

これに対し、世界で市販されている血小板バッグには 1) PL2410 (ポリオレフィン; BaxterHealthcare, 米国)、2) CLX-Plastic (PVC; MedSep Corp., 米国)、3) ELP (PVC; GambroBCT, 米国) 等がある。しかし、これらのバッグは通常バッグの容積を大きくすることによって、バッグ全体の酸素透過性を向上させている。

同様の新鮮血小板を用いた評価では、AuBuchon らの 2005 年の報告¹⁰⁾がある。ELP バッグで日本における 15 単位相当の血小板を 7 日間保存し、%回復率が 84.5%、生体内寿命の比が 75.9%と良好なデータを報告している。本研究では、このデータよりも優位性を示すことはできなかった。本研究では、1 L の PO-80 バッグに、20 単位製剤を 250mL の血漿とともに保存した。AuBuchon らの報告には、バッグの容量、血漿量が記載されておらず残念ながら単純な比較はできないが、保存条件の違いが関与しているものと推察される。

血小板製剤の有効期限は 1985 年米国で 7 日間保存に延長されたが、細菌汚染の危険性が増大した為、5 日間保存に戻された¹³⁾。しかし、血小板製剤の 7 日間への期限延長は細菌検出システムや不活化技術の導入により、欧州では有効期限を 7 日間に延長した国もでてきた。米国でも再度、有効期限を 7 日間に延長しようと現実的な臨床検討がスタートしている。今回、2 つの異なる細菌検出システム、BacT/ALERT (Biomerieux) および eBDS (Pall/川澄) 使用し、細菌汚染がないことを確認した。保存第 1 日目に採取した

サンプルを BacT/ALERT (Biomerieux) で継続的に 7 日まで培養監視し、返血前日に採取したサンプルを eBDS (Pall/川澄) にて 24 時間後に判定する方法は、それぞれの機種の特徴を生かした細菌汚染監視システムと考えられる。しかしながら、実際の供給システムに組み込むには、コストの問題をはじめ、実施するのは難しいであろう。細菌汚染の検出方法には更なる検討が必要である。

E. 結論

日本で開発された高酸素透過性血小板保存バッグ PO-80 は 20 単位血小板製剤で 7 日間保存し、ボランティアドナーへ返血した *in vivo* 評価でもその回収率および血小板寿命は良好に保たれていた。非劣性試験でも、回復率、生体内寿命両者において対照群の 66.7%以内という厳しい条件を満たしていた。これにより臨床使用が十分可能であると考えられた。本バッグによって、機能的には血小板有効期限を 7 日へ延長することも十分可能であることが示唆された。

参考文献

1. Dumont L, VandenBroeke T. Seven-day storage of apheresis platelets: report of an *in vitro* study. *Transfusion* 2003;43:143-50.
2. Dumont L, AuBuchon J, Whitley P, et al. Seven-day storage of single-donor platelets: recovery and survival in an autologous transfusion study. *Transfusion* 2002;42:847-54.
3. Yuasa T, Ohto H, Yasunaga R, et al.

- Improved extension of platelet storage in a polyolefin container with higher oxygen permeability. *British Journal of Haematology* 2004;126:153-159.
4. 江月将史、伊藤隆俊、川畑絹代、大戸 齊、他. 高酸素透過性バッグによる高単位血小板の室温長期 (9日間) 保存. *日本輸血学会雑誌* 2005;51:578-584.
 5. Dumont, L.J. Analysis and reporting of platelet kinetics studies. *Transfusion*, 2006; 46(Suppl), 67S-73S.
 6. AuBuchon J, Herschel L, Roger J. Further evaluation of a new standard of efficacy for stored platelets. *Transfusion* 2005;45:1143-50.
 7. Lötter M, Rabe W, Zyl JV, et al. A computer program in compiled basic for the IBM personal computer to calculate the mean platelet survival time with the multiple-hit and weighted mean methods. *Comput Biol Med* 1988;18:305-315.
 8. Murphy S, Rebullia P, Bertolini F, et al. In vitro assessment of the quality of stored platelet concentrates. The BEST (Biomedical Excellence for Safer Transfusion) Task Force of the International Society of Blood Transfusion. *Transfus Med Rev* 1994;8:29-36.
 9. Slichter SJ, Bolgiano D, Jones MK, Christoffel T, Corson J, Rose L, Foley J, Popovsky M, Baril LL, Corda T, Dincecco DM, Snyder EL. Viability and function of 8-day-stored apheresis platelets. *Transfusion*. 2006; 46(10):1763-1769.
 10. AuBuchon J, Snyder E. The rationale for a standardized approach to assessment of platelet kinetics. *Transfusion* 2006;46 (3 Suppl): 44S-48S.
 11. Murphy S. Improved storage of platelets for transfusion in a new container. *Blood* 1982;60:194-200.
 12. de Wildt-Eggen Jd. Improvement of platelet storage conditions by using new polyolefin containers. *Transfusion* 1997;37:476-81.
 13. Kuehnert J, Virginia R, Roth N. Transfusion-transmitted bacterial infection in the United States, 1998 through 2000. *Transfusion* 2001; 41:1493-9.
- F. 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。
- G. 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)

学会発表

- 1) 菅野隆浩、江月将史、川畑絹代、大戸齊、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.
- 2) 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.

H. 知的所有権の発生

なし。

Table 1 Fresh versus stored radiolabeled autologous platelet recovery and survival.

