

Container source: Interesting Cases

Multiple cases of sepsis from contaminated blood containers

- Heltberg et al. Transfusion 1993;33:221-7
- Högman et al. Transfusion 1993;33:189-91.
 - *Serratia marcescens* was cultured from three septic patients and their implicated units in Denmark
 - All units were collected using the same lot of blood containers
 - 11 of 1,515 blood products collected using the implicated lot were positive for *Serratia marcescens*
 - An organism of the same ribotype was isolated from the manufacturing plant
 - The same lot of containers were implicated in *Serratia marcescens* sepsis in Sweden

コンテナが原因: 興味あるケース

汚染されたバッグが原因で敗血症が多発したケース

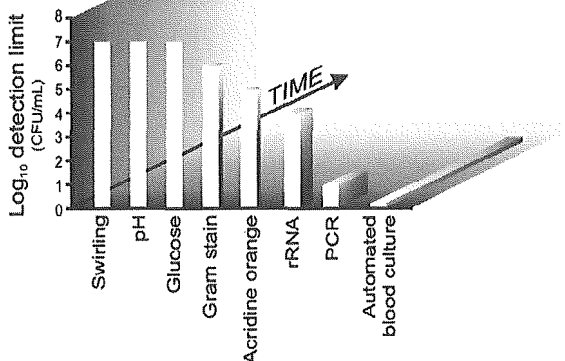
- Heltberg et al. Transfusion 1993;33:221-7
- Högman et al. Transfusion 1993;33:189-91.
 - デンマークで *Serratia marcescens* が3人の敗血症患者と輸血された製剤から培養で検出された。
 - 血液は全て同じロットのバッグを使って採血されていた。
 - 問題のロットのバッグが使われた血液製剤1,515のうち11から培養で *Serratia marcescens* が検出された。
 - 製造所で分離された菌は同じribotypeを持っていた。
 - 同じロットのバッグはスウェーデンにおける *Serratia marcescens* による敗血症と関連していた。

An unexpected environmental source

A fatal case of *Clostridium perfringens* sepsis from a platelet pool

- McDonald et al., Transfusion Medicine 1998;8:19-22. (United Kingdom)
 - Spore forming facultative anaerobe, found in soil and human intestinal tract
 - Organism recovered from platelet pool; recipient was on antibiotics; no organism was recovered
 - Patient's death was ruled as septic event by pathologist and coroner's report
 - The same serotype of *Clostridium* was isolated from the arm of 1 of the 4 donors; a subsequent culture of the same arm 6 months later yielded faecal flora
 - The donor was a father who carried his two toddlers in the crook of his arm

Bacterial detection methods, sensitivities, and time to detection



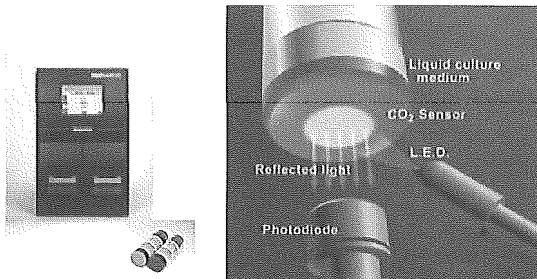
Automated culture methods for bacterial detection (USA)

- USA FDA cleared as apheresis platelet QC test
 - BacT/Alert
 - Pall eBDS
- These tests are being used by virtually all US blood providers; ~ 100% of apheresis units are tested
- With the BacT/Alert, platelets are released to hospitals while culture samples are still incubating, therefore, not a release test

細菌検出の為の自動培養法 (USA)

- FDAがアフエーシス血小板のQC testとして認可したもの
 - BacT/Alert
 - Pall eBDS
- これらは実際に米国の全ての血液センターで使用されている；ほぼ100%のアフエーシス製剤がテストされている。
- BacT/Alertの場合には、サンプルがまだ培養されている間に血小板は病院へ出庫される、それゆえ、出庫前テストではない。

The BioMerieux BacT/Alert



Conditions used by American Red Cross for BacT/Alert screening

- 4 mL sample taken 24 hours after platelet collection
- Use of aerobic bottle only
- Release of platelet component 12 hours after culture initiation provided that culture is negative
- Repeat culture of initially positive units
- Recall of platelet component if culture becomes positive after 12 hours

BacT/Alert screening の為に American Red Cross が用いている条件

- 血小板採取後24時間後に4 mLの sampleを取る。
- 好気性菌用のボトルのみ使用する。
- 培養開始12時間後に培養が陰性であるものを出庫する。
- はじめに陽性となったものは培養を繰り返す。
- 12時間後に培養が陽性となった場合にはリコールする。

Why is anaerobic testing not currently being performed by most USA blood centers?

- The risk of fatalities from obligate anaerobes is ≈ 1 in 2,500,000
 - Over the entire period of fatality reporting to the USA FDA, we estimate that approximately 2% of bacterial fatalities reported to FDA are due to obligate anaerobes
 - From the literature, estimates of the risk of fatalities in platelet components prior to the introduction of culturing is ≈ 1 in 50,000 units
- The low fatality incidence from obligate anaerobes is probably because platelet storage is in an aerobic environment
- An aerobic bottle will detect facultative anaerobes

何故、現状では大部分の血液センターで嫌気性細菌検査が行われていないのか？

- 偏性嫌気性菌による死亡のリスクは ≈ 1 in 2,500,000
 - 米国のFDAに死亡例が報告されてはめてからの全期間を通して、FDAに報告された細菌による死亡のうち約2%が偏性嫌気性菌によるものと判断された。
 - 文献的には、培養テストを導入する前の血小板製剤による死亡リスクはおおよそ 1 in 50,000 units
- 偏性嫌気性菌で死亡率が低いのは恐らく、血小板の保存が好気性の環境下にあるからであろう。
- 好気性ボトルは通性嫌気性菌も検出する。

