

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17-19年度 総合研究報告書

主任研究者 大戸 斉

平成20 (2008) 年 3 月

目次

I. 総合研究報告	
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 -----	1
大戸 斉	
血小板製剤による敗血症の予防と対応策に関する手引き -----	10
II. 分担研究者別の3年間のまとめ	
諸外国における血小板製剤細菌感染への対応と輸血製剤に対するヘモビジュランス の实情:日本における輸血製剤の安全性について-----	15
山口一成	
血小板製剤の低温保存による混入細菌の増殖抑制および核酸増幅法を用いた 細菌検出の可能性-----	20
高松純樹	
血小板製剤の細菌汚染の低減化と有効期限延長 -----	30
佐竹正博	
長期保存血小板製剤の機能評価と有効期限延長に伴う供給体制の改善-----	47
宮田茂樹	
培養式細菌検出システムによる血小板製剤接種細菌の検出および高酸素透過性 バッグを用いて保存した高単位血小板製剤の生体内寿命 -----	60
大戸 斉	
血小板成分採血時における混入細菌の動態と検出 -----	75
浅井隆善	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	101
IV. 研究成果の刊行物・別冊 -----	103

I. 総合研究報告書

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

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. 初流血除去は多くの先進国で導入されている。当研究班の初流血（30mL）除去についての報告（細菌検出率は通常採血の0.24%（7/2967）に比し、0.07%（2/2890）と低かった）を受けて、初流血除去は2007年3月から全国の赤十字血液センターに導入されることになった。
3. 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、危機的出血に対応しなければならない医療機関において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。同時に、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。
4. 日本で血液製剤から検出される菌種の半数以上を *Propionibacterium acnes* が占める。*P. acnes* を接種した血小板製剤をマウスに静注し、病原性を評価した。製剤中のケモカインとサイトカイン（IL-1 β 、IL-6、IL-8、RANTES）の蓄積は著しかった。しかし、菌の増殖速度はきわめて遅く、組織学と臓器コロニー数からは病原性は証明できなかった。
5. 低温保存条件での、細菌増殖態度を検討した。グラム陽性菌(*Staphylococcus aureus*)は4℃、10℃では増殖が抑制された。グラム陰性菌(*Serratia marcescens*, *Escherichia coli*)10℃保存では増殖を阻止することは不可能であった。4℃では *E. coli* は増殖抑制されたが、*Serratia* は抑制できなかった。
臨床現場を想定して複数菌の混入による菌相互の干渉を検討した。*S. aureus* と *S. Marcescens* を血小板製剤に混合接種すると両菌とも干渉を受けることなく、本来の増殖パターンを呈した。
6. 二種の培養式細菌検出装置、BacT/ALERT と eBDS、を用いて9種の接種細菌比較をした。両機種はほぼ同等の細菌検出力を有している。さらに両機種ともに直後サンプリングは標準法（24時間後）よりも偽陰性が多かった。培養式の細菌検出システムは有用であるが、完璧ではなく、偽陰性もありうる。
7. CO₂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CO₂による偽陽性の可能性があった。

8. 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) 外観変化で不適と判断された128血小板製剤の8割以上はスワーリングの消失（108件）が理由であった。しかし、2) 細菌増殖が原因でスワーリングが消失したものはなかった。
9. 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。
10. 血小板製剤は将来に亘って、有効期限を延長する必要性を内在している。優れた保存バッグが開発された現在、細菌試験を併用するなどして、7日間への延長を視野に置いて、検討・研究を続けるべきである。

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。当研究班は血小板製剤の有効期限延長が可能であるか、どのような問題をいかにして克服すべきであるかを研究してきた。

われわれの研究の甲斐もあって日本においても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80~86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。

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研究を進めてきた。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、5) 血小板保存技術の向上である。

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方法の確立
4. 輸血時の細菌汚染防止と細菌汚染が疑われる場合の対応指針の作成
5. 血小板保存技術の向上

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。スワーリング消失 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、平成 19 年 11 月以前ならば期限切れで廃棄となっていたものであった。

平成 19 年 11 月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

平成 18 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、2007 年から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たことに貢献した。

