مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۴، شماره ۶، شهریور ۱۳۹۵
صفحه: ۴۴۸-۴۴۱

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 24, No.6, Sep 2016
Pages: 441-448

بررسی آلودگی نمونه‌های فرآورده پلاکت با باکتری‌های هوازی در مرکز انتقال خون اصفهان

فرشاد باغبان*[۱]، فرزاد باغی باغبان[۲]، زهرا بم‌زاده [۳]، ناهید اکبری[۴]، مهسا خسروی بختیاری[۵]

چکیده

مقدمه: اگرچه امروزه خطر انتقال باکتری‌های بیماریزا از طریق تزریق فرآورده‌های خونی کاهش یافته است اما هنوز امکان انتقال این عوامل از طریق تزریق این نوع فرآورده‌ها وجود دارد. هدف این مطالعه بررسی آلودگی نمونه‌های فرآورده پلاکت با باکتری‌های هوازی در مرکز انتقال خون اصفهان بوده است.

روش بررسی: در بهار و تابستان ۱۳۹۳، تعداد ۲۰۰۰ نمونه فرآورده پلاکتی بصورت تصادفی در مدت ۵ ماه برای بررسی آلودگی با باکتری‌های هوازی جمع‌اوری شدند. ابتدا نمونه‌ها در محیط کشت مایع تیوگلیکولات کشت داده شدند. باکتری‌های رشد کرده در محیط با استفاده از رنگ‌آمیزی گرم و آزمایشات بیوشیمیایی، شناسایی شدند. سپس از باکتری‌های جداسازی شده DNA استخراج گردیده و بر روی آن‌ها برای ژن ۱۶S rRNA آزمایش PCR انجام شد. سپس محصولات PCR تعیین توالی شده و باکتری‌ها در حد گونه شناسایی گردیدند.

نتایج: در این تحقیق چهار نمونه آلوده تشخیص داده شد. باکتری‌های جدا شده عبارت بودند از: کلبسیلاپنومونیه ۱ مورد، استافیلوکوکوس اورئوس ۱ مورد، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس ۱ مورد و استافیلوکوکوس همولیتیکوس ۱ مورد که پس از تعیین توالی ژن ۱۶S rRNA در این باکتری‌ها به ترتیب ۹۷٪، ۸۳٪، ۹۹٪ و ۹۰٪ همولوگی مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج این تحقیق ممکن است فرآورده‌های پلاکت به باکتری‌های هوازی آلوده باشند؛ بنابراین فراهم نمودن شرایط مناسب در مراکز انتقال خون و سایر مراکز درمانی جهت انجام آزمایش‌های غربالگری برای شناسایی آلودگی‌های باکتریایی در فرآورده‌های پلاکتی قبل از استفاده از این فرآورده‌ها ضروری به نظر می‌رسد.

واژه‌های کلیدی: فرآورده پلاکت، آلودگی باکتریایی، PCR

۱- استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد یاسوج
۲- کارشناس ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد
۳- استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد
۴- پزشک عمومی، سازمان انتقال خون اصفهان
۵- دانشجوی دکترای کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز
* (نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۱۳۱۱۳۰۹۶۹، پست الکترونیکی: baghibaghban@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۲/۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۵/۱۶

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-27]

