

นิพนธ์ต้นฉบับ

Transfusion-associated Sepsis due to *Serratia marcescens*

เรืองรอง ชีพลัตยากร¹ พันธนา ไชยนวน² รุ่งโรจน์ เนตรศิรินิลกุล³ บรรยง คันทะ⁴ และ ลัดดา ฟองสถิตย์กุล²

¹ภาควิชาพยาธิวิทยา; ²งานธนาคารเลือด; ³ภาควิชากุมารเวชศาสตร์; ⁴งานปฏิบัติการชันสูตร คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

บทคัดย่อ : การรับเลือดและส่วนประกอบของเลือดมีโอกาสเกิดการติดเชื้อแบคทีเรียในกระแสโลหิต **วัตถุประสงค์ :** เพื่อรายงานการติดเชื้อ *Serratia marcescens* ในกระแสโลหิตในผู้ป่วย 1 ราย จากการได้รับ pooled leukocyte-poor platelet concentrate (LPPC) **รายงานผู้ป่วย :** ผู้ป่วยเด็ก เพศหญิง อายุ 11 ปี เป็นโรคมะเร็งชนิด embryonic rhabdomyosarcoma ที่กล้ามเนื้อรอบตาซ้ายรักษาด้วยยาเคมีบำบัด ผู้ป่วยมีภาวะช็อคและเกล็ดเลือดต่ำ แพทย์ให้ LPPC 1 pool (จาก buffy coat 4 ยูนิต) ขณะได้รับเกล็ดเลือด ผู้ป่วยมีไข้ หนาวสั่น ชีพจรเร็ว คลื่นไส้ อาเจียนและริมฝีปากเขียว จึงยุติการให้เกล็ดเลือดและส่งเกล็ดเลือดกลับไปธนาคารเลือด การตรวจเกล็ดเลือดพบว่าเกล็ดเลือดมีอายุ 2 วัน ภายในถุงมีก้อน fibrin clot การย้อมสีแกรมพบ gram-negative bacilli ผลการเพาะเชื้อพบ *Serratia marcescens* การตรวจเลือดผู้ป่วยเป็นหมู่ O, RhD positive ซีรัมผู้ป่วยไม่มีฮีโมกลินซีส การตรวจกรองแอนติบอดี, direct antiglobulin test และ anti-HLA ให้ผลลบ การตรวจทางภูมิคุ้มกันพบวาระดับ IgE สูงกว่าปกติ เกล็ดเลือดที่ให้เป็นหมู่ O, RhD positive การเพาะเชื้อจากเลือดผู้ป่วยหลังรับเกล็ดเลือดพบ *Serratia marcescens* เหมือนเชื้อในถุงเกล็ดเลือด ผู้ป่วยติดเชื้อ *Serratia marcescens* ในกระแสโลหิตจากแบคทีเรียที่ปนเปื้อนอยู่ในถุงเกล็ดเลือดและได้รับการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ meropenem และ amikacin เป็นเวลา 2 สัปดาห์ การติดตามผู้บริจาคเกล็ดเลือด ผู้บริจาคสบายดี การเพาะเชื้อจากเลือดผู้บริจาคไม่พบเชื้อแบคทีเรีย หลังจากผู้ป่วยอาการดีขึ้นจากภาวะติดเชื้อในกระแสโลหิต ผู้ป่วยได้รับยาเคมีบำบัดและฉายแสงเพื่อรักษามะเร็งที่ตาซ้ายต่อ และเสียชีวิตจากโรคมะเร็งในเวลา 4 เดือนต่อมา **สรุป :** มีการตรวจพบเชื้อ *Serratia marcescens* ปนเปื้อนอยู่ในถุงเกล็ดเลือด เชื้อแบคทีเรียทำให้เกิดเกล็ดเลือดในถุงเป็น fibrin clot ดังนั้นทางห้องปฏิบัติการควรมีการตรวจเกล็ดเลือดและตรวจคุณภาพความปราศจากเชื้อของเกล็ดเลือด เพื่อป้องกันการติดเชื้อในผู้ป่วยรายต่อไป

Key Words : ● Platelet transfusion ● *Serratia marcescens* ● Sepsis

วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2555;22:11-8.

บทนำ

การรับเลือดและส่วนประกอบของเลือดมีโอกาสที่ผู้ป่วยจะเกิดปฏิกิริยาที่ไม่พึงประสงค์และติดเชื้อแบคทีเรียในกระแสโลหิต ปฏิกิริยาจากการรับเลือดนี้อาจเกิดขึ้นที่ขณะรับเลือดหรือหลังรับเลือดแล้วไม่เกิน 24 ชั่วโมง¹ ผู้ป่วยที่รับเลือดที่มีเชื้อแบคทีเรียปนเปื้อนมักมีอาการรุนแรง และเป็นสาเหตุการตายเป็นอันดับ 2 รองจาก hemolytic transfusion reaction ซึ่งเกิดจากการรับเลือดหมู่ ABO ที่เข้ากันไม่ได้² ในประเทศแคนาดามีรายงานการติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในกระแสโลหิตจากการรับเกล็ดเลือด³ ผู้ป่วยชาย อายุ 75 ปี เป็นโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาว ได้รับ pooled random-donor platelets 5 ยูนิต หลังรับเกล็ด

เลือดผู้ป่วยมีไข้ หนาวสั่น ซึมลง การเพาะเชื้อจากเลือดผู้ป่วยหลังรับเกล็ดเลือดพบเชื้อ *Staphylococcus aureus* และเสียชีวิต 8 วันหลังรับเกล็ดเลือด ผู้บริจาคเกล็ดเลือดขณะบริจาคปกติดี แต่ 3 วันหลังบริจาคเกิดภาวะ subacute bacterial endocarditis ผลการเพาะเชื้อจากเลือดผู้บริจาคพบเชื้อ *Staphylococcus aureus* เหมือนเชื้อที่พบในเกล็ดเลือด ในประเทศอังกฤษมีรายงานการติดเชื้อ *Enterobacter cloacae* จากการรับเกล็ดเลือด³ ผู้ป่วยชาย อายุ 72 ปี เป็นโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองได้รับเกล็ดเลือดซึ่งเตรียมด้วยวิธี plateletpheresis ขณะรับเกล็ดเลือด ผู้ป่วยมีชีพจรเร็ว การตรวจระดับออกซิเจนในเลือดต่ำ การตรวจเกล็ดเลือดที่ให้พบว่าพลาสมาในถุงขุ่น การเพาะเชื้อจากถุงเกล็ดเลือดพบเชื้อ *Enterobacter cloacae* ส่วนผู้บริจาคเกล็ดเลือดปกติดี แต่การเพาะเชื้อผิวหนังที่แขนของผู้บริจาคพบเชื้อ *Enterobacter cloacae* เหมือนเชื้อในถุงเกล็ดเลือด

