

Methodik der bakteriologischen Abklärung von Thrombozytenkonzentraten bei Verdacht auf ein bakteriell kontaminiertes Blutprodukt

Markus Jutzi, Marianne Senn

Einleitung

Seit Ende der neunziger Jahre wird das Risiko der bakteriellen Infektion bei der Bluttransfusion vermehrt wahrgenommen. Zwei grosse nationale Studien, die Bacon-Studie aus den USA und die Bacthem-Studie aus Frankreich, weisen auf die Bedeutung der bakteriellen Infektionen, die durch Bluttransfusionen erworben werden, hin. Das Risiko einer transfusionsbedingten Bakteriämie liegt für Thrombozytenkonzentrate (TK) bei ca. 1 : 6000 TK, welche Sepsis bei ca. 1 : 140 000 und Todesfälle bei ca. 1 : 500 000 auslösen.

Die Indikation für eine mikrobiologische Abklärung ist gegeben:

1. Körpertemperatur $>39\text{ }^{\circ}\text{C}$ mit oder ohne weitere Symptome, meistens während oder bis 6 Stunden nach Transfusion
2. Körpertemperatur von $38\text{ }^{\circ}\text{C}$ oder mehr und ein Anstieg um $1\text{ }^{\circ}\text{C}$ oder mehr, meistens während oder bis 6 Stunden nach Transfusion und eines oder mehrere der folgenden Symptome:
 - a) Schüttelfrost,
 - b) Hypotonie,
 - c) septischer Schock,
 - d) Tachykardie (Anstieg der Herzfrequenz um >40 Schläge pro Minute),
 - e) Dyspnoe,
 - f) Übelkeit/Erbrechen,
 - g) intravasale Gerinnung (DIC),
 - h) Fieber, das nicht auf Antipyretika anspricht.

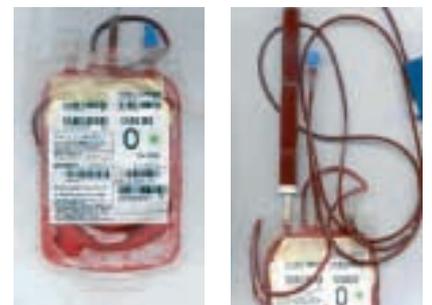
In speziellen klinischen Situationen kann die Indikationsstellung für die mikrobiologische Abklärung auch grosszügiger erfolgen. Zum Beispiel können bei Knochenmarksinsuffizienz die klassischen Symptome einer Infektion ausbleiben. Es kann jedoch eventuell ein Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) vorliegen.

- Herzfrequenz $>90/\text{min}$
- Atemfrequenz $>20/\text{min}$ oder $\text{pCO}_2 >4,3\text{ kPa}$ (32 mm Hg)
- Leukozyten $>12\ 000$ oder $<4000/\mu\text{L}$ oder mehr als 10% unreife Formen im Differentialblutbild.

Material/Logistik

Infusionsbeutel mit oder ohne Besteck sind mit einem sterilen Kombiverschlussstopfen zu verschliessen (Abb. 1, 2) und in einem flüssigkeitsdichten Transportbehälter oder Plastikbeutel verpackt zur Verarbeitung ans Mikrobiologielabor zu senden. Bei Verdacht auf eine klinisch relevante Infektion des Empfängers sind eine unverzügliche Verarbeitung des verabreichten Blutproduktes sowie Blutkulturen des Patienten indiziert, um eine gezielte Antibiotikatherapie rasch einzuleiten. Bei allfälligen Verzögerungen bis zur Verarbeitung soll der Blutproduktebeutel bei $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($2\text{--}8\text{ }^{\circ}\text{C}$) gelagert werden.

Die Vorbereitung der Probe für die mikrobiologische Analytik inklusive allfälliger Spülung des Beutels (s. unten), Materialentnahme und Ansetzen der Kulturen soll in einem Arbeitsschritt und ohne Unterbrechung im Mikrobiologielabor durchgeführt werden. Eine sterile Entnahmetechnik und die Vermeidung unnötiger Handhabungen des Probenmaterials minimie-



Der blaue Kombiverschluss ist der übliche Verschluss, der von der Pflege verwendet wird, um z.B. die Venflons abzustöpseln. Photos freundlicherweise von Dr. M. Züger zur Verfügung gestellt.

ren das Kontaminationsrisiko. (Anmerkung: Abgeschweisste Schlauchsegmente sind für die mikrobiologische Untersuchung nicht repräsentativ und sollen daher nicht verwendet werden.)

Präanalytik im Mikrobiologielabor Fall A: Noch ca. 10–20 ml Produkt im Beutel vorhanden

- Allenfalls Infusionsbesteck entfernen.
- Einen unbenutzten, noch steril verschlossenen Port des Produktebeutels unter Einhaltung der sterilen Bedingungen öffnen und zur Materialentnahme verwenden. Dazu mit einem Verbindungsstern mit Injektionsanschluss (z.B. Baxter REF EMC 1401) den Blutproduktebeutel über den Port anstechen. Falls kein verschlossener, unbenutzter Port für die Materialentnahme zur Verfügung steht (einige Blutproduktebeutel besitzen nur einen Port), den Port mit Desinfektionsmittel (70% Alkohol) während mindestens 1 Minute desinfizieren.

- 20 ml oder gesamtes Restvolumen des Produkts steril entnehmen und wie unter «Mikrobiologische Untersuchungen» beschrieben weiterverarbeiten.