Recovery (%)					Survival (days)		
Control		Test		Difference	Control		Difference
(fresh)	Radiolabel	(7-day)	Radiolabel		(fresh)	(7-day)	
54.1	⁵¹ Cr	42.7	¹¹¹ In	11.4	7.7	5.9	1.8
65.0	⁵¹ Cr	56.1	¹¹¹ In	8.9	7.9	6.7	1.2
56.2	⁵¹ Cr	44.9	¹¹¹ In	11.3	7.1	6.3	0.8
35.0	⁵¹ Cr	27.9	¹¹¹ In	7.1	9.2	7.3	1.9
71.6	¹¹¹ In	47.8	⁵¹ Cr	23.8	6.1	4.0	2.1
77.5	¹¹¹ In	73.3	⁵¹ Cr	4.2	6.7	6.7	0
65.6	¹¹¹ In	49.2	⁵¹ Cr	16.4	8.9	8.0	0.9
64.8	¹¹¹ In	60.1	⁵¹ Cr	4.7	8.5	5.2	3.3
61.2		50.3		11	7.8	6.3	1.5
13.0		13.4		6.5	1.1	1.2	1
20.4					2.6		
		15.3				2.1	

MAD represents maximum acceptable difference. UCL95 represents upper 95 percent confidence limit. Because recovery 15.3% < 20.4% and survival 2.1 days < 2.6 days, we reject the null hypothesis and accept that the test is not inferior to control.

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 輸血医学・移植免疫学

分担研究報告書

血小板製剤混入細菌検出に対するCO₂センサーの応用

分担研究者： 浅井隆善 静岡県赤十字血液センター

研究要旨：

血小板製剤の細菌汚染対策として、白血球除去や初流血除去によっても完全に除去されない汚染細菌を検出するために、CO₂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。検査感度や費用対効果、および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CO₂による偽陽性の可能性が認められた。このことの対策として、CO₂センサー感度の調節により予防が可能であることが確認された。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、本用具は、室温保管の血小板製剤細菌検査に応用が期待される。

1. 研究目的

我が国において血液センターから製造・供給される血小板濃厚液は、全て初流血を除去し、保存前白血球除去を行った成分採血由来の製品になっている。このために、血小板製剤中に細菌の汚染する可能性は少なくなってきたと想

定されるものの、未だ皆無になったとは考えにくい。そこで、白血球除去や初流血除去処理によっても一定の細菌が混入することを想定し、定性試験用呈色反応方式細菌検査用具であるセンシメディアについて、細菌汚染検出の有用性についても検討した。

2. 方法

1) CO₂センサーによる細菌検出

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®、マイクロバイオ株式会社、東京) 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CO₂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CO₂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CO₂産生を認識することが出来る。

測定用検体には、生理食塩水に浮遊した細菌浮遊液、または、無菌的に製造した血小板濃厚液を使用した。

検出感度測定は、陽性の色調に変化するまでの時間を測定して記録した。陽性までの時間測定は、センシメディア専用の細菌繁殖時間計測用インキュベーターであるバイオマティック20

(Biomatic®20、マイクロバイオ株式会社、東京) を用いて、35℃、あるいは22℃に孵置して測定した。

本来のセンシメディアに内蔵されているCO₂センサーは、その素材が5Nで示される感度の高いものであるが、感度調節のために敢えて感度を下げた8Nを素材にしたセンシメディアも測定に使用した。また、血小板のCO₂代謝が直接にCO₂センサーの届きにくいように、血小板を吸着剤に吸着させて測定することも試みた。

2) BACTECによる細菌検出

センシメディアの細菌検出感度を比較するために、比較対象検査として、血液培養用のBACTECシステム (日本ベクトン・ディッキンソン株式会社、東京) を用いて測定して比較した。測定は、好気性菌血液培養用レズンボトルに、センシ

メディアに使用したのと同じ生理食塩水浮遊細菌液を検体として各5ml添加した。測定結果は、自動測定機器内蔵恒温室に設置して陽性化までの時間を記録した。

3) 細菌浮遊液

接種実験に使用した細菌は、以下の菌種を用いた。凍結保存していた菌株を解凍し、羊血液寒天培地にて継代培養して細菌コロニーを形成させた。使用前に細菌コロニーの一部を生理食塩水に浮遊させて細菌数を確認した後に、必要量をセンシメディア、またはBACTECの液体培養液に添加した。

・ *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228)

・ *Escherichia coli* (ATCC 8739)

・ *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13882)

・ *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027)

・ *Serratia marcescens* (ATCC14756)

4) 細菌コロニー測定

細菌数の測定は、細菌コロニー数を測定した。血液製剤から得られた検体は、予め生理食塩水で50倍毎に段階希釈して、各希釈細菌浮遊液の0.1mlを5%ヒツジ血液寒天培地に塗布した。37℃で培養した後に形成された細菌コロニー数を測定して、1ml当たりの細菌数を求めた。

5) 使用血液製剤

センシメディアの測定、あるいは感度測定に用いた濃厚血小板製剤は、静岡県赤十字血液センターにて、MAP加赤血球製造の過程で除去されて廃棄対象となった白血球層を用いて、再遠心により分離された各成分を合成して作成した。即ち、白血球層の遠心分離を繰り返して、血漿層、血小板層から各成分を分離採取して、それらを適宜組み合わせそれぞれの製剤を作成した。また、保存前白血

