورده‌های گلبول قرمز بوده که با عوامل میکروبی آلوده شده بودند(۷). آلودگی باکتریایی فرآورده‌های خونی از مشکلات نسبتاً شایع و بسیار خطرناک در سازمان‌های انتقال خون می‌باشد(۸). تظاهرات بالینی بعد از تزریق فرآورده‌های خونی آلوده، از واکنش‌های تب‌زای خود محدود شونده تا شوک عفونی(Septic Shock) و یا حتی مرگ متغیر است(۹). طبق مطالعه‌های انجام شده، بیشتر باکتری‌های جدا شده از فرآورده‌های خونی آلوده، فلور نرمال پوست بوده که در اثر ناکافی بودن و استاندارد نبودن عمل ضد عفونی محل خونگیری، وارد کیسه‌های خون می‌شوند(۱۳-۱۰، ۷). اختلافاتی که در میزان آلودگی فرآورده‌های خونی وجود دارد، بستگی به شرایط خونگیری، روش‌های تهیه و نگهداری فرآورده‌های خونی، روش‌های بررسی و زمان نمونه‌گیری دارد(۱۲، ۹).

از آن جایی که مواد ضد عفونی‌کننده پوست نمی‌توانند به طور مطلق و صد در صد، پوست را از عوامل میکروبی و فلور طبیعی پاک کنند، مراکز فرآوری و انتقال خون باید آزمایش‌هایی را برای تشخیص آلودگی باکتریایی در فرآیندهای غربالگری خود انجام دهند. استفاده از روش کشت، هرچند نیاز به زمان زیادی جهت رسیدن به تشخیص دارد، اما به علت حساس بودن می‌توان از این روش بهره برد(۷).

گزارش‌ها نشان داده‌اند که خون بند ناف در دو مرحله؛ یکی در حین خونگیری از بند ناف(به واسطه حضور فلور نرمال پوست و ناحیه تناسلی) و دیگری در هنگام انجام فرآیند پردازش و ذخیره‌سازی سلول‌ها می‌تواند توسط عوامل میکروبی آلوده گردد. در تحقیق حاضر، واحدهای خون بند ناف که از سال ۱۳۸۳ تا ۱۳۸۶ از بخش‌های زایمان مربوط به بیمارستان‌های مختلف سطح کشور به بانک خون بند ناف رویان ارسال شده بود، از لحاظ نوع آلودگی باکتریایی مورد بررسی قرار گرفت و سپس با طراحی آزمایشی به تشخیص منشأ این آلودگی‌ها پرداخته شد.

مواد و روش ها

در این مطالعه توصیفی، تعداد ۳۰۷۴ واحد خون بند ناف که از نظر آزمایش‌های HCV، HBV و HIV منفی بودند، به صورت مقطعی و تصادفی انتخاب شده و از نظر آلودگی باکتریایی مورد بررسی قرار گرفتند. نحوه نمونه‌گیری بدین صورت بود که بلافاصله پس از زایمان که جفت نیز به همراه بندناف دفع می‌شود، نمونه خون توسط پزشکان یا ماماهای با تجربه از ورید بند ناف گرفته شده و در داخل کیسه‌های استریل مخصوص که حاوی ماده ضد انعقاد می‌باشند، جمع‌آوری گردید و سپس در

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-25]

مجاورت یخ و در فاصله زمانی مناسب(کمتر از ۲۴ ساعت) به آزمایشگاه بانک خون بند ناف رویان ارسال شده و مورد آزمایش میکروبی و پردازش و استخراج سلول‌ها و سپس ذخیره‌سازی آن‌ها قرار گرفت.

