

厚生労働科学研究費補助金

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業

# 輸血用血液の細菌感染防止と血小板製剤の 有効性期限延長に関する研究

(H17-医薬-一般-051)

平成19年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 大戸 齊

平成20（2008）年3月

## 目次

### I. 総括研究報告書

輸血用血液の細菌感染防止と血小板製剤の有効性期限延長に関する研究

大戸 斉----- 1

平成 19年度研究班会議プログラム----- 8

### II. 分担研究報告書

国際社会における輸血製剤副作用監視体制と血小板製剤内細菌汚染

山口一成----- 11

細菌の 16S rRNA 遺伝子増幅法を用いた混入細菌の検出

高松純樹----- 17

血小板製剤の細菌汚染と有効期限延長について

佐竹正博----- 21

血小板製剤の有効期限延長による効率的血小板補充療法への寄与

宮田茂樹----- 29

高酸素透過性バッグを用いて保存した高単位血小板製剤の *in vivo* 試験

大戸 斉----- 34

血小板製剤混入細菌検出に対する CO<sub>2</sub> センサーの応用

浅井隆善----- 42

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 63

IV. 研究成果の刊行物・別冊 ----- 65

# I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金  
医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業  
平成19年度総括研究報告書

輸血用血液の細菌感染防止と血小板製剤の有効性期限延長に関する  
研究

(H17-医薬-一般-051)

主任研究者：大戸 斉 教授 福島県立医科大学 輸血・移植免疫部

研究要旨：

1. 欧州（英国、フランスなど）が先行して血液安全監視体制（ヘモビジランス）が国主導で世界的に構築されてきている。これまで日本赤十字社が行ってきた輸血副作用サーベイランスを補完する形で、血液製剤一連の流れ全体リスクを正確に評価・把握する新たな体制の構築が期待される。
2. 初流血除去と高性能保存バッグの導入に伴い、2007年11月から日本の血小板製剤の有効期限はこれまでの72時間から4日間（採血日を含む）に延長された。国立循環器病センターでは血小板製剤の8%が、本来ならば有効期限切れで廃棄になっていたが使用可能となった。今回の有効期限延長は、大量出血、危機的出血に対して緊急性をもって対応しなければならない医療機関において効果的、効率的な血小板輸血療法に貢献していることが示唆された。
3. 医療施設以上に、製造・供給に与る血液センターにおける血小板製剤有効期限延長の効果は鮮明である。東京都赤十字血液センター内の有効期限切れ数がこれまでの月平均70本から27本へと62%減少した。全国的にも同様な報告がなされている。
4. 血小板製剤細菌汚染を避けるために採用した2つの安全対策（血液センターでの外観試験と保存前白血球除去）を検証した。1) 外観変化（128件）の8割以上はスワーリングの消失（108件）として観察された。しかし、2) 細菌の増殖が原因でスワーリングが消失したものはなかった。3) 採血後きわめて早期にスワーリングの消失するドナーが存在する。
5. 健常ボランティアの血小板を日本で開発されたPO-80にて7日間保存した後、同人新鮮血小板とともに返血し、生体内の回収率と血小板寿命を比較測定した。保存血小板の回収率は新鮮血小板の82%、生体内寿命が81%と良好であった。PO-80保存血小板製剤の7日間期限延長は十分可能であると考えられる。
6. 白血球除去や初流血除去によっても除去されない汚染細菌を検出するために、CO<sub>2</sub>センサー内蔵呈色反応方式細菌検査を血小板製剤の細菌検出に用いることの検討を行った。検査感度、費用対効果、簡便性の諸点において有用であったが、血小板が産生するCO<sub>2</sub>による偽陽性の可能性があった。CO<sub>2</sub>センサー感度の調節により疑陽性を防ぎえる可能性を示した。
7. 血小板製剤に混入した細菌を高感度で検出する目的で16SrRNA遺伝子増幅法を検討した。検出限界は菌液濃度10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> CFU/mlで、培養法では検出限界以下であっても、16SrRNA増幅法では検出可能と考えられる。16SrRNA増幅法は細菌DNAの混入を防がねばならず、機具や試薬の選択、取り扱いに注意が必要である。

## 分担研究者

大戸 齊	福島県立医科大学輸血・移植免疫部	教授
浅井隆善	静岡県赤十字血液センター	所長
高松純樹	名古屋大学医学部輸血部	教授
佐竹正博	東京都西赤十字血液センター	所長
山口一成	国立感染症研究所	部長
宮田茂樹	国立循環器病センター輸血管理室	室長

## A. 研究の背景と目的

血小板製剤の有効期限は国際的には現在5日間であったが、欧米では細菌混入スクリーニング検査を併用することで7日に延長されつつある。とくに、日本における急速な高齢人口の増加と若年人口の減少によって、輸血用血液製剤の需要バランスの良好な維持は困難になりつつある。

日本においても2007年11月からこれまでの有効期間72時間から最終有効日の夜24時に延長された。実質80~84時間になった。これまで病院では有効期限が短いため、血小板数が上昇して輸血する必要がなくなっても他の患者に転用することが難しく、いわば「不適切な使用」と「不足」という矛盾した状態も改善されているものと推定される。

