

کارایی محیط کشت خون در جدا سازی پاتوژن های باکتریایی

نتایج حاصله از کشت نمونه های خون ۹۸۰ بیمار

● دکتر مسعود حاجیا

استاد میکروبی شناسی پزشکی

آزمایشگاه مرجع سلامت، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

massoudhajia@yahoo.com

چکیده

یکی از فراوان ترین نمونه هایی که به آزمایشگاه برای تشخیص و ایزوله عامل بیماری زا ارسال می گردد نمونه خون می باشد که نیازمند وقت بسیار و نگهداری طولانی مدت است. به منظور ارزیابی میزان کارایی روش فعلی کشت نمونه خون و تعیین فراوانی و تنوع انواع باکتری های جدا شده این مطالعه بر روی نمونه های ۹۸۰ بیمار بستری در برخی بیمارستان های دانشگاهی صورت گرفت. نمونه های تهیه شده از هر بیمار از یک تا سه نمونه متفاوت بود. در مجموع به طور میانگین ۲/۲۸ نمونه به ازای هر بیمار نمونه به آزمایشگاه ها ارسال شده بود. کشت خون در ۴۰ بیمار مثبت بود که در مجموع از ۵۶ نمونه باکتری ایزوله گردید. از باکتری های ایزوله شده بیشترین موارد مربوط به سالمونلا تیفی بود (۳۵٪) و کمترین باکتری های جدا شده کلبسیلا و پنوموکوک (۵٪). سایر باکتری های ایزوله شده عبارت بودند از ای کلای (۲۵٪)، استاف های کواگولاز منفی (۱۵٪)، استافائوروس و انتروباکتر (۷/۵٪). از مجموع بیماران که کشت خون برای آن ها مثبت اعلام شده بود، تنها ۳۰٪ بیماران بودند که واجد دو و یا سه کشت مثبت بودند. سایر بیماران (۷۰٪) تنها دارای یک کشت مثبت بودند و هیچ یک از این موارد به عنوان آلودگی در آزمایشگاه ثبت نگردیده بود. **واژه های کلیدی:** کشت خون، تشخیص آزمایشگاهی، آلودگی

مقدمه

موفقیت در جداسازی عوامل بیماری زا از نمونه خون همواره یکی از دغدغه های آزمایشگاه های بیمارستانی بوده است. انجام آزمایش های صحیح روی نمونه خون و تعیین عامل آن می تواند کمک به تشخیص علت بسیاری از عفونت های میکروبی نماید. البته باید توجه داشت که در عده ای از بیماری ها کشت خون تنها در مراحل مشخصی ممکن است مثبت گردد، همچنان که ممکن است در مواردی با یک باکتری انتقالی مواجه باشیم (۱). بر همین اساس بسیاری از پزشکان جهت پی بردن به منشأ بیماری استفاده درخواست تعیین عامل بیماری زا را توسط روش های مولکولی می نمایند که به واسطه هزینه بالای این روش ها با رضایتمندی بیماران همراه نمی باشد. به منظور به دست آوردن یک کشت موفق خون عوامل بسیاری می تواند دخیل باشد. به عنوان مثال گزارش شده در صورتی که تنها یک نمونه خون از بیمار تهیه شود، حداکثر احتمال موفقیت در جداسازی باکتری ۸۰٪ خواهد بود که این میزان در نمونه های دوم و سوم افزایش می یابد (۲). چنانچه باکتری های فلور طبیعی پوست تنها یکبار ایزوله گردند آلودگی در نظر گرفته می شود (۳-۴). در یک بررسی گزارش شد از مجموع ۴۲ بیماری که دارای دو و یا بیش از دو کشت مثبت بودند در ۱۹ مورد سویه های ایزوله شده یکسان نبودند (۵). احتمال مثبت کاذب بودن کشت خون در مواردی با دو کشت مثبت نیز مکرراً مورد تاکید



قرار گرفته است و تاکید می‌گردد که این موارد می‌تواند بالغ بر ۵ تا ۳۰ درصد باشد (۶). در ارتباط با موارد آلودگی در صورتی که فراوانی باکتری‌های کم‌نسال پوست که از محیط کشت خون ایزوله شده‌اند بیش از سه درصد باشد ضروری است آزمایشگاه علاوه بر دقت کافی در نحوه تهیه خون، اقدام به ضد عفونی نمودن کلیه لوازم نماید (۶). همچنین اگر آنالیز نتایج آزمایشگاه حاکی از گزارش‌های مکرر از یک باکتری خاص باشد، بیمارستان با تدابیر خاصی اقدام به شناسایی منابع انتشار و حذف آن می‌نماید. در یک بررسی هفت ساله که بر روی بیش از ۲۸۰ هزار محیط کشت خون به عمل آورده‌اند، تاثیرات سیاست‌های اتخاذ شده در تغییر فراوانی باکتری‌های ایزوله شده را دقیقاً نشان داده‌اند (۷). مطالعه حاضر به منظور ارزیابی میزان موفقیت روش فعلی کشت خون در جدا سازی عوامل و همچنین تنوع باکتری‌های جدا شده صورت گرفته است.