مقدمه

آلودگی در زمان جمع‌آوری خون علت اصلی آلودگی باکتریایی فرآورده‌های پلاکتی است. بیشتر میکروارگانیسم‌ها و موارد گزارش شدهٔ سپسیس ناشی از تزریق فرآورده‌های پلاکتی آلوده، معمولاً باکتری‌های فلور طبیعی پوست هستند. چون ضدعفونی کردن کامل پوست انسان غیرممکن است، نتایج کشت خون نشان می‌دهد که بعد از تمیز کردن پوست میزان کشت‌های مثبت از ۲ تا ۶ درصد متفاوت است (۱). عفونت‌های باکتریایی دلیل عمده مرگ و میر و بیماری‌های مرتبط با تزریق فرآورده‌های خونی شناخته شده است. آلودگی‌های باکتریایی در فرآورده پلاکتی بیشتر از فرآورده گلبول قرمز است که به احتمال زیاد به دلیل آن است که بسیاری از میکروارگانیسم‌ها می‌توانند تحت شرایط نگهداری فرآورده‌های پلاکتی (۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد) زنده بمانند و رشد کنند اما در شرایط مخصوص گلبول‌های قرمز (۱ تا ۶ درجه سانتی‌گراد) نمی‌توانند رشد نمایند (۲). عفونت ناشی از انتقال خون رایج‌ترین دلیل مرگ بعد از انتقال خون است. عوامل اتیولوژیک این امر می‌تواند ویروس، باکتری و یا تک‌یاخته باشد. این ارگانیسم‌ها می‌توانند باعث بیماری بالینی شده، در حالت ناقل در بدن فرد باقی بمانند و یا باعث عفونت بدون علامت شوند. همه بانک‌های خون، روش‌های غربالگری را به منظور اجتناب از چنین عفونت‌هایی دنبال می‌کنند اما عوامل عفونی اغلب به دلیل وقفهٔ زمانی قابل شناسایی نیستند (۳). محیط پلاسمایی فرآورده‌های پلاکتی به گونه‌ای است که ذخیرهٔ فرآورده پلاکتی بیش از ۳ روز با خطر آلودگی شدید روبرو است. در موارد گزارش شده از سپسیس مرتبط با تزریق فرآورده‌های پلاکتی، بیماران علائم تب و افت فشارخون را نشان می‌دهند. لرز در طی تزریق یا به فاصله زمانی کوتاهی پس از تزریق شروع می‌شود. گاهی اوقات به طور نادر ظهور علائم تا ۲ هفته پس از تزریق به تأخیر می‌افتد. نیمی از بیماران که دچار شوک و افت فشارخون می‌شوند، نیازمند یک داروی افزایش دهنده فشارخون هستند. میزان مرگ و میر ناشی از تزریق فرآورده‌های پلاکتی آلوده با عوامل باکتریایی، تقریباً ۲۵٪ است. بیشتر این واکنش‌ها زمانی به وقوع می‌پیوندند که از زمان نگهداری فرآورده‌های پلاکتی گذشته باشد (۴). در مرکز انتقال خون اصفهان سالانه حدود ۵۲۰۰۰ واحد فرآوردهٔ پلاکتی تهیه می‌گردد که مقدار ۵۰۰۰۰ واحد آن مصرف می‌شود. هدف از انجام این تحقیق بررسی آلودگی فرآورده‌های پلاکتی تهیه شده در مرکز انتقال خون اصفهان به باکتری‌های هوازی به وسیلهٔ کشت میکروبی و آزمایش‌های مولکولی است.

روش بررسی

در بهار و تابستان ۱۳۹۳، تعداد ۲۰۰۰ نمونهٔ فرآورده پلاکتی از افراد اهداء کنندهٔ خون به سازمان انتقال خون استان اصفهان در طول مدت ۵ ماه جمع‌آوری گردید. این تحقیق به روش توصیفی و مشاهده‌ای انجام شده است و دارای تأییدیه کمیته اخلاق به شماره ۱۳۱۳-۹۳ است. جهت بررسی نمونه‌های مورد آزمایش از دو کشت اولیه و کشت مجدد استفاده شد. در کشت اولیه از محیط مایع تیوگلیکولات سدیم (های مدیا، هند) طبق استاندارد سازمان انتقال خون ایران استفاده شد. فرآوردهٔ پلاکتی را با سرنگ ۲ سی‌سی از محل تزریق داروی کیسهٔ پلاکت برداشت نموده و در ۱۰ سی‌سی محیط کشت اولیه، کشت داده و به مدت ۵ روز در انکوباتور ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری گردید. پس از غنی‌سازی اولیه، نمونه‌ها از لحاظ کدورت بررسی شده و در صورت ایجاد تغییر، نمونه‌ها در محیط‌های جامد بلاد آگار (مرک آلمان) و ائوزین متیلن بلو آگار (EMB) (مرک آلمان) مجدداً کشت داده می‌شدند. شناسایی باکتری‌ها به دو صورت فنوتیپی و ژنوتیپی انجام گردید.