しかし、血小板製剤の有効期限を単純に5日あるいは7日間に延長することに対しては細菌感染症や血小板機能低下が懸念される。特に、前者については諸外国から多くの感染による敗血症や死亡例が報告され、日本においても例数は少ないが報告例がある。

今年度は血小板製剤の7日間保存延長の可能性を検証するために以下の3点を中心に研究計画を立てた。すなわち、

1) 血液製剤(血小板)の細菌混入実態の把握、2) 細菌混入防止消毒法と採血手技の確立、3) 最適な細菌検出技術・方法の確立、4) 輸血時の細菌汚染防止

と細菌汚染副作用発生時の対応指針の作成である。細菌混入した場合の細菌増殖の動態と細菌混入を克服するための方策を、血小板機能を有効に維持しつつ、7日間に延長可能であるかを検討し、問題を克服する研究をすすめた。

## B. 研究方法

### 研究目標

1. 血液製剤(血小板)の細菌混入実態の把握
2. 細菌混入防止消毒法と採血手技の確立
3. 最適な細菌検出技術と血液製剤保存方法の確立
4. 輸血時の細菌汚染防止と細菌汚染副作用発生時の対応指針の作成

### 1. 血液製剤(血小板)の細菌混入実態の把握

#### 1) 製剤の外観試験と減損製剤の細菌検査

東京都センターでは2006年4月から2007年12月までの21か月で128製剤が外観異常と判断され、供給されなかった(減損処分)。内訳はスワーリング不適108製剤、色調異常20製剤、凝固・凝集物0製剤。スワーリングが消失した108製剤中、細菌が検出された製剤は無かった。

#### 2) 72時間以上経過した血小板製剤の使用と廃棄率の減少

平成19年11月より血小板製剤の有効

期限が、採血後 3 日目の午後 12 時まで（最長 96 時間）に延長された。東京都赤十字血液センター内の有効期限切れ数が月平均 70 本から 27 本へと 62%減少した。

国立循環器病センターでは有効期限延長によって、使用血小板製剤全体の 8% が、本来ならば有効期限切れで廃棄となっていたものであった。

今回の有効期限延長によって製造血液センターと使用病院の両者に恩恵をもたらしていることが窺われた。

## 2. 細菌混入防止消毒法と採血手技の確立

### 1) 採血技術の工夫と向上

一昨年度は採血時に最初の 10~20mL を別バッグに取り分けすることにより細菌混入を減少させるフィールド研究を行った。その成果を受けて、今年度は全国赤十字血液センターに導入され、血小板製剤の有効期限が延長されことに貢献した。

### 2) 細菌混入してもその細菌を除去・不活化する技術の開発

細菌が混入した場合、白血球除去 Filter を用いて排除できるかを検討した。*Salmonella choleraesuis*, *Serratia marcescens* 菌ともに菌数を著しく減数できるが完全ではなく、その後室温保存条件下で急速に増殖することが判明した。

## 3. 最適な細菌検出技術と血小板製剤保存方法の確立

### 1) CO<sub>2</sub>センサーによる細菌検出

日本で製造販売されている定性試験用呈色反応方式細菌検査用具 センシメディア (Sensi Media®、マイクロバイオ社) を使用して、細菌増殖の検出を行った。センシメディアは、液体培地とCO<sub>2</sub>ガスセンサーが試験管に封入された細菌検査用具であり、

内蔵のCO<sub>2</sub>ガスセンサーが陰性の濃紺色から、陽性を示す薄黄色に変化することにより目視でCO<sub>2</sub>産生を認識することが出来る。検査感度やコストでは優れているが、偽陽性の可能性が否定できなかった。

### 2) 高酸素透過性バッグで保存した血小板の生体内機能

高酸素透過性PO-80バッグにて7日間保存した血小板の回収率と生体内血小板寿命を検討した。これまで開発・販売されている他の保存バッグと比較しても遜色なく7日間保存可能であることが判明した。

## 4. 輸血時の細菌汚染防止と細菌汚染副作用発生時の対応指針の策定

日本赤十字血液センターから供給される血小板製剤の使用前外観試験の実際、副反応発生時の対応指針を討議、広く意見を募り、まとめた。実際の指針は平成17-平成19年総合研究報告書に掲載する。

## 倫理面への配慮

3日間の保存期間を越えた7日間保存血小板製剤を倫理委員会の承認を得て、ボランティアドナーに使用した。問題となる事態は発生してしない。また、血小板製剤を用いての研究にあたって、赤十字血液センターから譲渡を受けるので、善意の献血によるものであることを自覚して、丁重な研究を心掛けた。