球除去が開始されてからは、濃厚血小板の原料血液から余剰部分を分離し合成したものへの供与を受けた。血小板濃厚液は約200ml（約10単位）に調整した。再利用製造したこれらの製剤は、従来のポリオレフィンバッグ（POバッグ）、または、新たに開発されて、酸素やCO₂ガス透過性により優れているPO-80バッグにて保管した。

3. 結果

1) CO₂センサーを用いた細菌検出検査の感度

主に食品分野で開発されて、最近では医用分野でも透析液の無菌検査に応用されてきている定性試験用呈色反応方式細菌検査用具であるセンシメディアを使用して、血小板濃厚液の細菌汚染検出に応用可能か検討を行った。センシメディアは、スクリュウキャップ付き15ml試験管内に液体培地とCO₂ガスセンサーが納められた細菌検査用具である（図1）。CO₂ガスセンサーは半透析膜の袋に封入されて濃紺色の液体であるが、試験管内のCO₂量が一定以上に達すると、これを吸収して薄黄色に変化する。このことを試験管外から目視で観察することにより、一定量以上の試験管内CO₂産生を検出することが出来る。また、バイオマティック20を用いて、陰性または陽性であるとの機械判定結果表示も可能であり、検査開始から陽性までの時間測定も記録できた。細菌検査結果については、製造会社が作成した各種細菌の検査結果が提供されているが（図2）、測定感度検査として、生理食塩水に浮遊した各濃度の細菌浮遊液を用いて検出に要する時間を測定してBACTECと比較した（表1）。検体量は、センシメディアに各1ml、BACTECに各5ml添加した。

5種の細菌を用いて段階希釈した細菌浮遊液の検出時間を表4と表1に示したが、*Escherichia coli*、*Klebsiella pneumoniae*、*Pseudomonas aeruginosa*、および*Serratia marcescens*、の4菌種では低濃度においても25時間以内に検出可能であり、BACTECと比較すると検出時間が長くなる傾向があるものの、検出感度は遜色ないものと思われた。*Staphylococcus epidermidis*、は、他菌種に比較して検出時間が長くかかったが、低濃度ではBACTECよりも早い時間に陽性が記録された（表1、図3）。これらの結果から、検体量の違いや菌種の違いを考慮に入れると、細菌検査の感度においては、従来の血液培養検査機器に近い細菌検出能力があるものと考えられた。

2) 温度による検出時間の影響

4種類の細菌浮遊液を用いて、35℃、あるいは22℃における細菌検出時間を比較した。測定は、陽性の色調に変化するまでの時間を測定したが、時間測定はバイオマティック20を用いて、孵置温度を35℃、あるいは22℃に設定して時間を計測した。結果は、表2および図4に示すが、4種類の細菌株の全てにおいて、また、各濃度において、35℃孵置よりも22℃孵置では検出時間が延長した。

3) 血小板濃厚液の代謝によるCO₂産生と擬陽血小板性表示

センシメディアの細菌検出は、細菌の代謝によって産生されたCO₂を感知する機序を用いているが、血小板濃厚液は新鮮で高濃度の血小板が浮遊して室温下で代謝を維持している製剤であることから、血小板由来CO₂も影響することが考えられる。このことを検証するために、無菌血小板濃厚液を検体に用いてセン

シメディアによる陽性表示を計測した。結果は表3と図5に示したが、無菌状態においても陽性を示し、その検出時間は検体量に応じて早くなる傾向が見られた。しかし、採血後71時間保管した血小板濃厚液では、検体量を3mlに増量しても擬陽性を呈することはなかった(表3、図5)。このことから、新鮮血小板濃厚液を検体に用いた場合に偽陽性を示し易いことが確認された。

同様の実験を、従来のPOバッグより酸素やCO₂ガス透過性に優れているPO-80バッグに保管した血小板濃厚液を用いて行った。結果は表4と図6に示すように、検体量を2ml以上に増量すると、採血後78時間保管した血小板濃厚液でも偽陽性を呈することが観察された。つまり、ガス透過性の改善した血小板濃厚液では長時間保管した後でも、新鮮な血小板に近い代謝が保持されて、相当量のCO₂産生が維持されていることが示された。

4) CO₂センサーの感度調節による偽陽性回避の試み

本来のセンシメディアに内蔵されているCO₂センサーは、その素材が5Nで示される感度の高いものであるが、感度調節のために感度の低い8Nを素材にしたセンシメディアを作成して測定に使用した。また、血小板のCO₂代謝が直接にCO₂センサーに届きにくくするために、血小板を吸着剤に吸着させて測定することも試みた。これらの結果を表5と図7に示すが、新鮮な血小板を用いてもかかわらず、血小板吸着剤を使用することにより、5NのCO₂センサーにおいて偽陽性を表示するまでの時間に延長が認められた。また、さらにCO₂センサーを8Nに変えることにより、2ml以下の検体量では、120時間の測定時間内で