روش

مطالعه حاضر یک بررسی گذشته نگر بوده که با استفاده از نتایج ثبت شده تعدادی از آزمایشگاه‌های بیمارستانی صورت گرفته است که از ذکر نام آن خودداری می‌گردد. در مجموع ۹۸۰ بیمار که در اکثر موارد بیش از یک نمونه از آنان تهیه شده بود، وارد مطالعه شده‌اند. تعداد نمونه ثبت شده به طور متوسط ۲/۲۸ نمونه به ازای هر بیمار بوده است. نمونه خون غالباً ۵ میلی لیتر بوده و از شرکت‌های بهار افشان، دارواش، زیست رویش و پادتن استفاده شده بود که بررسی ترکیبات استفاده شده در این چهار نوع مشاهده شد که پایه مواد مورد استفاده در این روش‌ها تقریباً مشابه بوده است.

نتایج

از مجموع نمونه‌های دریافت شده، باکتری‌های کلبسیلا، سالمونلا، آنتروباکتر، پنوموکک، استاف ائوروس، استاف کواگولاز منفی و اشرشیا کلی در ۴۰ بیمار جدا سازی و شناسایی گردیده است. فراوانی انواع باکتری‌های ایزوله شده در بیمارستان‌های مورد بررسی متفاوت بوده که در آن میان سالمونلا تیفی فراوان‌ترین باکتری ایزوله شده بوده

است.

فراوانی باکتری‌های جدا شده از خون بر حسب تعداد نمونه‌های هر بیمار و همچنین نوبت خون‌گیری مورد توجه قرار گرفته است. تعداد باکتری‌های جدا شده از نمونه‌های آزمایش شده متفاوت بود. در ۲۸ مورد تنها در یک نوبت، ۸ مورد در ۲ نوبت و نهایتاً ۴ مورد در هر سه نوبت خون‌گیری جدا شده بودند که به ترتیب فراوانی عبارت بودند از سالمونلا تیفی (۱۳)، ای کلای (۱۰)، استاف کواگولاز منفی (۶)، آنتروباکتر (۳)، استاف ائوروس (۳) کلبسیلا (۲) و پنوموکک (۲). در مجموع در ۵۶ محیط کشت شده باکتری جدا شده بود که از این تعداد در نوبت اول ۲۷ مورد باکتری جدا شده بود. در تمامی مواردی که تنها یک باکتری جدا شده بود به صورت مثبت در آزمایشگاه ثبت گردیده بود.

بحث

در این بررسی موارد مثبت ثبت شده ۴٪ از نمونه‌های دریافتی می‌باشد اما با توجه به ضرورت جدا سازی در بیش از یک نوبت نمونه‌گیری در کل تنها در ۱۲ بیمار نمونه جدا شده می‌تواند به معنی نتیجه مثبت قلمداد شود که ۱/۲۲ درصد را شامل می‌شود.

علاوه بر نوع باکتری‌می و دفعات خون‌گیری عوامل دیگری نیز می‌تواند در مثبت شدن نمونه خون مؤثر باشد. علاوه بر نقش اصلی روش کشت خون فعلی سایر موارد نظیر تحت درمان نبودن بیمار در زمان نمونه‌گیری، زمان نمونه‌گیری و روش نمونه‌گیری حجم خون تهیه شده اشاره نمود که می‌تواند تأثیر اصلی در کارایی پایین روش به کار گرفته شده داشته باشد (۶). لذا میزان کارایی را صرف نظر از روش کشت خون، می‌توان در موارد فوق‌الذکر بررسی نمود. به نظر می‌رسد در این موارد علاوه بر تدوین دستورالعمل‌های لازم خاص نمونه‌گیری بر اساس CLSI که بدان چندان توجه نشده است، ضروری است در چک لیست‌های مربوطه نیز سؤالات مرتبط مناسب در نظر گرفته شود تا شاید با حذف خطاهای قابل پیش‌گیری میزان موفقیت افزایش یابد (۹-۸).

با توجه به تعریف آلودگی، میزان موارد آلودگی نسبت به موارد مثبت در گزارش‌ها گاهی تا ۱۳٪ هم تاکید شده است (۱۰).

متاسفانه در این بررسی در مواردی که باکتری‌های کم‌سال پوستی جدا شده هیچ یک به عنوان آلودگی ثبت نگردیده است. به نظر می‌رسد عدم نظارت مسئول فنی بر کنترل کیفی آزمایش‌ها و نبود ممیزی مؤثر می‌تواند از دلایل قابل توجه باشد (۱۱). ایجاد آلودگی به روش نمونه‌گیری مستقیماً مربوط می‌شود (۱۰، ۱۲). گزارش شده است که نوع ماده ضد عفونی کننده به نظر نمی‌رسد تأثیر چندانی در افزایش یا کاهش آلودگی داشته باشد.