در این روند به منظور ردیابی آلودگی‌های میکروبی، از کشت خون که روش حساسی برای جداسازی باکتری‌ها می‌باشد، استفاده شد(۷). برای این منظور از هر کیسه خون بند ناف، یک نمونه خون(به میزان ml ۱۰-۵) در اواخر مرحله پردازش(قبل از افزودن دی‌متیل‌سولفوکساید (DMSO) جهت آماده‌سازی سلول‌ها برای فریز) گرفته شد و مورد بررسی باکتریولوژیک قرار گرفت و درصد و نوع باکتری‌های آلوده‌کننده مشخص گردید. با توجه به این که کیسه‌ها و تمام مواد و وسایل مورد نیاز کاملاً استریل بودند، بنابراین در دو مرحله احتمال آلوده شدن خون بند ناف وجود داشت که عبارت بودند از: ۱- در حین اخذ نمونه خون بند ناف توسط خونگیرها و ارسال آن به آزمایشگاه و ۲- در طی انجام فرآیند پردازش، استخراج و ذخیره‌سازی سلول‌های آن. بنابراین تصمیم گرفته شد تا علاوه بر تعیین نوع و میزان آلودگی‌های باکتریایی، منشأ این آلودگی‌ها نیز مشخص شود. برای این منظور، با توجه به درصد آلودگی در بخش اول مطالعه و نیز با توجه به میزان آلودگی در سایر بانک‌های جهان، به لحاظ آماری، ۸۰۰ واحد خون بند ناف مورد بررسی قرار گرفت که در طی آن، دو نمونه به میزان ml ۱۰-۵ از هر کیسه خون بند ناف گرفته شد؛ نمونه اول به محض رسیدن کیسه به آزمایشگاه و نمونه دوم پس از انجام عمل پردازش و استخراج سلول‌های آن(قبل از افزودن DMSO). سپس هر دو نمونه در زیر هود و تحت شرایط استریل به داخل محیط‌های کشت بی فازیک (Biphasic Media) مربوط به شرکت بهارافشان که تحت عنوان محیط‌های "CASTANEDA" نیز خوانده می‌شوند، به نسبت ۱ به ۱۰ تلقیح شدند. آن گاه این محیط‌های دو فازی در دمای ۳۷°C در داخل انکوباتور به مدت ۲۱ روز نگهداری شدند و در طی این مدت، در زمان‌های پس از ۷۲ - ۴۸ ساعت، ۷ روز، ۱۴ روز و ۲۱ روز از نظر کدورت، همولیز و ایجاد لخته یا گاز و تشکیل کلنی بر سطح جامد محیط، بررسی شدند. سپس به منظور جداسازی باکتری‌های هوازی، از آن‌ها کشت مجددی (Subculture) با استفاده از سرنگ‌های استریل بر روی محیط‌های کشت بلاد آگار(B.A)، ائوزین متیلن بلو آگار(EMB) و شکلات آگار(Ch.A) انجام شد. محیط‌های Ch.A جهت جداسازی باکتری‌های نیازمند CO_2، ابتدا در داخل جار حاوی گاز کربنیک (Candle jar) قرار گرفته و آن گاه تمامی پلیت‌ها در انکوباتور تحت شرایط هوازی به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ °C نگهداری شدند. برای جداسازی باکتری‌های بی‌هوازی، از هر نمونه به میزان ۲-۱ میلی‌لیتر خون به داخل لوله‌های در پیچ‌دار حاوی محیط کشت تایوگلیکولات مایع (Thioglycolate broth) به نسبت ۱ به ۱۰ تلقیح شد و پس از ۷ روز انکوباسیون در دمای ۳۷°C، از نظر کدورت و همولیز مورد بررسی قرار گرفت. در صورت مشاهده کدورت، از آن ها کشت مجددی بر روی محیط‌های B.A و EMB انجام گرفته و سپس در داخل جار بی‌هوازی(Anaerobic jar) که شرایط بی‌هوازی در آن با استفاده از Gas-Pak (با نام تجاری Microbiology Anaerocult® مربوط به شرکت Merck) ایجاد شده بود، قرار گرفته و پس از آن در داخل انکوباتور به مدت ۵-۳ روز در دمای ۳۷ °C نگهداری شدند.

در هر مرحله از کشت در صورت مشاهده کلنی، با استفاده از آزمایش‌های افتراقی بیوشیمیایی، جنس و گونه باکتری‌های جدا شده تعیین شد. برای این منظور، جهت تعیین سویه باکتری‌های هوازی، پس از انجام رنگ‌آمیزی گرم و مشخص شدن نوع باکتری از نظر گرم مثبت یا منفی بودن و هم چنین کوکسی یا باسیل بودن، آزمایش‌های بیوشیمیایی مربوطه انجام پذیرفت که برای باسیل‌های گرم منفی هوازی از محیط کشت‌هایی از قبیل KIA ، TSI ، Simon's Citrate ، SIM ، Urea agar ، MR ، VP و هم چنین آزمایش‌های احیای نیترات، تخمیر گلوکز و آزمایش اکسیداز استفاده شد. برای باسیل‌های گرم مثبت هوازی نیز از آزمایش‌هایی از قبیل کاتالاز، اکسیداز، اوره‌آز، اندول، هیدرولیز ژلاتین، تخمیر قندها و هم چنین رنگ‌آمیزی اسپور(جهت شناسایی گونه‌های باسیلوس) استفاده گردید. جهت تعیین جنس و گونه کوکسی‌های

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-25]

گرم مثبت هوازی نیز از آزمایش‌های کاتالاز، اکسیداز، کوآگولاز و محیط کشت‌های مانیتول سالت آگار(MSA) و DNase و هم چنین از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی تشخیصی مانند نووبیوسین استفاده گردید(۱۴).

