

*Izvērsts medicīniskās tehnoloģijas metodes apraksts*

**STERILITĀTES KONTROLE**

**1. Vispārējā informācija.**

Viena no nopietnākajām pēctransfūziju blaknēm ir bakteriāls sepsis, kas rodas sakarā ar asins komponentu bakteriālu kontamināciju. Literatūrā sastopamie statistikas dati liecina, ka bakteriālais sepsis iespējams vienā no 25 000 trombocītu masas (TM ) un vienā no 250 000 eritrocītu masas (EM) transfūzijām.

Asins sagatavošanas institūcijām jāveic pasākumi, lai samazinātu bakteriālas kontaminācijas risku:

jāveic kvalitatīva donoru atlase, lai identificētu subklīnisku bakteriēmiju;

jāievieš adekvāta donoru elkoņu locītavas ādas apstrāde pirms vēnas punkcijas;

asins sagatavošanai jāizmanto slēgtas, sterilas plastisko maisu – caurulīšu sistēmas ar predonācijas maisiņu asins paraugu sagatavošanai (tas samazina kontaminācijas risku par 30-50%);

jāveic asins komponentu sterilitātes (mikrobioloģiskā) kontrole un tās monitorings.

Asins komponentu bakteriālā piesārņojuma biežākie iemesli ir:

kļūdas asins komponentu/ paraugu sagatavošanas vai uzsēšanas procesā;

aprīkojuma vai apkārtējās vides bakteriāls piesārņojums;

latentā bakteriēmija donoram, u.c.

Tomēr bakteriāli kontaminēta asins komponenta pārļiešana ne vienmēr izsauc sarežģījumus recipientam. Tos nenovēro, ja:

mikroflora nav patogēna;

pārļiešanu veic pēc iepriekšējas premedikācijas ar glikokortikoīdiem vai antipirētiķiem;

ir zems komponenta bakteriālās kontaminācijas līmenis;

slimnieks saņem antibakteriālu terapiju.

Pārlejot TM ar negatīvu sterilitātes skrīninga rezultātu, ir iespējams, ka TM bijusi kontaminēta, jo, turpinot monitoringu, konkrētajā paraugā mikrobu augšana var tikt konstatēta pēc ilgāka laika perioda. Tas liecina, ka pastāv zināms risks asins komponenta

drošībai, ko pilnībā novērš mūsdienīgas, progresīvas patogēnu inaktivācijas tehnoloģijas.

**2. Asins komponentu mikrobioloģiskās kontroles mērķis** – samazināt bakteriāli kontaminētu asins komponentu pārļiešanas risku, nodrošinot asins komponenta sagatavošanas atbilstību noteiktajām prasībām un monitorējot komponentu sterilitāti.

**3. Medicīniskās tehnoloģijas (MT) realizācijai izmantojamie resursi.**

3.1. Medicīniskās iekārtas.

MT veikšanai pielieto automatizētu mikroorganismu detekcijas skrīninga sistēmu – analizatoru BacT/ALERT, kuras pamatā ir kolorimetriska metode, kas balstīta uz to, ka augošie mikroorganismi, metabolizējot substrātu, izdala CO<sub>2</sub>.

Darba izpilde notiek laminārajā skapī.

Mikroorganismu identifikācijai nepieciešams binokulārs mikroskops.

Paraugus mikrobioloģiskajai kontrolei sagatavo, izmantojot caurulīšu sterilas sakausēšanas iekārtu.

3.2. Reaģenti.

Nepieciešami divu veidu BacT/ALERT barotņu flakoni (vienreizējai lietošanai gatavā veidā):

BacT/ALERT BPN - anaerobu un fakultatīvi anaerobu mikroorganismu (baktēriju) augšanas detekcijai.

BacT/ALERT BPA - aerobu mikroorganismu (baktēriju un sēņu) augšanas detekcijai.

Barotņu flakoni satur 40 ml barotnes un iekšēju sensoru, kas uztver oglekļa dioksīdu, kuru izmanto kā augšanas indikatoru.