เชื้อแบคทีเรียปนเปื้อนในส่วนประกอบของเลือดเกิดจากหลาย

ได้รับต้นฉบับ 10 กุมภาพันธ์ 2555 ให้ลงตีพิมพ์ 28 กุมภาพันธ์ 2555

ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ รศ.พญ.เรืองรอง ชีพลัตยากร ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200

E-mail: rcheepsa@med.cmu.ac.th

สาเหตุได้แก่ การทำความสะอาดผิวหนังบริเวณตำแหน่งที่เจาะเลือดไม่ดี หรือผู้บริจาคมีเชื้อแบคทีเรียอยู่ในกระแสโลหิต ในประเทศอเมริกามีรายงานการติดเชื้อ *Serratia marcescens* ในกระแสโลหิตจากการรับเกล็ดเลือด⁴ ผู้ป่วยเด็กหญิงอายุ 10 ปี เป็นโรคไขกระดูกฝ่อได้รับ pooled random-donor platelets 8 ยูนิต ขณะรับเกล็ดเลือด ผู้ป่วยมีไข้ หนาวสั่น ความดันโลหิตต่ำ ชีพจรเร็ว คลื่นไส้ อาเจียนและท้องเสีย การเพาะเชื้อจากถุงเกล็ดเลือดและเลือดผู้ป่วยพบเชื้อ *Serratia marcescens* ในประเทศไทยรายงานการติดเชื้อ *Serratia marcescens* จากการรับเกล็ดเลือดค่อนข้างน้อย จึงนำเสนอเป็นรายงาน

รายงานผู้ป่วย

เด็กหญิงไทย อายุ 11 ปี เป็นโรคมะเร็งชนิด embryonic rhabdomyosarcoma ที่กล้ามเนื้อรอบตาซ้าย รักษาด้วยยาเคมีบำบัด (carboplatin, ifosfamide และ etoposide) หลังจากได้รับยาเคมีบำบัด ผู้ป่วยซีดปานกลาง เกล็ดเลือดต่ำ การตรวจ complete blood count (CBC): Hb 8.3 g/dL Hct 24.5% WBC 200/ μ L (N 51%, L 20%, M 6%, E 14%, band 3%, atypical lymphocyte 6%) platelet count 9,000/ μ L ผู้ป่วยเกล็ดเลือดต่ำจึงให้ pooled leukocyte-poor platelet concentrate (LPPC) 1 pool (4 ยูนิต) การเพาะเชื้อจากเลือดผู้ป่วยก่อนให้เกล็ดเลือดไม่พบเชื้อแบคทีเรีย ประวัติการรับเลือด ระหว่างที่รักษาด้วยยาเคมีบำบัดผู้ป่วยได้รับเม็ดเลือดแดงและเกล็ดเลือดมาตลอด ผู้ป่วยเคยได้รับ leukocyte-depleted single donor platelets (LDSDP) แล้วมีผื่นคันตามตัวหลายครั้ง

การรับเกล็ดเลือดครั้งนี้ ขณะรับเกล็ดเลือดได้ประมาณ 10 มล. ผู้ป่วยมีไข้ หนาวสั่น คลื่นไส้ อาเจียน การตรวจร่างกาย อุณหภูมิ 39.9 °ซ ความดันโลหิต 110/70 มม.ปรอท ชีพจร 170 ครั้ง/นาที คลำได้เบา การหายใจ 28 ครั้ง/นาที ผู้ป่วยซีดปานกลาง ริมฝีปากเขียวเล็กน้อย การฟังเสียงปอดปกติไม่มีเสียง wheez หายใจเต็มเร็ว ไม่มีอาการปวดท้อง ไม่พบผื่นคันตามตัว การตรวจระดับออกซิเจนในเลือด 80% (ค่าปกติ 95-100%) จึงยุติการให้เกล็ดเลือดและส่งถุงเกล็ดเลือดพร้อมเจาะเลือดผู้ป่วยหลังรับเกล็ดเลือดกลับไปที่ธนาคารเลือด ผู้ป่วยมีปฏิกิริยาจากการรับเลือดจึงให้ยาแก้แพ้ (chlorpheniramine 3 mg) สเตียรอยด์ (hydrocortisone 150 mg) ยาปฏิชีวนะ (meropenem 60 mg/kg/day และ amikacin 15 mg/kg/day) และให้สารน้ำเข้าหลอดเลือดดำอย่างรวดเร็ว เนื่องจากสงสัยภาวะช็อกในระยะเริ่มต้นจากการติดเชื้อแบคทีเรียในกระแสโลหิต และให้ออกซิเจนทาง nasal cannula 3 ลิตร/นาที ภาพถ่ายรังสีทรวงอกปกติ ไม่พบ

ลักษณะของ pulmonary edema

วัสดุและวิธีการ

การเจาะเก็บโลหิต

1. ทำความสะอาดผิวหนังบริเวณข้อพับผู้บริจาค⁵ โดยใช้ 10% povidone-iodine solution และ 70% alcohol เจาะเก็บโลหิตลงในถุง citrate phosphate dextrose (CPD) quadruple PL146 (Fenwal, USA) ถุงเก็บเลือดรุ่นนี้ไม่มี diversion pouch

2. เก็บตัวอย่างเลือดผู้บริจาคเพื่อตรวจหมู่เลือด ตรวจกรองแอนติบอดี และตรวจร่องรอยการติดเชื้อได้แก่ HIVAg, anti-HIV, HBsAg, anti-HCV, syphilis และ nucleic acid testing (HIV RNA, HBV DNA และ HCV RNA)

การเตรียมเกล็ดเลือด

1. นำ whole blood ซึ่งเจาะเก็บในถุง CPD จากผู้บริจาค 4 ราย มาปั่นแยกส่วนประกอบของเลือดโดยเครื่อง Optipress II (Fenwal, USA) เป็น leukocyte-poor red cells (LPRC), buffy coat และ fresh frozen plasma (FFP)