شناسایی فنوتیپی: جهت شناسایی فنوتیپی باکتری‌های جداسازی شده، در مرحله اول از خواص ماکروسکوپی و میکروسکوپی هر باکتری استفاده گردید. شناسایی ماکروسکوپی باکتری‌ها با استفاده از رنگ و ویژگی‌های ظاهری هر پرگنه در محیط‌های کشت ائوزین متیلن بلو آگار و یا بلاد آگار مورد بررسی قرار می‌گرفت و برای مطالعه میکروسکوپی از رنگ‌آمیزی گرم و تست‌های بیوشیمیایی متداول در

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-27]

باکتری‌شناسی نظیر کشت در محیط حرکت (مرک آلمان)، اوره براث (مرک آلمان)، سیمون سیترات آگار (های مدیا هند)، تریپتون براث (مرک آلمان)، مانیتول سالت آگار (مرک آلمان)، محیط کشت سه قندی آهن دار (TSI) (های مدیا هند) و تست کوآگولاز استفاده شد.

در تحقیق حاضر از کیت API (بیومریوکس فرانسه) برای شناسایی باکتری‌ها استفاده گردید، به این صورت که سوسپانسیون باکتری‌های مورد نظر برای شناسایی به لوله‌های کوچکی که دارای ترکیبات شیمیایی خشک برای فعالیت آنزیمی و تخمیر کربوهیدرات‌ها بودند، اضافه شد و به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در دمای مطلوب ارگانیسم انکوبه گردیدند. پس از این مدت، با اضافه کردن معرف‌های مربوطه، متعاقب تغییر رنگ معرف‌ها، نتایج برای هر یک از تست‌ها به صورت مثبت و منفی گزارش گردید. در نهایت کدهایی به دست آمد که شناسایی باکتری‌های ناشناخته با استفاده از این کدها و با استفاده از نرم‌افزار مورد نظر صورت گرفت.

شناسایی ژنوتیپی: جهت انجام استخراج DNA باکتری‌های جداسازی شده، باکتری‌ها را در محیط مغذی تریپتی‌کازئین سوی آگار (مرک آلمان) کشت داده شدند. شناسایی باکتری‌های جداسازی شده با استفاده از تکثیر قطعه‌ای از توالی ژن ۱۶ S rRNA مربوط به پروکاریوت‌ها انجام گرفت. به این صورت که ابتدا با استفاده از کیت استخراج DNA، DNA نمونه‌های مورد نظر استخراج گردید. برای این منظور از کیت استخراج DNA شرکت سینا ژن- ایران استفاده گردید. کیت قبل از استفاده در دمای اتاق قرار داده شد. همچنین محلول لیز کننده طبق دستورالعمل به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس استخراج DNA از باکتری‌های جداسازی شده، طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام گرفت. در ابتدا محیط‌های مایع میکروبی به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۷۵۰۰ سانتریفوژ گردیدند. سپس به مایع رویی حاصله که در میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری بودند، ۱۰۰ میکرو لیتر بافر پروتئاز اضافه شد. به دنبال آن ۵ میکرو لیتر پروتئاز به آن‌ها اضافه گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. بعد از طی مدت زمان لازم، ۱۰۰ میکرو لیتر از محلول آماده شده اولیه با ۴۰۰ میکرو لیتر از محلول لیز کننده با یکدیگر مخلوط شدند و به مدت ۲۰-۱۵ ثانیه در ورتکس قرار گرفتند. در این مرحله سوسپانسیون کاملاً به فرم هموژنیزه درآمد و هر توده، لخته یا ماده حل نشده توسط پیپتینگ ملایم حل و در صورت حل نشدن از سوسپانسیون جدا گردید. سپس ۳۰۰ میکرو لیتر از محلول رسوب دهنده به محلول حاصل از مرحله قبل اضافه گردید و به مدت ۵ ثانیه ورتکس شد و سپس ۲۰ دقیقه در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. به دنبال آن در دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ صورت گرفت. محلول رویی دور ریخته شد و میکروتیوب‌ها به آرامی بر روی دستمال کاغذی به مدت ۳-۲ ثانیه وارونه نگه داشته شدند. پس از آن ۱ میلی‌لیتر از بافر شستشو به رسوب‌های حاصله اضافه گردید و مخلوط شدن آن‌ها توسط ورتکس به مدت ۵-۳ ثانیه صورت گرفت. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ سانتریفوژ شدند و به دنبال آن مایع رویی خالی گردید. پس از خالی کردن محلول شستشو به طور کامل، رسوب‌ها در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه قرار داده شدند تا کاملاً خشک گردند. به رسوب حاصله ۵۰ میکرو لیتر از بافر حلال اضافه و سپس در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه قرار داده شدند. در انتها نمونه‌ها به مدت ۳۰ ثانیه در دور ۱۲۰۰۰ سانتریفوژ شدند و مایع رویی حاصله که دارای DNA خالص بود جدا گردید. سپس واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از پرایمرهای F: 5'- CAACGAGCGCAACCCT-3' و R: 5'- -3' GGTTACCTTGTTACGACTT مربوط به ژن ۱۶ S rRNA با اندازه ۳۹۲bp انجام شد (۵).