جهت تعیین سویه باکتری‌های بی‌هوازی، از آزمایش تخمیر کربوهیدرات‌ها و محیط‌های کشت حاوی قندهای آدنیتول، آرابینوز، گلیسرول، سوکروز، گزیلوز و هم چنین از آزمایش احیای نیترات به نیتریت و تست هیدرولیز اسکولین و ژلاتین استفاده شد. همگی محیط‌های کشت مورد استفاده در این قسمت، در داخل لوله‌های در پیچ‌دار بوده که پس از تلقیح کلنی به داخل آن‌ها، برای جلوگیری از ورود اکسیژن، سطح آن‌ها با یک لایه روغن معدنی پوشیده شده و سپس به مدت ۳ تا ۵ روز در دمای $37\ ^{\circ}C$ نگهداری شدند.

در نهایت، باکتری‌های هوازی و بی‌هوازی بر اساس جداول مربوط به واکنش‌های بیوشیمیایی باکتری‌ها، تعیین جنس و گونه شدند(۱۵، ۱۴).

یافته ها

از مجموع ۳۰۷۴ واحد خون بند ناف که از نظر آلودگی باکتریایی مورد بررسی قرار گرفت، تعداد ۹۳ واحد(۳/۶-۲/۳ = ۹۵٪ CI ، ۳/۲٪)آلودگی باکتریایی داشتند. باکتری‌های جدا شده عبارت بودند از باکتری‌های هوازی شامل: استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس(۴۱/۹٪)، باسیلوس سابتیلیس(۳۰/۱٪)، گونه های میکروکوکوس (۵/۴٪)، باسیل‌های دیفتروئید(۳/۲٪)، استافیلوکوکوس همولیتیکوس(۲/۲٪)، گونه‌های کلبسیلا(۱/۱٪)، و باکتری‌های بی‌هوازی(کم هوازی) که همگی گونه‌های پروپیونی باکتریوم بودند(۱۶/۱٪).

در ارزیابی منشأ آلودگی‌های باکتریایی، از مجموع ۸۰۰ واحد خون بند ناف که در دو مرحله مورد بررسی قرار گرفت(مرحله اول بلافاصله پس از رسیدن کیسه خون و مرحله دوم پس از انجام فرایند پردازش)، به طور کلی ۲۶ واحد(۳/۳٪) از نظر کشت باکتریایی مثبت بودند که از این تعداد ، ۲۵ مورد(۹۶/۲٪) آن مربوط به نمونه‌های اول(یعنی منشأ آلودگی در حین خونگیری از بند ناف در بخش‌های زایمان بیمارستان‌ها) و ۱ مورد آن (۳/۸٪) مربوط به نمونه‌های دوم(یعنی منشأ آلودگی در طی فرآیند پردازش و استخراج سلول‌های خون بند ناف) بود. باکتری‌های جدا شده در این مرحله، مجموعاً گرم مثبت بودند و عبارت بودند از:

جدول ۱: میزان و نوع باکتری‌های جدا شده از کشت میکروبی مجموع ۳۰۷۴ واحد خون بند ناف جمع‌آوری شده از سال ۱۳۸۳ تا ۱۳۸۶

باکتری‌های جدا شده		تعداد	درصد از نمونه‌های مثبت
هوازی	استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	۳۹	۴۱/۹
	باسیلوس سابتیلیس	۲۸	۳۰/۱
	گونه‌های میکروکوکوس	۵	۵/۴
	باسیل‌های دیفتروئید	۳	۳/۲
	استافیلوکوکوس همولیتیکوس	۲	۲/۲
	گونه‌های کلبسیلا	۱	۱/۱
بی‌هوازی	گونه‌های پروپیونی باکتریوم	۱۵	۱۶/۱
مجموع هوازی و بی‌هوازی		۹۳	۱۰۰

جدول ۲: تعداد و درصد آلودگی‌های باکتریایی از کشت میکروبی مجموع ۸۰۰ واحد خون بند ناف

باکتری‌های جدا شده		تعداد	درصد از نمونه‌های مثبت
هوازی (مجموعاً ۱۹ مورد: ۷۳/۱ درصد)	استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	۹	۳۴/۶
	باسیلوس سابتیلیس	۶	۲۳/۱
	گونه‌های میکروکوکوس	۳	۱۱/۵
	استافیلوکوکوس همولیتیکوس	۱	۳/۹
بی‌هوازی	گونه‌های پروپیونی باکتریوم	۷	۲۶/۹
مجموع هوازی و بی‌هوازی		۲۶	۱۰۰
آلودگی در نمونه‌های اول(منشا آلودگی در طی خونگیری از بند ناف)		۲۵	۹۶/۲
آلودگی در نمونه‌های دوم(منشا آلودگی در طی فرآیند پردازش)		۱	۳/۸

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-25]

۱ـ باکتری‌های هوازی مجموعاً ۱۹ مورد(۷۳/۱٪) شامل استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس(۳۴/۶٪) ، باسیلوس سابتیلیس(۲۳/۱٪)، گونه‌های میکروکوکوس(۱۱/۵٪) و استافیلوکوکوس همولیتیکوس(۳/۹٪).