American Red Cross bacterial detection results from 36 regional blood centers

- Fang et al, Transfusion 2005;45:1845-52
- From March 1, 2004 to October 31, 2005, there have been 701,502 cultures with 145 confirmed positives:
 - 19 gram negative rods
 - 5 gram positive rod
 - 3 *Bacillus* (not *cereus*)
 - 118 gram positive cocci

American Red Cross に属する36の地域血液センターで行った細菌検出の結果

- Fang et al, Transfusion 2005;45:1845-52
- 2004年3月1日から2004年10月31日の間で、701,502の培養をして145の真の陽性があった:
 - 19 グラム陰性桿菌
 - 5 グラム陽性桿菌
 - 3 バチルス(非セラウス)
 - 118 グラム陽性球菌

Bacterial Detection Results
March 1, 2004 – Oct. 31, 2005

American Red Cross Bacterial Testing on Pheresis Platelets Positive Rate			
	Number	Frequency	Published Frequency
Confirmed Positive	145	1 : 4,838	1 : 2,000 ²
False Positive	264 ¹	1 : 2,657	1 : 167 ³

¹ 111 due to instrument error and 153 due to general contamination.

² M.E. Brecher, D.G. Heath, S.N. Hay, S.J. Rothenberg, and L.C. Stutzman. Evaluation of a new generation of culture bottle using an automated bacterial culture system for detecting nine common contaminating organisms found in platelet components. *Transfusion* 2002;42:774-779.

³ AuBuchon, JP, Cooper LK, Leach MF, et al. Bacterial culture of platelet units and extension of storage to 7 days (abstract). *Transfusion* 2001;41(Suppl): 1S.

Bacterial Detection Results
March 1, 2004 – Oct. 31, 2005

American Red Cross のアフエーシスPCの細菌テストの陽性率			
	数	頻度	文献による頻度
真の陽性(確定)	145	1 : 4,838	1 : 2,000 ²
偽陽性	264 ¹	1 : 2,657	1 : 167 ³





¹ 111 due to instrument error and 153 due to general contamination.

² M.E. Brecher, D.G. Heath, S.N. Hay, S.J. Rothenberg, and L.C. Stutzman. Evaluation of a new generation of culture bottle using an automated bacterial culture system for detecting nine common contaminating organisms found in platelet components. *Transfusion* 2002;42:774-779.

³ AuBuchon, JP, Cooper LK, Leach MF, et al. Bacterial culture of platelet units and extension of storage to 7 days (abstract). *Transfusion* 2001;41(Suppl): 1S.

Bacterial Detection Results





Confirmed Positive Through October 31, 2005

0-12 Hours	12-18 Hours	18-24 Hours	Over 24 Hours
One <i>Citrobacter</i> * Six <i>Klebsiella</i> * Three <i>Serratia marcescens</i> * Six <i>E. coli</i> * Two <i>Bacillus</i> Nineteen gram pos cocci	One <i>Serratia</i> * One gram negative rod* One <i>E. coli</i> * Forty-three gram positive cocci	Thirty-eight gram positive cocci Four gram positive rod (<i>Listeria</i>)	Eighteen gram positive cocci One <i>Bacillus</i> spp One gram positive rod (<i>Lactobacillus</i>)
			

* Bacteria highlighted in tan are gram negative bacteria.

細菌検出結果

確定された真の陽性 2005年10月31日まで

0-12 Hours	12-18 Hours	18-24 Hours	Over 24 Hours
One <i>Citrobacter</i> * Six <i>Klebsiella</i> * Three <i>Serratia marcescens</i> * Six <i>E. coli</i> * Two <i>Bacillus</i> Nineteen gram pos cocci	One <i>Serratia</i> * One gram negative rod* One <i>E. coli</i> * Forty-three gram positive cocci	Thirty-eight gram positive cocci Four gram positive rod (<i>Listeria</i>)	Eighteen gram positive cocci One <i>Bacillus</i> spp One gram positive rod (<i>Lactobacillus</i>)
			

* Bacteria highlighted in tan are gram negative bacteria.

Septic transfusion reactions reported March 1, 2004 – Jan. 29, 2005

• 3 Convincing Cases:

- Typical septic reaction symptoms
 - significant fever
 - rigors
 - hypotension
 - tachycardia
- In two cases, patient blood culture also positive for CNS. In another case, a second half had been transfused uneventfully to a patient on multiple antibiotics.
- Residual component Gram stains and cultures positive
- BacT/ALERT bottles negative to 5 days
- Cultures and gram stains of bottles negative in 3 cases
- All coagulase negative Staphylococcus

• 2 Cases that were not convincing

- One patient was blood culture negative but on antibiotics
- Another patient was culture positive with a strain that did not match the strain isolated from the platelet unit

March 1, 2004年3月1日 から2005年1月29日までに報告された敗血症

• 確実なものが3例:

- 典型的な septic reaction symptoms
 - significant fever
 - rigors (悪寒)
 - hypotension (低血圧)
 - Tachycardia (心悸亢進)
- 2例において、患者の血液培養で coagulase negative Staphylococcus (CNS)陽性。もう1例では、多種類の抗生物質を投与されている患者に片割れが輸血されたが何も起きなかった。
- 残った製剤は Gram 染色と培養が陽性であった。
- BacT/ALERT ボトル は5日間陰性であった。
- 3例ともボトルの培養と Gram染色は陰性であった。
- 全て CNSであった。

• 疑わしいものが2例

- 一人は血液培養が陰性であったが抗生物質を投与されていた。
- もう一人は血小板製剤から分離された strainとは異なる strainが培養で検出された。

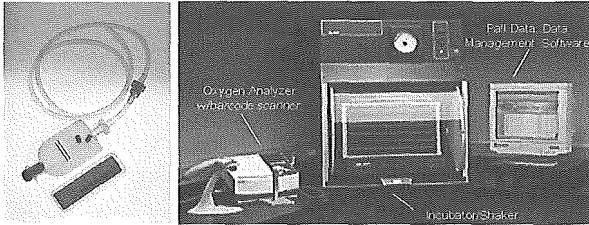
How effective might current bacterial screening be?