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) BacT/ALERT と eBDS の比較

世界的に汎用されている細菌検出システム 2 機種（BacT/ALERT と eBDS）の検出感度と接種後サンプリング時間（直後と 24 時間後）について検討した。その結果、直後サンプリングでは false negative が多く発生して 24 時間後のサンプリングが優れている判明した。両機種はほぼ同等の細菌検出力を有している。細菌混入の判別法として培養式細菌検出システムは検出に有用である。

2) CO₂センサーによる細菌検出

日本で食品検査用として製造販売されている細菌検査センシメディアの細菌増殖検出能を検討した。検査感度やコストでは優れているが、現時点では false positive 反応が出やすく、機器とサンプリングなどの改良が必要である。

3) 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。PO-80 保存血小板の回収率

と生体内寿命は共に新鮮血小板に対し、80%以上で良好であった。67%以上という国際基準を明白にクリアした。PO-80 による7日間保存は十分可能である。

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、赤十字血液センターから譲渡を受けた血小板製剤を用いての研究にあたって、善意の献血によるものであることを自覚して、丁寧な研究を心掛けた。

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

低温保存でも血小板機能保持可能となった場合、実際に細菌の増殖がどれほど抑制されるかを検討した。10℃あるいは4℃に置いた血小板製剤中で、細菌の増殖スピードは抑制されたが、一部の菌種（特に汚染菌として重要である *Serratia marcescens*）においては増殖自体が抑制されずゆっくりと増殖したため、製剤の有効期限が延長された場合の細菌感染リスクは変わらないと考えられる。

細菌検査が必要になった場合を想定して使用済みバッグとセグメントチューブの保存条件を検討した。増殖スピードの異なる複数菌を菌数に差をつけて血小板製剤に同時に接種し観察した。4℃では菌数の差が保たれたが室温では菌数の逆転が見られたことから、輸血後感染症の精査に用いる目的で製剤を保管する際、使用済みバッグは4℃に、セグメントチューブは室温に保管することが望ましいといえる。

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

初流血除去法の効果を実際の採血現場で検討し、期限延長の基礎データとした。初流血除去(2/2890, 0.07%)と対照(7/2967, 0.24%)で有意差は得られなかったが、皮膚付着菌の汚染の頻度を低下させる可能性が

示唆された。

もう一つの安全対策である、血小板製剤の外観試験の効果を、血液センター内部データから検証した。これまでの東京都血液センターのデータでは、血小板製剤のスワーリングの消失が細菌の増殖を示した例はなかった。(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。しかしながら、スワーリングは依然重要な外観試験の項目である。

さらに、保存前白血球除去がどのような細菌の除去に有効であるかを、実験的に示した。*Yersinia enterocolitica*の除去に極めて有効であることはこれまで知られている。同様に白血球に貪食されて血中に存在する *Salmonella* 菌を完全に除去することは不可能であった。*Serratia* 菌の除去はできなかった。

細菌汚染のデータにおいてもっとも汚染頻度の高い *Propionibacterium acnes* (ニキビ菌) が臨床的に重大な結果をもたらすか、マウスを用いた実験で示した。マウスにおいては、コントロールとした *S. aureus* と比較して毒性は圧倒的に低いことが示された。

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

血小板製剤に混入した細菌の動態を検討した。その結果、白血球除去フィルターを併用した白血球除去では、菌種によっては細菌除去が期待できるものの、除去が期待できない菌種もあるを示した。一方、遠心

法による保存前白血球除去では、

*Staphylococcus epidermidis*は、血小板成分や血漿中には残りにくい、*Escherichia coli*と *Yersinia enterocolitica*は、血小板成分中に比較的残存し、*Pseudomonas aeruginosa*では、血小板成分に高濃度に集積する傾向が認められた。

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、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CO₂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 斉 班員

細菌培養検査を行った血小板製剤の有効期限を7日へ延長を許可する国が増えている。世界的に汎用されている細菌検出システム2機種(BacT/ALERTとeBDS)の検出感度と接種後サンプリング時間(直後と24時間後)について検討した。その結果、24時間後のサンプリング試験で見ると *S. aureus*、*E. coli*、*S. marscecens*、*K. oxytoca*、*S. liquefaciens*、*B. cereus*、*E. cloaca*については両機種間に感度の差は認めなかった。しかし、*S. Epidermidis*についてはeBDSの方が、*P. Aeruginosa*についてはBacT/ALERTの方が感度良く検出した。以上より、両機種はほぼ同等の細菌検出力を有していると考えられた。細菌混入の判別法として培養式細菌検出システムは検出に有用である。

