

表 1 血小板製剤の使用基準²⁾

使用目的	重篤な出血の止血(治療的投与)と出血の防止(予防的投与)
対象	目標維持血小板数
活動性出血(網膜, 中枢神経系, 肺, 消化管など)	50,000/ μ l
外科手術術前	
(待機的・腰椎穿刺, 硬膜外麻酔, 経気管支生検, 肝生検)	50,000/ μ l
(骨髓穿刺や抜歯)	10,000~20,000/ μ l
(頭蓋内手術)	70,000~100,000/ μ l
人工心肺使用時の周術期	30,000~50,000/ μ l
大量輸血時	止血困難な場合
播種性血管内凝固(DIC)(ただし, 慢性 DIC を除く)	50,000/ μ l
血液疾患	
(造血器腫瘍の寛解導入)	10,000~20,000/ μ l
(同疾患の安定期)	10,000/ μ l
(再生不良性貧血, 骨髓異型性症候群)	5,000~10,000/ μ l
(免疫性血小板減少症 ITP)	適応とならない (薬剤が無効の場合, 時に多量必要)
(血栓性血小板減少性紫斑病 TTP, 溶血性尿毒症 HUS)	適応とならない
(血小板機能異常症)	重篤な出血や止血困難時
(ヘパリン起因性血小板減少症 HIT)	禁忌
固形腫瘍(化学療法時)	10,000~20,000/ μ l
造血幹細胞移植	10,000~20,000/ μ l

● 血小板製剤の細菌感染と有効期限延長

1. 短い有効期限と高い廃棄率

現在, 日本では血小板製剤の有効期限は3日に設定されているが, 世界的には5日で, 欧米では7日間に延長されつつある。ウイルスの核酸増幅検査が導入されて以来, 病院に供給されてから残された有効期間はさらに短縮されている。日本における血液センターでの期限切れ廃棄率は6%で, 病院での1%を加えると血小板製剤の7%(約40億円相当)が毎年廃棄されていると見積もられる。しかし, 単純に有効期限を延長するわけにはいかない。血小板機能がよく保持されていること, 細菌感染を克服することが要求される。

2. 高酸素透過性バッグによる血小板機能の長期保持

血小板は室温で保存するせいもあり, 意外に多くの酸素を要求し, 酸素が不足するとエネルギー効率の悪い嫌気性代謝でアデノシン三リン酸(ATP)を産生しはじめ, その結果, 乳酸が蓄積して, pHは酸性に傾き, 不可逆性のダメージを受ける⁷⁾。著者らは, 酸素透過性が高く, 二酸化炭素の透過性が適度(高すぎるとアルカリ側に傾き, やはり損傷される)なバッグ(PO-80)を開発した。このバッグで保存すると好気性代謝が維持され, P-セ

レクチン, 乳酸, pH, スワーリングパターンなどは, 9日間保存して現在の5日間保存に相当する⁸⁾。ずり応力下血小板血栓形成能や*in vivo*回収率・生存率からも優れた機能保持能を見出している。

3. 細菌混入の防止対策

血小板製剤は室温で振盪保存するため, 細菌汚染は重篤な病態に進展する危険がある。アメリカとイギリスで体系的に集計された2つの報告^{9,10)}を合わせてみると, 輸血による細菌感染症60例のうち血小板輸血は56例と, 90%以上を占め, 死亡者も15名のうち11名と70%に達していた。しかし, 血小板製剤の致死性の細菌汚染は保存日数には比例せず, むしろ2日と3日が多かった⁹⁾。このことは著者らの研究班の観察とも一致する。すなわち, 血小板製剤に菌を接種して増殖した場合, 通常20~30時間でほぼプラトーに達する。

細菌混入を検出する装置として, BacT/ALERT, eBDS, Scan systemが発売されている。前二者は細菌培養装置で二酸化炭素濃度と酸素濃度を指標に, 後者は菌染色を測定原理としている。高い予防率(>90%の減少率)が相次いで報告されている。しかし, どのシステムもまだ完全検出は不可能で, やはり偽陰性(早期の低濃度時の検出見逃

し)が課題である。ヨーロッパの一部やアメリカでは細菌培養試験を施した血小板製剤には7日間への有効期限延長を認めている。

4. 血小板製剤の低温保存

1960年代に血小板は室温で振盪保存するのが機能保持上は最適条件であることが見出され、現在もこれより勝る保存条件は発見されていない。冷蔵保存が可能になれば、細菌混入対策上恩恵は大きい。冷蔵保存では糖蛋白 Ib α (von Willebrand 因子レセプター)が不可逆的に凝集して貪食される機序が解明されている。血小板に UDP-ガラクトースを付加させることでこの傷害が阻止できる可能性が示され¹¹⁾、おおいに期待されている。しかし、*in vivo* 研究では期待された効果が認められたとはまだ報告されていない。

5. 初流血排除による細菌混入の防止

輸血血液への細菌混入の多くは皮膚に由来する。このルートによる細菌混入防止策として20~30 mlの初流血排除が世界的に急速に普及してきた。日本でも東京都赤十字センターが実施し(初流血は検査や保存検体として使用)、細菌検出率は対照群0.24%(7/2,967)に比べ、0.07%(2/2,890)と低値であった。この採血法は全国的な導入が近いという。