2. เก็บ LPRC ไว้ที่อุณหภูมิ 4 °ซ FFP ที่อุณหภูมิ -30 °ซ ส่วน buffy coat นำมาวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 20-24 °ซ อย่างน้อย 2 ชั่วโมง การเตรียมเกล็ดเลือดครั้งนี้วาง buffy coat ที่ไว้ที่อุณหภูมิห้อง (20-24 °ซ) ค้างคืน เพื่อรอผลการตรวจร่องรอยการติดเชื้อ HIV ตับอักเสบบี ตับอักเสบซี และซิฟิลิส

3. เมื่อผลการตรวจ HIVAg, anti-HIV, HBsAg, anti-HCV, *Treponema pallidum* antibody test, HIV RNA, HBV DNA และ HCV RNA ให้ผลลบ นำ buffy coat มาปั่นแยกเอาส่วนเม็ดเลือดขาวทิ้งได้ผลิตภัณฑ์เป็น LPPC นำ LPPC มา pool รวมกันในถุง Teruflex buffy coat pooling kit (Terumo, Japan) โดยใช้เครื่องเชื่อมสาย CompoDock (Fresenius Kabi, Germany) หลักการเชื่อมสายอาศัยความร้อนที่อุณหภูมิ 320 °ซ เพื่อให้พลาสติกหลอมละลายเชื่อมต่อกันเป็นระบบปิด⁶ และสายของถุง Fenwal มีขนาดเท่ากับสายของถุง Teruflex

4. เก็บ pooled LPPC ไว้ในตู้เก็บเกล็ดเลือดที่อุณหภูมิ 20-24 °ซ โดยมีเครื่องเขย่าตลอดเวลา และนำ pooled LPPC มาให้ผู้ป่วยเมื่อเกล็ดเลือดมีอายุ 2 วัน

การทดสอบปฏิกิริยาจากการรับเลือด

การตรวจถุงเกล็ดเลือด

1. ตรวจถุงเกล็ดเลือด สังเกตรอยรั่ว ลักษณะทั่วไปของเกล็ดเลือดและพลาสมา ทดสอบ swirling⁷ โดยถือถุงเกล็ดเลือดหน้าแหล่งกำเนิดแสง บินบริเวณปลายถุงเกล็ดเลือดเบาๆ สังเกตการไหลวนของเกล็ดเลือด เกล็ดเลือดที่มีการไหลวนในถุงคือผลบวก

ส่วนเกล็ดเลือดที่ไม่ไหลวนคือผลลบ

- นำพลาสมาในถุงเกล็ดเลือดมาตรวจหมู่เลือด ABO⁸

การตรวจเลือดผู้ป่วย

- ตรวจหมู่เลือด ABO, RhD ตรวจกรองแอนติบอดีในซีรัม และ direct antiglobulin test⁸⁻¹⁰
- ตรวจ anti-HLA ในผู้ป่วยด้วยวิธี microlymphocytotoxicity test¹¹
- ตรวจระดับ IgG, IgM, IgA และ IgE ด้วยวิธี nephelometry¹²

การตรวจทางจุลชีววิทยา

- นำเกล็ดเลือดในถุงไปย้อมสีแกรม และเพาะเชื้อด้วยเครื่อง continuous monitoring blood culture system (VersaTREK, USA) เมื่อพบการเจริญของเชื้อจะทำให้ความดันของก๊าซ CO₂, H₂ และ O₂ ในขวดเพาะเชื้อเปลี่ยนแปลงและมีการส่งสัญญาณเตือน¹³ นำ broth จากขวดเพาะเชื้อมา streak ลงบน blood agar และ MacConkey agar plate นำ plate นี้ไป incubate ที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 18-24 ชั่วโมง เชียโคโลนีจาก MacConkey agar plate ไปทดสอบ biochemical test¹⁴ เพื่อตรวจแยกชนิดของเชื้อ



Figure 1. The small fibrin clot (arrow) was detected in a 2-day-old unit of pooled leukocyte-poor platelet concentrate.

- ทดสอบความไวของยาด้วยวิธี disk diffusion¹⁵ โดยนำเชื้อปริมาณเทียบเท่าความขุ่นของ 0.5 McFarland ป้ายลงบน Mueller-Hinton agar plate วางแผ่นดิสก์ซึ่งมียา imipenem, ertapenem, cefotaxime, ceftazidime, ciprofloxacin, ofloxacin, cotrimoxazole, amikacin และ piperacillin/tazobactam ลงบน plate นำ Mueller-Hinton agar plate นี้ไป incubate ที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 18-24 ชั่วโมง ถ้ายายับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจะพบ clear zone รอบแผ่นดิสก์ วัดเส้นผ่าศูนย์กลางของ clear zone เปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานแปลผลเป็น susceptible, intermediate หรือ resistance

- นำ LPRC ที่เตรียมจากผู้ป่วยโรค 4 ยูนิต ซึ่งเก็บอยู่ในธนาคารเลือดไปเพาะเชื้อ (ส่วน FFP พบว่าได้ถูกนำไปให้ผู้ป่วยรายอื่นแล้ว) ตรวจเพาะเชื้อเลือดผู้ป่วยหลังรับเกล็ดเลือด และติดตามผู้ป่วยโรคมาตรวจ CBC และเพาะเชื้อเลือด

- Swab เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้เตรียมเกล็ดเลือดได้แก่ เครื่องปั่น เครื่องเชื่อมสาย sealer โต๊ะทำงาน บริเวณห้องเตรียมเกล็ดเลือด ตู้เก็บเกล็ดเลือด และนำสารกันเลือดแข็ง CPD ในถุงเก็บเลือด และน้ำยาฆ่าเชื้อ povidone-iodine และแอลกอฮอล์ที่ใช้ทำความสะอาดผิวหนังผู้ป่วยโรคไปเพาะเชื้อ

