Progress and development of Kermanshah province
Online ISSN
ISSN - 2783-0713

Comparison of the rate of bacterial contamination in platelets produced three and five days after the production date by the blood transfusion center of Kermanshah

Mosayeb Rostamian
PhD. Infectious Disease Research Center, Health Institute, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
(**Corresponding author**) mosayeb.rostamian@gmail.com

Roya chegeneh Lorestani
MSc. Infectious Disease Research Center, Health Institute, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
lorestani25@gmail.com

Keyghobad Ghadiri
PhD. Pediatric infectious disease specialist, Infectious Disease Research Center, Health Institute, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
k_ghadiri@yahoo.com

Maryam Mirzadeh
MD, Blood Transfusion and Donation Center of Kermanshah, Kermanshah, Iran
m.mirzadeh99@gmail.com

Alisha Akya
PhD. Infectious Disease Research Center, Health Institute, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
akya359@yahoo.com

Shahram Barfi
PhD. Blood Transfusion and Donation Center of Kermanshah, Kermanshah, Iran
shahrambarfi@gmail.com

Afshin Almasi
PhD. Clinical Research Development Center, Imam Khomeini, Mohammad Kermanshahi, and Farabi Hospitals, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
afalmasa@gmail.com

Atefeh Kiani
BSc. Blood Transfusion and Donation Center of Kermanshah, Kermanshah, Iran
atefeh.kiani1982@gmail.com

Progress and development of Kermanshah province
Online ISSN
ISSN - 2783-0713

Mandana Zamzam
BSc. Blood Transfusion and Donation Center of Kermanshah, Kermanshah, Iran
mandanazamzam@yahoo.com

Azadeh Amiri
BSc. Blood Transfusion and Donation Center of Kermanshah, Kermanshah, Iran
azadehamiri@yahoo.com

Zahra Amiri
BSc. Blood Transfusion and Donation Center of Kermanshah, Kermanshah, Iran
z.amiri.300@gmail.com

Abstract

Objective: Due to the process of production and storage of platelets at room temperature, their bacterial contamination is more likely than other blood products, and therefore the storage time of this product is currently proposed to be no more than three days. Platelet shortage is one of the major challenges ahead and increasing platelet storage time can partially compensate for their shortage. Therefore, the aim of the present study was to compare bacterial contamination in platelets three and five days after production.

Methods: 376 platelet bags derived from the blood of donors referred to the Kermanshah Blood Transfusion Organization were used. Under sterile conditions, platelet bags were sampled twice (once three days after production and once five days after production). After sampling, the samples were cultured on different microbial culture media under aerobic and anaerobic conditions. Also, in order to compare the quality of platelets produced, platelets were examined by pH, swirling and counting by cell counter.

Results: The results showed that no platelet bag was infected with the bacterium (in both three and five days after production) according to the diagnostic methods. Also, no difference was observed between platelet quality in three days and five days after production.

Conclusion: The lack of difference between three- and five-day platelets shows that in order to compensate for the shortage of platelets, the produced platelets can be kept in suitable conditions for up to five days (instead of three days).

Keywords: Platelets, Bacterial contamination, Blood transfusion, Microbial culture, Shelf life

شاپا الکترونیکی
ISSN – ۲۷۸۳-۰۷۱۳

پیشرفت و توسعه استان کرمانشاه

سازمان برنامه و بودجه کشور
سازمان مدیریت و برنامه ریزی استان کرمانشاه

مقایسه میزان آلودگی باکتریایی در پلاکت‌های تهیه شده سه و پنج روز بعد از تاریخ تولید توسط سازمان انتقال خون کرمانشاه

مصیب رستمیان

دکتری بیوتکنولوژی دارویی، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه،کرمانشاه، ایران.

mosayeb.rostamian@gmail.com **(نویسنده مسئول)**

رویا چگنه لرستانی

کارشناسی ارشد میکروبیولوژی پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، ایران.

lorestani25@gmail.com

کیقباد قدیری

دکتری فوق تخصص عفونی کودکان، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه ایران.

k_ghadiri@yahoo.com

مریم میرزاده

پزشک عمومی، اداره کل انتقال خون کرمانشاه، ایران.

m.mirzadeh99@gmail.com

علی‌شا اکیا

دکتری میکروبیولوژی پزشکی، مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه،ایران.

akya359@yahoo.com

شهرام برفی

دکتری ویروس شناسی پزشکی، اداره کل انتقال خون کرمانشاه، ایران.

shahrambarfi@gmail.com

افشین الماسی

دکتری اپیدمیولوژی، مرکز توسعه تحقیقات بالینی، بیمارستانهای امام خمینی (ره)، محمد کرمانشاهی و فارابی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، ایران.

afalmasa@gmail.com

عاطفه کیانی

کارشناس علوم آزمایشگاهی، اداره کل انتقال خون کرمانشاه، ایران.

atefeh.kiani1982@gmail.com

شاپا الکترونیکی
ISSN – ۲۷۸۳-۰۷۱۳

پیشرفت و توسعه استان کرمانشاه

سازمان مدیریت و برنامه ریزی استان کرمانشاه

ماندانا زمزم

کارشناس زیست شناسی، اداره کل انتقال خون کرمانشاه، ایران.