6. 病原体不活化技術

輸血関連敗血症を防止する技術として病原体不活化技術が注目されている(「サイドメモ」参照)。中心的な技術はDNAとRNAに入り込み架橋を形成したり(S59+UVA)、切断や共有結合(Riboflavin+UVA)によって核酸を介した複製が不可能となることにある。理論上すべての病原体(ウイルス、細菌、原虫)に有効とされるが、芽胞菌には無効である。この技術が注目される最大の理由は多くのウイルススクリーニング検査や細菌培養試験が不要となる可能性をもっているからである。

しかし、これまでに報告された臨床研究では血小板輸血の回収率と血小板寿命を有意に低下させ、落胆させた。これらの技術を導入するとすれば、現在の血小板輸血を維持するには30%ほど余分に血小板製剤を増産しなくてはならなくなる。また、これら化学物質を取り扱う血液センターの技術者や受血者への未知のリスクがかかることか

ら、アメリカ赤十字では採用の予定はないという。

血小板輸血効果に影響する因子

1. 輸血効果を高める因子と低下させる因子

この問題については数多くの論文があり、繰り返し論議されてきた。最近も6,000回を超える大規模な血小板輸血を研究したTRAP研究データを用いた解析が報告された¹²⁾。血小板輸血効果を減弱すると、これまでに指摘されていた因子(HLA抗体、妊娠歴、感染発熱、脾腫、DIC、出血など)のほかにもあらたな因子(ヘパリン、高体重、男性患者)が同定された(表2)。

2. ABO血液型不一致血小板輸血の効果と副反応

ABO不一致造血幹細胞移植を除けば、血小板もABOを一致させるのが原則である。しかし、HLA抗体やHPA抗体保有患者にはこれら抗体と反応しないことを優先して輸血する。また、緊急時にはABO血液型よりも血小板輸血それ自体を第一義に考える。

しかし、ABO血液型を無視することはできない。多くの臨床研究によってABO major 不適合

サイド メモ

病原体不活化技術

血漿分画製剤には、ウイルスのスクリーニング、高濃度エタノール、液状加熱、有機溶剤界面活性剤(SD)、ナノフィルターの一連処理により、その安全性はおおいに高まっている。一方、輸血血液には一連の処理を施すのは困難であり、また、病原体検査には多大なコストが費やされている。そこで病原体不活化技術(pathogen reduction)が注目されている。SD処理は皮殻をもたないウイルスには無効で、A型肝炎の集団発生をみたことがある。また von Willebrand 因子が低下するといわれる。メチレンブルー(MB)処理はヨーロッパで採用が拡大している。SD処理やMB処理は血小板製剤には使用できない。血小板製剤に使われるソラレン+紫外線、リボフラビン+紫外線(または青色)は細胞の核酸(DNA、RNA)の架橋形成を阻害し、複製を不能にすることで抗病原体作用を発揮する。処理血小板を患者に輸血すると血小板寿命を大きく傷害したこと、安全面で曝露者に未知の有害作用の可能性が否定できないので、慎重な対応が必要である。

表 2 血小板輸血効果に影響する因子(文献¹¹⁾をもとに作成)

輸血効果上昇因子	
患者因子	・脾摘 ・高齢患者
血小板因子	・ABO 適合血小板 ・新鮮(48 時間以内 血小板) ・高単位血小板
輸血効果低下因子	
患者因子	・2 回以上の妊娠歴 ・男性患者 ・脾腫大 ・出血 ・発熱 ・感染症 ・播種性血管内凝固 ・高身長＋高体重 ・LCT 抗体保有 ・多数回血小板輸血 ・ヘパリンやアンフォテリシン投与
血小板因子	・UV-B/放射線照射血小板 (ただし、同種免疫患者では効果上昇)
輸血不応状態関連因子	
	・LCT 抗体保有 ・ヘパリン投与 ・発熱 ・出血 ・多数回血小板輸血 ・高体重 ・2 回以上の妊娠歴 ・男性患者
輸血不応回避因子	
	・高単位血小板輸血 ・フィルター使用アフエーシス血小板

(O 型患者に A 型血小板を輸血など)では輸血効果を低減、ときに輸血前値よりも低下させることが報告されている。血小板に A 型や B 型抗原が豊富に表現されていると HLA 適合血小板輸血も無効になりやすい。ABO minor 不適合(A 型患者に O 型を輸血など)ではときに致死的な溶血(とくに O 型ドナー)、肝静脈閉塞をきたすことがある。強い IgG 性抗 A, 抗 B を保有している O 型ドナーから ABO minor 不適合輸血をする場合は AB 血漿で置換するのが望ましい。