- In the study period (March 1, 2004- Jan 29, 2005), the American Red Cross investigated and confirmed 3 septic events involving apheresis platelets
- In the same period a year earlier without bacterial culture, the American Red Cross investigated and confirmed 12 septic events involving apheresis platelets

細菌スクリーニングはどれくらい有効であるのか？

- スタディ期間 (March 1, 2004- Jan 29, 2005)の間に、the American Red Crossの検討では、アフエレーシス血小板を含めて確実に細菌に汚染された血液製剤が輸血された例が3件あった。
- 一年前の細菌培養が施行されていない時に同じ期間の間検討した結果では、アフエレーシス血小板を含めて確実に細菌に汚染された血液製剤が輸血された例は12件であった。

Pall eBDS (enhanced bacterial detection system) Overview

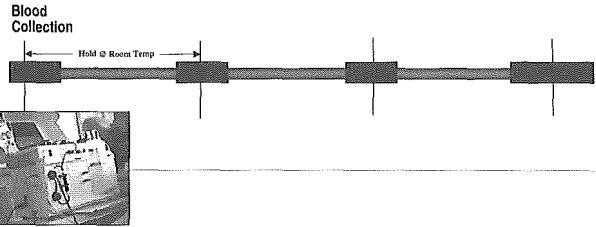


Sampling Set

Equipment

From Pall Corp.

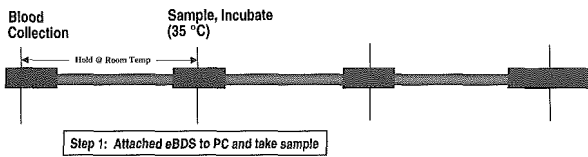
Pall eBDS Processing Sequence



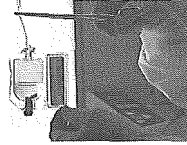
Apheresis or Whole Blood Collections

From Pall Corp.

Pall eBDS Processing Sequence

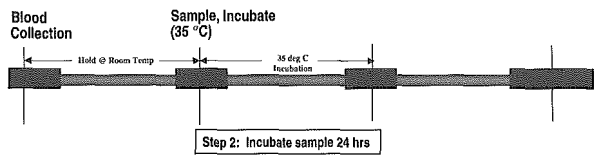


Step 1: Attached eBDS to PC and take sample

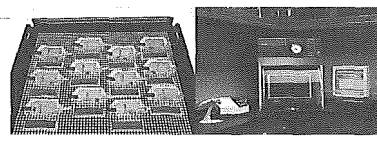


From Pall Corp.

Pall eBDS Processing Sequence

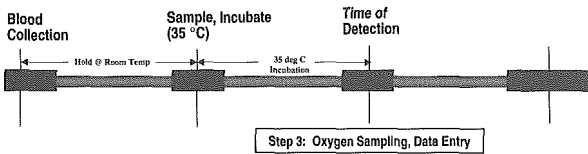


Step 2: Incubate sample 24 hrs



From Pall Corp.

Pall eBDS Processing Sequence

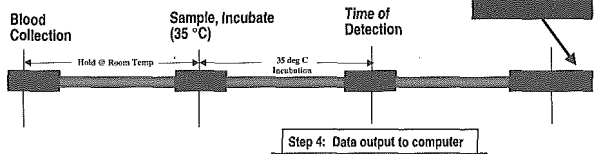


Step 3: Oxygen Sampling, Data Entry

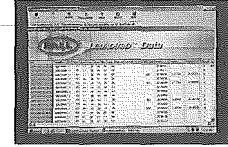


From Pall Corp.

Pall eBDS Processing Sequence



Step 4: Data output to computer



From Pall Corp.

Field Data with eBDS:
118,056 tests performed at 23 blood centers

	Tested Sample "Failures"	Confirmed True Positives *	Confirmed False Positives §	Not Confirmed †	Missed Detection
Number	118	23	76	18	1 (Staph. epi. sepsis)
Percentage of total tested	0.1% (1/1,001)	0.019% (1/5,133)	0.064% (1/1,554)	0.015% (1/6,559)	0.001% (1/118,056)

March through November, 2004

* Bacteria in the eBDS pouch and platelet bag by culture

§ No bacteria in the eBDS pouch by culture

† No bacteria in platelet bag by culture; eBDS pouch not tested

From Pall Corp.

BacT/Alert vs e-BDS

- With the exception of detecting obligate anaerobes, the sensitivities for detection appear to be similar based on these initial data

BacT/Alert vs e-BDS

- 真性嫌気性細菌の検出も含めて、これらのデータから判断すると両者の検出感度は同程度と考えられる。

Why is culturing not detecting all contaminated units?

- All false negative tests involved components contaminated with *S. epidermidis*, a slow growing organism
- Failure to detect is not because of inadequate incubation time because bottles are stored for 5 days
- Detection failure is because of sampling error where the sample of a contaminated unit with low bacterial counts does not contain bacteria

培養でなぜ汚染されている製剤の全てを検出できないのか?