۲ـ باکتری‌های بی‌هوازی(کم هوازی) مجموعاً ۷ مورد(۲۶/۹٪) که شامل گونه‌های پروپیونی باکتریوم بودند. یک مورد باکتری جدا شده از نمونه‌های دوم نیز استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس بود(جداول ۱ و ۲).

بحث

اهمیت بالای بانک خون‌های بند ناف، امروزه بر کسی پوشیده نیست. یکی از شاخص‌های بانکداری مؤثر و کارآمد، نسبت نمونه‌های جمع‌آوری‌شده‌ای است که قابلیت و شرایط ذخیره‌سازی(Cryopreservation) به منظور استفاده آتی جهت پیوند به بیماران نیازمند را داشته باشد. عواملی وجود دارند که ممکن است موجبات عدم قابلیت ذخیره‌سازی را برای سلول‌های خون بند ناف فراهم کنند(۱۶). طبق یک برآورد در ایالات متحده امریکا، میزان نمونه‌های خون بند نافی که قابلیت و شرایط ذخیره‌سازی در بانک را داشته باشند، از ۳۰ درصد فراتر نمی‌رود(۱۷)؛ البته سایر مطالعه‌ها، تخمین‌هایی با شاخص‌های متفاوتی گزارش کرده‌اند(۱۹، ۱۸). از عوامل مهمی که می‌تواند سبب از بین رفتن قابلیت ذخیره‌سازی سلول‌های خون بند ناف شود، وجود آلودگی باکتریایی در آن‌ها می‌باشد که به دنبال آن، تزریق این سلول‌ها به افراد گیرنده می‌تواند سبب ایجاد واکنش‌های خفیف تا شدید و حتی مرگ آن‌ها گردد(۱۶، ۹). بنابراین، اهمیت غربالگری میکروبی خون و فرآورده‌های آن مشخص می‌شود. هر چند بروز سپسیس شدید پس از تزریق سلول‌های بنیادی دارای آلودگی با باکتری‌های کامنسال و فلور پوست، پایین بوده و اغلب تظاهرات تب‌داری که پس از تزریق ایجاد می‌شوند، توسط آنتی‌بیوتیک‌ها قابل درمان هستند، اما گزارش اخیر از شوک عفونی ایجاد شده توسط باسیلوس سرئوس پس از پیوند مغز استخوان، اهمیت موضوع آلودگی‌های باکتریایی در درمان با سلول‌های بنیادی را برجسته می‌کند(۲۱، ۲۰). هم چنین نظر به این که بیمارانی که تحت پیوند خون بندناف قرار می گیرند دارای سیستم ایمنی ضعیفی هستند، از خطر ویژه‌ای برای ابتلا به عفونت برخوردارند؛ بنابراین باید آزمایش‌های گسترده‌ای در مورد استریلیته خون بندناف قبل از انجام پیوند، صورت گیرد(۲۲). گزارش‌ها از مطالعه‌های مختلف نشان می‌دهد که افزودن ماده دی متیل سولفوکساید (DMSO) که به منظور آماده‌سازی سلول‌ها برای فریز به کار می‌رود و هم چنین خود عمل فریز کردن نمونه‌های خون بند ناف، سبب از بین رفتن باکتری‌ها نمی‌شود؛ چنان که نتایج یک مطالعه در هلند نشان می‌دهد که پس از ذوب نمونه‌های فریز شده‌ای که با سه سویه مرجع از باکتری‌ها آلوده بودند، قابلیت حیات(Viability) این باکتری‌ها تا حدودی حفظ شده بود؛ به این ترتیب که پس از فریز کردن این نمونه‌ها با ۱۰ درصد DMSO در دمای ۱۵۰- درجه سانتی‌گراد، نمونه‌ها ذوب شده و مورد کشت باکتریایی قرار گرفتند و نتایج نشان داد که سه باکتری استرپتوکوکوس آگالاکتیه، استافیلوکوک‌های کوآگولاز منفی و باسیل‌های دیفتروئید، قابلیت حیات خود را حفظ کرده و زنده مانده بودند(۲۳). در یک مطالعه در آلمان، فرایند فریز کردن خون بند ناف (Cryopreservation)، با کاهش میکروارگانیسم‌های قابل کشت مرتبط شده است به نحوی که جداسازی استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس به طور متوسط ۹/۳٪ و اشریشیا کلی به میزان ۱۸/۱٪ کاهش یافته بود(۲۴). بنابراین، افزودن ماده DMSO و فریزکردن نمونه‌های خون بند ناف در دمای پایین، نمی‌تواند آلودگی‌های باکتریایی را ریشه‌کن کند و در این جا باز هم اهمیت غربالگری میکروبی خون بندناف آشکار می‌شود. در مورد میزان آلودگی‌های باکتریایی نمونه‌های خون بند ناف در بانک خون‌های مختلف، آمار متفاوتی وجود دارد اما به طور کلی، این میزان از صفر تا ۴/۵ درصد گزارش شده است(۳۰-۲۵، ۲۰). میزان آلودگی باکتریایی در مطالعه حاضر در بانک خون بند ناف رویان نیز ۳/۰۲٪ گزارش شد که در همین محدوده قرار دارد. در یک مطالعه در اسپانیا، در خلال ۶ ماه از برنامه جمع‌آوری