血小板に関する他の話題

1. 活性化凝固 VIIa 因子(FVIIa)による血小板減少合併出血のコントロール

リコンビナント FVIIa は、インヒビターを保有する血友病 A, B に開発されたが、血小板機能異常

や重篤な出血にも利用できそうである¹³⁾。作用機序として FVIIa は X 因子を介して血小板の活性化を誘導するもので、血小板減少症患者に有用性が高い。とくに適合する血小板が見つからない欠損血小板蛋白に対する抗体保有患者や広範囲抗体保有患者には朗報となる可能性がある。

2. 人工血小板(血小板代替物)

血小板の機能のなかで、粘着と凝集はもつとも重要である。血小板代替物には粘着と凝集にあずかる機能蛋白(von Willebrand 因子, コラーゲン)の受容体を担体に固定化したものと、フィブリノゲンや RGD ペプチドを担体に固定化したものが開発の途上にある。臨床応用には多くの困難な問題を解決しなくてはならない。

文献

- 1) Tinmouth, A. T. and Freedman, J. : Prophylactic platelet transfusions : which dose is the best dose? A review of the literature. *Transfus. Med. Rev.*, **17** : 181-193, 2003.
- 2) 厚生労働省(編) : 血液製剤の使用にあたって, 第 3 版. 輸血療法の実施に関する指針・血液製剤の使用指針. じほう, 2005.
- 3) Norol, F. et al. : Platelet transfusion : A dose-response study. *Blood*, **92** : 1448-1453, 1998.
- 4) Klumpp, T. R. et al. : Clinical consequences of alterations in platelet transfusion dose : A prospective, randomized, double-blind trial. *Transfusion*, **39** : 674-681, 1999.
- 5) Goodnough, L. T. et al. : Prophylactic platelet transfusions from healthy apheresis platelet donors undergoing treatment with thrombopoietin. *Blood*, **98** : 1346-1351, 2001.
- 6) Sensebe, L. et al. : The efficiency of transfusing high doses of platelets in hematologic patients with thrombocytopenia : results of a prospective, randomized, open, blinded end point(PROBE) study. *Blood*, **105** : 862-864, 2005.
- 7) Yuasa, T. et al. : Improved extension of platelet storage in a polyolefin container with higher oxygen permeability. *Br. J. Haematol.*, **126** : 153-159, 2004.
- 8) 大戸 斉 : 厚生労働科学研究補助金血小板製剤の有効期限延長と安全性確保に関する研究. 平成 14-16 年度総合研究報告書, 2005.
- 9) Kuehnert, M. J. et al. : Transfusion-transmitted bacterial infection in the United States, 1998 through 2000. *Transfusion*, **41** : 1493-1499, 2001.
- 10) Dorothy, S. et al. : Haemovigilance in the UK—the SHOT scheme. *Blood Bank Transfus. Med.*, **2** : 27-30, 2004.
- 11) Hoffmeister, K. M. et al. : Glycosylation restores survival of chilled blood platelets. *Science*, **301** : 1531-1534, 2003.
- 12) Slichter, S. J. et al. : Factors affecting posttransfu-

sion platelet increments, platelet refractoriness, and platelet transfusion intervals in thrombocytopenic patients. *Blood*, **105** : 4106-4114, 2005.

13) Biss, T. T. and Hanley, J. P. : Recombinant activated

factor VII (rF VIIa/NovoSeven) in intractable haemorrhage : use of a clinical scoring system to predict outcome. *Vox Sang.*, **9** : 45-52, 2006.

* * *

V. (財)日本公定書協会

「医薬品・医療機器等レギュトリーサイエンス総合
研究推進事業」による外国人研究者招へい事業

研究実績報告書

〔外国人研究者招へい事業〕
(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究推進事業)

研究実績報告書

1. 招へいされた外国人研究者

所属・職名：オランダ輸血研究所血液細胞部細菌混入部門 主任
Sanquin Research, Department of Blood Cell Research
Head of Laboratory, Blood Transfusion Technology

氏 名：ダーク デ コルテ 博士
Dirk de Korte, PhD

2. 招へい申請者

所属・職名：福島県立医科大学医学部 教授
氏 名：大戸 斉

3. 受け入れ研究者

所属・職名：福島県立医科大学医学部 教授
氏 名：大戸 斉

4. 招へい期間：平成 19 年 3 月 1 日より平成 19 年 3 月 10 日（10 日間）

5. 研究課題：輸血用血液の細菌混入の危険性評価と、有効な検出と防御対策による
血小板輸血と自己血安全性の確保

Evaluation of bacterial contamination in blood components for
transfusion and safety preservation in platelet components and
autologous blood by detection and preventive methods.