の偽陽性表示が見られなかった(表5、図7)。

4. 考察

輸血用血液は、平成18年度末から、初流血除去とともに保存前白血球除去が実施されている。このことにより、採血時の表皮細菌の混入は大幅に阻止され、菌血症状態の細菌もある程度に除去されるものと期待される。そして、初流血除去の細菌汚染予防効果に関する実験データの蓄積によって、我が国の血小板濃厚液の使用期限は、平成20年11月15日から、従来の“採血後72時間まで”から、“採血日から4日目まで”に延長された。このことから、半日前後の使用期限延長が計られ、午後の使用頻度の高い時間帯で有効期限切れになる状況が回避されやすくなった。しかし、これまでに報告された血液製剤混入細菌は、表皮常在菌以外も検出されており、また、必ずしも白血球除去操作によって除去されない細菌も見受けられ、初流血除去や白血球除去開始後に輸血用血液への細菌汚染が皆無になるかは疑問である。これらの効果は、血液センターにおける今後の無菌試験結果を参考にしながら、医療機関における輸血実施現場への影響を評価することが必要であろう。

一方で、血小板製剤の一部が期限切れとなっている実情が、少数ながら残されている。特に、交通の不便な地方では、少ない血小板製剤を有効使用するためには、使用期限がより長いことが望まれている。このことから、全ての輸血用血小板製剤の細菌検査への模索は続けざるを得ない。現在、諸外国での輸血用血液に対する細菌検査には、BacT/ALERTやeBDSが使用されて報告されているが、

本研究では、より経済的で、製造所や保管管理部門で扱い易い機器の一つとして、CO₂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であるセンシメディアについて、その有用性について検討した。

このセンシメディアの細菌検出感度については、表1に示されるように、多くの菌で良好な感度を示し、検査した5菌株のうち4菌株では、2個/mlの少量の細菌浮遊液にても25時間以内で検出できた。また、孵置温度を室温の22℃に設定して同一検体を測定したが、検出時間がほぼ倍増するものの、一定の検出効果を示した。この37℃における検出感度を比較するために、同一検体をBACTECでも測定した。BACTECは、BacT/ALERTと同様に医療機関で血液培養用機器として汎用されている機器であるが、センシメディアでの細菌検出時間は、BACTECに比べて長くかかり、感度に於いてはBACTECが優っていた。この結果は、検体量がBACTECの5mlに対して、センシメディアが1mlのサンプリングで測定されていることを考慮すると、感度においては、BACTECに準ずる結果であると評価して良いと思われる。さらに、図3に示すように、比較的増殖速度の遅い菌である*Staphylococcus epidermidis*では、2個/mlから5000個/mlの細菌濃度の低い検体では、BACTECの方が遅い検出時間を示していた。これは、BACTECはBacT/ALERTと同様に、細菌の代謝の指標であるCO₂増加や酸素の減少が、白血球等の血液細胞の代謝によるCO₂増加や酸素の減少に左右されないように、指数関数的な変化を捉えた時点を検出時間として表示しているためであろう。この意味においては、センシメディアは、測定試験管内のCO₂蓄積が規定の閾値に到達す

るとpHが変化してセンサーが変色する機序であるので、増殖が緩慢であっても一定量のCO₂が産生された時点で検出できることの違いによるものと思われる。しかし、このことは、センシメディアは、血球細胞の代謝による偽陽性を生ずる危険性を示唆すると考えられる。

事実、センシメディアにおいては、無菌の血小板濃厚液で、その新鮮さや検体量に応じて敏感に偽陽性を呈することを確認した。つまり、表3や図5に示したように、採血後の期間が短いほど偽陽性を呈する時間が早く、血小板の代謝が活発なためであると想像される。このことは検体量が多いほど検出時間が早いこととも一致する。然るに、血小板濃厚液を従来のPOバッグよりガス透過性の高いPO-80バッグに保管して同様の実験を行ったところ、表4と図6に示すように、採血後時間による偽陽性表示の時間延長の程度が現れ易くなっていた。このことは、PO-80バッグ保管により血小板の代謝が新鮮な時期に近い状態で維持されるようになっていたと想像される。図らずも、PO-80バッグの血小板保管効果が良いことを立証されるデータではあるが、センシメディアによる偽陽性提示という、検査特異性に欠ける問題をも再確認する結果となった。

これらの結果から、センシメディアの細菌検出感度は、BACTECに準ずる評価をすることができるものの、検査特異性については血小板濃厚液を検体とする場合には問題が残る評価であった。そこで、この偽陽性を改善させる目的で、センシメディアのCO₂センサー感度を調節することを試みた。まず、血小板の代謝によるCO₂産生の影響を直接受けにくくするために、血小板の吸着体を試験管内の液体培養液に挿入した。この結果、表

5や図7に示されるように、従来のCO₂センサーである5Nに血小板吸着体を添加すると、添加しなかった場合に比べて偽陽性を呈しにくくなり、同一検体量における偽陽性提示時間が延長した。また、CO₂センサーを感度の低い8Nにしたところ、表5や図7のように、さらに偽陽性を呈する検体の必要量が増し、提示までの時間が延長した。このことから、センシメディアにおける偽陽性は、CO₂センサーの感度を下げる方向で調節することにより、偽陽性を表示しにくくすることが出来た。これらの結果から、血小板濃厚液の添加量を一定以内にするにより、偽陽性表示を防止することができる可能性が考えられた。図8に示すように、偽陽性は血小板の代謝で産生されたCO₂の蓄積により生ずると考えられるため、CO₂センサーの陽性表示閾値は図9に示すように、血小板由来のCO₂に加えて細菌由来のCO₂が蓄積された時に初めて感知する範囲に設定することが求められる。

