خون
فصلنامه پژوهشی

دوره ۲ شماره ۶ زمستان ۸۴ ( )

بررسی آلودگی باکتریال در پلاکت‌های کنسانتره با استفاده از کشت باکتریال 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 باکتریال ناشی از انتقال پلاکت‌های آلوده هنوز هم به‌عنوان یک مشکل جدی در طب انتقال خون مطرح می‌باشد. در این مطالعه آلودگی باکتریال در 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 داده 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 آلوده تشخیص داده شد. بنابراین میزان آلودگی ۱ در ۵۵۰ پلاکت آزمایش شده (۰/۱۸٪) 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 جدا شده عبارت بودند از: ۱- استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس (۴ مورد) ۲- استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس (۲مورد) ۳- آسینه توباکتر (۵ مورد) ۴- باسیلوس (۳ مورد)

نتیجه گیری

ایجاد یک 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 باکتریال

تاریخ دریافت :
تاریخ پذیرش :

۱ – مؤلف مسؤول: پزشک عمومی- بیمارستان آراد- تقاطع خیابان بهار و سمیه- صندوق پستی :
۲ – کارشناس ارشد هماتولوژی – مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
۳- کارشناس ارشد هماتولوژی- دانشگاه خدمات بهداشتی و درمانی تبریز، بهداشت و درمان شهرستان آذرشهر
۴- متخصص آسیب شناسی بالینی و تشریحی- استادیار مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-10-17]

مقدمه

آلودگی باکتریال 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 باکتریال 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 باکتریال 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 باکتریال 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 و میر ناشی از آن وجود دارد، بررسی میزان آلودگی در پلاکت‌های کنسانتره در مراکز انتقال خون ضروری است (۷).

بعد از انتقال پلاکت کنسانتره آلوده به فرد، تظاهرات بالینی از واکنش‌های تب‌زای خود محدود شونده تا شوک سپتیک و یا حتی مرگ متغیر است (۸).

باکتری‌ها اغلب در طی مرحله فلبوتومی به کیسه‌های خون وارد می‌شوند و اکثراً فلور طبیعی پوست[3] می‌باشند (۶، ۴، ۳). 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 به دلیل حساس بودن این روش می‌توان از آن 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 و تعداد نمونه‌ها از طریق اطلاعات و یافته‌های آزمایشگاهی در سایر کشورها و با استفاده از فرمول $n = Z^2 \frac{pq}{d^2}$ و اطمینان ۹۵ درصد، ۷۷۰۰ به‌دست آمد. در این مطالعه این تعداد نمونه پلاکتی که با روش PRP-PC[4] جمع‌آوری شده بود، کشت داده شد (۹، 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. مراحل انجام کار به این صورت بود:

۱- کیسه‌ها و کوردها به مدت ۳ روز در حرارت ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.
۲- بعد از این مدت آن‌ها را در الکل ۷۰ درجه به مدت ۱۰ دقیقه قرار دادیم.
۳- با استفاده از سرنگ‌های استریل یک بار مصرف، از آن‌ها نمونه‌گیری نمودیم.
۴- نمونه‌ها را در محیط‌های ائوزین متیلن‌بلو[5] و بلادآگار به‌صورت قطره‌ای کشت دادیم (۰/۲-۰/۱ میلی‌لیتر). همچنین هم‌زمان نمونه‌ها به نسبت ۱ به ۱۰ به محیط تیوگلیکولات[6] منتقل شدند.
۵- پلیت‌ها بعد از ۴۸ ساعت از لحاظ رشد کلونی بررسی شدند. اگراز این لحاظ مثبت بود، نوع باکتری با استفاده از آزمایش‌های افتراقی مشخص گردید.

لوله‌های تیوگلیکولات در طول ۷ روز از لحاظ کدورت و تغییر رنگ بررسی شدند. اگر این موارد تغییر کرده بود، لوله‌ها به محیط‌های بلادآگار و ائوزین متیلن‌بلو انتقال داده شدند و بعد از ۴۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد تحت بررسی قرار گرفتند (۴).

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

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-10-17]

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:

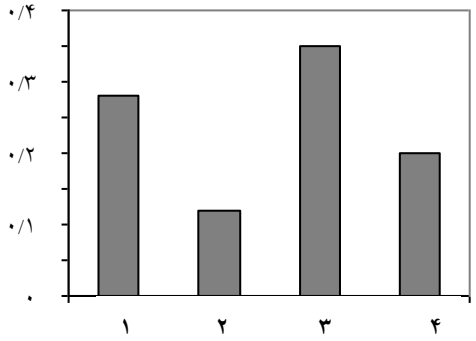
۱- استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس (۴ مورد، p_1=۰/۲۸). یک مورد مربوط به آلودگی کیسه و کورد آن (هر دو مثبت) و بقیه مربوط به آلودگی کوردها بود.

۲- استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس (۲ مورد، p_2=۰/۱۵). هر دو مورد مربوط به آلودگی کوردها بود.

۳- آسینه توباکتر (۵ مورد، p_3=۰/۳۶). یک مورد مربوط به آلودگی کیسه و کورد آن (هر دو مثبت) و بقیه مربوط به آلودگی کوردها بود.

۴- باسیلوس SP (۳ مورد، p_4=۰/۲۱). یک مورد مربوط به آلودگی کیسه و کورد آن (هر دو مثبت) و بقیه مربوط به آلودگی کوردها بود (نمودار ۱).

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.