国内で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)保存した血小板は、良好な血小板機能が保

たれることを *in vitro* で評価して報告してきた。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

高酸素透過性バッグ(PO-80)を用いて保存した濃厚血小板機能を、従来から汎用されているバッグにて保存した血小板製剤と比較した。測定は、生理的流動状況下を模倣するずり応力下血小板機能評価系を用いて行った。血小板を含んだ再構成全血を作成し、平行板型フローチャンバーを用い、そのずり応力下血小板血栓形成能を評価した。高酸素透過性バッグを用いた濃厚血小板製剤では、汎用バッグの7日間保存で認められた3次元的血栓形成過程の障害が軽微となり、7日保存後も比較的良く保持され、汎用バッグの5日間保存後の血小板と比しても遜色なかった。血小板製剤の保存バッグの改良、保存条件により、長期保存に耐えうる血小板製剤の供給が可能となることが示唆された。

国立循環器病センターにおける輸血管理システムを用い、有効期限が延長された2007年11月から12月に使用された血小板製剤情報を確認した。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。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判明した。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ずり応力下血小板血栓形成能は5日間保存血小板と比較しても遜色がないことが示された。加えて、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。

初流血除去の有用性を赤十字血液センター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。培養試験で頻繁に検出されるが、増殖速度が極めて遅い *Propionibacterium acnes* (ニキビ菌) は臨床的に重篤な事態をもたらす可能性が低いことをマウス実験で示した。しかし、白血球除去フィルターの細菌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。遠心法による混入白血球減少はなおさら細菌除去効果が期待できない。

血小板製剤の細菌混入スクリーニングには世界的には培養試験が用いられている。世界的に汎用される BacT/ALERT, eBDS の有用性とサンプル採取時期が早すぎると false negative に陥る可能性を指摘し、血小板採取翌日のサンプリングが望ましいことを見いだした。加えて、日本で食品検査に用いられている CO₂ 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。

低温保存で血小板機能保持可能となっても、増殖スピードが抑制される菌種がある一方、増殖自体が抑制されずゆっくりと増殖する菌種 (特に汚染菌として重要である *Serratia marcescens*) もあるので、細菌感染リスクはさほど変わらないと考えられる。

複数菌に感染して細菌検査が必要になった場合、4℃では菌数の差が保たれたが室温では菌数の逆転が見られたことから、輸血後感染症の精査に用いる目的で製剤を保管する際、使用済みバッグは 4℃に、セグメントチューブは室温に保管することが望ましい。

当研究班の研究成果を受けて、血小板製剤の有効期限は 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、実質 80~86 時間になった。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。わが国の高齢人口の急速な増加と若年人口の減少によって、輸血用血液製剤需要バランスの維持は困難になりつつある。当研究班

は血小板製剤の有効期限延長が可能であるか、どのような問題をいかにして克服すべきであるかを系統的に検討してきた。初流血排除と保存バッグの改良が 10 時間ほどの延長を可能にした。

さらに、血小板製剤の有効期限を 7 日あるいは 9 日間に延長することに対しては細菌感染症増加が懸念される。現行の細菌培養試験には false negative の可能性は払拭されていないが、日本発の製品開発・改良も含めて日本においても細菌検査導入を前向きに検討すべきである。

さらに輸血全体を見渡すことが可能な血液安全監視体制 (ヘモビジュランス) の構築を提言したい。このシステムによって各種安全対策の効果を評価可能の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, Herschel L, Ito K, Kawabata K, Seino O, Ikeda K, Nollet KE. Survival and recovery of apheresis platelets stored in a polyolefin container with high oxygen permeability. *Vox Sanguinis* 94:292-298, 2008.
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

(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、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.
4. 佐野隆宏、角谷勇実、山本賢、阪田敏幸、佐藤 清、宮田茂樹：インフ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.
5. 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
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
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。

血小板製剤による敗血症の予防と対応策に関する手引き

Version : 1.0 : 2008-04-01

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期限延長に関する研究」
(H17-医薬-一般-051)
研究代表者 大戸 斉