mandanazamzam@yahoo.com

آزاده امیری

کارشناس علوم آزمایشگاهی، اداره کل انتقال خون کرمانشاه، ایران.

azadehamiri@yahoo.com

زهرا امیری

کارشناس ارشد مدیریت آموزشی، اداره کل انتقال خون کرمانشاه، ایران.

z.amiri.300@gmail.com

چکیده

هدف: با توجه به فرایند تولید و نگهداری پلاکت‌ها در دمای محیط، آلودگی باکتریایی آنها محتمل‌تر از سایر فرآورده‌های خونی است و بنابراین در حال حاضر مدت زمان نگهداری این فرآورده نهایتاً تا سه روز پیشنهاد شده است. کمبود پلاکت‌ها از چالش‌های مهم پیش‌رو می‌باشد و افزایش زمان نگهداری پلاکت‌ها می‌تواند تا حدودی کمبود آنها را جبران کند. بنابراین هدف مطالعه حاضر مقایسه آلودگی باکتریایی در پلاکت‌های سه روزه و پنج روزه است.

روش‌شناسی: از ۳۷۶ کیسه پلاکتی مشتق از خون اهدا کنندگان مراجعه‌کننده به سازمان انتقال خون کرمانشاه استفاده شد. در شرایط استریل، در دو نوبت (یکبار سه روز پس از تولید و یکبار پنج روز پس از تولید) از کیسه‌های پلاکتی نمونه‌برداری شد. پس از برداشت، نمونه‌ها بر روی محیط‌های کشت میکروبی مختلف و در شرایط هوازی و بی‌هوازی کشت داده شدند. همچنین به‌منظور مقایسه کیفیت پلاکت‌های تولیدی، پلاکت‌ها از لحاظ pH، تولید حالت ابری (swirling) و شمارش توسط دستگاه cell counter بررسی شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که هیچ کیسه پلاکتی به باکتری آلوده نبود (چه در سه و چه در پنج روز پس از تولید). همچنین تفاوتی بین کیفیت پلاکت‌ها در سه روز و پنج روز پس از تولید مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: عدم تفاوت بین پلاکت‌های سه و پنج روزه نشان می‌دهد که به‌منظور جبران کمبود پلاکت‌ها، می‌توان پلاکت‌های تولیدی را تا پنج روز (به جای سه روز) در شرایط مناسب نگهداری کرد.

کلید واژه‌ها: آلودگی باکتریایی، انتقال خون، پلاکت، کشت میکروبی، مدت نگهداری

تاریخ ارسال: ۱۴۰۱/۰۶/۲۹ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۱/۰۹/۲۰

۱. مقدمه

تزریق خون و فرآورده‌های آن یکی از روش‌های مهم درمانی برای بسیاری از بیماری‌ها است. به دلیل پیشرفت‌های قابل توجه در غربالگری و آزمایش اهداکنندگان، ایمنی فرآورده‌های خونی در طول زمان افزایش یافته است (بولتن- ماگس و همکاران[۱]، ۲۰۱۳). با این وجود، خطرات بالقوه عفونت ناشی از عوامل بیماری‌زای باکتریایی، ویروسی و دیگر پاتوژن‌ها همچنان باقی مانده است (بولتن- ماگس و همکاران، ۲۰۱۳، کلینمن و همکاران[۲]، ۲۰۱۳). از مهم‌ترین مشتقات خون کامل، فراورده پلاکت می‌باشد که در مراکز انتقال خون تهیه می‌شود و مصرف آن نقش بسیار مهمی در کنترل خونریزی در بیماران مبتلا به کاهش شمارش پلاکت در بسیاری از بیماری‌ها دارد (کلوزن و همکاران[۳]، ۲۰۱۴، کولکامی و همکاران[۴]، ۲۰۱۴، ودی و همکاران[۵]، ۲۰۰۹، اگزی و همکاران[۶]، ۲۰۱۹، احمدی و همکاران، ۲۰۰۶). انتقال پلاکت در بیماران بخش مراقبت‌های ویژه (ICU) رایج است (انگله و همکاران[۷]، ۲۰۱۶). دریافت پلاکت در ۹ تا ۳۰ درصد بیماران بستری در ICU مورد نیاز است (لیبرمن و همکاران[۸]، ۲۰۱۴). همچنین پلاکت‌ها معمولاً به‌عنوان درمان خونریزی در حین یا بعد از عمل یا پیشگیری قبل از جراحی به بیمارانی که نیاز به عمل جراحی دارند، تزریق می‌شوند.