## C. 研究結果

各研究員の研究成果を以下に示す。

### 1) 山口一成 班員

血液安全監視体制（ヘモビジランス）について情報収集を行った。ヨーロッパを中心にヘモビジランスが、構築されてきている。

わが国ではこれまでに NAT 導入や保存前白血球除去、初流血除去、保存期間の変更など、輸血製剤の安全性向上のために様々な施策がとられてきた。しかし、その効果を評価可能な水準の副作用調査はなされていない。新たな体制の構築は、これまで日本赤十字社が行ってきた重症副作用のサーベイランスを補完する上で必要である。国際社会における輸血製剤管理体制の現状と血液製剤中の細菌汚染について調査し、今後の日本の輸血製剤による副作用管理の在り方を検討した。

#### 2) 高松純樹 班員

細菌が混入した血小板製剤を高感度で検出する目的で 16S rRNA 遺伝子増幅法を検討した。検出限界は菌液濃度  $10^4$ - $10^6$  CFU/ml (1 反応チューブあたり菌  $10^1$ - $10^3$  個) であった。培養法では検出限界以下で偽陰性となる場合であっても、16S rRNA 遺伝子増幅法では DNA が残っていれば検出可能であった。

一方、16S rRNA 遺伝子増幅法の問題点として、複数菌混在の場合や増幅する DNA 領域が短い場合は菌の同定、型別は難しい。培養法は無菌操作のみで十分であるが、16S rRNA 遺伝子増幅法は細菌 DNA の混入を防がねばならず、機具や試薬の選択、取り扱いに細心の注意が必要である。

#### 3) 佐竹正博 班員

血小板製剤細菌汚染を避けるために採用した 2 つの安全対策 (血液センターでの外観試験と保存前白血球除去) を検証した。(1)外観変化の 8 割以上はスワーリング消失であった、(2) スワーリング消失した血小板製剤に細菌の増殖は認めなかった、(3) 採血後短時間でスワーリングの消失するドナーが存在する。

平成 19 年 11 月より日赤の血小板製剤の有効期限が、採血後 3 日目の午後 12 時まで (最長 96 時間) に延長された。有効期限延長の効果について調査した。東京都赤十字血液センター内の有効期限切れ数が月平均 70 本から 27 本へと 62% 減少した。

#### 4) 浅井隆善 班員

CO<sub>2</sub>ガスセンサーを内蔵した定性試験用呈色反応方式細菌検査用具を血小板製剤の汚染細菌検出に用いることの検討を行った。検査感度、費用対効果、簡便性において有用であった。血小板が産生する CO<sub>2</sub>による偽陽性の可能性が認められたが、センサーの感度調節により偽陽性予防が可能である。さらに、検出時間は延長するものの、室温にても検出可能であり、血小板製剤細菌検査に応用が期待される。

#### 5) 大戸 齊 班員

国内で血小板保存用として開発された血小板保存用高酸素透過性バッグ (PO-80) にて長期間 (9 日) 保存した血小板機能を *in vitro* で評価し、安定して、血小板機能が保存されることを報告してきた。

今年度は PO-80 バッグを *in vivo* 試験で評価した。8 名の健常人ボランティアより採取した血小板製剤を PO-80 にて 7 日間保存し、当日に採血した自己新鮮血小板とともにそれぞれをインジウムか、クロムの放射性同位元素でラベルし、ドナーへ返血し、生体内の回収率と血小板寿命を測定した。保存血小板の回収率は新鮮血小板の 82%、生体内寿命は 81% と良好であった。新鮮血小板に対し回収率、生体内寿命の 67%以上という国際基準を明白にクリアした。PO-80 による濃厚血小板製剤の 7 日間保存は十分可能

である。

#### 6) 宮田茂樹 班員

輸血管理システムを用い、有効期限が延長された 2007 年 11 月 14 日から 12 月 25 日に使用された血小板製剤の使用日時、使用場所(病棟)、単位数等の情報を確認した。従来の 72 時間の有効期限を越えて、すなわち、今回の有効期限延長により使用可能となった血小板製剤に関して検討を行った。

国立循環器病センターにおける使用血小板製剤全体の 8%が、本来ならば有効期限切れで廃棄となっていたが、今回の 4 日間(採血日を含む)へ有効期限延長によって使用可能となった。これらのほとんどは、手術室で使用されていた。有効期限延長は、心臓血管外科手術等で、大量出血、危機的出血に対して対応する必要がある医療機関において効果的、効率的な血小板補充療法に貢献していることが示唆された。

#### D. 考察

日本を除いて世界中で血小板製剤の有効期限は 5 日間であった。近年、細菌混入試験を併用した製剤には 7 日間に延長を許可する国が増加している。ウイルス核酸試験を開始して以来、実質的な血小板製剤有効期間は 1.5~2 日に短縮していた。2007 年 11 月に漸く血小板製剤の有効期限が 72 時間から、4 日間(採血日を含む)に延長された。この有効期限延長によって血液センターの期限切れ廃棄血が 60%以上減少していた。病院でもこれまで使用できなかった製剤が 8%使用されていることがはなめいた。今後、有効期限をさらに欧米なみの 5~7 日間に延長することの妥当性を検討する際に重要な情報となる。