- *S. epidermidis* のような成長の遅い細菌に汚染されている場合、偽陰性となる可能性がある。
- ボトルは5日間培養されるので、細菌が検出できないのは培養時間が不適切だったからではない。
- 採取したサンプル中の細菌数が少ない場合、偽陰性となる。

Modeling study

Chance of dividing bacteria being present in a sample volume as a function of time

Poisson Distribution, chance of no bacteria in sample volume $p(0) = e^{-N}$

Bacterial Growth † $N = I * 2^{t/t_0}$

Chance of detectable sample = $1 - p(0)$

Where N = 3 of particles in a volume, I = initial concentration, t = time and t_0 = doubling time

†Assuming no growth lag

Modeling study

With a slow grower, assume:

- 1) a 5 hour doubling time
- 2) an initial concentration of 1 CFU/unit

Sampling time (hrs)	Detectable sample (%)	
	4 mL	8 mL
24	36.0	59.0
36	90.5	99.1
48	100	100

Modeling study

成長が遅い細菌の場合, 仮定:

- 1) 分裂時間は5時間
- 2) 初期濃度 1 CFU/unit

Sampling time (hrs)	Detectable sample (%)	
	4 mL	8 mL
24	36.0	59.0
36	90.5	99.1
48	100	100

Suggestions for improved culture detection

- Double the sample volume
 - Will also improve detection for organisms which exhibit a “growth lag”
- Wait until >36 hours of collection prior to taking a sample for culture

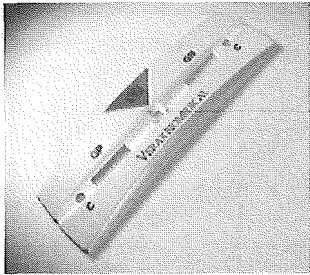
検出感度改善のための手段

- サンプルの量を2倍にする
“growth lag”を有する細菌の検出感度が改善される
- 採血後36時間以上経過してから検査用のサンプルを採取する

Automated counting method for bacterial detection (USA)

- USA FDA cleared as an apheresis platelet QC test
 - HemoScan, HemoSystem, Marseille, France
 - Not currently in use within USA
 - Pool samples from 3 apheresis units
 - Sample 30 hours after platelet preparation
 - Lyse white cells and platelets in sample
 - Stain bacteria with a nucleic acid binding fluorescent dye
 - Count stained particles using a laser scanning cytometer
 - Confirm count using fluorescent microscopy

A future detection option?



Peri-transfusion testing: a different and promising approach

- No loss of platelet availability during storage
- Test requirements:
 - Tests should be capable of detecting bacteria in the 10^3 - 10^4 CFU/mL level
 - Rapid detection (30 minutes or less)
 - Procedure should be simple
- Two notable (published) tests in development
 - Verax Pharmaceuticals, Worcester, MA (\approx 30 minute test using a bidirectional test strip with capture Ab to gram positive and gram negative cell wall)
 - Immunetics, Boston, MA (\approx 60 minute test using a reagent that reacts with bacterial cell wall material)

Pathogen Inactivation: another approach to reduce infectious disease risks

病原体不活化:
輸血による病原体の感染リスクを減少させる為のもう一つの方法

Rationale for inactivation

- Residual infectivity
- Pooled products
- Additional "layer" of safety
- Current agents, no test
- Variant agents
- New agents
- Public and political expectations

不活化を必要とする根拠

- 検査のみではリスクが残る
- プールした製剤はリスクが高い
- 安全性をさらに高めることができる
- 検査対象でない病原体も不活化できる
- 変異した病原体を不活化できる
- 未知の病原体を不活化できる
- 公衆および政治的な期待がある

Potential disadvantages to pathogen reduction

- Inability to inactivate spores
- Inability to inactivate certain non-enveloped viruses
- Inability to inactivate endotoxin
- Inability to inactivate prions
- Loss of cellular yields
- Partial loss of cellular function, recovery or survival
- Incomplete data on risk to blood bank workers or recipients
- High cost in relation to introduction of a single test

不活化処理の問題点

- 胞子を不活化できない
- 一部のノンエンベロープウイルスを不活化できない
- エンドトキシンを不活化できない
- プリオンを不活化できない
- 細胞の収量が減少する
- 細胞機能や輸血後回収率、生存率が減少する
- 血液センターの職員や受血者へのリスクに関するデータが十分ではない
- 1バッグごとの処理のためコストがかかる

Potential problems with estimating very low risk situations

- Without implementation and long term study, it may be difficult to predict the risk to:
 - Blood bank workers
 - Imagine that a bag containing a photochemical stock solution was broken during shipment and unknowingly spilled on a transportation worker's hand who later was exposed to sunlight
 - Recipients
 - Only thousands of transfusions of pathogen inactivated platelets have been given so far

頻度は低いが有り得る問題点

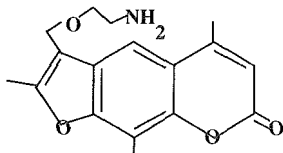
- 長期間におよぶスタディーがなく、人に及ぶリスクを予想することは困難である:
 - 血液センター職員
 - 輸送中に光増感物質の入ったバッグが破損し、漏れた高濃度の液が知らないうちに職員の手に着いたということがあるかもしれない。
 - 受血者
 - 不活化処理された血小板製剤は今までまだ数千しか輸血されていない。

The Players

COMPONENT	METHOD	COMPANY
Plasma	S59 + UVA	Cerus
Platelets	S59 + UVA	Cerus/Baxter
	Riboflavin + UVA	Navigant/Gambro
Red cells	S-303	Cerus
	Inactine	Vitex, now discontinued