6. 研究活動の概要

3 月 1 日から 2 日までは赤十字中央血液研究所（東京都）において赤十字血液事業関係者と輸血の安全性確保と血液の保存技術について、討議・研究を行った。（参加者約 30 名）

3 月 3 日から 4 日までは福島市（こらっせ）において開催された日本輸血・細胞治療学会東北支部例会で、主に東日本の輸血医学関係者と赤十字輸血事業関係者を対象に、血小板輸血の細菌混入の可能性とその安全対策について、講演と討論を行っ

た。(参加者約 170 名)

3 月 5 日から 3 月 7 日までの間は福岡県赤十字血液センターにおいて、西日本の輸血医学研究者と日本赤十字社輸血業務対象者を中心に、血液製剤の細菌混入の実態とその安全確保について、講演と討議を行った。(参加者約 30 名)

3 月 8 日から 10 日までは新潟（ホテルオークラ）において開催された自己血輸血学会学術集会で、全国の自己血輸血関係者を対象に、血小板輸血の際に問題となる細菌混入汚染の世界とオランダにおける実情の講演とその予防対策について討議を行った。(参加者約 200 名)

7. 研究課題の成果

ダーク・デ・コルテ博士はオランダ輸血研究所の細菌感染対策特別チームの主任として、輸血細菌混入対策をまとめ、その業績は世界的に引用されている。研究成果は多くの原著論文としてまとめられ、また世界中で招請講演を行うなどして、欧州だけでなく世界的に大きな影響力を持ち、採血初流血除去と細菌混入検出は世界的に採用が進んでいる。

当研究班のテーマである輸血血液製剤（特に血小板）の細菌混入汚染の実情とその安全対策について、4 か所（東京、福島、福岡、新潟）で講演をおこなった。のべ、430 名の日本の輸血関係者と、輸血血液感染症に関する問題とその防御対策について、熱心な討議と検討を行った。

輸血敗血症による死亡は ABO 血液型不適合に次いで多く、輸血死亡の 17-22% を占める。成分献血由来血小板製剤の 1 本/1 000-2 000 本が細菌混入しているが、敗血症が出現するのは 1 本/5 000 本の割合である。死亡は血小板輸血 30 000 回に 1 人である。

採血部位の消毒と初流血排除は細菌汚染予防に特に重要である。初流血をバッグに入れないで排除する初流血除去（実際は廃棄するわけではなく、貧血検査やウィルス検査に利用する）には細菌混入を効果的に減少させる。世界中で採用されつつある。初流血排除により、表皮常在菌だけでなくグラム陰性細菌の混入を半減（全体では 0.34% から 0.21% に）に、また臨床的敗血症を 10 分の 1 に減少させた。しかし、オランダの経験では初流血除去だけでは十分な細菌混入防御対策とは言えない。未だ、リスクが残っている。

細菌混入検出感度と検査に要する時間は反比例するが、オランダではプール血小板と成分献血由来血小板は全数が、細菌培養スクリーニング装置（BacT/ALERT）によって検査されている。BacT/ALERT 微生物検出装置は細菌などが混入した場合には検出培養ボトル内の二酸化炭素が増加して、酸性になり、ボトル底部の色調が変化することを利用した装置である。培養法は 2 日（サンプリング待ちに 1 日、培養反応に 1 日）かかるが、5 日から 7 日間に延長使用許可され、期限切れ割合が血小板製造全数の 20% から 10% に半減した。

血小板製剤に初流血除去と細菌混入スクリーニング検査を導入することで安全性向上と有効利用率の上昇という二つの効果が生じる。これら二つの安全対策を強く勧めるものである。

また、病原体不活化技術についても討議を行った。病原体不活化技術は一度に各種の病原体を不活化しうるが、その作用は根源的に核酸を変性させるという強力な技術ゆえに不活化技術を導入した場合、輸血患者、血液センター職員、環境に発ガンなどの毒性をもたらす可能性がある。オランダでは賛否両論があり、慎重に導入すべきか否か、検討を続けている。

結論を言うと、細菌混入スクリーニング検査は血小板輸血関連敗血症予防に有効な手段である。この細菌スクリーニングと初流血 Diversion を併用することで、血小板の細菌混入を減少させる。

今回、コルテ博士を外国人研究者として招へいして得られた成果は、血小板製剤有効期限延長にあたって、細菌混入対策（皮膚消毒法の改良、初流血除去、細菌混入検出技術）を根源的に実施し、さらに大規模な検討を続けてきたオランダの血小板輸血の安全性への貢献が明らかにされたことである。血小板製剤細菌混入全数検査は、輸血の安全性向上に役立つことになる。

日本でも血小板製剤の有効期限延長は高齢社会に突入していることもあって、避けて通れない差し迫った問題である。血小板製剤の有効期限延長に関する政策決定に当たり、示唆に富む情報を得た。すなわち初流血 Diversion による細菌混入それ自体を減少させる方策と、BacT/ALERT 装置のような微生物検出装置の導入による万一、細菌が混入してもそれを検出できるシステムの両方法により、安全性を現在の製剤よりも向上させた血小板製剤の供給も可能とする途が開けてきた。

自己血採血は殆どが病院で実施されているため、詳細な輸血敗血症副作用は把握されていない。初流血除去も進んでいない。同種血が極めて安全な域に到達した現在、自己血の安全性確保のための 1) 効果的な消毒法の普及、2) ドナー患者の安全対策の向上、3) 初流血除去の検討などを開始する必要があるだろう。これらの諸問題は輸血・細胞治療学会や自己血輸血学会とも総合的な共同研究を開始したい。