センシメディアは他機器に比較して安価であり、経時的に各時間での陽性化の有無を判定でき、目視でも判定できることが大きな利点である。さらに、自動判定機器も備えていることから、輸血用血液の細菌検査に応用することは可能と思われた。現在は、スクリーキャップ付きの15ml試験管に収められているので、検体添加はキャップを開けて解放状態で行うが、今後はバッグに収納することによって、チューブのSCD接続による閉鎖回路でのサンプリングへの改良工夫も期待したい。陽性の判定はCO₂センサーの色調変化が顕著であることから、肉眼による目視も容易に判断できることも利点であり、サンプリング方法が改良されれば、臨床現場での検査も

可能と思われる。さらには、製剤の一部をこの検査に供した後に、使用直前まで保管して最終判定にも使用することも可能と思われる。

米国ではBacT/ALERTを用いて全数細菌検査を行うことにより血小板製剤の使用期限を5日から7日に延長している。しかし、2007年のAABB総会では、これらの検査をすり抜けた細菌汚染例が報告され、今後は、保管期間中の複数回細菌検査が必要であるとの意見も聞かれた。これらの意見の集約には注目したいが、複数回の検査を実施するためには、製造施設とともに販売施設においても実施できる検査が必要となり、経済的に許容可能な範囲で実施出来ることが必要である。その意味では、センシメディアは利点が多く、期待できる検査方法であり、今後の工夫改良を模索したい。

5. 健康被害報告

健康被害など問題となる事例は発生しなかった。

6. 研究発表

(学会発表)

1. 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.
2. 浅井隆善、村瀬康子、伊村公良、服部隆夫、向後勝成. 血小板成分採取時に於ける混入細菌の動態. 血液事業 30 (2)、第31回日本血液事業学会抄録集、326、2007.
3. 浅井隆善、伊村公良、服部隆夫、向後勝成. : CO₂センサー内蔵呈色反応方式細菌検査用具の血小板製剤無菌試験への応用. 血液事業 30 (2)、第31回日本血液事業学会抄録集、327、

2007.

- 4 . 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.
- 5 . Takayoshi Asai, Yasuhiko Fujii, Hitoshi Ohto. Evaluation of a New pH Indicator as a Detection Agent of Bacterial Contamination in Platelet Concentrates . Vox Sanguinis 93(Supl2), Abstract of the XVIIIth Regional Congress of the ISBT, p43-44, 2007.

表1. SensiMediaによる細菌検査－BACTECとの比較－

細菌種名	細菌濃度(個/ml)	2	増殖細菌検出時間(時間)				
			100	5000	250000	12500000	
	検出方法(*)						
Staphylococcus epidermidis	SensiMedia	31.8	29.1	24.5	19.1	13.9	
	BACTEC	41.42	31.03	28.2	13.01	5.51	
E. Coli	SensiMedia		12	10	9	6	
	BACTEC	11.22	8.05	6.37	4.35	2.84	
Klebsiella pneumoniae	SensiMedia	13	11	9	7	5	
	BACTEC	9.84	7.67	5.51	3.83	2.33	
Pseudomonas aeruginosa	SensiMedia	25	23	20	17	13	
	BACTEC	16.73	13.51	10.68	7.34	3.83	
Serratia marcescens	SensiMedia	15	13	10	8	6	
	BACTEC	11.02	8.69	6.52	4.02	2.01	

使用細菌浮遊液量	SensiMedia	1ml
	BACTEC	5ml

孵置温度	SensiMedia	35°C
	BACTEC	35°C

* : 生理食塩に浮遊した各濃度細菌浮遊液を検体に使用した

表2. SensiMediaによる細菌検査－35℃と室温との比較－

細菌種名	細菌濃度(個/ml)	増殖細菌検出時間(時間)						
		2	100	5000	250000	12500000		
	孵置温度							
E. Coli	35℃	ND	12	10	9	6		
	22℃	47	27	24	24	18		
Klebsiella pneumoniae	35℃	13	11	9	7	5		
	22℃	24	22	19	15	12		
Pseudomonas aeruginosa	35℃	25	23	20	17	13		
	22℃	52	47	42	35	30		
Serratia marcescens	35℃	15	13	10	8	6		
	22℃	25	23	20	17	13		

* : 生理食塩に浮遊した各濃度細菌浮遊液1 mlを検体に使用した
 ND : 検出されず

表3. SensiMedia測定時の偽陽性表示時間と検体量および血小板の採血後時間
(POバッグに保存した血小板濃厚液のデータ)

検体量 (ml)	時間		
	測定①	測定②	測定③
	偽陽性表示時間		
0.5ml	168以上	168以上	168以上
1ml	16.1	168以上	168以上
2ml	7.7	15.1	168以上
3ml	4.6	9.4	168以上
5ml	3.5	7.4	NT
採血から測定開始までの時間			
	5	31	74

孵置温度 35°C
 血小板濃厚液の血小板濃度 143万/cmm (POバッグに40ml保存)
 NT 測定せず

表4. SensiMedia測定時の偽陽性表示時間と検体量および血小板の採血後時間
(PO80バッグに保存した血小板濃厚液のデータ)

検体量 (ml)	時間		
	測定①	測定②	測定③
0.5ml	300時間以上	偽陽性表示時間 300時間以上	300時間以上
1ml	17.7	24.3	300時間以上
2ml	7	6.7	56.2
3ml	4.5	5.5	9.7
5ml	3.2	4.2	5.2
採血から測定開始までの時間			
	5	30	78

孵置温度

35℃

血小板濃厚液の血小板濃度

124万/cmm (PO80バッグに200ml保存)