با توجه به فرایند تولید و نگهداری این فراورده خونی در دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد (ودی و همکاران، ۲۰۰۹)، که نسبت به دمای نگهداری سایر فرآورده‌های خونی (۲ تا ۶ درجه سانتی‌گراد) دمای مناسب‌تری برای رشد برخی از باکتری‌هاست، آلودگی باکتریایی پلاکت‌ها محتمل‌تر از سایر فرآورده‌های خونی است و این آلودگی یکی از خطرات عفونی اصلی انتقال خون است (کلوتیئر و همکاران[۹]، ۲۰۲۲، سازمان غذا و دارو آمریکا[۱۰]، ۲۰۱۶). نسبت به سایر فرآورده‌های خونی، انتقال پلاکت آلوده با خطر بیشتر سپتی‌سمی و مرگ مرتبط است (سازمان غذا و دارو آمریکا، ۲۰۱۶). آلودگی باکتریایی پلاکت‌ها می‌تواند تهدیدی جدی برای سلامت افراد دریافت کننده پلاکت به خصوص بیماران بستری شده در ICU باشد (لوی و همکاران[۱۱]، ۲۰۱۸).

به‌طور متوسط از هر ۱۰۰۰ تا ۲۵۰۰ کیسه پلاکتی یک مورد آلوده به باکتری می‌گردد (لوی و همکاران، ۲۰۱۸). سازمان غذا و داروی ایالات متحده (FDA) پیش‌نویس دستورالعملی را منتشر کرده است که استراتژی‌های بیشتری را

1. Bolton-Maggs et al
2. Kleinman et al
3. Klausen et al
4. Kulkarni et al
5. Védy et al
6. Agzie et al
7. Engele et al
8 . Lieberman et al
9. Cloutier et al
10. FDA
11. Levy et al

برای کاهش آلودگی باکتریایی انتقال پلاکت توصیه می‌کند (سازمان غذا و دارو آمریکا، ۲۰۱۶). طبق این دستورالعمل، روش‌های متعددی جهت کاهش خطر عفونت میکروبی ناشی از انتقال خون در دسترس قرار دارند. از جمله این روش‌ها می‌توان به مواردی همچون انتخاب صحیح و دقیق محل خون‌گیری، انتخاب صحیح و دقیق اهداکننده، استفاده از یک روش مؤثر استریل کردن محل خون‌گیری، مشاهده و ارزیابی مداوم سیستم فرآیندهای مرتبط با تهیه و تولید فرآورده‌ها، بررسی شرایط ظاهری کیسه‌ها و جداسازی حجم مناسبی از خون اولیه به وسیله کیسه‌های جانبی اشاره کرد (سازمان غذا و دارو آمریکا، ۲۰۱۶، زاجر[1]، ۲۰۱۷، بوش و همکاران[2]، ۲۰۱۹).

آلودگی باکتریایی در کیسه‌های پلاکتی از ۲ ناحیه نشأت می‌گیرد: منشاء داخلی[3] و منشاء خارجی[4] (کلوزن و همکاران، ۲۰۱۴، کولکامی و همکاران، ۲۰۱۴، ودی و همکاران، ۲۰۰۹، اگزی و همکاران، ۲۰۱۹). در منشا داخلی خود فرد اهداکننده مبتلا به باکتریمی بوده و اهدای خون در شرایط خاص باعث انتقال باکتری به کیسه‌های پلاکتی می‌شود (کلوزن و همکاران، ۲۰۱۴). در منشاء خارجی حضور باکتری در محل خون‌گیری و تکنیک ضعیف ضدعفونی کردن باعث انتقال باکتری به کیسه خون‌گیری می‌شود (ودی و همکاران، ۲۰۰۹). آلودگی محل تهیه و نگهداری پلاکت به عوامل باکتریایی از دیگر علل آلودگی با منشاء خارجی عنوان شده است (ودی و همکاران، ۲۰۰۹). بیشترین عامل آلودگی کیسه‌های پلاکتی باکتری‌های فلور پوستی هستند. اما بعضاً و در صورتی که شرایط نگهداری واجدهای پلاکتی مهیای رشد باکتری باشد، آلودگی با باکتری‌های خطرناک روده‌ای نیز مشاهده شده است (لوی و همکاران، ۲۰۱۸). شایع‌ترین باکتری‌های گزارش شده در کیسه‌های پلاکتی از گرم مثبت‌ها گونه (species) های Bacillus، Streptococcus، Staphylococcus و Propionibacterium acnes و از گرم منفی‌ها گونه‌های Klebsiella، Serratia، *Escherichia coli*، Acinetobacter، Enterobacter، Providencia و Yersinia هستند (لوی و همکاران، ۲۰۱۸).

با توجه به مصرف و نیاز روز افزون به این فرآورده مخصوصاً در مورد گروه‌های خونی منفی،کمبود این فرآورده از چالش‌های مهم پیش‌رو می‌باشد. در حال حاضر پلاکت‌ها در خارج از بدن انسان و درون کیسه‌های خون را تنها سه روز می‌توان نگهداری کرد و بر همین اساس این فرآورده خونی باید به صورت روزانه تأمین شود. با توجه به مصرف بسیار زیاد این فراورده خونی، کمبود این فراورده همواره از چالش‌های اساسی مراکز انتقال خون می‌باشد. نگهداری فرآورده پلاکتی تا پنج روز بعد از اهدای خون امکان‌پذیر می‌باشد اما با توجه به احتمال آلودگی باکتریایی (با منشاء داخلی و خارجی) و نگهداری این فراورده خونی در دمای ۲۴-۲۰ درجه سانتی‌گراد، مدت زمان نگهداری این فرآورده به سه روز تقلیل یافته است (انجمن پیشرفت خون و بیوتراپی[5]، ۲۰۱۸). در صورتی که آلودگی‌باکتریایی پلاکت پنج