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-25]

خـون بنـد نـاف، آلـودگی میکروبـی در بـیش از ۲۰٪ از نمونه‌ها مشاهده شد در حالی که پس از آموزش ماماهـا و خونگیران، این آمار به زیر ۵٪ رسید که این امر، اهمیت و تـأثیر برنامـه‌هـای آموزشـی را در کـاهش آلـودگی‌هـای میکروبی نشان می‌دهد(۲۲). میـزان آلـودگی باکتریـایی در یک بانک خون بند ناف در هلند حدود ۱۴٪ گزارش شده است؛ شاید این آمار بالا ناشی از بـالا بـودن میـزان خـون تلقیح شده به داخل بطـری‌هـای کشـت خـون باشـد کـه احتمال جداسازی باکتری‌ها را بالاتر می‌برد، به نحوی کـه وقتـی حجـم خـون تلقـیح شـده را از ۱۰ml بـه ۲۰ml رسـاندند، میـزان آلـودگی از ۸/۷٪ بـه ۱۴٪ افـزایش یافت(۲۳). امروزه تعدادی از بانک خـون‌هـای بنـد نـاف، کاهشی در میزان آلودگی‌های باکتریایی تا حد کمتـر از ۱٪ و کمتر از ۵٪ را گزارش می‌کنند که به دلیل آمـوزش‌هـای انجام شده برای مراحـل جمـع‌آوری و ایجـاد راه‌کارهـای دقیق و استاندارد جهت ضد عفونی محل خـونگیری بـوده است(۳۲، ۳۱، ۲۲، ۱۶). البته میزان حجم خون تلقیح شده به داخل بطری‌های کشت خون، در بانک خـون بنـد نـاف میلان در ایتالیا گزارش نشده است بـا ایـن وجـود، میـزان آلودگی باکتریایی در این بانک، کمتر از ۱٪ گـزارش شـده است(۳۳، ۱۶). در این تحقیق، حداکثر ۱۰ml خـون بـرای کشت میکروبی استفاده شد که به دلیل محـدودیت حجـم خون بند ناف و اهمیت تعداد سـلول‌هـای آن بـود امـا در عوض، مدت نگهداری و انکوباسیون محیط‌های کشت تـا ۲۱ روز(سـه هفتـه) ادامـه یافـت تـا احتمـال جداسـازی باکتری‌ها بالا رود؛ در ضمن، چون محـیط‌هـای دو فـازی مورد استفاده در این مطالعه توان جداسـازی بـاکتری‌هـای نسبتاً بی‌هوازی یا کم هوازی را نیز داشتند، کلنی‌های ایـن باکتری‌ها دیرتر از باکتری‌های هوازی و در روزهای ۱۴ تا ۲۱ بر سطح جامد این محیط‌ها ظاهر شدند.

در مطالعه مربوط به مرکز انتقال خـون کشـور اسـپانیا، ۹۵٪ باکتری‌های جدا شده از واحدهای خون بنـد نـاف را فلور نرمال پوست و دستگاه تناسـلی گـزارش کـرده‌انـد و کمتر از ۵٪ آن‌ها باکتری‌های دارای پاتوژنیسیته بـالا ماننـد استرپتوکوکوس آگالاکتـیه بـوده‌اند(۲۲). در مطالعه مربوط بـه کشـور هلنـد، ۸۵٪ مـوارد آلوده مربوط به باکتری‌های دارای پاتوژنیسیته پایین بوده‌اند(۲۳).