また、献血時の初流血除去は 2007 年 3 月から日本全国の赤十字血液センターに導入されたが、細菌混入スクリーニング検査は全く計画されていないようである。この点では世界的には稀な国になりつつある。臨床サイドに輸血細菌感染症が知られるようになってきて、正しく診断される症例が増えている。血小板輸血敗血症に

よる死亡例が最近報告されるようになってきた。室温で保存される血小板製剤には細菌スクリーニング検査の導入も検討すべき時が来ている。

8. 外国人研究者のレポートは別添のとおりである。

EXPERIENCE WITH BACTERIAL SCREENING OF BLOOD PRODUCTS IN THE NETHERLANDS

Dirk de Korte

Task Force Bacterial Contamination, Sanquin Blood Supply Foundation,
Amsterdam, The Netherlands

Background. Bacterial screening for platelet concentrates (PC) is mandatory in the Netherlands since October 2001. During 2002 and 2003, a pilot study with diversion of the first blood volume during collection of whole blood units was performed. No large problems by the new collection system were met in practice and a reduction of 50 % initial positive cultures was shown for PC prepared from 5 pooled buffy coats. Based on these results, diversion became mandatory nationwide in the Netherlands starting July 1, 2004. The results for the screening of PC before and after introduction of the diversion are evaluated.

Methods. After July 1, 2004, in the Netherlands, all whole blood donations, as well as apheresis donations, have to be performed with a blood collection system equipped with a diversion pouch to collect the first 20 - 30 ml (and subsequently used for test purposes). After preparation of PC from 5 pooled buffy coats, both aerobic and anaerobic bottle are inoculated with 7.5 ml PC each and cultured for 7 days in the BacT/Alert culture system (BioMerieux). Positive cultures are

subcultured for confirmation and identification of the microorganisms.

Results. In the period before implementation of diversion, in total 127,979 PC units were tested, with 1154 initial positive signals (0.90%). After implementation of diversion, in total 122,532 PC units were tested, with 575 initial positive signals (0.47%). The percentage initial positive units was comparable to the value obtained in the pilot study with 6749 units. Both the frequency of Coagulase Negative Staphylococci (0.27 % to 0.12%) and Diptheroid rods (0.42 % to 0.18%) were significantly decreased by the intervention studied. The frequency of Bacillus species and gram negative bacteria showed a negative trend.

Conclusions. Bacterial screening was successfully implemented in 2001, followed by implementation during summer 2004 of diversion. The expected result of at least 50% reduction of the bacterial contamination of PC was reached also when using the diversion system in large scale for all collections in The Netherlands.

オランダにおける血液製剤細菌混入スクリーニングの経験

ダーク・デ・コルテ

細菌混入対策チーム、血液供給財団、アムステルダム、オランダ

【背景】オランダでは濃厚血小板（PC）の細菌混入スクリーニングが2001年10月より義務化された。2002年から2003年に全血採血時の初流血排除に関するパイロット研究が実施された。新採血システムでは実際上大きな問題には遭遇せず、5人のバツフィコートから製造されたPCでは初期培養陽性率は50%減少した。この結果を受けて、2004年7月1日よりオランダ全体で初流血除去が必須となった。初流血除去導入前と後でPC細菌スクリーニング検査がなされている。

【方法】2004年7月1日以後、オランダでは全血とアフエレーシス献血には初めの20-30ml（あとで検査に使用）を採取する小袋が付いた採血システムが使われている。5人のバツフィコートからPCが製造されると、好気用と嫌気用の両ボトルに7.5mlずつPCが接種されて、BacT/Alert培養システム（バイオメリュ社）で7日間培養される。陽性反応を呈すると確認二次培養されて、菌種が同定される。

【結果】初流血除去導入以前にPC 127,979本を検査して1,154本(0.9%)に初期陽性信号があった。初流血除去導入後には検査したPC 122,532本中575本(0.47%)が初期陽性となった。この陽性率はパイロット研究の6,749本中の陽性率と同程度であった。コアグラウゼ陰性ブドウ球菌(0.27%から0.12%へ)とジフテリア様桿菌(0.42%から0.18%へ)の検出率は初流血除去によって有意に減少した。バシラス菌類とグラム陰性菌類の検出頻度も減少傾向にあった。

【結論】細菌混入スクリーニングは成功裏に2001年に導入され、2004年夏からは初流血除去が採用された。PCの細菌混入率を最低でも50%減少させるという予期はオランダで全採血に初流血除去を採用したことで達成された。

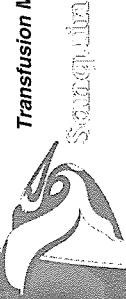


Experience with Bacterial Screening of Blood Products in the Netherlands

Dirk de Korte
Dept. of Blood Cell Research
Sanquin Research
Amsterdam, The Netherlands

BACKGROUND

- After focus on HIV and HCV (1980/90); awareness on bacterial contamination of blood products increased
 - ✧ 15-30 % of deaths related to transfusion caused by bacterial contamination (Transfusion Transmitted Bacterial Infection; TTBI)
- Risk for TTBI much higher than for viral transmission
- Platelet concentrates recognized as main risk