有効期限の延長にあたっては、二つの問題の解決が要求される。輸血細菌敗血症の回避と血小板機能の良好保持である。

このうち血小板機能保持に関しては高酸素透過性バッグ(PO-80)にて 7 日間保存した血小板の生体内の回復率と血小板寿命が優れていることを証明した。回収率と生体内寿命がともに新鮮血の 80%以上であり、PO-80 バッグは臨床使用が十分可能である。

また、細菌汚染は受血者に重篤な有害反応をきたす可能性があり、重要な課題である。

佐竹班員はこれまで初流血除去の有用性を献血フィールドで実証し、その成果は全国赤十字血液センターでの導入という形で国民に還元された。

しかし、白血球除去フィルターの皮膚に存在する病原性細菌の除去効果は限定的で、*Yersinia enterocolitica* を除き、多くを期待することはできない。

浅井班員は血小板製剤の細菌混入スクリーニングに食品検査に用いられている CO<sub>2</sub> ガスセンサーを応用する可能性と乗り越えるべき課題を示した。

高松班員は細菌混入血小板製剤に 16S rRNA 遺伝子増幅法を検討した。培養法では検出限界以下で偽陰性となる場合であっても、16S rRNA 遺伝子増幅法では DNA が残っていれば検出可能であった。しかし、細菌 DNA の混入を防がねばならず、機具や試薬の選択、取り扱いに細心の注意が必要である。

山口班員は輸血全体を見渡すことが可能な血液安全監視体制(ヘモビジランス)の構築を提言した。このシステムによって各種安全対策の効果を評価可能な水準に高めることが可能となり、効果的で実証しうる安全対策が打ち建てられよう。

#### E. 健康危険情報

特筆すべき、健康に影響を及ぼした事象は発生しなかった。

#### F. 研究発表



(研究論文)

1. Ezuki S, Kawabata K, Kanno T, Ohto H. Culture-based bacterial detection systems for platelets: the effect of time prior to sampling and duration of incubation required for detection with aerobic culture. *Transfusion* 47;2044-2049, 2007.
2. Ezuki S, Kanno T, Ohto H, et al. Survival and recovery of apheresis platelets stored in a polyolefin container with high oxygen permeability. *Vox Sanguinis* (in press)
3. 藤井康彦、松崎道男、宮田茂樹、東谷孝徳、稲葉頌一、浅井隆善、星順隆、稲田英一、河原和夫、高松純樹、高橋孝喜、佐川公矯: ABO不適合輸血の発生原因による解析. *日本輸血細胞治療学会誌* 2007; 53(3): 374-382.
4. 浜口 功、山口一成: 輸血・移植と感染症. *小児感染症学 特殊な状況下での感染症* 155-161 診断と治療社 2007
5. 山口一成: 輸血医療・医学の新展開はじめに *医学のあゆみ* 第1土曜特集 218 No.6 555, 2006
6. 佐々木啓明、荻野均: 大量出血の副作用対策・異型輸血. 第51回日本輸血学会近畿支部総会、和歌山、2007.
7. 佐野隆宏、角谷勇実、山本 賢、阪田敏幸、佐藤 清、宮田茂樹: イントラネットを用いた輸血部門におけるアルブミン製剤一元管理. 第51回日本輸血学会近畿支部総会、和歌山、2007.
8. 宮田茂樹: 輸血管理料の問題点について. 第6回 京阪神輸血・免疫・血液研究会、大阪、2007
9. 菅野隆浩、江月将史、川畑絹代、大戸斉、他. Multiple hit modelを用いた生体内血小板寿命の測定. *日本輸血学会雑誌* 2006; 52(2):231.
10. Kanno T, Ezuki S, Herschel L, Kawabata K, Ohto H. Noninferiority Hypothesis Test for Evaluating Clinical Feasibility of Container (PO-80) with Higher Oxygen Permeability for Platelet Storage. *Transfusion*, 2007;47 (Abstract Presentations from the AABB Annual Meeting and TXPO) 80A.
11. 浅井隆善. 初流血除去と血小板有効期限延長. *血液事業* 30(2)、第31回日本血液事業学会抄録集、シンポジウム(4)安全対策の進捗と今後、301、2007.

(学会発表)

1. 宮田茂樹、亀井政孝、山本 賢、角谷勇実、阪田敏幸、佐野隆宏、半田 誠、八木原俊克: 心臓血管外科手術における血小板製剤使用状況と有効期限延長の与える影響. 第55回日本輸血学会総会、名古屋、2007.
2. 宮田茂樹、佐々木啓明、亀井政孝、山本 賢、角谷勇実、阪田敏幸、佐野隆宏、荻野均: 医療機関における分画製剤の使用状況と対応策. 第55回日本輸血学会総会、名古屋、2007.
3. 宮田茂樹、阪田敏幸、山本 賢、角谷勇実、佐野隆宏、佐藤 清、亀井政孝、