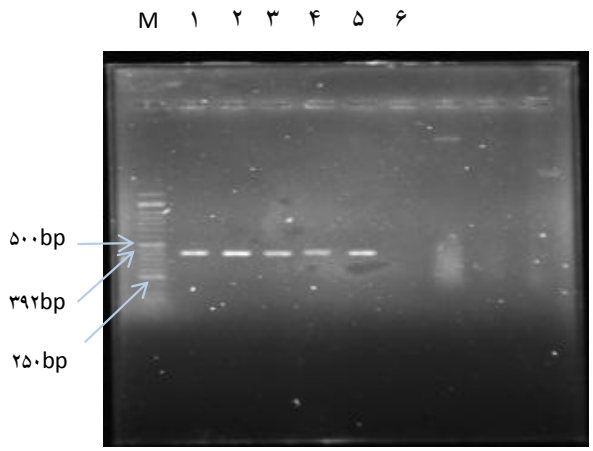
برای تهیه مسترمیکس PCR با حجم ۲۵ میکرو لیتر، ۱۸ میکرو لیتر آب مقطر استریل، ۲/۵ میکرو لیتر بافر PCR با غلظت ۱۰ برابر (سیناژن– ایران)، ۰/۷۵ میکرو لیتر $MgCl_2$ (سیناژن– ایران)، ۰/۵ میکرو لیتر dNTP (سیناژن – ایران)، ۱ میکرو لیتر از پرایمرهای فوروارد و ریورس (با غلظت pmol ۱۰/µl)، ۰/۲۵ میکرو لیتر از آنزیم DNA پلیمراز (سیناژن–

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-27]

ایران) و ۱ میکرو لیتر از DNA الگو مخلوط گردیدند. نهایتاً فرایند PCR توسط دستگاه ترموسیکلر (اپندورف– آلمان)، به صورت زیر انجام گرفت. در این تکنیک برای آغاز فرآیند دناتوراسیون اولیه دستگاه ترموسیکلر به مدت ۱۸۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید و متعاقباً ۳۵ سیکل PCR به صورت ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۶۰ ثانیه برای دناتوراسیون ثانویه، ۵۶ درجه سانتی‌گراد برای ۴۵ ثانیه برای چسبیدن پرایمرها به DNA الگو و ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۶۰ ثانیه برای مرحله طویل شدن اجرا گردید. در نهایت مدت ۳۰۰ ثانیه نیز برای عمل طویل شدن نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شد. محصولات واکنش PCR بر روی ژل آگارز ۱٪ الکتروفورز شدند. جهت مشاهده قطعات DNA تکثیر شده، ژل درون دستگاه UV ترانس لومیناتور قرار داده شد و باندهای DNA در کنار مارکر ۵۰bp ردیابی شدند. سپس محصول PCR برای هر باکتری به طور جداگانه جهت تعیین توالی به شرکت ژن فناوران ارسال گردید تا پس از تعیین توالی باکتری‌ها در حد گونه مورد شناسایی قرار بگیرند.