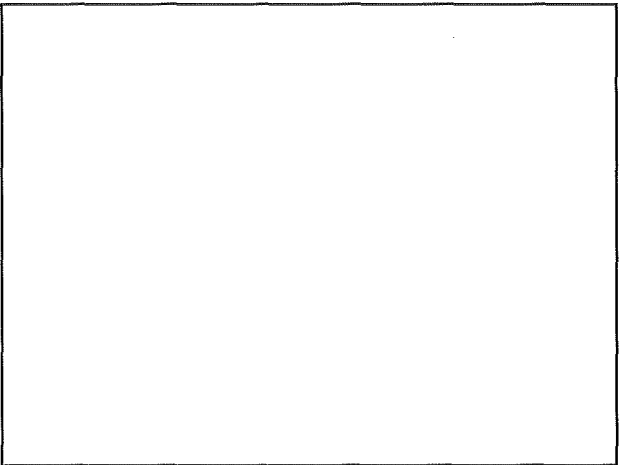
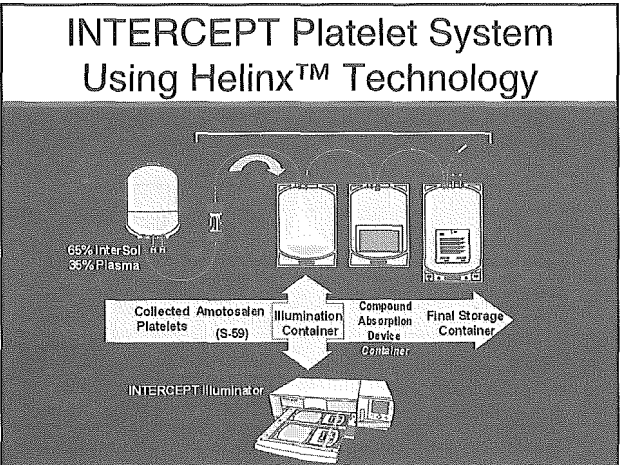
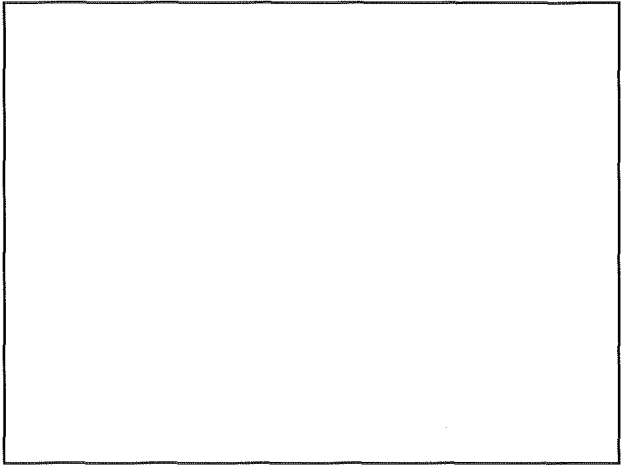
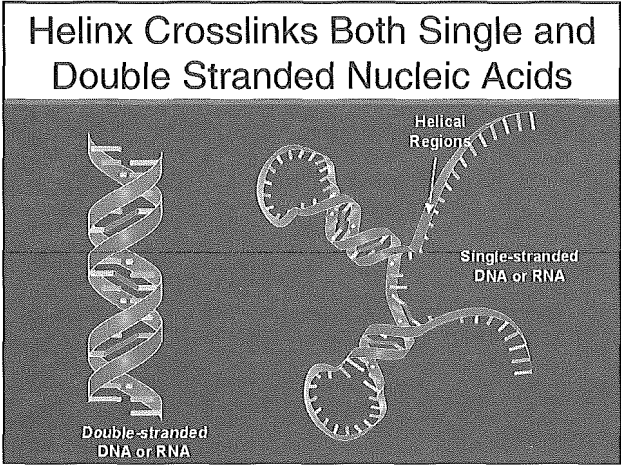
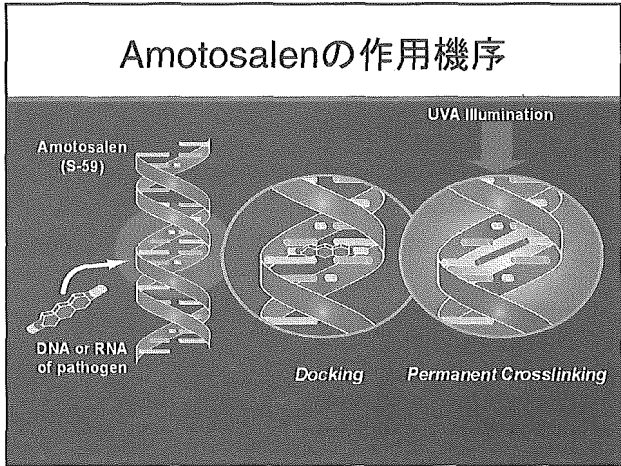
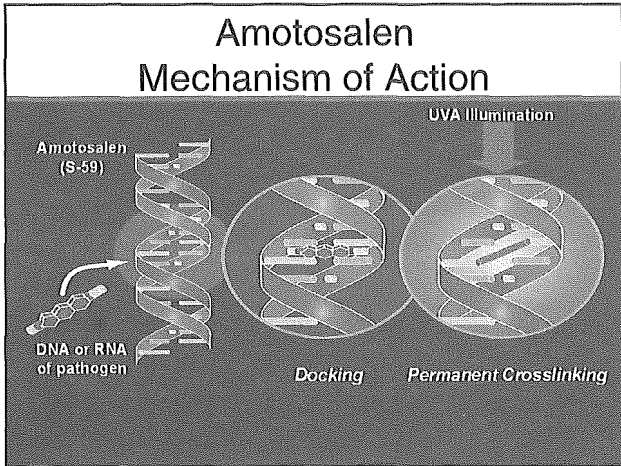
血液製剤の不活化法