1. Zaaijer
2. Busch et al
3. endogenous
4. exogenous
5. Association for the Advancement of Blood & Biotherapies, AABB

روزه کمتر یا برابر با سه روزه باشد می‌توان پیشنهاد افزایش مدت زمان نگهداری تا پنج روز را ارائه داد. بنابراین در مطالعه حاضر ما به مقایسه آلودگی‌باکتریایی در پلاکت‌های سه روزه و پنج روزه پرداختیم.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد و وسایل مورد استفاده

محیط‌های کشت‌های مورد استفاده در طرح فعلی از شرکت Condalab کشور اسپانیا خریداری شدند. محلول‌ها و محیط‌های کشت اتوکلاو شده و ظروف شیشه‌ای توسط فور استریل شدند.

۲-۲- جمعیت مورد مطالعه

در این مطالعه از ۳۷۶ کیسه پلاکتی مشتق از خون اهدا کنندگان مراجعه کننده به سازمان انتقال خون کرمانشاه استفاده شد. برای محاسبه حجم نمونه از فرمول کوکران استفاده شد. بر اساس مطالعات مشابه در بازه زمانی پیشنهادی و بر اساس خون‌گیری ۲۰۰۰۰ کیسه خون تعداد ۳۷۶ پلاکت با سطح خطای ۵ درصد به عنوان جمعیت مورد نیاز به‌دست آمد.

فرمول محاسبه جمعیت مورد نیاز برای نمونه‌گیری:

$$n = \frac{\frac{z^2 pq}{d^2}}{1 + \frac{1}{N}\left[\frac{z^2 pq}{d^2} - 1\right]}$$

در این فرمول N حجم جامعه است. آماره p درصد توزیع صفت در جامعه یعنی نسبت افرادی است که دارای صفت مورد مطالعه هستند. آماره q نیز درصد افرادی است که فاقد صفت مورد مطالعه هستند. درسطح خطای ٪۵ مقدار z برابر ۹۶/۱ و و Z^2 برابر ۸۴۱۶/۳ است. مقدار d نیز تفاضل نسبت واقعی صفت در جامعه با میزان تخمین پژوهشگر برای وجود آن صفت در جامعه است.

کلیه اهداکنندگان در این مطالعه پیش از اهدا پرسشنامه‌ای را مطابق با روش‌های اجرایی استاندارد انتخاب اهداکننده تکمیل کرده و مورد مصاحبه و معاینه پزشکی قرار گرفته بودند. اهداکنندگانی که شرایط اهدای پلاکت را داشتند، طبق استانداردهای انتقال خون ایران خون‌گیری شدند. برای شناسایی عوامل بیماری‌زا، کلیه نمونه‌های جمع‌آوری شده از نظر آزمایش‌های HIV، HBV و HCV توسط آزمایشگاه الایزا (بایومریوکس و Davubcu) پایگاه انتقال خون کرمانشاه مورد بررسی قرار گرفتند و نتایج آزمایش‌های غربال‌گری الایزا شامل HIV، HBV و HCV منفی بود.

۲-۳- نحوه تولید پلاکت

تولید پلاکت توسط سازمان انتقال خون و طبق پروتکل‌های سازمان انجام گرفت و در این مطالعه تنها از نمونه‌های آماده پلاکت‌ها استفاده شد. با این وجود روند تولید کیسه‌های پلاکتی به‌طور خلاصه به شرح زیر بود: ۴۵۰ میلی‌لیتر

خون در کیسه‌های سه‌تایی (ماکوفارما) حاوی ضد انعقاد[1] جمع‌آوری گردید. در عرض کمتر از ۱ ساعت، کیسه‌های خون تهیه شده به بخش فرآورده سازمان، انتقال یافتند. ابتدا، کیسه‌های خون را در سانتریفیوژ (ROTO SILENTA 630 RS) قرار داده و به مدت ۳ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و با شتاب G2000 سانتریفیوژ شدند. در این مرحله پلاسمای غنی از پلاکت در کیسه‌های خون به وسیله دستگاه جداکننده به کیسه جانبی با نشان پلاکت منتقل گردید و کیسه‌های اصلی حاوی گلبول‌های قرمز فشرده به وسیله دستگاه سیلر جدا شدند. در مرحله بعد کیسه‌های حاوی پلاسمای غنی از پلاکت به مدت ۶ دقیقه با شتاب G5000 و در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. در نهایت پس از سانتریفیوژ، پلاسمای رویی خالی از پلاکت به کیسه جانبی انتقال یافت و رسوب پلاکتی ته‌نشین شده به صورت فشرده و کنسانتره در کیسه‌های با نشان پلاکتی باقی ماند. کیسه‌های پلاکتی تهیه شده در دمای آزمایشگاه در محدوده ۲۴-۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت به حالت سکون قرار داده شدند تا توده پلاکتی فشرده شده درون پلاسما باز شده و به حالت سیال درآید. فرآورده‌های پلاکتی تهیه شده در شرایط نگهداری محصولات پلاکتی پایگاه در دمای ۲۴-۲۰ درجه سانتی‌گراد با چرخش ۶۰ دور در دقیقه به مدت ۲۴ ساعت جهت انجام آزمایش‌های غربالگری قرنطینه شدند. پس از حصول جواب آزمایش‌های غربالگری و اطمینان از سلامت محصولات، فرآورده‌های پلاکتی برچسب‌گذاری و آماده عرضه گردیدند.