متاسفانه یکی از مواردی که ما تاکنون نتوانسته‌ایم اقدام اصلاحی برای آن انجام داده و در ارتقاء روش کاری آن در ایران اقدام اساسی انجام دهیم کشت خون می‌باشد. با این که در حال حاضر شرکت‌های متعددی در زمینه تهیه محیط کشت خون فعالیت دارند و تقریباً تمامی محصولات تولید شده از کیفیت مشابهی برخوردار هستند معهدا بررسی نتایج نشان می‌دهد که علی‌رغم میزان بالای انجام آزمایش‌ها، موارد مثبت ثبت شده کمتر از ۰.۵ درصد می‌باشد. این مشکل در سطح اکثریت آزمایشگاه‌های

بیمارستان‌ها به صورت تقریباً مشابه دیده می‌شود. در حال حاضر کشورهای دیگر تحقیقات فراوان برای افزایش میزان جدا سازی باکتری از نمونه خون انجام داده‌اند. به کار گیری سیستم‌های اتوماتیک و نیمه اتوماتیک یکی از این روش‌ها می‌باشد و نشان داده‌اند که میزان موارد مثبت با موفقیت بالایی همراه بوده است (۱۳-۱۴). متاسفانه کوشش تأثیر گذار در ارتباط با ارتقاء کیفی محیط کشت و به کارگیری روش‌های نیمه اتوماتیک تنها در بخش بسیار محدودی از آزمایشگاه‌های بیمارستانی دیده شده است.

نتیجه گیری

با توجه به گزارش‌های موجود واضح می‌باشد که در شرایط فعلی روش کلاسیک کشت خون نمی‌تواند جوابگوی نیازهای اطباء باشد و قادر به تعیین عامل بیماری‌زای بسیاری از بیماران نیست. علاوه بر اتلاف وقت و هزینه چیز محسوسی را عاید بیمار، آزمایشگاه و پزشک نمی‌نماید.

References

- 1- Gill V.J., Fedorko D.P., Witesky F.G.: *The Clinician and the Microbiology laboratory. In: Principles and Practice of disease of infectious Disease., 5th edition. Ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Churchill Livingstone, 2424-2434.*
- 2- *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Principles and Procedures for Blood Cultures; Approved Guideline. Wayne, PA: CLSI, 2007. CLSI document M47-A.*
- 3- Surulescu S, Ulamsingh D, Shekar R.: *Plebotomy teams reduce blood culture contamination rate and save money, Clin. Perform. Qual. Health care, 1998;6(2):60-2.*
- 4- Seo SK, Venkataraman L, DeGirolami PC, Sarmore MH.: *Molecular typing of coagulase-negative Staphylococci from blood cultures does not correlate with clinical criteria for true bactemia. Am.J.Medicine. 2000;109(15):697-704.*
- 5- Herwaldt LA, Geiss M, Kao C, Pfaller MA.: *The positive predictive value of isolating coagulase-negative staphylococci from blood cultures. Clin. Infec. Dis. 1996;22:14-20.*
- 6- Weinbaum FI, Lavie S, Danek M, Sixsmith D, Heinrich GF, Mills SS. *Doing it right the first time: quality improvement and the contaminant blood culture. J Clin Microbiol 1997;35(3):563-565.*
- 7- Cockerill FR, Hughes JG, Veller EA, Muller RA.: *Analysis of 281,797 consecutive Blood Cultures Performed over an eight-year period. Clin. Infec. Dis. 1997;24:403-18.*
- 8- *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard—Sixth Edition. Wayne, PA: CLSI, 2007. CLSI document H3-A6.*





9- Zwang O, Albert RK. Analysis of strategies to improve cost effectiveness of blood cultures. *J Hosp Med* 2006;1(5):272-276.

10- Washer LL, Chenoweth C, Kim HW. Blood Culture Contamination: A Randomized Trial Evaluating the Comparative Effectiveness of 3 Skin Antiseptic Interventions. *Infection Control and Hospital Epidemiology*. 2013;34(1):15-21.

11- Weinbaum FI, Lavie S, Danek M, Sixsmith D, Heinrich GF, Mills SS. Doing it right the first time: quality improvement and the contaminant blood culture. *J Clin Microbiol* 1997;35(3):563-565.

12- Kim N, Kim M, Lee S, et al. Effect of routine sterile gloving on contamination rates in blood culture. *Ann Intern Med* 2011; 154(3):145-151.

13- Flayhart D, Borek AP, Wakefield T, Dick J, Carroll KC. Comparison of BACTEC PLUS blood culture media to BacT/Alert FA blood culture media for detection of bacterial pathogens in samples containing therapeutic levels of antibiotics. *J Clin Microbiol* 2007;45(3):816-21.

14- Klingspor L, Muhammed SA, Ozenci V. Comparison of the two blood culture systems, Bactec 9240 and BacT/Alert 3D, in the detection of *Candida* spp. and bacteria with polymicrobial sepsis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012;31:2983-2987.