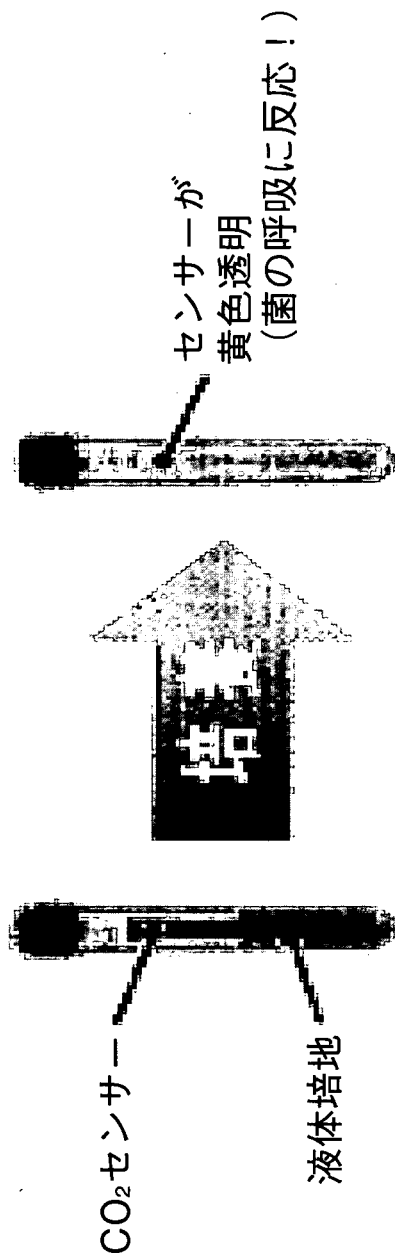
表5. SensiMedia測定時の偽陽性表示時間と検体量および血小板の採血後時間
(PO80バッグに保存した血小板濃厚液のデータ)

検体量 (ml)	時間		
	測定①	測定②	測定③
0.5ml	120時間以上	120時間以上	120時間以上
1ml	31.9	89.9	120時間以上
1.5ml	7.3	120時間以上	120時間以上
2ml	4.4	70	120時間以上
2.5ml	NT	44	89.9
採血から測定開始までの時間			
CO2センサー	5	5	5
吸着体	無し	有り	有り

(5Nは感度が高く、8Nは感度を下げたCO2センサー)

孵置温度 35℃
血小板濃厚液の血小板濃度 103万/cmm (PO80バッグに200ml保存)