۲-٤- نحوه نمونه‌گیری

کیسه‌های پلاکتی روزانه و به صورت رندوم از محل تولید کیسه‌های پلاکتی در مرکز انتقال خون گرفته شد و برای بررسی میکروبی به مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی انتقال داده شدند. نمونه‌های مورد استفاده در یک بازه شش ماهه از پایگاه انتقال خون کرمانشاه تهیه شدند. مشخصات کیسه پلاکت با استفاده از شماره بارکد (شکل ۱) به همراه نمونه جهت پیگیری‌های بعدی یادداشت شد. پلاکت‌ها در دمای محیط (۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد) در شرایط استریل و بر روی شیکر نگهداری شدند. در شرایط استریل (زیر هود و در کنار شعله) در دو نوبت (یکبار سه روز پس از تولید و یکبار پنج روز پس از تولید) از کیسه‌های پلاکتی نمونه‌برداری انجام گرفت.

برای نمونه‌برداری از کیسه‌های با طناب (cord) بلند استفاده شد (شکل ۱) و یکبار در سه روز پس از تولید پس از مخلوط کردن پلاکت‌ها، قسمتی از طناب جدا می‌شد و محتویات آن برای کشت میکروبی برداشته می‌شد و سپس با استفاده از دستگاه مهر و موم‌کننده (sealer) طناب بسته می‌شد و کیسه برای دو روز دیگر (تا رسیدن به پنج روز پس از تولید) در دمای محیط و بر روی شیکر نگهداری می‌شد. بدین‌صورت کیسه پلاکتی آلوده نخواهد شد و همان کیسه را دو روز دیگر نگه داشته و به‌عنوان پلاکت تولیدی پنج روزه استفاده خواهد شد. بنابراین تعداد کل کیسه‌ها ۳۷۶ عدد بود که هم در سه روز و هم در پنج روز مورد مطالعه قرار گرفتند. پس از برداشت، نمونه‌ها بر روی محیط‌های کشت میکروبی کشت داده شدند.

1. Citrate phosphate dextrose(CPDA)

شکل۱. کیسه‌های پلاکتی مورد استفاده. به‌عنوان نمونه یک کیسه پلاکتی در این تصویر نشان داده شده است. این کیسه دارای یک قسمت طناب (cord) بلند برای برداشت نمونه است. همچنین این کیسه برچسبی حاوی کد مخصوص و سایر اطلاعات لازم برای استفاده در امور بالینی است.

۲-۵-کشت باکتری

به‌منظور کشت باکتری‌های احتمالی در نمونه‌های پلاکت‌های سه و پنج روزه، ابتدا مقداری از نمونه پلاکتی به‌محیط مایع تایوگلیکولات اضافه شد و به مدت ۷ روز در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و در این مدت رشد

باکتری در آن با سنجش ماکروسکوپی (چشمی) و روئیت کدورت بررسی شد. سپس با استفاده از لوپ از این محیط برداشته و بر روی محیط بلادآگارکشت داده شد. محیط‌های آگار کشت داده شده در شرایط هوازی و بی‌هوازی (با استفاده از جار) به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس پلیت‌ها از لحاظ رشد کلنی مورد بررسی قرار گرفتند.

از آنجایی که هیچ نمونه مثبت باکتری در آزمایش‌ها ما جدا نشد، لذا آزمایش‌ها بیشتر برای شناسایی دقیق جنس و گونه باکتری، انجام نشد.

۲-۶- مقایسه کیفیت پلاکت‌های سه روزه و پنج روزه

به‌منظور مقایسه کیفیت پلاکت‌های سه روزه و پنج روزه، در هر دو دوره پلاکت‌ها از لحاظ pH، تولید حالت ابری[1] و شمارش توسط دستگاه cell counter بررسی شدند و با همدیگر مورد مقایسه قرار گرفتند. به‌منظور ارزیابی pH فرآورده‌های پلاکتی، ابتدا دستگاه (JENWay 3320, UK) روشن و به مدت ۱۵ دقیقه جهت رسیدن به دمای مناسب روشن قرار داده شد. سپس دستگاه با استفاده از بافر CentiPURE با pH ۷ کالیبره و سپس میزان pH فرآورده های پلاکتی مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت محاسبه شمارش پلاکتی، دستگاه اتوماتیک سیس‌مکس kx21 روشن، کالیبره و کنترل گردید. پس از اطمینان از صحت عملکرد آن، نمونه‌ها از لحاظ میزان شمارش پلاکتی ارزیابی شدند.