نتایج

بر اساس نتایج حاصل از آزمایش‌های بیوشیمیایی ۴ نمونه آلوده تشخیص داده شد. باکتری‌های جدا شده عبارت بودند از: کلبسیلا پنومونیه ۱ مورد، استافیلوکوکوس اورئوس ۱ مورد، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس ۱ مورد، استافیلوکوکوس همولیتیکوس ۱ مورد. بدین ترتیب که در باکتری کلبسیلا پنومونیه تست حرکت منفی، ایندول منفی، اوره آز و سیمون سیترات مثبت و تست TSI در این باکتری به صورت اسید/ اسید بوده است. در رابطه با استافیلوکوکوس اورئوس، تست کوآگولاز و اوره آز هر دو مثبت، در رابطه با استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، تست کوآگولاز منفی و تست اوره آز مثبت و در رابطه با استافیلوکوکوس همولیتیکوس، تست کوآگولاز و اوره آز هر دو منفی بودند. برای شناسایی قطعی باکتری‌ها بر اساس واکنش‌های بیوشیمیایی از تست API استفاده گردید که جواب آزمایش صحت گونه باکتری‌های جدا شده را تائید نمود ولی برای شناسایی دقیق‌تر باکتری‌های جدا شده از روش مولکولی PCR استفاده گردید (شکل ۱).



شکل ۱: الکتروفورز محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای ژن ۱۶S rRNA بر روی ژل آگاروز ۱٪. M: مارکر ۵۰bp. چاهک‌های ۱ تا ۴ مربوط به محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز باکتری‌های جداسازی شده است. چاهک ۵ کنترل مثبت و چاهک ۶ کنترل منفی است.

محصولات PCR این ۴ نمونهٔ باکتریایی در شرکت ژن فناوران تعیین توالی شدند. سپس توالی‌های ژنی به دست آمده در سایت NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST) بلاست گردیدند و باکتری‌ها تا حد گونه شناسایی شدند. نتایج بلاست برای ژن ۱۶S rRNA نشان دهندهٔ شناسایی نمونه ۱ با ۹۷٪ همولوگی با کلبسیلا پنومونیه (۱۱۷۶۸۶)، نمونه ۲ با ۸۳٪ همولوگی با استافیلوکوکوس اورئوس سویه Z172 (۰۷۴۹۲۵)، نمونه ۳ با ۹۹٪ همولوگی با استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس RP62A (۱۱۳۹۵۷) و نمونه ۴ با ۹۰٪ همولوگی با استافیلوکوکوس همولیتیکوس JCSC1435 (۰۷۴۹۹۴) بوده است.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-27]