ผลการศึกษา

การตรวจหมู่เลือดผู้ป่วยเป็นหมู่ O, RhD positive, การตรวจกรองแอนติบอดีและ direct antiglobulin test ให้ผลลบ ซีรัมผู้ป่วยไม่มีฮีโมไลซิส เกล็ดเลือดที่ให้เป็นหมู่ O, RhD positive การตรวจจุลเกล็ดเลือดพบว่าถุงไม่มีรอยรั่ว มี transfusion set เสียอยู่ ปลายเข็มที่ติดอยู่ที่ปลาย transfusion set ปิดสนิท การตรวจ swirling ให้ผลบวก สังเกตพลาสมาในถุงมีก้อน fibrin clot เล็กๆ (Figure 1) จึงนำก้อน clot นี้ไปย้อมสีแกรมพบเชื้อ gram-negative bacilli จำนวนมาก (Figure 2A) การเพาะเชื้อจากถุงเกล็ดเลือดพบโคโลนีสีขาวบน blood agar และโคโลนีสีใสไม่มีสีขึ้นบน MacConkey agar plate และเป็นชนิด non-lactose fermenter (Figure 2B) ผลการทดสอบ biochemical identification สรุปเป็นเชื้อ *Serratia marcescens* (Figure 2C)¹⁴ *Serratia marcescens* สายพันธุ์ที่ปนเปื้อนในเกล็ดเลือดที่ให้ผู้ป่วยรายนี้ไม่สร้าง pigment แต่ *Serratia marcescens* บางสายพันธุ์สร้าง pigment คือ prodigiosin ทำให้โคโลนีบน blood agar และ MacConkey agar plate มีสีชมพูหรือสีแดง¹³ การทดสอบ antimicrobial susceptibility test พบว่าเชื้อ *Serratia marcescens* ไว (susceptible) ต่อยา imipenem, ertapenem, cefotaxime, ceftazidime, ciprofloxacin, ofloxacin, cotrimoxazole,

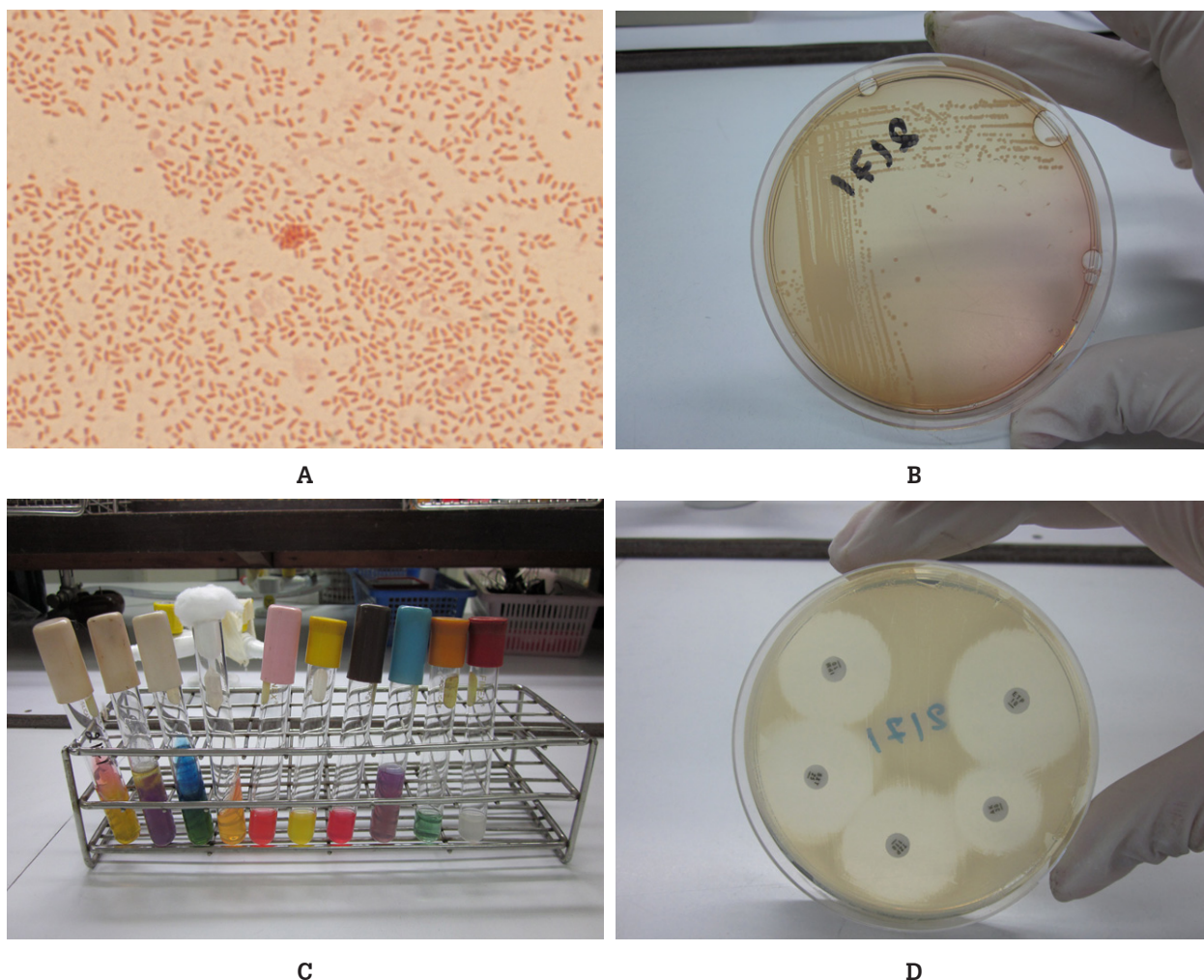


Figure 2. **A** Gram stain showed numerous gram-negative bacilli; **B** Non-lactose-fermenting colorless colonies were grown on MacConkey agar plate; **C** Biochemical identification was *Serratia marcescens*; **D** Antimicrobial susceptibility testing revealed the bacteria were susceptible to imipenem, ertapenem, cotrimoxazole, amikacin and piperacillin/tazobactam.

amikacin และ piperacillin/tazobactam (Figure 2D) การเพาะเชื้อจาก LPRC ทั้ง 4 ยูนิต ไม่พบเชื้อแบคทีเรีย (Table 1) การตรวจ anti-HLA ในผู้ป่วยให้ผลลบ การตรวจทางภูมิคุ้มกัน IgG 1,480 mg/dL (ค่าปกติ 800-1,700 mg/dL), IgM 66.3 mg/dL (ค่าปกติ 50-370 mg/dL), IgA 188 mg/dL (ค่าปกติ 85-490 mg/dL) และ IgE 689 IU/dL (ค่าปกติ 30-100 IU/dL) ระดับ IgE ของผู้ป่วยสูงกว่าปกติ การเพาะเชื้อจากเลือดผู้ป่วยหลังรับเกล็ดเลือดพบเชื้อ *Serratia marcescens* และมีความไวต่อยาเหมือนเชื้อในถุงเกล็ดเลือด