Katram flakonam ir uzlīme ar svītrkodu, atdalāmā svītrkoda daļa paredzēta asins komponentu sterilitātes pārbaudes dokumentēšanai.

Flakonu vāciņi ir identificējami pēc krāsas: BPN - sarkans vāciņš; BPA – zils vāciņš.

Barotnes uzglabā telpas temperatūrā (+150 - +300 C), tumsā derīguma termiņa ietvaros.

3.3. Cits medicīniskais aprīkojums.

Darba izpildei nepieciešams arī:

vienreizējas lietošanas gumijas cimdi

sterils plastikāta maisiņš parauga sagatavošanai

atkritumu kontainers.

Konstatējot mikrobu augšanu kādā uzņēmumā, veic to identifikāciju, krāsojot pēc Grama metodes, kam nepieciešami:

priekšmetstikliņi

marķieris

NaCl fizioloģiskais šķīdums

platīna cilpa

destilētais ūdens

spirta lampa

krāsu komplekts krāsošanai pēc Grama

ciedru eļļa

### 3.4. Telpas

Paraugu uzskāšanu veic lamināra skapī. Telpām jābūt funkcionāli marķētām, ar bioloģiskās bīstamības uzlīmēm, slēdzamām, ar brīdinājumu, ka nepiederošām personām ieeja aizliegta. Telpās jānodrošina optimāla darba vide (apgaisojums, temperatūras režīms, ventilācija). Darba virsmām jābūt viegli tīrāmām, izturīgām pret mazgāšanas un dezinfekcijas līdzekļiem.

Higiēnas–dezinfekcijas pasākumus veic sanitāri, izmantojot individuālos aizsardzības līdzekļus (darba tērpu, cimdus) un darba inventāru ar tiem paredzēto marķējumu

### 3.5. Personāls.

MT drīkst veikt sertificēts laboratorijas ārsts, laboratorijas speciālists vai laborants/feldšeris laborants ar papildus sertifikātu par laboratorisko mikrobioloģisko metožu apguvi .

Asins komponentu paraugus drīkst sagatavot sertificēta medicīnas māsa.

### 3.6. Prasības izmeklējamam materiālam.

Mikrobioloģisko kontroli veic asins komponentiem, kas iegūti pēc pilnasiņu sadalīšanas komponentos/apstrādes, neizmantojot slēgtu sistēmu (saldēta EM), kā arī trombocītu masai, kas sagatavota no pilnasinīm (leikocītu – trombocītu slāņa – BC vai trombocītiem bagātas plazmas - TBP), vai iegūta aferēzes procedūrā. Sterilitātes kontrolei asins komponentus nosūta to derīguma termiņa ietvaros.

#### 3.6.1. Trombocītu masas (TM )paraugu sagatavošana.

TM paraugus sagatavo un uzskā ne ātrāk kā 16- 24 stundas pēc pilnasiņu sagatavošanas vai aferēzes procedūras, izmantojot speciālus maisījumus un caurulīšu sterilas sakausēšanas

ierīci, lai saglabātu slēgtu, sterilu sistēmu. Ievēro aseptikas noteikumus.

Ja TM parauga tilpums ir 20 ml, to sagatavo 16 – 24 stundu laikā pēc pilnasiņu / aferēzes TM sagatavošanas, ja mazāks – 48 stundu laikā. Marķē, dokumentē un uzsēj saskaņā ar izstrādātu procedūru.

### 3.6.2. Eritrocītu masas (EM) paraugu sagatavošana.

EM sterilitātes kontrolei nosūta visu EM devu vai sagatavo paraugu slēgtā sistēmā, īpašos maisīšos, ievērojot aseptikas noteikumus. Marķē, dokumentē un uzsēj saskaņā ar izstrādātu procedūru.