Fall B: Dem Beutel können voraussichtlich nicht mehr 20 ml Produkt entnommen werden

- Allenfalls Infusionsbesteck entfernen.
- Falls im Infusionsbesteck (inkl. Schlauch) noch Blutprodukt vorhanden ist, dieses zusätzlich zum unten beschriebenen Prozedere steril entnehmen und ansetzen.
- Einen unbenutzten, noch steril verschlossenen Port des Produktebeutels unter Einhaltung der sterilen Bedingungen öffnen und zur Materialentnahme verwenden. Dazu mit einem Verbindungsdorn mit Injektionsanschluss (z.B. Baxter REF EMC 1401) den Blutproduktebeutel über den Port anstechen. Falls kein verschlossener, unbenutzter Port für die Materialentnahme zur Verfügung steht (einige Blutproduktebeutel besitzen nur einen Port), den Port mit Desinfektionsmittel (70% Alkohol) während mindestens 1 Minute desinfizieren.
- Wenn möglich zuerst unverdünntes Material für ein mikroskopisches Präparat entnehmen.
- Spülung, dazu Injektion von ca. 20 ml NaCl ad infusionem, Bouillon, sterile PBS-Lösung, je nach lokaler Verfügbarkeit (Prinzip: genügend Flüssigkeit zum Auswaschen, aber nicht zuviel, um zu hohe Verdünnung allfälliger Bakterien zu vermeiden). Beutel mit aufgesetzter Spritze (um Auslaufen zu verhindern) mindestens fünfmal um 180° um die Sagittal- bzw. die Transversalachse schwenken. Die Spülflüssigkeit soll die ganze Beutelinnenfläche auswaschen.
- Entnahme der Spülflüssigkeit.

Mikrobiologische Untersuchungen

- Grampräparat oder bei Verfügbarkeit Acridinorange-Färbung (höhere Sensitivität) anfertigen.
- Ein Set Blutkulturflaschen (eine aerobe und eine anaerobe Flasche) beimpfen und wie Patientenblutkulturen weiterverarbeiten (Bebrütung, Subkultur etc.).
- Eine Schokolade-Agar-Platte direkt beimpfen, bei 35–37 °C in 5% CO₂ bebrüten, Weiterverarbeitung wie im entsprechenden Labor üblich für primär sterile Punktate.
- Allfällige Restflüssigkeit in sterilem Gefäss (z.B. Spitzröhrchen) bis zum Abschluss der Untersuchung aufbewahren.

Interpretation

- Ein positives Grampräparat hat einen hohen diagnostischen Stellenwert. In der Bacon-Studie waren 26 von 28 (93%) der septischen Transfusionsreaktionen im Grampräparat positiv. Einerseits belegt es eine beträchtliche Bakterienkonzentration im Produkt, was eine klinische Relevanz wahrscheinlich macht, andererseits liefert es erste Hinweise auf die Art des bakteriellen Erregers.
- Bei identischem Keimnachweis im Produkt und in der Blutkultur des Patienten gilt eine bakterielle Infektion als Folge der Transfusion als gesichert.
- Bei negativer Kultur ist es unwahrscheinlich, dass das Blutprodukt zum Zeitpunkt der Transfusion signifikant mit Bakterien kontaminiert war.

Asservierung der Isolate

- Alle Isolate aus Patientenblut und aus den im Rahmen des vermuteten Transfusionszwischenfalls untersuchten Blutprodukten während mindestens drei Monaten lebensfähig (in Stich-Agar-Röhrchen oder eingefroren) asservieren, um allfällige weitere Untersuchungen (z.B. Typisierung) zu ermöglichen.

lige weitere Untersuchungen (z.B. Typisierung) zu ermöglichen.

Anmerkung

Zur Zeit existieren in der Schweiz keine verbindlichen Weisungen über die technische Durchführung der bakteriellen Abklärung von Blutprodukten. Deshalb wurde in Zusammenarbeit mit dem Mikrobiologie-Kolloquium Nordwest- und Zentralschweiz diese Empfehlung erstellt. Sie soll jedes Mikrobiologielabor in die Lage versetzen, eine mögliche bakterielle Kontamination eines Blutproduktes nach einem standardisierten und trotzdem auf die lokalen Verhältnisse und Möglichkeiten angepassten Protokoll (SOP) anbieten zu können.

Korrespondenz:

Dr. med. Markus Jutzi
Swissmedic
Mallerstrasse 7
3000 Bern 9
markus.jutzi@swissmedic.ch

Literatur

- 1 Perez P, Salmi LR, Folléa G, Schmit JL, de Barbeyrac B, Sudre P, et al. Determinants of transfusion-associated bacterial contamination: results of the French BACTHEM Case-Control Study. *Transfusion*. 2001;41(7):862–72.
- 2 Kuehnert MJ, Roth VR, Haley NR, Gregory KR, Elder KV, Schreiber GB, et al. Transfusion-transmitted bacterial infection in the United States, 1998 through 2000. *Transfusion*. 2001;41(12):1493–9.
- 3 Dr. F. Weinauer. Forum Hämotherapie: Sicherheit von Blutprodukten.
- 4 ISBT Working Party on Haemovigilance September 2006.
- 5 Nyström PO. The systemic inflammatory response syndrome: definitions and aetiology. *J Antimicrob Chemother*. 1998;41 Suppl A:1–7.
- 6 ASM Clinical Microbiology Procedures Handbook, 11.11.1-4, 1992, American Society for Microbiology, Washington, D.C.