製剤名	方法	企業名
Plasma	S59 + UVA	Cerus
Platelets	S59 + UVA	Cerus/Baxter
	Riboflavin + UVA	Navigant/Gambro
Red cells	S-303	Cerus
	Inactine	Vitex, now discontinued



S-59 or Amotosalen

Semin Hematol 2001;38(sup 11):4-11



Pathogens susceptible to S59 + UVA inactivation

- Enveloped extracellular viruses
- Intracellular viruses
- Some non-enveloped viruses
- Parasites
- Bacteria (not including spores, or endotoxin)

S59 + UVA 不活化法が有効な病原体

- 細胞外のエンベロープウイルス
- 細胞内のエンベロープウイルス
- いくつかのノンエンベロープウイルス
- 寄生虫
- バクテリア(ただし孢子やエンドトキシンは不活化できない)

Selected clinical results S-59 + UVA, platelets

- A Phase I USA crossover trial with apheresis platelets (n=16) demonstrated that post-infusion recovery of treated platelets from normal donors that were stored for 5 days and reinfused declined $\approx 16\%$ from that obtained after infusion of similarly stored untreated controls ($42.5 \pm 8.7\%$ vs. $50.3 \pm 8.2\%$, $p < 0.05$)
- In the same study, post-infusion lifespan of infused treated platelets declined $\approx 26\%$ from that obtained after infusion of similarly stored untreated controls (114.7 ± 30.3 hrs. vs. 145 ± 29.8 hrs., $p < 0.05$)

限定的な臨床治験の結果 S-59 + UVA, 血小板

- 米国で行われた第一相の試験 (n=16) では、正常献血者からのアフエーシス由来血小板を不活化処理し、5日間保存した後輸血した場合の輸血後回収率は、不活化処理してない同様の血小板を輸血した場合 (コントロール) と比較すると、約16%低かった ($42.5 \pm 8.7\%$ vs. $50.3 \pm 8.2\%$, $p < 0.05$)。
- また輸血後の血小板の寿命はコントロールと比較すると約26%低かった (114.7 ± 30.3 hrs. vs. 145 ± 29.8 hrs., $p < 0.05$)。

Selected clinical results S-59 + UVA, platelets, continued

- In a Phase 3 USA trial of thrombocytopenic patients (n=645 [both arms]), the treated vs. control arm results were:

Measure	Control	Treated	P value
# patients w/ Grade 2 Bleeding	188	186	$P < 0.01^*$
% patients w/ Adverse Events	98.2%	99.7%	$P = 0.12$
% Patients w/ Txf. Rxns.	4.4%	3.0%	$P = 0.02$
Time between Txfs	2.4 days	1.9 days	$P < 0.001$
# Txfs/patient	6.2	8.4	$P < 0.001$
CCI _{1hr}	16.0×10^3	11.1×10^3	$P < 0.001$
CCI _{24hr}	10.1×10^3	6.7×10^3	$P < 0.001$

* Based on a non-inferiority test

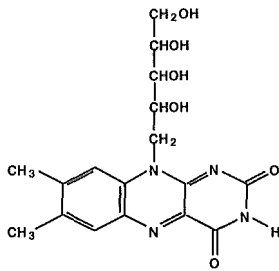
限定的な臨床治験の結果 S-59 + UVA, 血小板

- 米国において血小板減少症の患者に対して行った臨床第三相の試験結果 (n=645 [both arms])

測定項目	処理なし	処理あり	P 値
# patients w/ Grade 2 Bleeding	188	186	$P < 0.01^*$
% patients w/ Adverse Events	98.2%	99.7%	$P = 0.12$
% Patients w/ Txf. Rxns.	4.4%	3.0%	$P = 0.02$
Time between Txfs	2.4 days	1.9 days	$P < 0.001$
# Txfs/patient	6.2	8.4	$P < 0.001$
CCI _{1hr}	16.0×10^3	11.1×10^3	$P < 0.001$
CCI _{24hr}	10.1×10^3	6.7×10^3	$P < 0.001$

* Based on a non-inferiority test

Riboflavin-Based Pathogen Inactivation



Riboflavin

Riboflavin binds to DNA by intercalation. Photolysis of the complex induces guanine oxidation, single strand breaks and the formation of covalent adducts.

Ennever et. al., Pediatric Res. 1983, 17, 234
Ito et. al., J. Biol Chem 1993, 268, 13221

Riboflavin はまずDNA分子に入り込む核酸分子に入り込んだRiboflavin が光エネルギーを吸収するとグアニン酸化や一重鎖の切断や核酸分子との共有結合を引き起こす

Ennever et. al., Pediatric Res. 1983, 17, 234
Ito et. al., J. Biol Chem 1993, 268, 13221

Susceptible pathogens to Riboflavin

- Extracellular enveloped viruses
- Intracellular viruses
- Some non-enveloped viruses
- Some parasites
- Bacteria (spores unknown but unlikely, not including endotoxin)

Riboflavin が不活化できる病原体

- 細胞外エンベロープウイルス
- 細胞内エンベロープウイルス
- ノンエンベロープウイルスの一部
- 寄生虫一部
- バクテリア (エンドキシンは不活化出来ない、胞子もおそらく不活化出来ない)