ผู้ป่วยติดเชื้อ *Serratia marcescens* ในกระแสโลหิตจากการรับเกล็ดเลือด ได้รับการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ meropenem และ amikacin ร่วมกับการให้สารน้ำเข้าหลอดเลือด ต่อมาผู้ป่วยมีความดันโลหิตต่ำจึงให้ยาเพิ่มความดันโลหิต dopamine และให้ granulocyte- colony stimulating factor (G-CSF) เพื่อเพิ่ม

จำนวนเม็ดเลือดขาวในเลือด หลังจากได้รับยาปฏิชีวนะ 3 วัน ไข้ลง ความดันโลหิตปกติ จึงหยุด dopamine และให้ยาปฏิชีวนะต่อเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ผู้ป่วยอาการดี การเพาะเชื้อเลือดผู้ป่วยหลังได้ยาปฏิชีวนะให้ผลลบ แต่เซลล์มะเร็งของผู้ป่วยได้แพร่กระจายไปที่เยื่อหุ้มสมองและสมองส่วน frontal lobe ทำให้ผู้ป่วยมีอาการปวดศีรษะ ชัก จึงรักษาด้วยยาเคมีบำบัดและการฉายแสง ผู้ป่วยได้รับเกล็ดเลือดต่อเนื่องเป็นระยะๆ และเสียชีวิตจากโรคมะเร็งในเวลา 4 เดือนต่อมา

การติดตามผู้ป่วยโรคเกล็ดเลือด ผู้บริจาคทั้ง 4 ราย สบายดี ผลการตรวจ CBC ปกติ การเพาะเชื้อจากเลือดผู้บริจาคหลังบริจาค 4 สัปดาห์ ไม่พบเชื้อแบคทีเรีย (Table 2) ได้ย้อนถามประวัติการเจ็บป่วยของผู้บริจาค ผู้บริจาคหญิง 1 ราย (H04439) เป็นหวัดเล็กน้อยก่อนบริจาค 1 สัปดาห์และมีปัญหาตกขาวซื้อยา clotrimazole มาเหน็บช่องคลอดเองก่อนบริจาค 4 วัน ผู้บริจาค

Table 1. Blood component cultures and post-transfusion symptoms of the patients

Blood components	Component cultures	Post-transfusion symptoms
Pooled LPPC		
Unit No.H04474, H04456, H04439 and H04446	<i>Serratia marcescens</i>	Fever, chill, tachycardia, nausea, hypoxemia and hypotension
LPRC		
Unit No.H04474	No growth	No transfusion
H04456	No growth	No transfusion
H04439	No growth	No transfusion
H04446	No growth	No transfusion
FFP		
Unit No.H04474	Not done	Well
H04456	Not done	Well
H04439	Not done	Well
H04446	Not done	Well

LPPC = leukocyte-poor platelet concentrate ; LPRC = leukocyte-poor red cells ; FFP = fresh frozen plasma

Table 2. Hemocultures and donor healths

Donors	Predonation	Postdonation	Hemoculture
No.H04474	Well	Well	No growth
No.H04456	Well	Well	No growth
No.H04439	Common cold 1 week and leukorrhea 4 days before donation	Well	No growth
No.H04446	Gastritis 2 weeks before donation	Well	No growth

ชาย 1 ราย (H04446) ปวดท้องเป็นโรคกระเพาะอาหารอักเสบ รับประทานยาลดกรดก่อนบริจาค 2 สัปดาห์ ส่วนผู้บริจาคชาย 2 ราย (H04474 และ H04456) ไม่มีประวัติเจ็บป่วย ทางด้านผู้ป่วยที่รับ FFP ทั้ง 4 รายอาการดี ไม่มีปฏิกิริยาจากการรับเลือด และไม่พบการติดเชื้อแบคทีเรียในกระแสโลหิต ส่วน LPRC 4 ยูนิต ถึงแม้ว่าการตรวจเพาะเชื้อให้ผลลบ แต่ธนาคารเลือดไม่ได้นำ LPRC นี้ไปให้ผู้ป่วยรายใด การตรวจหาแหล่งการแพร่เชื้อโดยการ swab เครื่องมืออุปกรณ์บริเวณห้องเตรียมเกล็ดเลือดและตู้เก็บเกล็ดเลือดไปเพาะเชื้อให้ผลลบ การเพาะเชื้อจากน้ำยากันเลือดแข็งในถุงเก็บเลือดและจากน้ำยาฆ่าเชื้อที่ใช้ทำความสะอาดผิวหน้าผู้บริจาค ไม่พบเชื้อแบคทีเรีย

วิจารณ์

Serratia marcescens เป็น gram-negative bacilli จัดอยู่ใน family *Enterobacteriaceae* เชื้อนี้เป็น nosocomial infection คือเป็นการติดเชื้อจากภายในโรงพยาบาล¹⁶ *Serratia marcescens* ปนเปื้อนอยู่ได้ในอาหาร นม อ่างน้ำ เครื่องมือ

แพทย์ สารน้ำที่ให้ทางหลอดเลือดและส่วนประกอบของเลือด การแพร่กระจายของเชื้อเกิดจากการสัมผัสและการใส่สายสวน¹⁷ ผู้ที่ติดเชื้อนี้จะมีบาดแผลอักเสบ ทางเดินปัสสาวะอักเสบ ทางเดินอาหารอักเสบ ทางเดินหายใจอักเสบและเยื่อหุ้มสมองอักเสบ การติดเชื้อ *Serratia marcescens* ในกระแสโลหิตอาจทำให้เกิด septic shock เพราะบนผิวของ gram-negative bacilli ประกอบด้วย lipid A ซึ่งเป็น lipopolysaccharide มีคุณสมบัติเป็น endotoxin ซึ่งเป็น virulence factor lipopolysaccharide-binding protein ในร่างกายจะจับกับ lipid A และส่ง lipid A ไปจับกับ CD14 receptor บนเซลล์ของโมโนไซต์และแมคโครฟาจ เพื่อทำปฏิกิริยากับ Toll-like receptor 4 ไปกระตุ้น proinflammatory host response ทำให้มีการหลั่งไซโตไคน์ได้แก่ IL-1, IL-6, IL-8 และ TNF- α ทำให้ผู้ป่วยมีไข้ ชีพจรเร็ว หายใจเร็วและความดันโลหิตต่ำ¹⁸ ผู้ที่ได้รับส่วนประกอบของเลือดที่มีเชื้อแบคทีเรียปนเปื้อนจะมีอาการไข้ หนาวสั่น ซึ่งคล้ายกับ febrile nonhemolytic transfusion reaction ที่เกิดจาก anti-HLA ในผู้ป่วยทำปฏิกิริยากับเม็ดเลือดขาวของผู้บริจาคทำให้มีการหลั่ง