3.6.3. Paraugu daudzums un kontroles biežums – saskaņā ar Asins dienesta normatīvās dokumentācijas prasībām.

## 4. Darba gaita.

### 4.1. Pirms darba laminārajā boksā

Paraugus un attiecīgo BacT/ALERT barotņu flakonus marķē ar laboratorijas kārtas numuru, kuru uzraksta žurnālā, uz paraugiem un barotņu flakoniem. Numuru ieraksta darba protokolā.

4.1.2. Operators ar savu paroli ieiet BacT/ALERT datorprogrammā un ievada visu informāciju par izmeklējamo paraugu (laboratorijas kārtas numurs, parauga svītrkoda Nr. (noskenē), parauga veids, sagatavošanas vieta, datums), kā arī noskenē atbilstošā flakona svītrkodu.

### 4.2. Darba gaita laminārajā boksā

4.2.1. Plastikāta maisīņa ar izmeklējamo materiālu virsmu un barotņu flakonu korķus apstrādā ar dezinfekcijas līdzekli.

4.2.2. Aseptiski uzsēj no 5 līdz 10 ml TM vai EM katrā BacT/ALERT flakonā. Vispirms materiālu uzsēj flakonā anaerobo, pēc tam-aerobo mikroorganismu noteikšanai.

Izmantoto materiālu un aprīkojumu iepakojuma speciālos maisos un utilizē, ievērojot prasības biomateriāla inaktivācijai un utilizācijai.

4.3. Barotņu flakonus ievieto BacT/ALERT iekārtā uz 5-7 dienām.

## 5. Mikrobioloģiskās kontroles rezultātu izvērtēšana.

Optimālā sistēmas jutība ir 1 kolonijveidojošā vienība/ ml 5 -7 dienu inkubācijas periodā. Ja baktēriju kontaminācijas līmenis asins komponentā/ paraugā ir zems, detekcijas metodes signāls var pienākt pēc komponenta transfūzijas, lielākajā gadījumā daļā šāds kontaminācijas līmenis nav bīstams recipientam. Baktēriju augšanas ātrums ir atkarīgs no baktēriju veida – aerobā flora dod pozitīvu signālu ~ 48 stundas pēc uzsēšanas (68% 24 stundās), bet anaerobās baktērijas - 74,5 % dod augšanas signālu 48 – 96 stundu laikā pēc uzsēšanas.

Iegūtos rezultātus nolasa ar BacT/ALERT datorizētās programmas palīdzību. Izmeklējuma cikla garums katram flakonam ir 120 stundas (5-7 dienas). Cikla beigās uz monitora parādās paziņojums par paraugu daudzumu ar negatīvu rezultātu

Ja flakona indikators mainījis krāsu, tas norāda uz mikroorganismu klātieni. Analizators automātiski ziņo par to: monitorā uz sarkana fona parādās paziņojums par pozitīvo paraugu daudzumu, mirgo sarkana lampiņa, atskan trauksmes signāls;

Ja ir iegūts pozitīvs rezultāts, veic materiāla krāsošanu pēc Grama metodes un mikroskopisku analīzi floras identifikācijai. Ja pēc preparāta krāsošanas, flora nav identificējama, rezultātu uzskata par viltus pozitīvu.

Sterilitātes kontroles rezultāti var būt viltus pozitīvi, ja parauga sagatavošanas/uzsēšanas procesā tiek pieļautas tehniskas kļūdas.

5.1. TM parauga uzsējums:

5.1.1. Ja TM paraugs (sagatavots no pilnasinīm vai aferēzē) nedod detekcijas signālu, to uzskata par negatīvu skrīninga rezultātu, TM pamatdevu izsniedz pārļiešanai.

5.1.2. Ja TM paraugs (sagatavots no pilnasinīm vai aferēzē) dod detekcijas signālu, to uzskata par pozitīvu skrīninga rezultātu un identificē mikroorganismu floru.