Selected clinical results Riboflavin + UVA, platelets

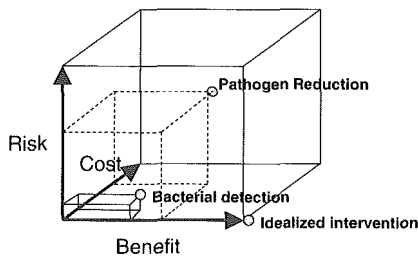
- A Phase 1 USA crossover trial with apheresis platelets (n=24) demonstrated that post-infusion recovery of treated platelets collected from normal donors, stored for 5 days and reinfused declined $\approx 23\%$ compared to that obtained after infusion of similarly stored untreated controls ($52.0 \pm 18.3\%$ vs. $67.8 \pm 13.4\%$, $p < 0.05$)
- In the same study, the post-infusion lifespan of infused treated platelets declined $\approx 27\%$ compared to that obtained after infusion of similarly stored untreated controls (104 ± 26 hrs. vs. 142 ± 26 hrs; $p < 0.05$)

限定的な臨床治験の結果 Riboflavin + UVA, 血小板

- 米国で行われた第一相の試験 (n=24) では、正常献血者からのアフェレーシス由来血小板を不活化処理し5日間保存した後に輸血した場合の輸血後回収率は不活化処理していない同様の血小板を輸血した場合 (コントロール) と比較すると約23%低かった ($52.0 \pm 18.3\%$ vs. $67.8 \pm 13.4\%$, $p < 0.05$)
- また輸血後の血小板の寿命はコントロールと比較すると約27%低かった (104 ± 26 hrs. vs. 142 ± 26 hrs; $p < 0.05$)

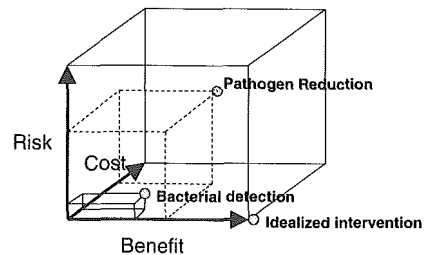
What intervention to choose?

Risk Benefit Cost relationships for pathogen reduction, bacterial detection and an idealized intervention



不活化か検査か?

病原体不活化、バクテリア検査、未知の理想的な方法についてのリスクと利益とコストの関係



Pathogen Reduction Discussion

- Pathogen inactivation can prevent sepsis
 - However, pathogen reduction will not inactivate bacterial spores, which can take up to 2 days to germinate in plasma
- Known damage to platelets by phototreatment
- Unknown risk to recipients and blood bank staff
- More costly than any single test
- Unlikely to replace current tests

病原体不活化に関して 議論されてること

- 病原体不活化は敗血症を防ぐことができる
 - しかし、バクテリアの胞子の発芽はプラズマ中では2日を要するので、病原体不活化はバクテリアの胞子を不活化することはできないだろう。
- 不活化処理による血小板へのダメージ
- 受血者や血液センター職員への未知のリスク
- 検査 (single test) よりもコストがかかる可能性
- 現行の検査と置き換わることはない

Extended Platelet Storage

血小板製剤の有効期限延長

USA experience with extended platelet storage

- 7 day storage approved by USA FDA in 1985
- Based on several reported cases of transfusion associated bacterial sepsis, the USA FDA reduced the storage period back to 5 days in 1986
- In 2005, USA FDA allowed 7 day storage of apheresis platelets in cleared containers provided that blood centers conduct a post-market study using the BacT/Alert (aerobic and anaerobic bottles) to measure:
 - Sensitivity
 - Specificity
 - Positive predictive value
 - Negative predictive value

血小板の有効期限延長に関する 米国の経験

- 1985年、FDAにより7日保存が承認された。
- 輸血による敗血症が数例報告されたため、FDAは1986年に有効期限を5日に戻した。
- 2005年にFDAは、BacT/Alertによる検査と血液センター主導の承認後市場調査実施を条件に、透明の血液バッグを用いたアフェレーシス由来血小板の7日保存を許可した。
 - Sensitivity
 - Specificity
 - Positive predictive value
 - Negative predictive value

Study method and analysis

- The study will involve aerobic and anaerobic culture of approximately 50,000 freshly outdated units and routine aerobic and anaerobic culture on all units on day 1
- The study will be considered successful if the rate of bacterial contamination at 7 days is not greater than the estimated current risk (without testing) at 5 days
- The American Red Cross is not currently participating in the study

スタディーの方法と解析

- 当該スタディーでは、約50,000の期限切れ製剤とday1の全ての製剤について、好気的および嫌氣的培養を行った。
- 当該スタディーでは、7日間保存した製剤の細菌汚染の割合が5日間保存した製剤の検査を行わずに予測されるリスクを上回っていないならば成功と考える。
- 米国赤十字は現在、このスタディーには参加していない。

Studies supporting allowance of 7 day platelet storage

- Survival and recovery studies:
 - Dumont et al. Seven-day storage of single-donor platelets: recovery and survival in an autologous transfusion study. *Transfusion* 2002;42:847-854
 - Baxter, Summary of Safety and Effectiveness. Evaluation of platelets stored for seven days in PL2410 container, FDA submission, Sept. 21, 2004.
 - AuBuchon et al. In vitro and in vivo evaluation of leukoreduced platelets stored for 7 days in CLX containers. *Transfusion* 2005;45:1356-61.