ไซโตไคน์ อาการและความรุนแรงของปฏิกิริยาจากการรับเลือดที่มีแบคทีเรียปนเปื้อนขึ้นกับปริมาณเชื้อที่ได้รับ อัตราการเพิ่มจำนวนของเชื้อ โรคเดิม สภาวะทางภูมิคุ้มกันและยาปฏิชีวนะที่ผู้ป่วยได้รับ² อุบัติการณ์ของการติดเชื้อในกระแสโลหิตจากการรับเกล็ดเลือดซึ่งมีเชื้อแบคทีเรียปนเปื้อนพบประมาณ 1 ใน 25,000 ยูนิต และทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิต 1 ใน 60,000 ยูนิต¹⁹

การติดเชื้อแบคทีเรียจากการรับเกล็ดเลือดอาจเกิดจากผู้บริจาคมีเชื้อแบคทีเรียอยู่ในกระแสเลือด หรือแบคทีเรียปนเปื้อนระหว่างการผลิตเก็บโลหิตหรือกระบวนการเตรียมเกล็ดเลือด ผลการเพาะเชื้อเลือดจากผู้บริจาคและ LPRC ให้ผลลบ แบคทีเรียปนเปื้อนในถุงเกล็ดเลือดทำให้ผู้ป่วยรายนี้สรุปไม่ได้ชัดเจนว่ามาจากที่ใด แบคทีเรียปนเปื้อนอาจเกิดจากขั้นตอนการเตรียมเกล็ดเลือด เนื่องจากกระบวนการเตรียม pooled LPPC มีการเชื่อมสายถุงเกล็ดเลือด ถึงแม้ว่าเครื่องเชื่อมสายจะให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูง > 300 °ซ ซึ่งไม่ทำให้เชื้อแบคทีเรียเจริญเติบโต แต่กระบวนการเชื่อมสายนี้หากผู้เตรียมวางสายเลือดไม่ถูกวิธี อาจทำให้สายเชื่อมต่อกันไม่สมบูรณ์ การ seal สายถุงเลือดด้วย sealer บางครั้งอาจรั่วเป็นสาเหตุของแบคทีเรียปนเปื้อนได้ แบคทีเรียปนเปื้อนในเกล็ดเลือดพบบ่อยกว่าเม็ดเลือดแดงและพลาสมา เนื่องจากเกล็ดเลือดมีอาหารที่ช่วยในการเจริญของเชื้อ (growth medium) และอุณหภูมิที่เก็บคือ 20-24 °ซ เชื้อแบคทีเรียจึงเจริญเติบโตได้ดี การติดเชื้อแบคทีเรียจากการรับเม็ดเลือดแดงพบได้เช่นเดียวกัน เชื้อที่เป็นสาเหตุได้แก่ *Yersinia enterocolitica* และ *Serratia liquefaciens* เพราะเชื้อนี้เจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนได้ที่อุณหภูมิ 1-6 °ซ การติดเชื้อแบคทีเรียยังพบในผู้ที่ทำ autologous blood transfusion เนื่องจากผู้ป่วยเจาะเก็บเลือดให้ตัวเองขณะเป็น transient bacteremia²⁰ มีรายงานการติดเชื้อ *Serratia marcescens* จากการรับเม็ดเลือดแดงซึ่งเกิดจากแบคทีเรียปนเปื้อนอยู่ในถุงเก็บเลือดเนื่องจากบริษัทผู้ผลิตไม่ได้ทำให้วัสดุที่ห่อหุ้มภายนอกถุงปลอดเชื้อ เชื้อจึงปนเปื้อนจากภายนอกเข้าไปในถุงเลือด²¹ การศึกษาครั้งนี้ได้นำสารกันเลือดแข็งภายในถุงไปเพาะเชื้อให้ผลลบ การติดเชื้อแบคทีเรียจึงไม่น่าจะเกิดจากถุงเก็บเลือด

การป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียเริ่มจากการคัดกรองผู้บริจาค การถามประวัติเจ็บป่วย อาการปวดท้อง ท้องเสีย พบในผู้บริจาคที่มีการติดเชื้อ *Enterobacteriaceae* เช่น *Yersinia enterocolitica*²² การติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* พบในผู้บริจาคที่ถอนฟัน² การเจาะเก็บโลหิตควรใช้น้ำยาฆ่าเชื้อ 0.7% povidone-iodine scrub หรือ 10% povidone-iodine solution ทำความสะอาดผิวหนังก่อนเจาะ แต่ถ้าผู้ป่วยบริจาคแพ้ iodine ควรใช้ 2% chlorhexidine และ 70% isopropyl alcohol¹⁵ การใช้ถุงเก็บโลหิตที่มี diversion

pouch เพื่อเก็บเลือดผู้บริจาค 20-30 mL แรกลง pouch ก่อนเข้าไปในถุงเก็บเลือดช่วยลดแบคทีเรียปนเปื้อนจากผิวหนังได้²³ เกล็ดเลือดที่เตรียมเก็บไว้ในธนาคารเลือดควรมีการควบคุมคุณภาพตามเกณฑ์มาตรฐานโดยตรวจ swirling, pH และเพาะเชื้อ เกล็ดเลือดปกติมี pH > 6.2 แบคทีเรียที่ปนเปื้อนอยู่ในถุงเกล็ดเลือดอาจทำให้ pH ลดลงเนื่องจากเมตาบอลิซึมของแบคทีเรียมีการใช้กลูโคสและสร้างกรดไพรูวิก แต่ pH ในถุงเกล็ดเลือดขึ้นกับสารกันเลือดแข็ง และ pH จะเพิ่มขึ้นเมื่อกลูโคสหมดไป การตรวจ pH จึงไม่มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อแบคทีเรีย¹⁹ การย้อมสีแกรมช่วยวินิจฉัยการติดเชื้อแบคทีเรีย แต่การย้อมสีแกรมมีความไวต่ำ การย้อมสีแกรมจะตรวจพบเมื่อมีเชื้อแบคทีเรียมากกว่า 10⁶ CFU/mL²⁴ ถ้าปริมาณแบคทีเรียในถุงเกล็ดเลือดมีน้อยการย้อมสีแกรมจะให้ผลลบ การเพาะเชื้อเป็น gold standard ในบางประเทศ เช่น ประเทศเนเธอร์แลนด์มีการตรวจเพาะเชื้อเกล็ดเลือดก่อนนำไปให้ผู้ป่วยทุกราย²⁵ ส่วนการศึกษาครั้งนี้ตรวจเพาะเชื้อเกล็ดเลือดเพื่อเป็นการควบคุมคุณภาพ โดยสุ่มเกล็ดเลือดอย่างน้อย 4 ยูนิต/เดือน หรือ 1% ของจำนวนเกล็ดเลือดที่เตรียมทั้งหมดมาเพาะเชื้อ¹