نمودار ۱:
۱- استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس
۲- استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس
۳-آسینه توباکتر
۴-باسیلوس SP

بحث

امروزه باکتری‌ها به‌عنوان مهم‌ترین عامل عفونی در انتقال خون شناخته شده‌اند (۳). آلودگی باکتریال فرآورده‌های خونی و مخصوصاً پلاکت‌ها، یک خطر جدی در طب انتقال خون می‌باشد (۱). مطالعات نشان می‌دهند که میزان آلودگی در پلاکت‌های کنسانتره از ۰٪ تا ۱۰٪ متفاوت است که به شرایط خون‌گیری، تهیه و نگهداری فرآورده‌هاوکنترل کیفی خوب آن‌ها بستگی دارد (۸). اکثر باکتری‌های جدا شده از کنسانتره‌های پلاکتی، همان 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 هستند که در اثر ناکافی بودن و استاندارد نبودن عمل ضدعفونی محل فلبوتومی، وارد کیسه می‌شوند (۱۱، ۱۰، ۶، ۴، ۳).

از آن‌جا که مواد ضدعفونی کننده پوست، نمی‌توانند به‌طور مطلق و صددرصد پوست را ضدعفونی نمایند، مراکز انتقال خون باید آزمایش‌هایی برای تشخیص آلودگی باکتریال ایجاد کنند که در غربالگری واحدهای پلاکتی استفاده شوند (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 (۱۳، ۱۲). سایر روش‌های تشخیص آلودگی باکتریال در کنسانتره‌های پلاکتی عبارت‌از رنگ‌آمیزی گرم و رنگ‌آمیزی آکریدین اورنج[1]، برچسب‌های حساس به CO_2، استفاده از سیستم Bact/Alert، نوارهای معرف (Reagent strips) و بیولوژی مولکولی می‌باشند (۱۵، ۱۴، ۱۱، ۱۰، ۷، ۳).

علی‌رغم این که روش کشت از حساسیت بالایی برخوردار است، به دلیل نیاز به زمان بالا، در عمل 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 (۱۲، ۶). بعضی باکتری‌ها رشد کندی دارند، بنابراین باید به آن‌ها فرصت کافی داده شود تا تعدادشان به حداقل قابل تشخیص توسط روش کشت برسد (۱۲). 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

1- Acridine Orange

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-10-17]

خـون و پلاکـت از نـوع CLX باشـند، ایـن مـدت ۵ روز خواهد بود). موارد مثبت کاذب می‌تواند بـه دلیـل آلـودگی هنگام کشت ایجاد شود (۱۰).

در این مطالعه برای کاهش موارد فوق، روش‌های زیر را به‌کار بردیم: اسـتفاده از هودهـای بیولوژیـک[1]، بـه‌کـاربردن سرنگ‌های استریل یک بار مصرف، استفاده از محـیط‌هـای کشـت تجـارتی و اسـتریل، مصـرف کـردن پلیـت‌هـای پلاستیکی یک‌بار مصرف و استفاده از الکل به منظور از بین بردن میکروارگانیسم‌های احتمالی روی سطوح کیسـه‌هـا و کوردها.

نتیجه‌گیری

ما امیدواریم با توجـه بـه نتـایج بـه‌دسـت آمـده، عمـل ضدعفونی کردن پوست ناحیه فلبوتومی بـا دقـت بیشـتری صـورت گیـرد و همچنـین یـک آزمـایش غربـالی بـرای تشخیص آلـودگی میکروبـی در پلاکـت کنسـانتره قبـل از مصرف آن‌ها ایجاد گردد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نویسندگان مقاله، مراتب تقدیر و تشکر خود را از سرکار خانم رقیـه شـریفی مسـؤول بخـش میکـروب شناسی پایگاه انتقال خون تهران اظهار می‌نمایند.

References :

1- Kuehnert MJ, Roth VR, Haley NR, *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, *et al*. Rapid indenficat. Of bacterially contaminated platelets using reagent strips. Transfusion 1997; 37: 255-58.
4- Liu HW, Yuen KY, Shui-Yiny cheng T, *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, 1991.
6- Yomtoviar R, Lazatus HM. A prospective microbiologic surveillance program to detect and prevent the transfusion of bacterially contaminated platelets. Transfusion 1993; 33(11): 902-8.
7- Hogman JG. Novel automated microbiak screening of platelet concentrates. APMIS 1994’ 102: 72-8.
8- Leiby DA, Kerr KL, Campos JM, *et al*. A retrospective analysis of microbial contaminants in outdated random-donor platelets from multiple sites. Transfusion 1997; 37: 259-63.
9- Smith DM. Platelet (American Association of Blood Banks). 1988.
10- Sazama K. Bacteria in blood for transfusion Arch. Pathol. Lab. Med 1994; 118: 350-65.
11- Yomtovian R. Bacterial contamination of blood: Lessons from the past and road map for the future. Transfusion 2004; 44: 450-60.
12- Wagner SJ, Robinette D. Evaluation of an automated microbiologic blood culture device for detection of bacteria in platelet components. Transfusion 1998; 38: 674-9.
13- Yomtovian R. Novel methods for detection of platelet bacterial contamination. Vox Sang 2002; 83(suppl), 129-131.
14- Brecher ME, Hogan JJ, Boothe G, *et al*. Platelet bacterial contamination and the use of a chemiluminescence-linked universal bacterial ribosomal RNA gene probe. Transfusion 1994; 34(9): 750-4.
15- 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

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-10-17]

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

Ahmadi G.[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

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 Blood Center.

Materials & 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 bacteriea 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 (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 concentrets 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):

Received:
Accepted:

Correspondence: Jahangir A. , MD- IBTO-Research Center.
Tel.: 22257438 / Fax : 22257438
E-mail: *fmahdaviani_z@yahoo.com*

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-10-17]