۲-۷- مسایل مربوط به اخلاق پژوهش

برای انجام این طرح هیچ‌گونه هزینه‌ای به اهداکنندگان خون تحمیل نشد و نمونه‌ها توسط سازمان انتقال خون کرمانشاه جمع‌آوری شد و به مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی انتقال داده شد. مفاد اعلامیه هلسینکی رعایت گردید.

۳. یافته‌ها

۳-۱- شیوع آلودگی باکتریایی در نمونه های پلاکتی

برای نمونه‌برداری از کیسه‌های با طناب بلند استفاده شد و برای برداشت نمونه هر بار از قسمتی از طناب استفاده می‌شد و سپس دوباره کیسه مهروموم می‌شد. تعداد کل کیسه‌ها ۳۷۶ عدد بود که هم در سه روز و هم در پنج روز مورد مطالعه قرار گرفتند. یافته‌های حاصل از آزمایش‌های انجام گرفته بر روی این ۳۷۶ کیسه پلاکت متراکم جمع‌آوری شده در سه و پنج روز پس از تولید نشان داد که هیچکدام از کیسه‌ها آلوده تشخیص داده نشد.

جدول ۱. شیوع آلودگی باکتریایی در کیسه‌های پلاکتی

پارامتر مورد بررسی	پلاکت‌های تولیدی سه روزه	پلاکت‌های تولیدی پنج روزه
تعداد کیسه مورد بررسی	۳۷۶	۳۷۶
تعداد کیسه آلوده	صفر مورد	صفر مورد

1. swirling

از آنجایی که هیچ نمـونـه مثبـت باکتری در آزمایش‌ها ما جـدا نشد لذا آزمایش‌هابیشتر برای شناسایی دقیق جنس و گونه باکتری، انجام نشد. همچنین از آنجایی که هیچ کیسه پلاکتی آلوده دیده نشد بنابراین امکان ارتباط فاکتورهایی مانند خصوصیات دموگرافیک فرد اهدا کننده با نوع و میزان آلودگی نبود.

۳-۲- مقایسه کیفیت پلاکت‌های تولیدی سه و پنج روزه

به‌منظور مقایسه کیفیت پلاکت‌های تولیدی سه روز و پنج روز پس از تولید، در هر دو دوره پلاکت‌ها از لحاظ pH، تولید حالت ابری (swirling) و شمارش توسط دستگاه cell counter بررسی شدند و با همدیگر مورد مقایسه قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تفاوتی بین کیفیت پلاکت‌ها در سه روز و پنج روز پس از تولید وجود ندارد (جدول ۲).

جدول ۲. کیفیت پلاکت‌های تولیدی سه و پنج روزه

پارامتر مورد بررسی	پلاکت‌های تولیدی سه روزه	پلاکت‌های تولیدی پنج روزه
میزان **pH** (میانگین)	۷/۰۱	۷/۰۳
حالت ابری (**swirling**) (رویت چشمی)	رویت شد	رویت شد
تعداد پلاکت در کیسه (۱۰۱۱X) (میانگین ± انحراف معیار)	۰/۵۸ ±۰/۰۵	۰/۵۷ ±۰/۰۵

٤. بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضـر از بین ۳۷۶ نمونه پلاکت متراکم کشـت داده شـده، هیچ موردی به‌عنوان نمونه آلوده چه در نمونه برداری روز سـوم (با احتسـاب روز تولید صـفر) و چه در نمونه‌برداری روز پنجم تشـخیص داده نشـد. این نتایج نشـان می‌دهد که رعایت اصـول انتخاب اهدا کنندگان، نمونه‌گیری و اسـتریلیتی نتوانسـته مانع از آلودگی پلاکت‌ها شـود. به طور متوسط از هر ۱۰۰۰ تا ۲۵۰۰ کیسه پلاکتی یک مورد آلوده به باکتری می‌گردد (لوی و همکاران، ۲۰۱۸). همچنین عدم آلودگی یافت شـده در مطالعه حاضـر، مخالف با مطالعه دهقانیان و همکاران (۲۰۱۷)، (۱ مورد از ۱۵۰۰ کیسـه پلاکتی) و مطالعه احمدی و همکاران (۲۰۰۶)، (۱۴ مورد از ۷۷۰۰ کیسـه پلاکتی) بوده اسـت. یافته‌های این تحقیق در مقایسه با تحقیق احمدی و همکاران (۲۰۰۶) نشانگر کاهش شیوع آلودگی باکتریایی در کنسانتره پلاکت تولید شده می‌باشد. این موضوع می‌تواند بیان‌کننده دستیابی سازمان انتقال خون ایران به استانداردهای کیفی و کمی در سطح بین‌المللی (صابر و همکاران، ۲۰۱۷) در سال‌های اخیر باشد. استفاده از کیسه‌های خون‌گیری همراه با کیسه نمونه‌گیری[1] جهت حذف حجم ۱۵ تا ۳۰ میلی‌لیتر ابتدایی خون جمع‌آوری شده، ارتقا فرآیندهای مختلف مرتبط با تولید محصول و همچنین رعایت استانداردهای تولید محصول منطبق با اصول[2] و تأکید بر نظام مراقبت از خون و مراقبت از اهداکننده و

1. sampling pouch
2. Good manufacturing Practice (GMP)

همچنین برگزاری دوره‌های آموزشی مختلف جهت اجرای هر چه بهتر استانداردها را می‌توان از جمله مهم‌ترین دلایل این کاهش در آلودگی باکتریال کنسانتره پلاکت در این مطالعه بیان کرد (پیکر[1]، ۲۰۱۳، دهقانیان و همکاران، ۲۰۱۷).