بحث

اگرچه خطر عفونت‌های منتقل شده از طریق تزریق فرآورده‌های خونی امروزه کمتر از هر زمان دیگری است اما موضوع آلودگی این فرآورده‌ها همچنان باقی است و به عنوان علل موارد بیماری‌زای انسانی شناخته می‌شوند. فقط بهبود و اجرای مستمر انتخاب اهدا کنندگان، آزمایش‌های مشاهده‌ای حساس و روش‌های غیر فعال‌سازی مؤثر می‌توانند حذف یا حداقل کاهش خطر حاصل از عفونت‌های منتقل شده از طریق تزریق این فرآورده‌ها را موجب شوند (۲). بنا بر گزارش صلیب سرخ امریکا مبنی بر شناسایی آلودگی‌های باکتریایی در فرآورده‌های پلاکتی، اغلب عوامل جدا شده (حدود ۷۵٪)، عوامل بیماری‌زای هوازی و گرم مثبت بوده‌اند (۲). فرآورده‌های پلاکتی را می‌توان در دمای اتاق و برای بیش از ۵ روز نگهداری کرد که همین امر شرایط بهینه را برای رشد باکتری‌ها فراهم می‌کند. تلقیح باکتری در خون می‌تواند نتیجه باکتریمی فرد اهدا کننده یا آلودگی سطح پوست وی در طول عملیات رگ‌گیری باشد. مورد دوم بیشترین شیوع را دارد زیرا میکروارگانیسم‌های کشف شده روی پوست و یا اجزاء فرعی پوستی بسیار زیاد هستند. لایه‌های عمقی‌تر پوست، فولیکول‌های مو و باکتری‌های غدد چربی، حامل باکتری‌هایی هستند که حتی پس از ضدعفونی به روش مکانیکی به سختی از بین می‌روند. اگرچه فلور پوستی بیشترین باکتری را دارد، گرفتن خون از اهدا کنندهٔ آلوده به باکتری بدون داشتن نشانه ممکن است به مرگ در اثر تزریق فرآورده پلاکتی آلوده منجر شود. این امر می‌تواند به خاطر رشد باکتری‌ها و تولید اندوتوکسین در طول ذخیره سازی فرآورده‌های پلاکتی اشد (۶). در دمای ۲۴-۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد که دمای نگهداری فرآورده‌های پلاکتی است، امکان رشد باکتری وجود دارد. بررسی‌های کشت هوازی نشان می‌دهد که معمولاً عفونت باکتریایی به میزان ۱ در ۱۰۰۰ تا ۲۰۰۰ واحد پلاکتی یافت می‌شود (۷). در گزارش‌های موردی و مطالعات گذشته نگر اکثر ارگانیسم‌های جدا شده از عفونت‌های ناشی از تزریق و فرآورده‌های پلاکتی آلوده عمدتاً جزئی از فلور طبیعی پوست بوده‌اند که از میان آن‌ها استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت بیشترین نقش را داشته‌اند. نشان داده شده است که خون آلوژنیک برای انتقال خون یک منبع بالقوه عفونت برای انواعی از عوامل شناخته شده و ناشناختهٔ قابل انتقال است. اکثر ارگانیسم‌هایی که از فرآورده‌های خونی گزارش‌شده‌اند یا به عنوان قسمتی از فلور طبیعی پوست انسان بوده‌اند یا جزو ارگانیسم‌هایی هستند که در جریان باکتریمی باعث انتقال آلودگی باکتریایی می‌شوند. این باکتری‌ها شامل استافیلوکوکوس‌ها، استرپتوکوکوس‌ها، میکروکوکوس‌ها، گونه‌های باسیلوس، دیفتروئیدها، باکتری‌های پاراکولون، پسودوموناس آئروژینوزا، اشریشیاکلی، کلبسیلا، آسینه توباکتر و سایر گونه‌های انتروباکتریاسه می‌باشند (۳). در آمریکا بعد از خطاهای انتقال خون، آلودگی باکتریایی دومین علت شایع مرگ مربوط به انتقال خون است. در آمریکا تعداد تخمینی بیمارانی که فرآورده‌های پلاکتی آلوده به باکتری را در سال دریافت کرده‌اند از ۲۰۰۰ تا ۴۰۰۰ مورد بوده است که منجر به ۲۰۰ تا ۶۰۰ مورد سپسیس کلینیکی شده است و بین ۴۰ تا ۵۳۳ مورد مرگ ایجاد کرده است. میزان مرگ در آمریکا حدود ۱ در ۵۰۰۰۰۰ واحد پلاکت تخمین زده شده است (۸).

بین سال‌های ۲۰۰۱- ۱۹۹۵ سیستم مراقبت خونی انگلیس ۲۱ مورد آلودگی باکتریایی ناشی از انتقال خون را گزارش کرده است که ۶ مورد آن به مرگ منتهی شده و ۵ مورد از این ۶ مورد مربوط به آلودگی فرآورده پلاکتی بوده است. در فرانسه نیز میزان واکنش‌های مربوط به انتقال خون به علت آلودگی باکتریایی فرآورده‌های پلاکتی حدود ۱ مورد در ۲۵۰۰۰ واحد پلاکتی گزارش شده است (۸).

سایر تحقیقات در رابطه با آلودگی فرآورده های پلاکت مؤید امکان آلودگی این فراورده‌ها با باکتری‌های هوازی و بی هوازی مختلف اعم از باکتری‌های گرم مثبت نظیر استافیلوکوکوس کوآگولاز منفی، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، استافیلوکوکوس اورئوس، گونه های باسیلوس و گونه های لیستریا و باکتری‌های گرم منفی مانند یرسینیا انتروکولیتیکا، سیتروباکتر فروندی،

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-27]

اشریشیا کلی، پسودوموناس آئروژینوزا و کلبسیلا پنومونیه بوده است(۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲).