11. Takayoshi Asai, Yasuhiko Fujii, Hitoshi Ohto. Evaluation of a New pH Indicator as a Detection Agent of Bacterial Contamination in Platelet Concentrates. *Transfusion* 47(3S), Abstract Presentations from 2007 Annual Meeting of AABB, p203A, 2007.
12. Takayoshi Asai, Yasuhiko Fujii, Hitoshi Ohto. Evaluation of a New pH Indicator as a Detection Agent of Bacterial Contamination in Platelet Concentrate. *Vox Sanguinis* 93 (Supl2), Abstract of the XVIIIth Regional Congress of the ISBT, p43-44, 2007.
13. H Otsubo, Y Sasaki, K Yamaguchi, Y Hoshi. Consecutive Monitoring of Dissolved Oxygen Consumption by DOXTM to Evaluate Bacterial Contamination in Platelet Concentrates. AABB Annual Meeting & TXPO 2007 Anaheim CA USA
14. 大坪寛子, 山口一成, 星 順隆. 溶存酸素濃度測定による血小板内混入細菌の同定. 第55回日本輸血・細胞治療学会総会 (名古屋, 2007)
15. 佐竹正博. 講演: 北海道輸血シンポジウム. 輸血細菌感染症と白血球除去・初流血除去の効果. 平成 19 年 7 月 札幌.
16. Satake M. Bacterial Contamination in Platelet Concentrate in Japan and the Introduction of Diversion System. The fifth Red Cross & Red Crescent Symposium. 2007 年 11 月 バンコク.

G. 知的所有権の発生  
なし。

**輸血用血液の細菌感染防止と血小板製剤の有効期限延長に関する研究**

日時：2007年7月27－28日

会場：福島県立医科大学 光が丘会館ホール

**7月27日(金)**

13：00－15：00 **輸血による細菌感染防止対策と感染疑い事例発生時の  
対応指針作成検討(その2)** (非公開：会議室) 班員

(これより公開：ホール)

15：05－15：10 **あいさつ** 大戸 斉(主任研究者 福島県立医大)

座長 宮田茂樹 (各発表の後に10分ずつの討論)

15：10－15：30 **輸血感染症の現状(2004年～2006年)**  
百瀬 俊也 (日本赤十字社 血液事業本部)

15：30－15：40 **日赤の現在の細菌疑い症例の検査の進め方**  
平 力造 (日本赤十字社 血液事業本部)

15：50－16：10 **血小板製剤の細菌対策  
－米国赤十字社とBlood Systems－**  
名雲 英人 (東京都赤十字血液センター)

座長 浅井隆善

16：30－16：50 **血小板製剤の細菌汚染率**  
佐竹 正博 (東京都赤十字血液センター)

17：00－17：20 **血小板製剤の高酸素透過性バッグによる保存:in vivo評価**  
菅野 隆浩 (福島医大輸血・移植免疫部)

**7月28日(土)**

8:30-9:30 **輸血による細菌感染防止対策と感染疑い事例発生時の  
対応指針作成検討(その3)** (非公開:会議室) 班員

(これより公開:ホール)

座長 山口一成 (各発表の後に10分ずつの討論)

9:40-10:00 **CO<sub>2</sub>センサーによる血小板製剤汚染細菌検出の試み**  
浅井 隆善 (静岡県赤十字血液センター)

10:10-10:30 **血小板機能から見た血小板製剤の有効期限延長の  
可能性と課題**  
宮田 茂樹 (国立循環器病センター)

10:40-11:00 **培養検査と遺伝子検査を用いた混入細菌の検出**  
高松 純樹 (名古屋大学 輸血部)

座長 佐竹正博

11:20-11:40 **近赤外分光法を用いたノンサンプリングによる劣化血小板  
製剤の検出:出庫時リアルタイム検査への応用**

川畑絹代 (福島県立医科大学 輸血・移植免疫部)

11:50-12:10 **日本のヘモビジランスの現状と将来**

山口一成 (国立感染研)

事務局:〒960-1295 福島市光が丘1 福島県立医科大学 輸血・移植免疫部

菅野隆浩 TEL:024-547-1538 FAX:024-549-3126

Email:btkanno@fmu.ac.jp

## II. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金  
医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業  
平成 19 年度研究報告

「輸血用血液の細菌感染防止と血小板製剤の有効性期限延長に関する研究」  
(H17-医薬-一般-051)

国際社会における輸血製剤副作用監視体制と血小板製剤内細菌汚染

分担研究者：山口 一成 部長  
国立感染症研究所 血液・安全性研究部

協力研究者：大坪 寛子  
国立感染症研究所 血液・安全性研究部

**研究要旨：**

ヨーロッパを中心に先進国では血液安全監視体制（ヘモビジランス）が、多くは国主導によって構築されてきている。本来、ヘモビジランスとは献血者のスクリーニングに始まる血液の製造・品質管理から医療機関における受血者の副反応の把握までの輸血の一連の流れを統一して監視することを指し、それによって製剤の品質評価を可能にし、有害事象の再発・拡大を防ぐことが期待されている。わが国ではこれまでに NAT 導入や保存前白血球除去、初流血除去、保存期間の変更など、輸血製剤の安全性向上のために様々な施策がとられてきた。しかしその効果を評価するに足るだけの信用性のある副作用の実態調査はなされていない。血液製剤のリスクを正確に把握するための新たな体制の構築は、これまで日本赤十字社が行ってきた重症副作用のサーベイランスを補完する上で必要な体制であると考えられる。国際社会における輸血製剤管理体制の現状及び、そこから得られた血液製剤中の細菌汚染について調査し、今後の日本の輸血製剤による副作用管理の在り方を検討する。