با مرور اطلاعات رایانه‌ای اهداکنندگان و بررسی نتایج معاینه پیش از اهدا، مشخص گردید که هیچ نوع سابقه‌ای مبنی بر وجود باکتریمی در اهداکنندگان وجود نداشت و نتایج حاصل از معاینه پزشکی اهداکنندگان قبل از اهدا، وضعیت اهداکنندگان را سالم گزارش کرده است. این موضوع هم تأکیدی بر ممانعت ورود آلودگی از منشا داخلی به کیسه های پلاکتی است.

مطالعه‌های صورت گرفته مهم‌ترین میکروارگانیسم‌هایی که باعث ایجاد آلودگی باکتریایی در کنسانتره پلاکت می‌گردند را گونه‌های Staphylococcus (۴۲٪)، Escherichia coli (۹٪)، Bacillus (۹٪)، Salmonella (۹٪)، Streptococcus (۱۲٪)، Serratia (۸٪)، Enterobacter (۷٪) و سایر میکروارگانیسم‌ها (۴٪) بیان کرده‌اند. همان‌طور که مشخص است، حدود ۵۶٪ این موارد گونه‌های گرم مثبت و هوازی هستند که مهم‌ترین منبع ایجاد آلودگی می‌تواند فلور پوست بازوی اهداکننده و عدم رعایت استانداردهای لازم برای ضد عفونی بازو باشد (لوی و همکاران، ۲۰۱۸). Staphylococcus epidermidis به‌عنوان مهم‌ترین عضو گروه استافیلوکوک‌های کوآگولاز منفی در دهه‌های اخیر سومین عامل عفونت بیمارستانی و یکی از متداول‌ترین عوامل عفونت خون مطرح گردیده است (ویدرستروم[2]، ۲۰۱۶). این میکروارگانیسم بخشی از میکرو فلور طبیعی پوست انسان بوده و در مخاط بینی و بخش فوقانی مجاری تنفسی مستقر می‌باشد (سورن و همکاران[3]، ۲۰۲۲). بنابراین در صورتی که اصول استریلیته رعایت نشود، احتمال انتقال این گونه باکتریایی به نمونه‌های پلاکتی بسیار بالاست. با این حال بررسی‌های آزمایشگاهی صورت گرفته در مطالعه حاضر، نشان دهنده عدم رشد هیچ گونه باکتری در کیسه‌های پلاکتی بود.

نتایج مطالعه حاضرنشان داد که تفاوتی بین کیفیت پلاکت‌ها در سه روز و پنج روز پس از تولید وجود ندارد. برای کنترل کیفی پلاکت‌ها چندین روش از جمله حجم، شمارش پلاکت‌ها، میزان pH، و مارکرهای فعال شدن پلاکت‌ها وجود دارد (انجمن پیشرفت خون و بیوتراپی، ۲۰۱۸).). یکی از مهم‌ترین پارامتری که در کنترل کیفی پلاکت کاربرد دارد، میزان pH واحد پلاکتی است. از نظر استاندارد میزان pH واحد پلاکتی در آخر روز نگهداری باید برابر یا بیش از ۶/۲ باشد. در غیر این صورت viability پلاکت‌ها کاهش می‌یابد (علی، ۲۰۱۱). در مطالعه ما در هر دو بازه زمانی سه و پنج روز پس از تولید میزان pH بیش از ۶/۲ بود. همچنین سایر پارامترهای مورد بررسی برای تعیین کیفیت پلاکت‌ها (swirling و شمارش) در هر دو بازه زمانی مشابه بودند و این امر نشان می‌دهد که پلاکت‌هایی که تا پنج روز پس از تولید نگهداری شوند همان کیفیتی را دارند که پلاکت‌های سه روزه دارند.

1. Picker
2. Widerström
3. Severn et al

مهم‌ترین یافته مطالعه حاضر این بود که آلودگی باکتریایی در پلاکت‌های سه روزه و پنج روزه دیده نشد. در واقع در این تحقیق در هیچ کیسه پلاکتی نمونه باکتریایی یافت نشد که هم در بررسی سه روزه و هم در بررسی پنج روزه این موضوع صادق بود. این نتایج به همراه بررسی کیفیت پلاکت‌های سه و پنج روزه نشان داد که تفاوتی بین کیفیت و احتمال آلودگی باکتریایی پلاکت‌های که تا سه روز پس از تولید و پنج روز پس از تولید نگهداری می‌شوند، نیست. بنابراین می‌توان پیشنهاد داد که به‌منظور جبران کمبود پلاکت‌ها می‌توان پلاکت‌های تولیدی را تا پنج روز (به جای سه روز) در شرایط مناسب نگهداری نمود. با این حال مطالعات بیشتری و بر روی نمونه‌های بیشتر از جمعیت‌های مختلف برای اثبات این امر مورد نیاز است.