احمدی و همکاران در سال ۱۳۸۴ با بررسی آلودگی باکتریایی پلاکت‌های متراکم تهیه شده در مرکز انتقال خون تهران باکتری‌های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس (۴ مورد)، استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس (۲ مورد)، آسینه توباکتر (۵ مورد) و باسیلوس (۳ مورد) را جدا نمودند (۱۳). بنجامین و همکاران در سال ۲۰۱۴ با کشت باکتریایی فرآورده‌های پلاکتی عاری از آنتی‌بادی دریافتند که گونه‌های باکتریایی مشابهی را شناسایی نمودند که با واکنش‌های سپسیس در ارتباط بودند (۱۴). تکنولوژی کاهش عوامل بیماری‌زا و غیرفعال‌سازی آن‌ها (ویروس‌ها، قارچ‌ها، باکتری‌ها و انگل‌ها) یکی از مناسب‌ترین روش‌ها جهت مقابله سریع با این عوامل و جلوگیری از بروز مجدد آن‌ها است. تحقیقات بسیاری در راستای امن نمودن فرآورده‌های خونی در حال انجام است. با این حال امروزه پذیرش مرگ بیماری به علت تزریق فرآورده‌های خونی آلوده دشوار است در حالی که روش‌های متعدد و کارآمدی برای شناسایی عوامل عفونی وجود دارد. لذا بر اساس نتایج این تحقیق فراهم نمودن شرایط مناسب در مراکز انتقال خون و سایر مراکز درمانی جهت انجام آزمایش‌های غربالگری برای شناسایی آلودگی‌های باکتریایی در فرآورده‌های پلاکتی قبل از استفاده از این فرآورده‌ها ضروری به نظر می‌رسد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از جناب آقای مصطفی آقا حسینی معاونت سازمان انتقال خون اصفهان و سایر همکارانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاریمی‌گردد.

References:

1- Hillyer CD, Josephson CD, Blajchman MA, Vostal JG, Epstein JS, Goodman JL. ***Bacterial Contamination of Blood Components: Risks, Strategies and Regulation: Joint ASH and AABB Educational Session in Transfusion Medicine.*** Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2003; 2003(1): 575-89.

2- Bihl F, Castelli D, Marincola F, Dodd RY, Brander C. ***Transfusion- Transmitted Infections.*** J Transl Med 2007; 5(25): 1-11.

3- Abrol P, Harbans L. ***Transfusion-Transmitted Bacterial, Viral and Protozoal Infections, In: Puneet Kochhar, editor.*** Blood Transfusion in Clinical Practice, Intechopen 2012; p.143-54.

4- Razjoo F, Dabirmoghdan A, Zadsar M, Karimi G H. ***Bacteria and Transfusion. 1st ed.*** IBTO Res Center 2011; p. 61-115. [Persian]

5- Bamzadeh Z, Baserisalehi M, Bahador N, Hejazi SH. ***Screening of soil Streptomyces and characterization of their bioactive compounds.*** Health Med 2013; 7(8): 2293-300.

6- Menitove JE. ***Detection of Bacterial Contamination in Platelet Components.*** Blood Bulletin 2003; 6(4). Available at: http://www. americasblood.org/download/bulletin_v6_n4.pdf

7- Brecher ME, Hay SN. ***Bacterial Contamination of Blood Components.*** Clin Microbiol Rev 2005; 18(1): 195-204.

8- Vedy D, Robert D, Gasparini D, Canellini G, Waldvogel S, Tissot JD. ***Bacterial contamination of platelet concentrates: pathogen detection and inactivation methods.*** Hema Rev 2009; 1(1): 5.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-27]

9- Ahmed F, Elhag K. ***Bacterial contamination of platelet concentrate units.*** Department of Laboratory Med Pathology 1997; 6: 1.