ก่อนนำเกล็ดเลือดไปให้ผู้ป่วย ควรสังเกตถุงเกล็ดเลือดว่ามี platelet aggregate และก้อน clot หรือไม่ ถ้าพบไม่ควรนำไปให้ผู้ป่วย แบคทีเรียบางชนิดเช่น *Serratia marcescens* มีการใช้ citrate เนื่องจาก citrate ออกฤทธิ์ chelate แคลเซียมทำให้เลือดไม่แข็งตัว เมื่อแบคทีเรียใช้ citrate ไป แคลเซียมอิสระ (Ca²⁺) จึงถูกปล่อยออกมา แคลเซียมอิสระจะทำปฏิกิริยากับปัจจัยการแข็งตัวของเลือดทำให้เกิด fibrin clot²⁶ แบคทีเรียที่ปนเปื้อนอยู่ในถุงเม็ดเลือดแดงทำให้เม็ดเลือดแดงในถุงมีสีคล้ำและมีอีโมลลิซิส เนื่องจากแบคทีเรียมีการใช้ออกซิเจนทำให้ความดันก๊าซ O₂ ลดลง²⁷⁻²⁸ การแบ่งตัวของแบคทีเรียต้องอาศัยเวลาในการเพิ่มจำนวนคือมี lag phase และ exponential phase (log phase) lag phase เป็นระยะที่แบคทีเรียสร้างเอ็นไซม์เพื่อเตรียมแบ่งเซลล์แต่ยังไม่แบ่งตัว ส่วน log phase เป็นระยะที่แบคทีเรียแบ่งตัวเพิ่มจำนวน การศึกษาการเจริญเติบโตของแบคทีเรียพบว่าเมื่อ inoculate เชื้อ *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* และ *Pseudomonas aeruginosa* ปริมาณ 10-50 CFU/mL ลงในเกล็ดเลือด เชื้อจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเป็น 10² CFU/mL ในวันที่ 3 และเพิ่มปริมาณเป็น 10⁵ CFU/mL ในวันที่ 4²⁹ ดังนั้นควรนำเกล็ดเลือดที่มีอายุมากกว่า 1 วันมาเพาะเชื้อ หากนำเกล็ดเลือดวันแรกไปเพาะเชื้ออาจให้ผลลบปลอม

การทำ pathogen inactivation เพื่อยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในเกล็ดเลือดโดยใช้ psoralen และแสง ultraviolet เพื่อ cross-link กับ pyrimidine สามารถยับยั้งการ transcription

และ replication ของเชื้อ *Serratia marcescens*³⁰ แต่ psoralen จะทำให้ CD61 microparticle ของเกล็ดเลือดเพิ่มขึ้น metabolic rate เพิ่มขึ้น agonist-induced platelet aggregation ลดลง และ platelet corrected count increment ลดลง²⁴ ดังนั้น การให้ psoralen-treated platelets แก่ผู้ป่วยควรให้ในปริมาณ ที่มากกว่าเกล็ดเลือดที่เตรียมด้วยวิธีปกติ