1. 目的

本邦において年間約 70 万本の血小板製剤が日本赤十字社から製造・供給されている。日本赤十字社は細菌混入による敗血症などを予防するため、問診、皮膚消毒、白血球除去、初流血除去を実施している。本手引きは血小板製剤を介する細菌感染、敗血症の予防と、血小板製剤の安全性確保に寄与することを目的とし、医療現場における注意事項を記載したものである¹⁾。しかしながら、このような対策を施しても細菌感染が根絶されるわけではなく、今後ともその予防対策の推進が必要となる。

2. 手引きの必要性

血小板製剤は機能を保持するために室温で保存しなければならないという理由から細菌が混入した場合、他の血液製剤と比して細菌増殖率は高くなる²⁾。医療機関における血小板製剤の観察項目、輸血前後の受血者の観察項目、汚染血小板製剤が投与されたと疑われた場合の対処方法を統一することで更なる安全性向上を図る必要がある。

3. 対象

本手引きは日本赤十字社が製造・販売する輸血用血小板製剤を対象とする。

4. 実施内容

1) 外観観察

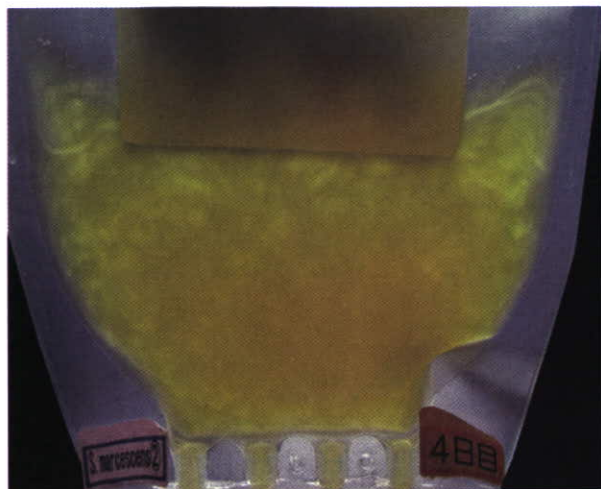
血液センターでは製剤調製時及び医療機関への出庫時に十分な外観観察を行っているが、細菌の混入があった場合の品質は次々刻々変化するので、製剤使用時にも以下の項目について慎重な外観観察を行う。

(1) スワーリング検査

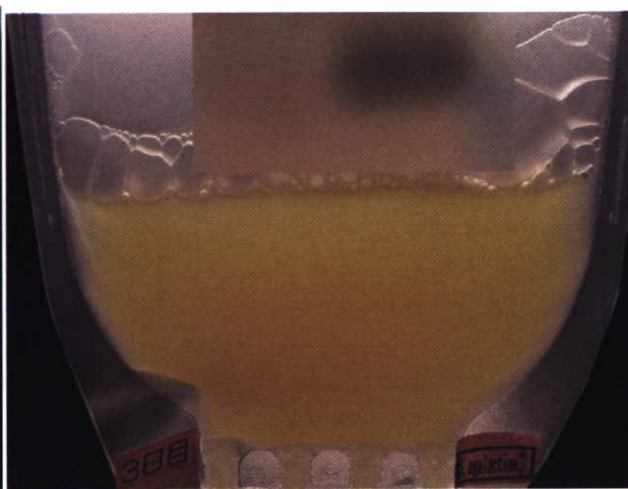
スワーリング (swirling) とは、血小板製剤を蛍光灯等にかざしながらゆっくりと攪拌したとき、渦巻き状のパターンがみられる現象を指す。血小板の形態が円盤状のときは、光は偏った方向に屈折するためにスワーリングが認められるが、血小板の形態が保存日数の経過や保存状態等により円盤状から偽足を伴った血小板、さらに球状へと変化すると光は一様に散乱するためスワーリングは認めら

れなくなる。円盤状血小板の割合は、輸血後の生体内の生存率（viability）と相関するため、機能評価に有用である。また、一部の細菌汚染でも、スワーリングが消失することが知られており、スワーリングが消失した血小板製剤は使用すべきではない³⁾。