در این مطالعه همه باکتری‌های جدا شـده جـزو فلـور پوسـت و دسـتگاه تناسـلی بودنـد و هـیچ بـاکتری دارای پاتوژنیسیته بالا جدا نشد که با توجـه بـه یافتـه‌هـای ایـن تحقیق، ۹۶/۲٪ این آلودگی‌ها مربوط به زمان نمونـه‌گیـری از بند ناف بود. هرچند چنان که گفته شد میـزان آلـودگی در این مرکز در محدوده آلودگی‌های گزارش شده از سایر بانک‌ها قرار دارد اما می‌توان بـا آمـوزش هـر چـه بیشـتر اصول صحیح ضد عفونی و خونگیری، میزان این آلـودگی را کمتـر کـرد. هـم چنـین جهـت کـاهش آلـودگی‌هـای باکتریایی واحدهای خون بند ناف، انجام عمل پردازش در فضای استریل و مطابق بـا اسـتانداردهای رایـج ضـروری بوده و در این میان، غربالگری محتاطانـه میکروبیولوژیـک از اهمیت خاصـی برخـوردار مـی‌باشـد کـه ایـن امـر بـه خصوص به منظور جلوگیری از عوارض و عواقب عفونی ناشـی از تزریـق سـلول‌هـای آلـوده، ضـروری بـه نظـر می‌رسد(۳۵، ۳۴).

با توجه به اهمیت روز افزون سلول‌های خون بند ناف، اخیراً تعدادی از بانـک خـون‌هـای بنـد نـاف بـا سیاسـتی هماهنگ شده‌اند که نمونه‌های آلوده با باکتری‌هـای دارای پاتوژنیسیته پایین را(با توجه به نوع بـاکتری و هـم چنـین میزان مقاومت سیستم ایمنی فرد گیرنده پیوند و بـا لحـاظ شرایطی از قبیل تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌هـای آلوده‌کننده و تجویز آنتی‌بیوتیک‌ها و مراقبـت‌هـای قبـل و بعـد از عمـل پیونـد) بـرای ذخیـره در بانـک نگهـداری کنند(۳۱، ۲۳، ۱۶). قوانین "Netcord-Fact Standards" کـه در سال ۲۰۰۱ برای بانک خون‌هایی که عضو شبکه بانـک خون‌های بند نـاف جهـان(Netcord) هسـتند وضـع شـده است، این سیاست را پذیرفته است(۳۶). البته چـون هنـوز در ایران چنین قوانینی تصویب نشده‌اند و بانک خون بند ناف رویان هنوز عضو این شبکه نشده است، لـذا در ایـن مرکز، تمامی نمونه‌هـایی کـه از لحـاظ آلـودگی میکروبـی مثبت باشند رد می‌شوند.

نتیجه‌گیری

یـافتـه‌هـای ایـن تحقیـق نشان می‌دهد که بیشترین

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-25]

میزان آلودگی‌های باکتریایی مربوط به بخش‌های زایمان بیمارستان‌ها بوده که در حین خونگیری از بند ناف ایجاد شده است؛ این امر نشان می‌دهد که سیستم پردازش و ذخیره‌سازی خون بند ناف در این مرکز از استاندارد صحیح برخوردار می‌باشد. اکثریت باکتری‌های جدا شده مربوط به فلور نرمال پوست و دستگاه تناسلی بود؛ لذا با توجه به اهمیت و ارزش بالای سلول‌های خون بند ناف و نظر به تأثیرات سوء آلودگی‌های باکتریایی بر کیفیت و سلامت این سلول‌ها و عوارض خطرناک ناشی از پیوند نمونه‌های مثبت و عفونی به بیماران متقاضی پیوند، تدوین برنامه‌هایی جهت آموزش ماماها و افراد خونگیر مستقر در بخش‌های زایمان بیمارستان‌ها جهت اخذ صحیح نمونه خون بند ناف مطابق با استانداردهای موجود شامل ضد عفونی صحیح محل خونگیری و رعایت شرایط استریل در این امر، ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین با آموزش نحوه صحیح ضد عفونی و خونگیری و تأکید بر ضرورت سترون بودن، می‌توان تا مقادیر قابل ملاحظه‌ای از ایجاد آلودگی‌های باکتریایی در کیسه‌های خون بند ناف جلوگیری به عمل آورد.

References :

1- Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, Friedman HS, Douglas GW, Devergie A, *et al.* Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. New Engl J Med 1989; 321(17): 1174-8.

2- Wagner JE, Kernan NA, Steinbuch M, Broxmeyer HE, Gluckman E. Allogeneic sibling umbilical-cord-blood transplantation in children with malignant and non-malignant disease. Lancet 1995; 346(8969): 214-9.