10- Hillyer CD, Landford KV, Roback JD, Gillespie TW, Silberstein LE. ***Transfusion of the HIV-seropositive patient: immunomodulation, viral reactivation, and limiting exposure to EBV (HHV-4), CMV (HHV-5), and HHV-6, 7, and 8.*** Transfus Med Rev 1999; 13(1): 1-17.

11- Adjei AA, Kuma GK, Tettey Y, Ayeh-Kumi PF, Opintan J, Apeagyei F, et al***. Bacterial Contamination of Blood and Blood Components in Three Major Blood Transfusion Centers, Accra, Ghana.*** Jpn J Infect Dis 2009; 62(4): 265-69.

12- Bolarinwa RA, Aboderin OA, Odetoyin BW, Adegunloye AB. ***Bacterial Contamination of Blood and Blood Components in a Tertiary Hospital Setting in Nigeria.*** Int J Infect control 2011; 7(1): 1-6.

13- Ahmadi G, Gholizadeh HR, Farseh R, Sharifi Sh. ***Evaluation of bacterial contamination of platelet concentrates collected at Tehran Regional Blood Center.*** Blood J 2005; 2(6): 233-37. [Persian]

14- Benjamin RJ, Dy B, Perez J, Eder AF, Wagner SJ. ***Bacterial culture of apheresis platelets: a mathematical model of the residual rate of contamination based on unconfirmed positive results.*** Vox sang 2014; 106(1): 23-30.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-27]

The Survey of Contamination of Platelet Product with Aerobic Bacteria in Isfahan Blood Transfusion Center

Farshad Baghban (DVM, DVSc)*[1], Farzad Baghi Baghban (MS)[2], Zahra Bamzadeh (PhD) [3]
Nahid Akbari (MD) [4], Mahsa Khosravi Bakhtiari (DVM) [5]

[1] *Department of Microbiology, Yasooj Branch, Islamic Azad University, Yasooj, Iran.*
[2,3] *Department of Microbiology, Share-kord Branch, Islamic Azad University, Shahre-kord, Iran.*
[4] *Department of Quality Control, Isfahan Blood Transfusion Center, Isfahan, Iran.*
[5] *Department of Clinical Pathology, Veterinary Faculty of Shiraz University, Shiraz, Iran.*

Received: 20 Apr 2016 ***Accepted:*** 6 Aug 2016

Abstract

Introduction: Although nowadays the risk of transmission of bacterial pathogens through blood transfusion has been decreased, but there is the possibility of transmission of these factors by injection of these kind of products. The purpose of this survey was determination of contamination of platelet products with aerobic bacteria in Isfahan Blood Transfusion Center.

Methods: In the spring and summer of 2014, 2000 platelet product samples were examined randomly in 5 months for aerobic bacterial contamination. First, samples were cultured in fluid thioglycollate medium. The bacteria that were grown in this medium were identified by Gram staining and biochemical tests. Then, DNA was extracted from isolated bacteria and PCR was done for 16S rRNA gene. After that the PCR products were sequenced and the bacteria were recognized at the level of species.

Results: At this research, 4 contaminated samples were identified. Isolated bacteria were including: Klebsiella pneumoniae 1 case, Staphylococcus aureus 1 case, Staphylococcus epidermidis 1 case and Staphylococcus haemolyticus 1 case. After sequencing of 16S rRNA gene, the homology was observed 97%, 83%, 99%, and 90% at theses bacteria, respectively.

Discussion: According to the results of this research, platelet products may be contaminated with aerobic bacteria. Therefore, providing appropriate conditions in transfusion centers and other therapeutic centers for doing screening tests on platelet products to identifying bacterial contaminations before using of these products seems to be necessary.

Keywords: Platelet Products; Bacterial Contamination; PCR

This paper should be cited as:
Farshad Baghban, Farzad Baghi Baghban, Zahra Bamzadeh, Nahid Akbari, Mahsa Khosravi Bakhtiari. ***The survey of contamination of platelet product with aerobic bacteria in isfahan blood transfusion center.*** J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2016; 24(6): 441-48.

Corresponding author: Tel: 09131130969, email: baghibaghban@gmail.com

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-27]