5.1.3. Rīcība TM parauga pozitīva skrīninga rezultāta gadījumā:

ja TM pamatdeva (devas atlikums) vēl nav izsniegta pārļiešanai, to uzsēj (5.2.);

ja deva izsniegta, bet vēl nav pārlieta, to atsauc un uzsēj (5.2.) ;

ja deva pārlieta – sterilitātes kontroles rezultātu uzskata par neapstiprinātu pozitīvu, sazinās ar ārstējošo ārstu par transfūzijas iznākumu.

5.2. TM pamatdevas uzsējums:

5.2.1. Ja TM pamatdevas uzsējums dod pozitīvu detekcijas signālu, identificē floru. Ja konstatē identisku mikrobu floru kā paraugā, rezultāts tiek apstiprināts kā pozitīvs.

5.2.2. Ja TM pamatdevas uzsējums nedod detekcijas signālu, TM parauga rezultātu uzskata kā viltus pozitīvu.

5.3. Lai izšķirtos par atteikumu donoram turpmākai donācijai, veic EM sterilitātes kontroli, ja TM sagatavota no pilnasinīm, vai donora asins uzsējumu, ja TM sagatavota aferēzē.

5.3.1. Uzsēj visas tās EM devas, no kurām tika atdalīts un šīs TM devas sagatavošanai izmantots BC vai TBP.

5.3.2. Konstatējot mikrobu augšanu kādā no EM devām, izsauc donoru, no kura bija sagatavota konkrētā deva, un veic bakteriēmijas kontroli donoram. No šī donora

pilnasinīm sagatavoto svaigi saldēto plazmu inaktivē un utilizē kā potenciāli kontaminētu. Tālāk kā 5.5., 5.6.

5.3.3. Ja neviena no uzsētajām EM devām neuzrāda mikroorganismu augšanas pazīmes, analizē asins komponentu sagatavošanas procesa kritiskos posmus un veic korektīvās/ preventīvās darbības. Donoriem atļauj turpmākas donācijas.

5.4. Apstiprinot pozitīvu skrīninga rezultātu TM, sagatavotai aferēzes procedūrā:

5.4.1. Izsauc donoru, no kura bija sagatavota konkrētā deva un veic bakteriēmijas kontroli donoram;

5.5. Ja donora asins uzņēmums neuzrāda mikroorganismu augšanas pazīmes, analizē asins komponentu sagatavošanas procesa kritiskos posmus un veic korektīvās/ preventīvās darbības. Donoram nenosaka aizliegumu turpmākai donācijai.

5.6. Konstatējot mikrobu augšanu donora asins uzņēmumā, identificē floru .

5.6.1. Donoru nosūta izmeklēšanai un diagnozes noteikšanai.

5.6.2. Donoram nosaka pagaidu atteikumu donācijai, nākošo donāciju atļaujot tikai tad, ja, veicot atkārtotu mikrobioloģisko pārbaudi, ne ātrāk kā 6 mēnešus un ne vēlāk kā 12 mēnešus pēc sākotnējā pārbaudes, iegūst negatīvu rezultātu.

## 6. Asins komponentu sterilitātes kontroles izmaksu aprēķina piemērs.

I. Darba izmaksas				
		Laiks parauga kontrolei	Izmaksas Ls	
Ārsts -laborants		6 minūtes	0,50	
Laborants		6 minūtes	0,32	
Kopā			0,82	
VSOAI 24,09%			0,20	
II. Pieskaitāmie izdevumi				
			1,28	
III. Pamatlīdzekļu nolietojums 1 izmeklējumam				
			0,03	
IV. Materiālās izmaksas				
Materiāls	Mērvienība	Cena	Daudzums 1 kontrolei	Izmaksas Ls
C i m d i vienreizējie gumijas	pāris	0,04	1 pāris	0,04