3- Kurtzberg J, Laughlin M, Graham ML, Smith C, Olson JF, Halperin EC, *et al.* Placental blood as a source of hematopoietic stem cells for transplantation into unrelated recipients. New Engl J Med 1996; 335(3): 157-66.

4- Rubinstein P, Carrier C, Scaradavou A, Kurtzberg J, Adamson J, Migliaccio AR. Outcomes among 562 recipients of placental-blood transplants from unrelated donors. N Engl J Med 1998; 339(22): 1565-77.

5- Wagner JE, Rosenthal J, Sweetman R, Shu XO, Davies SM, Ramsay NK, *et al.* Successful transplantation of HLA-matched and HLA-mismatched umbilical cord blood from unrelated donors: analysis of engraftment and acute graft-versus-host disease. Blood 1996; 88(3): 795-802.

6- FDA. Current good tissue practice for manufacturers of human cellular tissue based products. Inspection and enforcement; Proposed rule. 2001. Available from: URL: www.access.gpo.gov/su_docs/ aces140.html

7- 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): 1-5.

8- 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(12): 1493-9.

9- 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(3): 259-63.

10- Burstain JM, Brecher ME, Workman K, Foster M, Faber GH, Mair D. Rapid identification of bacterially contaminated platelets using reagent strips: glucose and pH analysis as markers of bacterial metabolism. Transfusion 1997; 37(3): 255-8.

11- 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): 902-9.

12- Sazama K. Bacteria in blood for transfusion. Arch Pathol Lab Med 1994; 118: 350-65.

13- Yomtovian R. Bacterial contamination of blood: Lessons from the past and road map for the future. Transfusion 2004; 44(3): 450-60.

14- Winn WC, Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Procop GW, *et al*. Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 6th ed. Lippincott Williams and Wilkins; 2005. p.737-856.

15- Sanchez PC, Mondragon FA, Cano EG, Santiago CA. Identification of Anaerobic Nonsporeforming Gram-Positive Bacilli by Biochemical Tests and Gas-Liquid Chromatography. Rev Latinoam Microbiol 2001; 43(1): 27-35.

16- Lecchi L, Ratti I, Lazzari L, Rebulla P, Sirchia G. Reasons for discard of umbilical cord blood units before cryopreservation. Transfusion 2000; 40(1): 122-4.

17- McCullough J, Herr G, Lennon S, Stroncek D, Clay M. Factors influencing the availability of umbilical cord blood for banking and transplantation. Transfusion 1998; 38(5): 508-10.

18- Engelfriet CP, Reesink HW, Wagner JE, Rubinstein P, Stevens C, Wall DA, *et al*. Use of cord blood progenitor cells as an alternative for bone marrow transplantation. Vox Sang 1998; 75(2): 156-72.

19- Donaldson C, Armitage WJ, Buchanan RM. Obstetric factors influencing cord blood collections. Blood 1998; 92 (Suppl 1): 121a [abstract].

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-25]