オランダにおける輸血血液の細菌混入 スクリーニングの経験

Dirk de Korte
Dept. of Blood Cell Research
Sanquin Research
Amsterdam, The Netherlands

背景

- HIV と HCV (1980/90)以後、輸血血液の細菌混入に注目
 - ✧ 輸血関連死の 15-30 % は細菌汚染 (Transfusion Transmitted Bacterial Infection; TTBI; 輸血関連細菌感染)
- 輸血関連細菌感染リスクはウイルス感染より ずっと高い
- とくに血小板製剤は主要なリスク



Thrombocytes and TTBI (1)

Among blood products highest possibility for contamination

- Storage conditions favourable for bacterial growth
 - shaking, room temperature, substrate
- Preparation from whole blood via BC (Europe):
 - Bacteria concentrated in buffycoat (phagocytosed and free microorganisms)

Risk "pooled" BC versus apheresis thrombocytes

- Negative: extra handling + donor exposure
- Positive: phagocytosing leukocytes not immediately removed

D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007

Sanquin



Thrombocytes and TTBI (2)

Estimates for Apheresis PC (based on literature data):

- 1:1,000 to 1:2,000 PC seriously contaminated
- 2 per 10 contaminated PC: causing sepsis
- 1 per 6 sepsis cases resulting in death
- Per 5,000 PC: 1 sepsis
- Per 30,000 PC: 1 death
- Not always recognized/reported
 - high guess level; no good clinical data
- Estimates for pooled PC much higher

D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007

Sanquin



血小板製剤と輸血関連細菌感染(1)

各種血液製剤中最も可能性が高い

- 保存条件は細菌増殖に好都合
 - 室温、振とう、基質
 - 全血パフコートからの製造 (Europe):
 - パフコートへ細菌濃縮 (被貪食とフリーの微生物)
- プールパフコート血小板 対 成分採血血小板
- 欠点: 煩雑操作 + 多いドナー数
 - 利点: 時間をいいてから貪食白血球の除去

D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007

Sanquin



血小板製剤と輸血関連細菌感染 (2)

成分献血血小板製剤の危険性計算 (文献的):

- 1,000 — 2,000本に1本の血小板製剤は重大な細菌混入
- 細菌混入血小板の20%は敗血症をきたす
- 敗血症6例中1例は致死的
- 5,000 回血小板輸血で 1 回は敗血症
- 30,000 回血小板輸血で 1 例の死亡
- 必ずしも全例が診断され、報告されない
- 高い蓋然性; 少ない臨床データ
- プール血小板はもっと高い危険性計算

D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007

Sanquin



BACTERIAL CONTAMINATION

- ◆ Since 1990 in the Netherlands:
 - ◆ QC on blood products included bacterial culturing
 - ◆ Mainly outdated products
 - ◆ Low frequency tested
 - ◆ But: 1-3 % positive, concern raised
 - ◆ Literature: very variable contamination degrees
 - ◆ large confidence intervals, low N
- ◆ Start of research on bacterial contamination of blood components (similar in other countries)

D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007

Sanquin



OVERVIEW RESEARCH LINE

- What is the problem?
 - Study with whole blood to collect reliable data on bacterial contamination
- Can the problem be reduced?
 - Study with diversion of first volume (whole blood)
- Screening of platelet concentrates
- Efficacy of interventions (diversion and skin disinfection) on screening results
- 7-day storage of platelets in plasma

D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007

Sanquin



細菌混入

- ◆ オランダにおける1990年以降:
 - ◆ 血液製剤に品質管理QC 細菌培養を含む
 - ◆ 主として期限切れ製剤
 - ◆ 検査頻度は低い
 - ◆ だが: 1-3 % が陽性で、注意を喚起
 - ◆ 文献: 混入頻度は大きなバラつき
 - ◆ 少ない検査数ゆえ、バラつく信頼区間
- ◆ 輸血血液製剤 細菌混入研究の開始 (他の国も同様)

D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007

Sanquin



研究の展望

- 問題は何か?
 - 先ず、全血の細菌混入に関して信頼できるデータを集積
- 細菌混入率を低下できるか?
 - 初流血排除の研究 (全血)
- 血小板製剤の細菌混入スクリーニング
 - 介入(初流血排除と皮膚消毒) は細菌混入を改善するか
- 血小板製剤の7日間保存

D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007

Sanquin



STUDY DESIGN WHOLE BLOOD

Phase I

Collection of sufficient amount of units to determine accurately the prevalence of bacterial contamination for whole blood collections under standard conditions in the Netherlands

Phase II

Determination of the effect of diversion of initial flow

D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007

Sanquin



研究計画 全血

Phase I

充分量の検体数を調査して、標準状態で
の献血細菌感染頻度をきちんと計測する

Phase II

初流血除去効果を見極める

D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007

Sanquin



MATERIALS AND METHODS

- Bact/Alert® system (Organon Teknika/BioMerieux), CO₂ production measured
- Modified blood collection system (Fresenius/NPBI) with additional sampling bag and needles: closed system for sampling
- 7 days culture, 35°C. anaerobic and aerobic bottle, 7.5 ml inoculation
- Standardized disinfection (FDA-approved) and collection methods
- Sole aseptic handling is transfer to Bact/Alert culture bottle (anaerobic and aerobic) in a laminar flow cabinet