Spirts 70 %	kg	4,85	0,01 gr	0,05
Dezinfekcijas līdzeklis Bromosept 50 sol	1000 ml	28,92	10 ml	0,29
BacT/ALERT BPA	1 pudele	5,62	1 pudele	5,62
BacT/ALERT BPN	1 pudele	5,62	1 pudele	5,62
Kopā				11,62
1 izmeklējuma izmaksas(I+II+III+IV)				13,95 Ls
V. P a r a u g a sagatavošana				
	L a i k s p a r a u g a sagatavošanai		Izmaksas Ls	
1. Darba izmaksas				
Medicīnas māsa	7 minūtes		0,35	
VSOAI 24,09%			0,08	
2. Materiālās izmaksas				
	Mērvienība	Cena	Daudzums	Izmaksas Ls
C i m d i vienreizējie gumijas	pāris	0,04	1 pāris	0,04
Speciālie TM maisiņi	gabals	1,90	1 gabals	1,90
Asmenītis	gabals	1,30	1 gabals	1,30
Kopā (1+2)				2,24
1 parauga sagatavošanas izmaksas				2,67Ls
Parauga sagatavošanas un izmeklēšanas izmaksas				16,62 Ls

Gada laikā Latvijā tiek sagatavotas un pārlietas 5000-6000 TM devas.

Ja asins komponentu sterilitātes monitorings netiek veikts, pastāv infekcijas transmisijas risks ar asins komponenta transfūziju, kas pacientam var izsaukt dažāda smaguma pakāpes transfūziju blaknes - sepsi, bakteriālu šoku, baktēriju endotoksīnu inducētu DIC u.c. Bakteriālas infekcijas transmisija palielina saslimstības smagumu un ilgumu, rada draudus pacienta dzīvībai, kā arī daudzkārt palielina ārstēšanas izmaksas.

Zīmējums

MT STERILITĀTES KONTROLES shēma

INCLUDEPICTURE "http://vec.gov.lv/uploads/images/4d7615c4696e4.JPG" \\*MERGEFORMATINET

### **7. Mikrobioloģiskā skrīninga monitorings.**

Saskaņā ar Asins dienesta normatīvās dokumentācijas prasībām:

TM pārļiešanai izsniedz pārļiecinoties, ka izsniegšanas brīdī mikrobioloģiskā skrīninga monitoringa rezultāti ir negatīvi;

aferēzē iegūtu TM 1.diennaktī pēc sagatavošanas pārļiešanai tajā pašā dienā izsniedz bez sterilitātes kontroles;

TM, sagatavotu no BC, izsniedz pārļiešanai bez sterilitātes kontroles TM sagatavošanas dienā.

Pēc TM devas izsniegšanas, uzsētā TM parauga monitorings turpinās, lai atklātu šīs donācijas komponentu potenciālo risku.

### **8. Izmantotā literatūra:**

1. Dreier J., Stromer M. Sterility screening of platelet concentrate:questioning the optimal test strategy,; Vox Sanguinis (2008), pp 181-187.
2. Ness.P., Single donor platelets reduce the risk of septic platelet transfusion reactions. ; Transfusion , Volume 41, July 2001, pp 857-861.
3. Morris A., Bacterial detection of platelets: current Problems and Possible Resolutions. Transfusion Medicine Rewiews, Vol.19., No 4.2005, pp 259-272.
4. Goldman M.,Bacterial contamination of platelet concentrates: where are we today?. Vox Sanguinis (2004), pp 90-92.
5. Delage G., Hema-Quebecs ehperiance with bacterial culture of whole blood derived platelet concentrates. Vox Sanguinis (2006), p 91.
6. Fang.T., Residual risk ot septic transfusion reactions from bacterial tested apheresis platelets. Vox Sanguinis (2006), p 91.
7. Dickmeis E., The importance of the sampling after the preparaton of platelet concentrates for the detection of bacterial contamination. Vox Sanguinis 2006, p 91.
8. Schmidt M.S., Comparison of the three bacterial detection methods under rutine conditions. Vox Sanguinis (2006), p 92.

9. Murphy W.G.. Screening platelet concentrates for bacterial contamination: low numbers of bacteria and slow growth in contaminated units mandate an alternative approach to product safety, Vox Sanguinis (2008) 95,13-18

Rīgā, 2010.gada 6. decembrī.

Valsts asins donoru centra direktore G. Ņemceva