20- Prince HM , Page SR , Keating A , Saragosa RF , Vukovic NM, Imrie KR, *et al*. Microbial contamination of harvested bone marrow and peripheral blood. Bone Marrow Transplant 1995;15(1): 87–91.
21- de Medeiros CR, Faoro LN, Friedrich ML, Pereira N, Cunha CA, Pasquini R. Unrelated bone marrow as a source of Bacillus cereus causing septic shock. Bone Marrow Transplant 2000; 26(11): 1259-60.
22- M-Reboredo N, Díaz A, Castro A, Villaescusa RG. Collection, processing and cryopreservation of umbilical cord blood for unrelated transplantation. Bone Marrow Transplant 2000; 26(12): 1263-70.
23- Honohan A, Olthuis H, Bernards AT, van Beckhoven JM, Brand A. Microbial contamination of cord blood stem cells. Vox Sanguinis 2002; 82(1): 32-8.
24- Kipp F, Linnemann E, Fischer RJ, Sibrowski W, Cassens U. Cryopreservation reduces the concentration of detectable bacteria in contaminated peripheral blood progenitor cell products. Transfusion 2004; 44(7): 1098-103.
25- Attarian H, Feng Z, Buckner CD, MacLeod B, Rowley SD. Long-term cryopreservation of bone marrow for autologous transplantation. Bone Marrow Transplant 1996; 17(3): 425-30.
26- Jestice HK, Farrington M, Hunt C, Matthews I, Scott MA, Foreman J, *et al*. Bacterial contamination of peripheral blood progenitor cells for transplantation. Transfus Med 1996; 6(2): 103-10.
27- Padley D, Koontz F, Trigg ME, Gingrich R, Strauss RG. Bacterial contamination rates following processing of bone marrow and peripheral blood progenitor cell preparations. Transfusion 1996; 36(1): 53-6.
28- Espinosa MT, Fox R, Creger RJ, Lazarus HM. Microbiologic contamination of peripheral blood progenitor cells collected for hematopoietic cell transplantation. Transfusion 1996; 36(9): 789-93.
29- Webb IJ, Coral FS, Andersen JW, Elias AD, FinbergRW, Nadler LM, *et al*. Sources and sequelae of bacterial contamination of hematopoietic stem cell components. Implications for the safety of hematotherapy and graft engineering. Transfusion 1996; 36(9): 782-8.
30- Schwella N, Zimmermann R, Heuft HG, Blasczyk R, Beyer J, Rick O. Microbiologic contamination of peripheral blood stem cell autografts. Vox Sang 1994; 67(1): 32-5.
31- Armitage S, Warwick R, Fehily D, Navarrete C, Contreras M. Cord blood banking in London: the first 1000 collections. Bone Marrow Transplant 1999; 24(2): 139-45.
32- Kögler G, Somville T, Göbel U, Hakenberg P, Knipper A, Fischer J, *et al*. Haematopoietic transplant potential of unrelated and related cord blood: the first six years of the EUROCORD/NETCORD Bank Germany. Klin Padiatr 1999; 211(4): 224-32.
33- Lazzari L, Corsini C, Curioni C, Lecchi L, Scalamogna M, Rebulla P, *et al.* The Milan Cord Blood Bank and the Italian Cord Blood Network. J Hematother 1996; 5(2): 117-22.
34- Voak D, Cann R, Finney RD, Fraser ID, Mitchell R, Murphy MF, *et al*. Guidelines for administration of blood products: transfusion of infants and neonates. British Committee for Standards in Haematology Blood Transfusion Task Force. Transfus Med 1994; 4(1): 63-9.
35- Ware CB, Nelson AM, Blau CA. Controlled-rate freezing of human ES cells. Biotechniques 2005; 38(6): 879-80, 882-3.
36- Netcord-Fac. International Standards for Cord Blood Collection. Processing, Testing, Banking, Selection and Release, 2nd edn. Fact Accreditation Office, NB, USA, 2001.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-25]

Original Article

Bacterial contamination of umbilical cord blood units intended for the cryopreservation in Royan Cord Blood Bank (2005-2008)

Ahmadi M.H.[1,2](MS), Etedali Kh.[1](BS), Ebrahimi M.[1] (PhD), Samimi S.[1](BS), Mohammad M.[1](BS), Khosh Akhlagh A.[1](BS), Zandieh T.[1](PhD), Zarrabi M.[1](MD)

[1]Royan Cord Blood Bank, Royan Stem Cell Technology Center, Royan Institute, Tehran, Iran
[2]Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Background and Objectives

Umbilical cord blood has been used successfully as a source of hematopoietic stem cells for transplantation. Knowing that cord blood could be bacterially contaminated at the time it is being obtained and afterwards during the time it is being processed, we decided to perform the present study to determine any possible bacterial contamination and find out the root causes in Royan Cord Blood Bank (RCBB).

Materials and Methods

RCBB during 3 years received 3074 cord blood units (CBUs) upon which relevant investigation was made. In order to determine the root cause of the bacterial contamination, 800 CBUs were tested out of each of which two samples were taken. The data were analyzed with Chi-square by SPSS 16.

Results

Out of 3074 CBUs, 93 units (3.02%, CI 95%=2.3-3.6) were shown to have bacterial contamination. Out of the 800 units tested to detect the root cause, 26 samples (3.3%) were proved to be bacterial culture positive out of which 25 (96.2%) were shown to be contaminated at the time they were obtained and 1 (3.8%) during processing. The isolated bacteria were aerobic in 19 cases (73.1%) and anaerobic in 7 (26.9%).

Conclusions

The results show that bacterial contamination mostly is caused at the time blood is obtained from the cord in hospital obstetrics wards and most of the isolated bacteria were shown to be skin flora. Given the high value of cord blood stem cells and the risk of septic transplantation, it is necessary to prepare training programs for midwives and phlebotomists.

Key words: Blood Banks, Cryopreservation, Umbilical Cord Blood
Sci J Iran Blood Transfus Org 2010; 6(4): 257-265

Received: 30 May 2009
Accepted:15 Sep 2009

*Correspondence:*Ahmadi MH., MS. Microbiology Laboratory of Royan Cord Blood Bank.
P.O.Box: 16765-3165, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 22518282; Fax : (+9821)22514052
E-mail: *taha504@gmail.com*

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-25]