فهرست منابع:

AABB. (2018). **Standards for Blood Banks and Transfusion Services**. 3rd ed. Bethesda: AABB.
Dehghanian, M., Avani, H., Mirzaei, B., Shahcheraghi, F., Zadsar, M. (2017). **Bacterial contamination Rate of Platelet Concentrates in Tehran Blood Center**. *Sci J Iran Blood Transfus Organ,* 14 (3), 164–174.

Agzie, M., Niguse, S., Tsegay, E., Kahsay, G., Mahmud, MA. (2019). **Bacterial contaminants of stored blood and blood components ready for transfusion at blood banks in Mekelle, Northern Ethiopia**. *BMC Res Notes*, 12 (1), 169.

Ahmadi, J., Gholizadeh, H., Farseh, R., Sharifi, S. (2006). **Evaluation of bacterial contamination of platelet concentrates collected at Tehran Regional Blood Center**. *Sci J Iran Blood Transfus Organ*, 2 (6), 233–237.

Ali, SF. (2011). **Platelet activation of platelet concentrates derived from buffy coat and apheresis methods.** *Transfus Apher Sci*, 44 (1), 11–13.

Bolton-Maggs, P., Cohen, H. (2013). **Serious Hazards of Transfusion (SHOT) haemovigilance and progress is improving transfusion safety**. *Br J Haematol,* 163 (3), 303–314.

Busch, MP. Bloch, EM. Kleinman, S. (2019). **Prevention of transfusion-transmitted infections**. *Blood,* 133(17), 1854–1864.

Cloutier, M., De Korte, D. (2022). **Residual risks of bacterial contamination for pathogen-reduced platelet components.** *Vox Sang*, 117 (7), 879–886.

Engele, LJ. Straat, M., van Rooijen, IHM. De Vooght, KMK. Cremer, OL. Schultz, MJ. et al. (2016). **Transfusion of platelets, but not of red blood cells, is independently associated with nosocomial infections in the critically ill.** *Ann Intensive Care*. 6 (1), 67.

FDA. (2016). **Bacterial Risk Control Strategies for Blood Collection Establishments and Transfusion Services to Enhance the Safety and Availability of Platelets for Transfusion: Draft Guidance for Industry**. *CBER*, editor. US Food and Drug Administration.

Klausen, SS., Hervig, T., Seghatchian, J., Reikvam, H. (2014). **Bacterial contamination of blood components: Norwegian strategies in identifying donors with higher risk of inducing septic transfusion reactions in recipients**. *Transfus Apher Sci*, 51(2), 97–102.

Kleinman, S., Reed, W., Stassinopoulos, A. (2013). **A patient-oriented risk-benefit analysis of pathogen-inactivated blood components: application to apheresis platelets in the United States**. *Transfusion*, 53 (7), 1603–1618.

Kulkarni, N. (2014). **A Prospective Study to Determine the Frequency of Bacterial Contamination of Platelets**. *Indian J Hematol Blood Transfus*, 30 (4), 319–320.

Levy, JH. Neal, MD., Herman, JH. (2018). **Bacterial contamination of platelets for transfusion: strategies for prevention.** *Crit Care,* 22 (1), 271.

Lieberman, L., Bercovitz, RS. Sholapur, NS. Heddle, NM. Stanworth, SJ. Arnold, DM. (2014). **Platelet transfusions for critically ill patients with thrombocytopenia**. *Blood,* 123(8), 1146–1151.

Picker, SM. (2013). **Current methods for the reduction of blood-borne pathogens: a comprehensive literature review**. *Blood Transfus*. 11(3), 343–348.

Saber, HR., Tabatabaee, SM., Abasian, A., Jamali, M., SalekMoghadam, E., Hajibeigi, B., et al. (2017). **Incidence and Residual Risk of HIV, HBV and HCV Infections among Blood Donors in Tehran**. *Indian J Hematol Blood Transfus,* 33(3), 412–416.

Severn, MM. Horswill, AR. (2022). **Staphylococcus epidermidis and its dual lifestyle in skin health and infection**. *Nat Rev Microbiol*.

Widerström, M. (2016). **Commentary: Significance of *Staphylococcus epidermidis* in Health Care-Associated Infections, from Contaminant to Clinically Relevant Pathogen: This Is a Wake-Up Call!** Carroll KC, editor. *J Clin Microbiol*, 54(7), 1679–1681.

Védy, D., Robert, D., Canellini, G., Waldvogel, S., Tissot, JD. (2009). **Bacterial contamination of platelet concentrates: pathogen detection and inactivation methods.** *Hematol Rep*, 1(1), 5.

Zaaijer, HL. (2017). **Prevention of Transfusion-Transmitted Infections: Dilemmas**. *Front Med*, 12, 4.