図1. Sensi Mediaの細菌検出原理



細菌検出

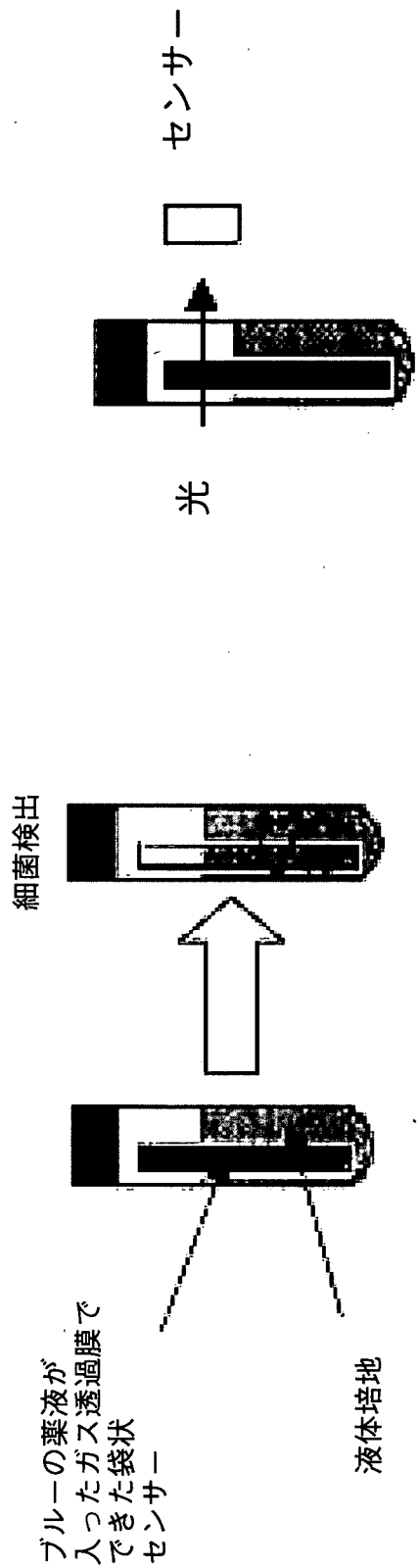


図2. 制作企業提示の細菌検出感度のデータ

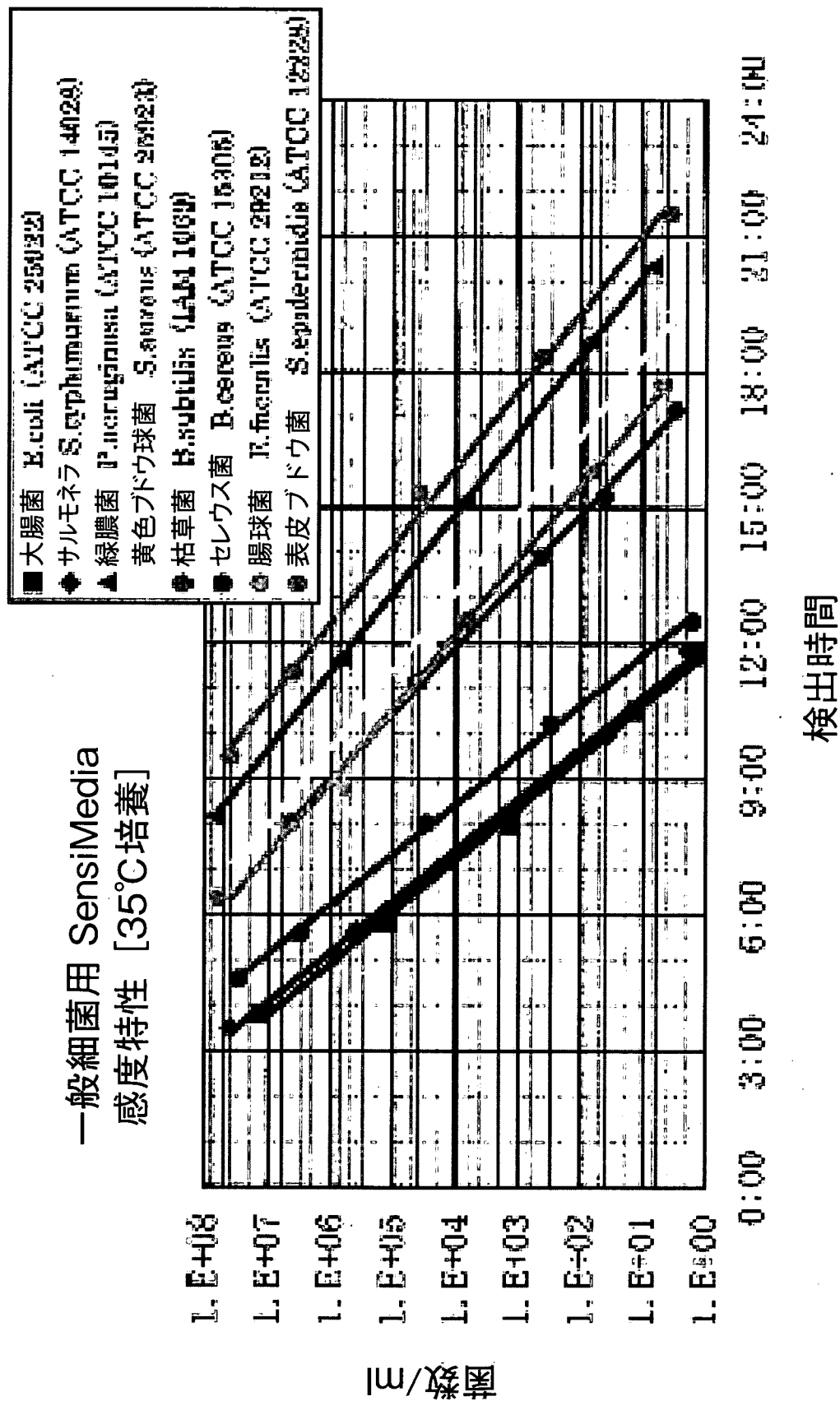
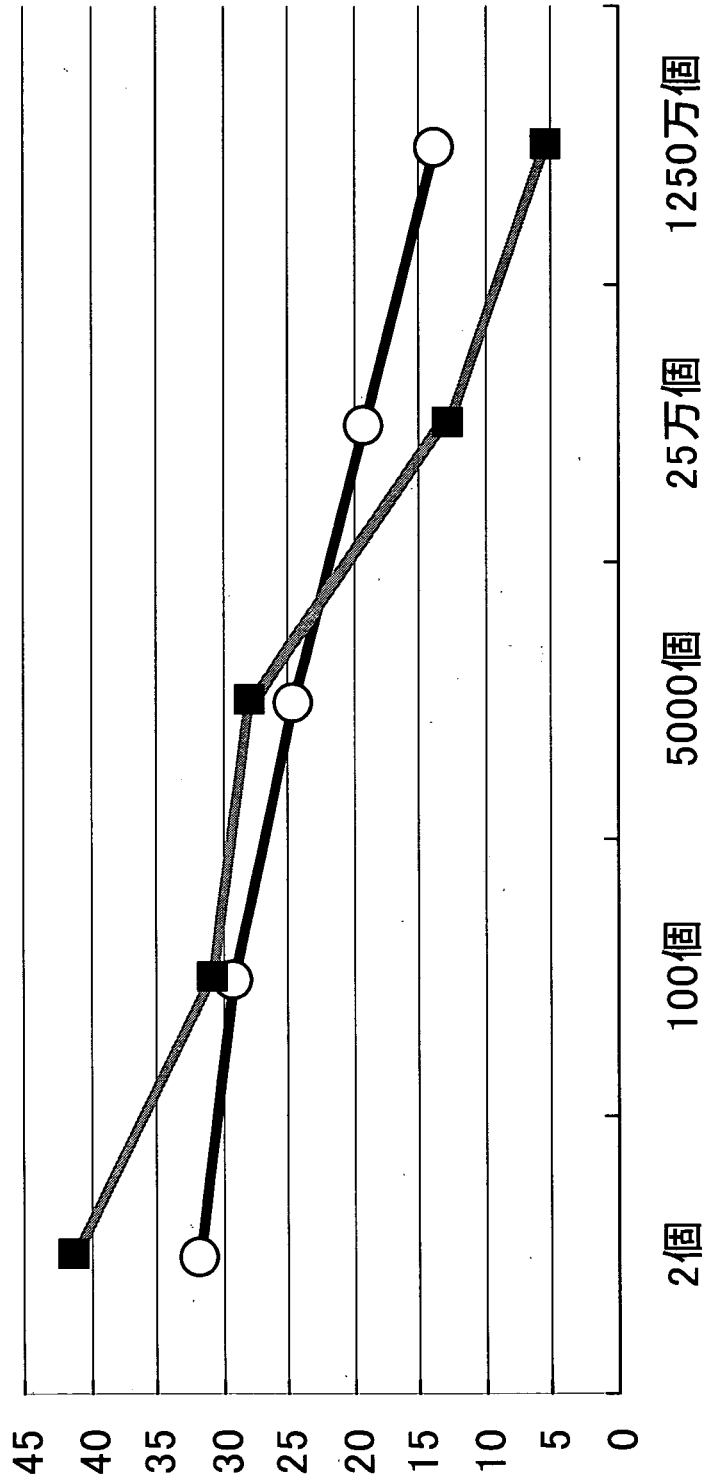