สรุป

รายงานผู้ป่วยติดเชื้อแบคทีเรียจากการรับเกล็ดเลือด โดยตรวจพบเชื้อ *Serratia marcescens* ในถุงเกล็ดเลือดและในกระแสลีทของผู้ป่วย เชื้อแบคทีเรียทำให้เกล็ดเลือดในถุงเป็นก้อน fibrin clot ดังนั้นในผู้ป่วยที่มีปฏิกิริยาจากการรับเกล็ดเลือด นอกจากจะหาสาเหตุด้านทางปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกัน ควรตรวจถุงเกล็ดเลือดนำไปเพาะเชื้อ และทดสอบความไวของยา เพื่อประโยชน์ต่อการรักษาผู้ป่วยต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- Roback JD, Combs MR, Grossman BJ, Hillyer CD, eds. AABB technical manual. 16th ed. Bethesda, MD: AABB 2008:189-749.
- Sheppard CA, Josephson CD, Hillyer CD. Bacterial contamination of platelets for transfusion: recent advances and issues. *Lab Med* 2005;36:767-70.
- Blajchman MA, Beckers EA, Dickmeiss E, Lin L, Moore G, Muylle L. Bacterial detection of platelets: current problems and possible resolutions. *Transfus Med Rev* 2005;19:259-72.
- Van Lierde S, Fleisher GR, Plotkin SA, Campos JM. A case of platelet transfusion-related *Serratia marcescens* sepsis. *Pediatr Infect Dis* 1985;4:293-5.
- Method 6-2. Preparing the donor's arm for blood collection. In: Roback JD, Combs MR, Grossman BJ, Hillyer CD, eds. AABB Technical manual. 16th ed. Bethesda, MD: AABB 2008:942-3.
- Van de Meer PF, Biekart FT, Pietersz RN, Rebers SP, Reesink HW. Compodock, a new device for sterile docking. *Transfusion* 2000;40:682-6.
- Maurer-Spurej E, Chipperfield K. Past and future approaches to assess the quality of platelets for transfusion. *Transfus Med Rev* 2007;21:295-306.
- Method 2-2. Determining ABO group of red cells and serum-tube test. In: Roback JD, Combs MR, Grossman BJ, Hillyer CD, eds. AABB Technical manual. 16th ed. Bethesda, MD: AABB 2008:878-9.
- Method 3-2-1. Saline indirect antiglobulin test procedure. In: Roback JD, Combs MR, Grossman BJ, Hillyer CD, eds. AABB Technical manual. 16th ed. Bethesda, MD: AABB 2008:900.
- Method 3-6. Performing a direct antiglobulin test. In: Roback JD, Combs MR, Grossman BJ, Hillyer CD, eds. AABB Technical manual. 16th ed. Bethesda, MD: AABB 2008:908-9.
- Kamoun M, Zmijewski CM. HLA: structure, function, and methodologies. In: McClatchey KD, ed. *Clinical laboratory medicine*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002:733-53.
- McPherson RA, Pincus MR, eds. *Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods*. 21st ed. Philadelphia: Saunders Elsevier 2007:40-1.
- Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G, eds. *Textbook of diagnostic microbiology*. 4th ed. Maryland Heights, MO: Saunders Elsevier, 2011:427-881.
- Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Jorgensen JH, Tenover FC, eds. *Manual of clinical microbiology*. 8th ed. Washington, DC: ASM Press, 2003:337-700.
- Marsik FJ. Antimicrobial susceptibility testing. In: Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G, eds. *Textbook of diagnostic microbiology*. 4th ed. Maryland Heights, MO: Saunders Elsevier, 2011:276-89.
- Winn WC, Koneman EW, Allen SD, eds. *Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 2006:266-7.
- Fisher RG. *Serratia*. In: Feigin RD, Demmler-Harrison GL, Cherry JD, Kaplan SL, eds. *Feigin & Cherry's textbook of pediatric infectious diseases*. Philadelphia: Saunders Elsevier 2009:1563-7.
- Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, eds. *Harrison's principles of internal medicine*. 17th ed. New York: McGraw-Hill 2008:937-1702.
- Ramirez-Arcos SM, Goldman M, Blajchman MA. Bacterial infections: bacterial contamination, testing, and post-transfusion complications. In: Hillyer CD, Anderson KC, Silberstein LE, Roback JD, Ness PM, eds. *Blood banking and transfusion medicine*. 2nd ed. Philadelphia: Churchill Livingstone 2007:639-51.
- Duncan KL, Ransley J, Elterman M. Transfusion-transmitted *Serratia liquefaciens* from an autologous blood unit. *Transfusion* 1994;34:738-9.
- Heltberg O, Skov F, Gerner-Smidt P, et al. Nosocomial epidemic of *Serratia marcescens* septicemia ascribed to contaminated blood transfusion bags. *Transfusion* 1993;33:221-7.
- Leclercq A, Martin L, Vergnes ML, et al. Fatal *Yersinia enterocolitica* biotype 4 serovar O:3 sepsis after red blood cell transfusion. *Transfusion* 2005;45:814-8.
- McDonald CP, Roy A, Mahajan P, Smith R, Charlett A, Barbara JAJ. Relative values of the interventions of diversion and improved donor-arm disinfection to reduce the bacterial risk from blood transfusion. *Vox Sang* 2004;86:178-82.
- Simon TL, Snyder EL, Solheim BG, Stowell CP, Strauss RG, Petrides M, eds. *Rossi's principles of transfusion medicine*. 4th ed. New York: Wiley-Blackwell 2009:773-810.
- de Korte D. 10 Years experience with bacterial screening of

- platelet concentrates in the Netherlands. *Transfus Med Hemother* 2011;38:251-4.
26. Bayliss BG, Hall ER. Plasma coagulation by organisms other than *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol* 1965;89:101-5.
27. Brecher ME, Foster M, Mair D. Glucose and haemolysis as a rapid screen for contamination of red blood cells with *Yersinia* and *Serratia*. *Vox Sang* 2001;81:136-8.
28. Roth VR, Arduino MJ, Nobilotti J, et al. Transfusion-related sepsis due to *Serratia liquefaciens* in the United States. *Transfusion* 2000;40:931-5.
29. Brecher ME, Holland PV, Pineda AA, Teqmeier GE, Yomtovian R. Growth of bacteria in inoculated platelets: implications for bacteria detection and the extension of platelets storage. *Transfusion* 2000;40:1308-12.
30. Lin L, Dikeman R, Molini B, et al. Photochemical treatment of platelet concentrates with amotosalen and long-wavelength ultraviolet light inactivates a broad spectrum of pathogenic bacteria. *Transfusion* 2004;44:1496-504.

Transfusion-associated sepsis due to *Serratia marcescens*

Ruangrong Cheepsattayakorn¹, Phanthana Chainual², Rungrote Natesirinilkul³,

Banyong Khantawa⁴ and Ladda Fongsatitkul²

¹Department of Pathology; ²Blood Bank Section; ³Department of Pediatrics; ⁴Central Diagnostic Laboratory, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai

Abstract : One of the serious transfusion-transmitted disease risks facing a transfusion recipient is bacterial sepsis. An interesting case of transfusion-associated sepsis due to *Serratia marcescens* was reported. An 11-year-old girl diagnosed embryonic rhabdomyosarcoma of left extraocular muscles was treated with chemotherapy. After complete course of chemotherapy, she appeared anemia and thrombocytopenia, so one pool of four units leukocyte-poor platelet concentrate (LPPC) were given. During platelet transfusion she developed fever and chill. She also had tachycardia, nausea and cyanosis. Transfusion was stopped and the platelet bag was returned to the blood bank. The platelet bag was 2-day-old and was shown to be clumping. Gram stain of platelet content demonstrated numerous gram-negative bacilli. Platelet culture was *Serratia marcescens*. Both platelet bag and patient's blood group were O, RhD positive. Her serum was not hemolysed. Antibody screening, direct antiglobulin test and anti-HLA were negative. Serum IgE level was higher than normal. Blood culture obtained from the patient after transfusion was *Serratia marcescens* which was the same microorganism isolated from platelet unit. The patient had been treated with meropenem and amikacin for two weeks. The donors were recalled and blood cultures were taken. All of them were well and hemocultures were negative. After sepsis had been resolved, the patient continued her chemotherapy and radiation therapy but she died of her underlying disease four months later. **Conclusion :** *Serratia marcescens* was found to be the bacterial contamination in LPPC. This organism induced fibrin clot in platelet bag. Visual inspection for clot detection may prevent the transfusion of bacterial-contaminated platelets. Most importantly, sterility testing are needed to reduce risk of transfusion-associated sepsis.

Key Words : ● Platelet transfusion ● *Serratia marcescens* ● Sepsis

J Hematol Transfus Med 2012;22:11-8.