D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007

Sanquin



研究材料と方法

- Bact/Alert® (Organon Teknika/BioMerieux), 産生CO₂ の測定
- 改良採血システム(Fresenius/NPBI) サンプリングバッグと針付き閉鎖回路
- 7日間培養, 35°C. 嫌気性と好気性ボトル, 7.5 ml 接種
- 消毒法 (FDA承認) と採血法の標準化
- 層流キャビネット内で厳格にBact/Alert 培養ボトル(嫌気性と好気性) サンプル注入

D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007

Sanquin



RESULTS WHOLE BLOOD PHASE I

- Prevalence of bacterial contamination in whole blood collections is 0.34 % (lower than previously reported) with a small 95 % confidence interval (0.25 – 0.44)
 - Yes, there is a problem
- Mainly skin-derived bacterial contamination:
 - Coagulase-negative Staphylococci
 - Propionibacterium (Diphtheroids)

D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007



全血製剤の結果 PHASE I

- 全血の細菌検出率は 0.34 % (過去の報告より低値) 95% 信頼区間 (0.25 – 0.44%)
 - そうです, 問題は存在するのです
- 主として皮膚由来細菌混入:
 - コアグララーゼ陰性ブドウ球菌
 - プロピオニバクテリウム (ジフテリア菌類)

D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007



OVERVIEW RESEARCH LINE

What is the problem?
Study with whole blood to collect reliable data on bacterial contamination
Can the problem be reduced?
Study with diversion of first volume (whole blood)
Screening of platelet concentrates
Efficacy of interventions (diversion and skin disinfection) on screening results
7-day storage of platelets in plasma

D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007



研究の展望

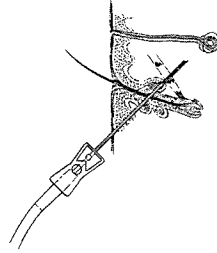
問題は何か?
先ず、全血の細菌混入に関して信頼できるデータを集積
細菌混入率を低下できるか?
初流血排除の研究 (全血)
血小板製剤の細菌混入スクリーニング
介入(初流血排除と皮膚消毒)は細菌混入を改善するか
血小板製剤の7日間保存

D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007



PHASE II. DIVERSION OF FIRST FLOW

- Because contamination is mainly with common skin flora, 'skinplug' is seen as important source
- Idea: Don't collect first volume containing the 'skinplug' (= bacteria), but divert this



Reproduced from Blajchman, Vox Sang 74S2,1998
D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007

Sanquin

AIMS OF WHOLE BLOOD PHASE II

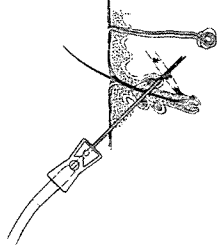
- Measurement of the prevalence of bacterial contamination in whole blood units after diversion of the first 10 ml (with the determined prevalence in phase I as base level)
- During collection via Y-piece first vacutainer filled, than continuation with full unit collection (slightly modified collection system by manufacturer)

D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007

Sanquin

PHASE II. 初流血の除去

- 細菌混入は主に通常皮膚常在菌ゆえに、'skinplug皮膚栓'は重要な汚染源
- 考え: 皮膚栓(=細菌)を含む初流血は採血しないので排除せよ



Reproduced from Blajchman, Vox Sang 74S2,1998
D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007

Sanquin

全血での研究目的 PHASE II

- 初流血10ml 除去後 細菌混入率測定 (phase I 研究データを基本値として)
- 採血中に Y 字形真空管に採集する, 次に通常量を採血 (製造メーカーの採血法を少し変更)

D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007

Sanquin

RESULTS OF WHOLE BLOOD PHASE II

	Standard whole blood collection	Diversion of the 1 st 10 ml
Donations tested	18,257	7,115
Prevalence	0.34%	0.21%
Confidence interval	0.25-0.44	0.12-0.35

Significant decrease: $p = 0.046$; specific bacteria more significant

De Korte et al., Vox Sang. 2002;83:13-16

D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007

Sanquin



DISCUSSION WHOLE BLOOD PART

- With diversion, the theoretical risk of random donor pooled platelet concentrates still considerable: about 1%
- Additional testing required: Screening
- First volume can be used for test purposes, provided that collection system can be assigned as "closed"

D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007

Sanquin



全血採血 PHASE II 研究結果

	Standard whole blood collection	Diversion of the 1 st 10 ml
Donations tested	18,257	7,115
Prevalence	0.34%	0.21%
Confidence interval	0.25-0.44	0.12-0.35

有意な ($p = 0.046$) 減少; 菌種によっては より明快に

De Korte et al., Vox Sang. 2002;83:13-16

D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007

Sanquin



全血についての討論

- 初流血除去をしても、プール血小板のリスクは無視できない: 約 1%
- 検査の併用は必要: 細菌スクリーニング
- 初流血は検査目的に用いる, 採血の閉鎖性が保障できるならば

D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007

Sanquin



OVERVIEW RESEARCH LINE

What is the problem?