図3 SensiMediaを用いた細菌検出検査結果

使用細菌: *Staphylococcus epidermidis*

○ SensiMedia ■ BACTEC

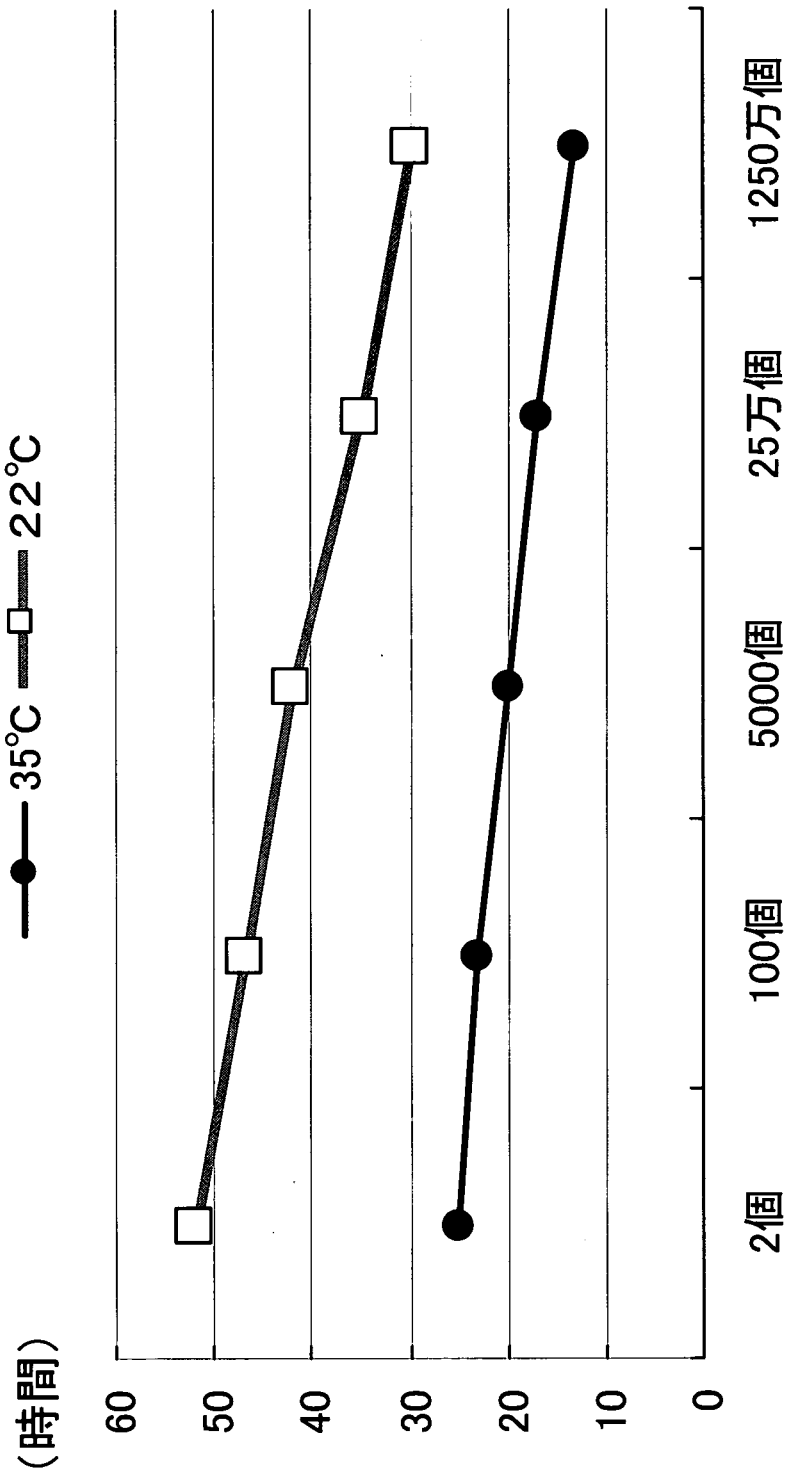


菌増殖検出までの時間(時間)

測定検体中細菌濃度(個/ml)

図4. 孵置温度の細菌検出時間への影響

使用細菌: *Serratia marcescens*



菌増殖検出までの時間

測定検体中細菌濃度(個/ml)