**1. ヘモビジランス概説**

HIV 感染以降、特にヨーロッパでは

輸血・血液の安全性対策が図られ、血液安全監視体制（ヘモビジランス）が

国レベルで確立されている<sup>1)</sup>。とくに、フランスでは1986年に提唱され、1995年にEC評議会において、加盟各国がヘモビジランスシステムを構築するよう決議された。これを受けて加盟各国はその取り組みを開始した。1998年には、EU15カ国にスイスとノルウェーを加えて「ヨーロッパヘモビジランスネットワーク」が結成されている。EU加盟国の3分の2では、国が血液事業の責任主体とされており、国のイニシアチブの下でヘモビジランスが運営されている。国あるいは赤十字を問わず、国内を一元的に管理した安全監視体制を持つ国としては、フランス、イギリス、およびアイルランドなどが挙げられるが、取り扱われる報告は軽微ものから重篤なものまですべての有害事象とする国もあれば、死亡・重篤例のみあるいは感染症のみとする国もあり、様々である。

## 2. フランス

1) 世界に先駆けて1992年にヘモビジランスの実施に向けて、その定義および概念を規定した<sup>1)</sup>。1993年に全国の実施を法律で定めており、翌年から実施された。フランスの基本方針は、有害事象をたんに検出するだけではなく、それが国の保健医療のなかで持つ意味を理解できるよう疫学的に評価することにある。このため、医療機関と血液センターとを問わず、

すべての有害事象を報告することを法律で義務付けている。有害事象症例は、ヘモビジランスコーディネーターおよび各医療機関等に配置されたヘモビジランス担当者を通して、当該医療機関および血液センターの連携のもとにその原因が調査されフランス血液局 (AFSSaPS) に報告される。AFSSaPS はこれらの情報を管理し、その調査・研究に必要な対応を取るとともに、結果を一般に公開している。2004年の報告によると、輸血血液の年間供給数約255万単位中、有害事象の報告数は7557件であった。このうち、輸血との関連が否定できないものが75%である。また、全報告のうち、軽症例 (Grade 1) が75%、長期療養が必要な Grade 2 が20%、生命の危険があった Grade 3 が0.03%、死亡例 (Grade 4) が0.004%と報告している<sup>2)</sup>。

2) 1996～1998年に行われた細菌調査 (BACTHEM Case-Control Study) では血小板製剤から5例の *Co(-)Staphylococcus* を含むグラム陽性菌が10例、また2例の *Klebsiella spp* を含むグラム陰性菌が6例と計16例が報告された。うち死亡例は2例であった。赤血球製剤からは3例の *Co(-)staphylococcus* を含むグラム陽性菌10例、4例の *Acinetobacter spp* を含むグラム陰性菌15例、計25例が検出された<sup>3)</sup>。2003年のAFSSaPS からは、各2例ずつの

*S. aureus*と*S. epidermidis*による計4例の汚染血小板製剤が、*Y. enterocolitica*, *A. baumannii*, *A. baumannii* + *Bacillus* による3例の汚染赤血球製剤が報告された<sup>4)</sup>。2000年～2004年の5年間に発生した輸血関連敗血症の発生頻度はP-pcで1/22,080単位、A-pcで1/25,540単位である<sup>5)</sup>。

### 3. イギリス

1) イギリスは1994年からヘモビジランスシステム構築準備を開始し、ECの決議を受けて1996年から実施している。フランスとは対照的に、有害事象の報告は医療機関や血液センターから自発的に、かつ匿名性が守られた特別なルートを通じてなされており、後に訴追されることのないよう配慮されている。また、イギリスの基本方針は、実際に輸血の現場で起きている有害事象のプロフィールを把握することであり、人為的過誤の防止を安全監視の第一目標に掲げているため疫学的評価を目ざすものではない。そのシステムは、SHOT (Serious Hazards of Transfusion) と呼ばれ、国立臨床病理学者協会 (Royal College of Pathologist) の下で運営されている。2005年は403病院がSHOTに参加しており609件の有害事象が報告された。このうち、IBCT (ABO型不適合輸血) 79.6%、ATR (急性輸血反応) 11.1%、DTR (遅発性輸

血反応) 0.05%、TRALI 0.04%、TTI (輸血感染症) 0.005%、PTP (輸血後紫斑) 0.003%、TA-GVHD (輸血関連GVHD) 0であった<sup>6)</sup>。

2) SHOTの報告によると1996年～2005年までの副作用の解析から血小板製剤27例、赤血球製剤4例で輸血による細菌感染が疑われた。血小板製剤の検出菌の多くは*S. epidermidis*などの皮膚常在菌であった<sup>7)</sup>。

