مقاله علمی

ضرورت جایگزینی خون انسان با خون گوسفند در بخش میکروب‌شناسی

دکتر بابک ولی‌زاده
بخش میکروب‌شناسی
آزمایشگاه بهار

بیش از ۴ دهه است که توصیه می‌شود از خون گوسفند برای ساخت محیط‌های کشت استفاده شود ولی متاسفانه به علت محدودیت مراکزتولید خون گوسفند در ایران، هنوز اکثر مراکز آزمایشگاهی به ناچار از خون انسان استفاده می‌کنند.

دلایل لزوم استفاده از خون گوسفند به جای خون انسان عبارتند از:

۱. ایمنی در حین کار برای پرسنل و جلوگیری از خطر استفاده از خون انسان

۲. احتمال وجود آنتی‌بادی‌ها و یا آنتی‌بیوتیک‌ها در خون انسان که سبب مهار یا کاهش رشد باکتری‌ها خصوصاً انواع بیماریزا می‌گردد.

۳. خون گوسفند در شرایط استریل تهیه و دفیبرینه (Defibrinated) می‌شود و ماده ضد انعقاد به خون اضافه نمی‌گردد.

۴. ضد انعقادها اثر مهارکننده بر رشد باکتری‌ها دارند خصوصاً سیترات که اثر مهارکنندگی بر رشد کوکسی‌های گرم مثبت دارد.

۵. PH محیط ٪۵ Sheep Blood Agar معادل ۷/۵ و محیط ٪۵ Chocolate Agar معادل ۷/۲ است، همچنین محیط پایه بلاد آگار فاقد دکستروز می‌باشد.

۶. در صورت وجود دکستروز در خون یا محیط کشت، باکتری آن را مصرف کرده و تولید اسید می‌کند که منجر به کاهش PH و در نتیجه مهار و یا ضعیف شدن استرپتولیزین S در استرپتوکوک‌های پیوژن می‌شود که در این صورت همولیز بتا کاهش یافته و یا مهار می‌گردد. کاهش PH در جداسازی و شناسایی این باکتری و سایر باکترهای بیماری‌زا اختلال ایجاد می‌کند.

۷. ضد انعقاد و نگهدارنده موجود در کیسه‌های بانک خون در ایران CPDA (Citrate-Phosphate-Dextrose-Adenine) با PH معادل ۵/۶-۵/۸ است. نسبت این ضد انعقاد و نگهدارنده به خون، ۱ به ۷ است و کیسه‌های با حجم ۴۵۰ سی‌سی حاوی ۶۳ سی‌سی CPDA است. ۱۰۰ سی‌سی از محلول CPDA حاوی ۲/۶۳ گرم سیترات سدیم و ۳/۱۹ گرم دکستروز وحدود ۰/۳ گرم اسید سیتریک می‌باشد. PH خون موجود در کیسه‌های بانک خون در طول نگهداری کاهش می‌یابد و پس از ۳۵ روز و در زمان انقضاء به ۶/۷ می‌رسد.

۸. مهمترین منبع تهیه خون در آزمایشگاهها برای ساخت محیط بلادآگار کیسه‌های تاریخ گذشته بانک خون است که گلبولهای قرمز آن کهنه است و شرایط خون با توجه به موارد توضیح داده‌شده مناسب نیست. در مواردی این خونها تا مدتها پس از تاریخ انقضاء استفاده می‌شوند.

۹. گلبولهای کهنه که در حرارت ۴۵-۵۰ درجه سانتیگراد به محیط پایه بلادآگار اضافه می‌شوند ممکن است در زمان ساخت محیط کشت و یا طی نگهداری در یخچال و انکوباتور لیز شوند و امکان بررسی همولیز بتا مشکل و یا غیرممکن گردد.

۱۰. کیفیت خون کیسه‌های بانک خون بسته به فرد دهنده متفاوت است که به علت تفاوت در هماتوکریت و وجود احتمالی آنتی‌بادی‌ها و آنتی‌بیوتیک‌ها و .... می‌باشد، در نتیجه کیفیت محیط‌های بلادآگار تهیه شده از این خونها یکسان نیست.

۱۱. محیط بلادآگار و شکلات آگار با خون گوسفند شرایط رشد اکثر باکتری‌های بیماریزا و سخت رشد را فراهم می‌کند، همچنین مشخصات کلنی و انواع همولیز توضیح داده شده در منابع باکتری شناسی بر اساس استفاده از محیط‌های حاوی ٪۵ خون گوسفند است.

۱۲. انتروکوک‌ها بر روی بلادآگار با خون گوسفند در ٪۹۰ موارد همولیز آلفا ایجاد می‌کنند اما بر روی بلادآگار با خون انسان در اغلب موارد همولیز بتا می‌دهند که با گروه‌بندی انتروکوک‌ها مطابقت ندارد و موجب اشتباه در بررسی اولیه می‌شود.

۱۳. رشد و همولیز باکتری « Haemophilus haemolyticus » که جزو فلور نرمال گلو می‌باشد بر روی بلادآگار با خون گوسفند مهار می‌شود و این باکتری در بررسی اولیه با استرپتوکوک پیوژن اشتباه نخواهد شد.

۱۴. نسبت Lecithin : Sphingomyelin در غشاء گلبولهای قرمز خون انسان ۳:۲ و در خون گوسفند ۱:۱۲ است.

۱۵. بتا همولیزین یا بتا لیزین تولید شده از استافیلوکوک اورئوس در تست CAMP آنزیم « Sphingomyelinase » است، بنابراین تست CAMP مثبت برای تشخیص استرپتوکوک‌های آگالاکتیه (گروه B) بر روی بلادآگار خون گوسفند به علت میزان زیاد اسفنگومیلین در غشاء گلبولهای قرمز، واضح و مشخص است.

۱۶. گزارش استرپتوکوکهای گروه B در حال حاضر در زنان باردار و در سنین بارداری اهمیت دارد.

◆ ◆ ◆

Reference:
1- Isenberg D. Henry: Clinical Microbiology Procedures Handbook; Second editions, American Society for Microbiology,2004
2- Forbes A. Betty: Bailey& Scott's Diagnostic Microbioligy, Mosby, 2002 & 1990 & 1982
3- MacFaddin, J.F: Biochemical Tests for the Identification of Medical Bacteria, 3rd edition, Lippincott, 2000
4- Mahon R. Connie: Textbook of Diagnostic Microbiology, 2 ED editions, W.B. Saunders, 2000
5- Henry B John: Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, 20 Th editions, W.B. Saunders, 2001
6- Lewis S .M: Dacie and Lewis Practical Haematology , 10 Th Edition, Churchill Livingston Elsevier, 2006