スワーリングあり



スワーリング消失

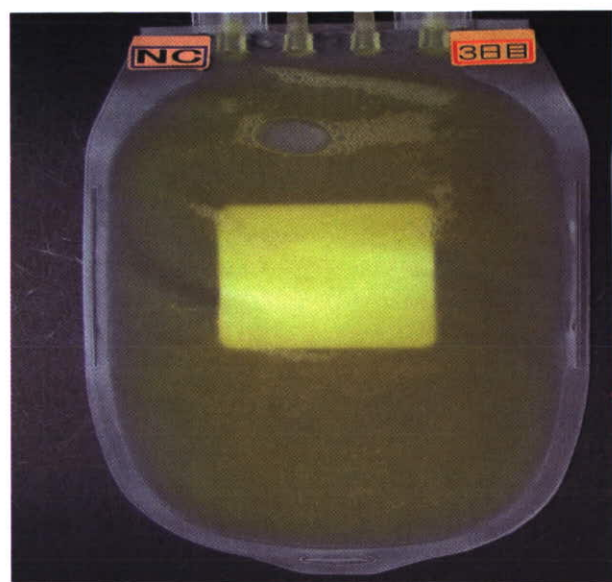


（資料 東京都赤十字血液センター）

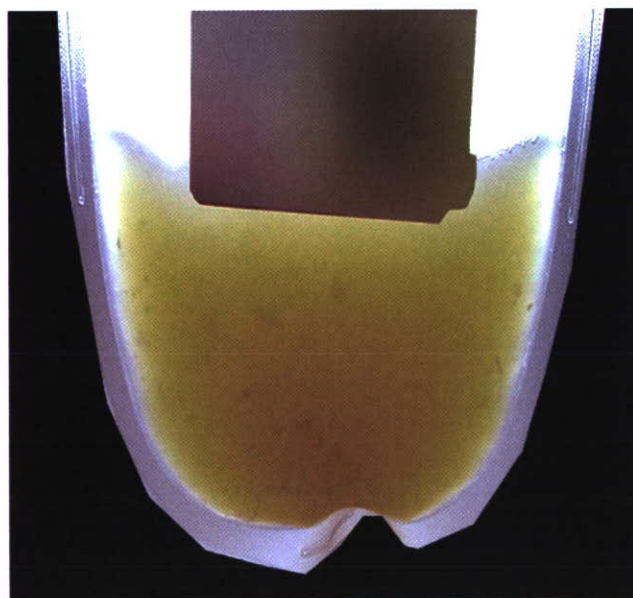
（2）異物・凝集塊

混入した細菌によっては、血漿を凝固させる酵素蛋白を産生するため、明瞭な凝固物が析出することがある。また、菌塊が目視可能な場合や色素産生性細菌による着色などの変化が見られることある。これらの変化に十分注意し、異常があれば医療機関の輸血責任医師に連絡する。