### 4. アメリカ

1) 米国ではこれまで輸血製剤の副作用は各血液センターで把握しているにとどまり、国主導型の信頼性のあるデータ収集はなされていない。そこで現在、米国は輸血製剤のみならず移植臓器や細胞治療の副作用管理までも含めたバイオビジランス構想を立ち上げ急ピッチで準備を進めている。輸血製剤のヘモビジランスに関しては2008年春にパイロットスタディを開始する予定である<sup>8)</sup>。

2) 1998年～2000年の3年間に渡って赤十字、血液銀行、国防総省、CDCが参加して行った輸血による前方視的細菌調査 (Bacterial Contamination of Blood : BaCon Study) によると該当血小板製剤は29例あり、敗血症の発生頻度は赤血球製剤の100万単位0.21件に対してA-pcでは9.98件、P-pcでは10.64件と高頻度であった。当該血小板製剤から



は8例の Co(-) staphylococci を含む 18例のグラム陽性菌、5例の E. coli を含む 11例のグラム陰性菌が検出されている<sup>9)</sup>。この結果を踏まえて米国では2004年3月から血小板製剤において細菌検出装置の導入を必須としたが、それ以降も26例の血小板製剤による細菌感染症が報告<sup>10)</sup>されている。

## 5. カナダ

1) 仏語圏では1998年に英語圏では2002年に自発的な副作用監視体制が設立され、現在 TTISS (Transfusion Transmitted Injuries Surveillance System) として機能している。

2) 2002年～2003年の TTISS へ報告された副作用報告の解析結果によると、9例の血小板製剤で輸血による細菌感染が報告された。Co(-)Staphylococcus が3例、S. aureus が1例、Corynebacterium が1例、Bacillus spp が1例、G(+)菌が3例であった。当該赤血球製剤は10例で Co(-)Staphylococcus 5例、S. aureus 2例、Streptococcus spp が2例、P. acnes 1例であった<sup>11)</sup>。

## 6. 日本

わが国では1993年に、日本赤十字社が全国一律の医薬情報システムを組織し、副作用・感染症情報の収集を開始した。日赤では、医療機関から

報告される「副作用・感染症報告」、献血後に献血者又は検査データから得られた安全性に関する情報に基づく「献血者発の遡及調査」、製品又は原料に由来する感染症に関する論文等から得られた知見の評価に基づく「感染症定期報告」及び、海外措置情報や研究報告に関する情報に基づく「海外措置・研究報告」などを対象にしている。1993年に収集された輸血副作用に関する症例数は228件であったが、2005年には1,882件を数えるまでになった。また、これまで約10年間の安全監視活動におけるもっとも大きな成果は、輸血後GVHD対策であろう。輸血後GVHDに対しては、1990年の全国調査を皮切りに毎年のように情報提供を行なって医療機関の注意を喚起しつつ、かつ一方ではその予防策として輸血血液の放射線照射を進められた。2000年以降現在まで、輸血後GVHDは報告されておらず、わが国において輸血後GVHDは激減した。輸血感染症対策については、1996年に輸血血液の検体の保管を開始し、同時にHBV、HCV、HIVの核酸増幅検査が開始され、それ以降HCVおよびHIVの輸血感染も激減した。HBVについては年間数例の輸血感染を認めるが、その検証を可能としたのは検体の保管と核酸増幅検査である。これらの事実は、日赤の安全監視体制が成果を上げていることを示すものである。

2) 2000年以降、細菌混入血小板製剤との関連性が高い致死症例として2例が報告されている。1例が *S. pneumoniae* で他方は *S. aureus* であった。1999年以前にも疑い症例の報告はあったものの関連性は明確にされていない。

## 7. 日本のヘモビジランスの改善点

このように日本赤十字社の輸血副作用に関する集計が一定の成果をあげてきたが、現在の日本におけるヘモビジランスの体制をさらに充実させる必要がある。その理由として、副作用に関する情報は基本的には医療施設の自主申告であり、重症例に偏りがちである。2005年の日赤血液センターへの副作用報告は約1,882件であるが、実態はその10倍(20,000件、輸血件数(100万)の2%前後)であると推定されている<sup>1,2)</sup>。2004~2005年にかけて特定5施設において行われた、高本滋教授らの免疫学的輸血副作用の把握とその対応に関する研究(厚生労働科学研究費補助金、レギュラトリーサイエンス研究事業)は示唆にとんでいる<sup>1,2)</sup>。輸血副作用として溶血性副作用が1件認められたが、その他のほとんどが発熱、蕁麻疹、掻痒感などの軽症の免疫学的副作用であることが判明した。さらに、この間に導入が図られた保存前白血球除去と輸血副作用の関連を解析したところ、保存前白血球除去は

発熱などの低頻度副作用には有効なもの、蕁麻疹など高頻度アレルギー反応には無効なため、全体として、副作用の軽減に至っていないとする結論を導きだしている。軽症を含めた輸血副作用の情報集積は、単に有害および未知の事象についての分析・評価のみならず、安全性向上のために導入された保存前白血球除去などの施策の有効性を評価する上で貴重なデータにむすびつく可能性を示している。これらのことをふまえて、日本におけるヘモビジランスのさらなる充実を図るためには、1) 輸血副作用の大部分を占める軽症を含めた完全把握を行なう。2) 施設間差のない共通認識のもとに統一された副作用情報の収集を図る。3) インターネット上もしくは定期の刊行物として、輸血関連施設を含めて広く一般に情報を公開することが必要である。