Study with whole blood to collect reliable data on bacterial contamination

Can the problem be reduced?

Study with diversion of first volume (whole blood)

Screening of platelet concentrates

Efficacy of interventions (diversion and skin disinfection) on screening results

7-day storage of platelets in plasma

D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007



研究の展望

問題は何か?

先ず、全血の細菌混入に関して信頼できるデータを集積

細菌混入率を低下できるか?

初流血排除の研究 (全血)

血小板製剤の細菌混入スクリーニング

介入(初流血排除と皮膚消毒)は細菌混入を改善するか

血小板製剤の7日間保存

D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007



SCREENING OF PC

- Task Force Bacterial Contamination
- Considerable risk recognized (whole blood studies)
- Advice to start 100 % screening of platelets
 - Large volume, 2 bottles, sensitive system
 - negative to date
- Some regional centers already since 1997
- Sanquin made it mandatory; starting November 2001 (first 100% screening)

D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007



血小板製剤の細菌スクリーニング

- 細菌混入対策チーム
- 無視できない危険性を認識 (全血での研究から)
- 血小板製剤は全数スクリーニングを勧告
 - 検体量は多く、2 ボトルで、検出能に優れている検査法
 - 出庫時点では陰性反応
- 1997年から開始しているセンターもある
- 必須検査とする; 2001年11月より (100%スクリーニング)

D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007



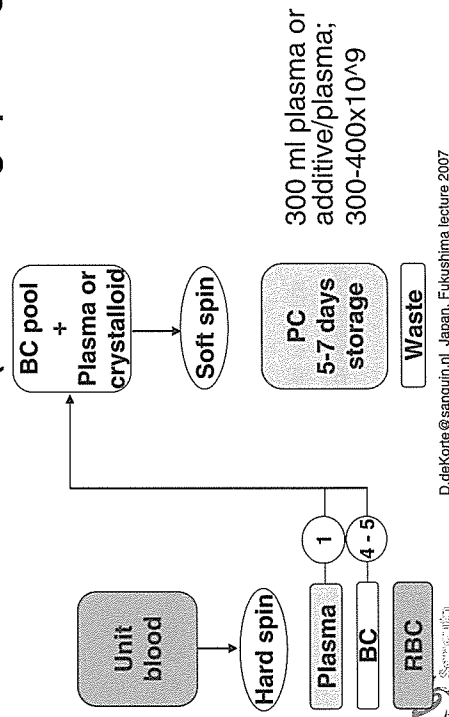
Some facts on PC

- The Netherlands: 93 % buffy coat derived pooled PC
- Apheresis mainly for HLA-typed donations
- 100 % screening: release as 'negative to date'
- BacT/Alert (experience for years): aerobic and anaerobic bottle, inoculated with 7.5 ml each, 7 days culture
- Sampling for BC-PC: within 2 h after preparation, but this is 18-24 h after whole blood collection
- Sampling for Apheresis PC: within 12 h
- All factors together determine sensitivity of system

D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007

Sanquin

Pooled BC method (= Pre-storage pooling)



D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007

Sanquin

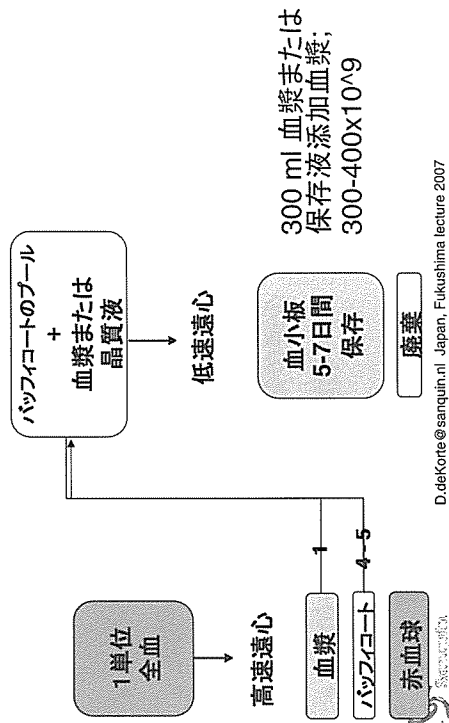
血小板製剤に関する事実

- オランダでは 93 % がバフコート由来プール血小板
- 成分採血は主に HLA適合献血
- 100 %スクリーニング: 在庫時に陰性ならば供給可
- BacT/Alert (数年間); 好気性と嫌気性ボトル, 7.5 ml ずつ接種, 7 日間培養
- バフコート由来プール血小板のサンプリングは調整後 2時間以内、全血採血後 18-24 時間
- 成分採血血小板のサンプリングは12時間以内
- これは因子は検査感度を決定する

D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007

Sanquin

バフコート由来プール血小板(=保存前プール)



D.deKorte@sanquin.nl Japan, Fukushima lecture 2007

Sanquin