Recent comparison of 5 and 7 day survivals and recoveries

Manufacturer	Container	Recovery _{24 hr} (%)	Δ Lifespan (hrs)
Gambro	ELP	63.0 → 58.9	161 → 134
Baxter	PL2410	48.6 → 45.4	-
Pall	CLX	54.4 → 48.7	196 → 158

Day 5 value → Day 7 value

5日または7日保存の血小板製剤の輸血後寿命と回収率の比較

企業名	バッグ	回収率 _{24 hr} (%)	Δ 寿命 (hrs)
Gambro	ELP	63.0 → 58.9	161 → 134
Baxter	PL2410	48.6 → 45.4	-
Pall	CLX	54.4 → 48.7	196 → 158

Day 5 value → Day 7 value

Other comparisons of 5 and 7 day survival and recoveries

Platelet Type	24 hr % recovery	24 hr % recovery	Lifespan (hrs)	Lifespan (hrs)	Author (date)
	Day 5	Day 7	Day 5	Day 7	
PRP	59 ± 17	46 ± 8	153 ± 72	130 ± 24	Archer (1982)
PRP	43 ± 10	56 ± 8	175 ± 29	149 ± 26	Heaton (1990)
Haemonetics MCS	79 ± 20	53 ± 21	144 ± 26	120 ± 38	Slichter (2001)
Spectra/Trima	63 ± 11	54 ± 14*	161 ± 38.4	134 ± 46*	Dumont (2002)

* P < 0.05

CCI studies

- Hogge et al. Platelet storage for 7 days in second-generation blood bags. *Transfusion* 1986;26:131-5.
 - Compared CCIs after 3 vs. 7 day storage
- Dijkstra-Tiekstra et al. In vivo PLT increments after transfusions of WBC-reduced PLT concentrates stored for up to 7 days. *Transfusion* 2004;44:330-6.
 - Compared CCI's after 5 vs. 7 day storageFor each study, comparison of CCI data from day 7 and an earlier storage time yielded similar values with no statistically significant differences.

CCI スタディー

- Hogge et al. Platelet storage for 7 days in second-generation blood bags. *Transfusion* 1986;26:131-5.
 - Compared CCIs after 3 vs. 7 day storage
- Dijkstra-Tiekstra et al. In vivo PLT increments after transfusions of WBC-reduced PLT concentrates stored for up to 7 days. *Transfusion* 2004;44:330-6.
 - Compared CCI's after 5 vs. 7 day storageそれぞれのスタディーにおいて、7日保存の場合のCCIとそれより短い期間保存した場合のCCIの間には統計的有意差はなかった。

Might pathogen inactivation be combined with 7 day storage?

- There are no data on 24 hour recovery, lifespan, or CCI on platelets phototreated with S59 or riboflavin and stored for 7 days.
- Any additional decrement to pathogen reduced platelets from extended storage would probably not be clinically acceptable based on the available 24 hour recovery, lifespan, and CCI data on phototreated platelets stored for 5 days.

不活化処理と7日間保存を組み合わせることは可能か？

- RiboflavinやS59で光不活化処理し7日間保存した血小板についての輸血24時間後の回収率、寿命、CCIのデータがない
- 光不活化処理し5日間保存した血小板に関する輸血24時間後の回収率、寿命、CCIのデータに基づいて考えると、さらなる保存期間延長による血小板機能の低下は、おそらく医学的に許容できる範囲を越えるのではなかろうか

Conclusions

- Bacterial sepsis is the most common, potentially fatal, transfusion-transmitted infectious disease
- The frequency of sepsis from platelets is much greater than that of red cells because room temperature platelet storage fosters bacterial growth

結論

- 敗血症は誰にでも起こりうる致死的な輸血感染症である
- 血小板製剤は室温で保存するため、敗血症の頻度は赤血球製剤の場合よりもはるかに大きい

Conclusions

- Contamination avoidance can significantly reduce sepsis
 - Improved arm preparation
 - Use of a sample diversion device
- Bacterial detection test can reduce the frequency of sepsis
 - Culture
 - loss of platelet availability
 - not all culture positive units are identified; improvement possible with larger volumes and a later sampling time
 - need for extended platelet storage
 - Rapid tests: under development

結論

- 製剤への細菌の混入を減らせば敗血症を有意に減少させる
 - 採血方法を改善する
 - 初流血除去を行う
- 細菌検査は敗血症の頻度を減少させる
 - 培養
 - 血小板の有効利用を損なう
 - 汚染されている全ての製剤を検出できるわけではない; 検査用サンプルの量を増やしたり採取を遅らせたりすることにより改善できる
 - 保存期間の延長が必要
 - より短い時間で済む試験法: 開発中

Conclusions

- Extended platelet storage is possible with bacterial testing and avoidance measures
 - Functional and clinical efficacy of platelets stored in plasma are preserved up to 7 days
 - Culture test characteristics are being investigated in a large USA post-marketing study
- Extended platelet storage is probably incompatible with pathogen reduction methods due to expected declines of platelet 24 hour recovery and lifespan

結論

- 血小板製剤の有効期限延長は検査システムと初流血除去等の細菌混入の予防法の導入により可能である
 - 血漿中で保存した場合、血小板は7日間まで機能的かつ医学的な有効性を維持できる。
 - 培養試験の性能は、現在米国において大規模な市販後スタディーで検討中である。
- 血小板の有効期限延長は、輸血24時間後の回収率と寿命の低下の原因となる病原体不活化と両立させることは困難であろう

Final comments

- Pathogen reduction and bacterial testing are separate but interrelated infectious disease measures. Implementing one measure reduces the benefit of implementing the other measure.
 - Although doing both would presumably add the benefits of two safety measures, in actuality, bacterial culture would be compromised by performing pathogen reduction first.
 - Similarly, performing bacterial tests first would delay pathogen reduction with potential endotoxin accumulation in contaminated units and lead to insufficient platelet availability due to storage time constraints

最終的なコメント

- 病原体不活化と細菌検査は異なるが相互関係を持つ感染症防止策である。どちらか一方を実行するともう一方の利点を減ずることになる
 - 両者を取り入れると2つの安全策の恩恵を加算できると想像されるが、実際には、病原体不活化を先に行くと細菌培養に支障がでるであろう。
 - 同じように、細菌培養を先に行くと、病原体不活化が遅れることにより、汚染された製剤にエンドキシンが蓄積し、かつ保存期間の制限により血小板を有効に利用出来なくなるだろう。