## 8. まとめ

平成15年に「安全な血液製剤の安定供給の確保等に関する法律」が制定され、血液製剤の安全性に関わる法的な位置付けが明確化された。輸血の安全性の向上のためには、更なる努力が必要である。

### 文献

1) 田山達也、世界のヘモビジランス事情、血液製剤調査機構だよ

- り, 71:6-9, 2004
- 2) France-Haemovigilance Annual Report :2-3, 2004
- 3) Perez P, Salmi LR, Follea G, et al.: Determinants of transfusion-associated bacterial contamination of the French BACTHEM Case-Control Study. Transfusion, 41:862-872, 2001
- 4) Rebibo D, Hauser L, Slimani A, et al.: The French Haemovigilance System: organization and results for 2003. Transfusion of Apheresis Sci, 31: 145- 153, 2004
- 5) Haemovigilance in France: annual report. 2004
- 6) SHOT Annual Report 2005 p17-18
- 7) Stansby D, Jones H, Cohen H, et al.: Summary of ANNUAL REPORT 2005.
- 8) AABB weekly news 13(43) Nov 16, 2007
- 9) Kuehnert MJ, Roth VR, Haley NR, et al.: Transfusion-transmitted bacterial infection in the United States, 1998 through 2000. Transfusion, 41:1493-1499, 2001
- 10) Eder AF, Kennedy JM, Dy BA, et al.: Bacterial screening of apheresis platelets and the residual risk of septic transfusion reactions: the American Red Cross ex-

perience(2004-2006). Transfusion, 47:1134-1142. 2007

11) Transfusion Transmitted Injuries(TTI) Section

12) 高本滋、免疫学的輸血副作用の把握とその対応に関する研究、厚生労働科学研究費補助金 平成18年度報告書、2007

## 9. 健康危険情報

健康に影響を及ぼした事象は発生しなかった。

## 10. 研究発表

(和文)

1. 浜口 功、山口一成：輸血・移植と感染症. 小児感染症学 特殊な状況下での感染症 155-161 診断と治療社 2007
2. 山口一成：輸血医療・医学の新展開 はじめに 医学のあゆみ 第1土曜特集 218 No.6 555, 2006

(発表)

1. Consecutive Monitoring of Dissolved Oxygen Consumption by DOXTM to Evaluate Bacterial Contamination in Platelet Concentrates. H Otsubo, Y Sasaki, K Yamaguchi, Y Hoshi. AABB Annual Meeting & TXPO 2007 Anaheim CA USA
2. 溶存酸素濃度測定による血小板内混入細菌の同定. 大坪寛子, 山口一成, 星順隆. 第55回日本輸血・細胞治療学会総会 (名古屋, 2007)

「輸血用血液の細菌感染防止と血小板製剤の有効期限延長に関する研究」  
(H17-医薬-一般-051)

### 細菌の 16S rRNA 遺伝子増幅法を用いた混入細菌の検出

分担研究者： 高松純樹 教授 名古屋大学医学部附属病院輸血部

共同研究者： 大藏照子 名古屋大学医学部附属病院検査部

#### 研究要旨：

細菌が混入した血小板製剤を高感度で検出する目的で 16S rRNA 遺伝子増幅法を検討した。8 菌種 32 株を使用し、418bp の増幅産物を確認した。検出限界は菌液濃度  $10^4$ - $10^6$  CFU/ml (1 反応チューブあたり菌  $10^1$ - $10^3$  個) であった。培養法では検出限界以下で偽陰性となる場合であっても、16S rRNA 遺伝子増幅法では DNA が残っていれば検出可能と考えられる。

一方、16S rRNA 遺伝子増幅法の問題点として、複数菌混在の場合や増幅する DNA 領域が短い場合は菌の同定、型別は難しいことが挙げられる。培養法では菌株が得られるので輸血後感染症発生時の精査に使用できる。また、培養法は無菌操作のみで十分であるが、16S rRNA 遺伝子増幅法は細菌 DNA の混入を防がねばならず、機具や試薬の選択、取り扱いにより注意が必要である。

#### 【研究背景と目的】

血小板製剤の有効期限延長を目指す上で、細菌汚染製剤の輸血後敗血症のリスクが懸念されている。初流血除去や白血球除去フィルターの使用によって汚染菌を減らすことはできるが、完全には除去できない。現在の製剤の保存条件は血小板機能保持の観点から必要であるが、混入し

た細菌の増殖には好都合である。低温保存により混入細菌の増殖が抑えられ、輸血後に生命を脅かすほどの菌量に達しないと期待されたが、低温 (10℃) 保存ではゆっくりと増殖する菌種もあり、有効期限が延長されれば最終的には危険な菌量になり得る事も確認した。細菌汚染を検出するため、主に培養による方法が諸