凝固物なし



凝固物析出



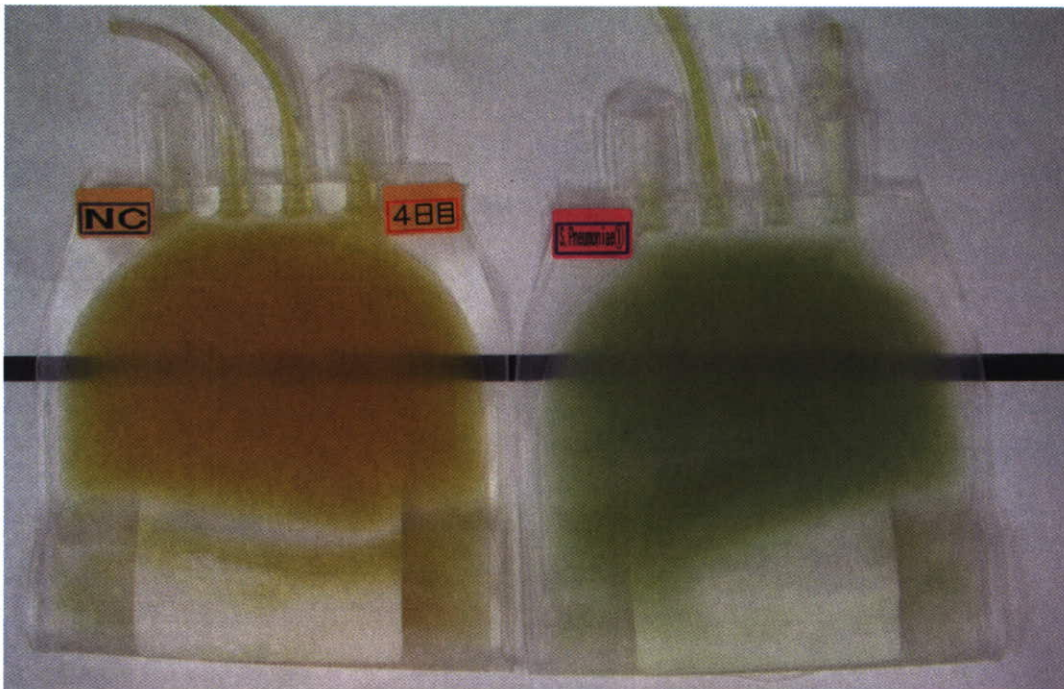
（資料 東京都赤十字血液センター）

凝固・凝集物析出



(資料 東京都赤十字血液センター)

右は細菌汚染により緑色に変化した血小板製剤



(資料 東京都赤十字血液センター)

2) 輸血療法時の患者観察項目

輸血開始前後の患者の状態を確認する。体温、血圧、脈拍、更に可能であれば経皮的動脈血酸素飽和度 (SpO₂) を測定後に輸血を開始し、輸血終了時にも同様の確認を行う。

また輸血開始後4時間以内に他に原因が認められない下記の症状があった場合は輸血による細菌感染の可能性を考慮し、各医療機関の輸血責任医師へ連絡をする。

- (1) 発熱 (39℃以上または2℃以上の上昇：一旦解熱した後、再上昇することもある)
- (2) 頻脈 (120/分以上)
- (3) 悪寒、戦慄
- (4) 収縮期血圧の変化 (30mmHg以上の増減)

輸血中であれば直ちに輸血を中止し、当該製剤をシーリングするなど使用後の細菌混入を避けて回収し、可能な限り清潔に冷蔵保存する。可能であれば、無菌的に残存血液を採取し、当該医療機関においてグラム染色、培養検査を行うことが望ましい。また、院内で検査が難しい場合には、血小板製剤バッグと輸血セットを未使用のビニールバッグ等に入れて、冷蔵保存する。その上で、都道府県赤十字血液センター（以下、血液センターと略す）を通じて細菌検査を依頼する⁴⁾。

同時に受血患者の血液を採取・保管し、細菌培養、同定検査、血液検査およびエンドトキシン検査などを行う。この採血は、新たな抗生剤投与を行う前が望ましい。

輸血責任医師は病状の把握に努め、適切な処置を指示した上で速やかに血液センターへ連絡を行い、患者に関わる情報を提供し、協力して原因解明に努める。

3) 使用済み輸血製剤バッグの保管

細菌感染の如何に関わらず、全ての使用済み輸血製剤バッグを輸血終了後6時間程度を目安に、未使用ビニール袋等を用いて可能な限り清潔を保って冷蔵保存しておく、細菌汚染の原因調査に役立つことがある。

4) 医療機関と赤十字血液センターとの相互協力

細菌汚染が疑われる事象が発生した場合には、各医療機関と赤十字血液センターが相互に協力し、原因解明にあたる必要がある。

補遺

1. 2000年以降、本邦において、細菌汚染された血小板製剤による死亡が少なくとも2例報告されている。(片山俊夫、他. 臨床血液 44;381-385, 2003. 宇留間元昭、他. 日本輸血細胞治療学会誌 54;38-42, 2008.)
2. 血小板製剤で検出される菌種は、グラム陽性が6割、グラム陰性が4割であるが、重症化するのには、グラム陰性菌が多いと言われている。(Kuehnert MJ, et al. Transfusion 41;1493-1499, 2001)
3. スワーリングが消失した血小板は、pHが低下して機能的に損傷している可能性がある。また、実験的に *Bacillus cereus* 菌を接種した血小板製剤ではスワーリングが消失することが確認されており、細菌汚染確認にも有効な方法である。(佐竹正博. 厚生労働科学研究「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16年度研究報告書) ただし、細菌に汚染されても、スワーリングが残ることがあり、この点は注意が必要である。(三谷孝子、他. 日本輸血学会誌 42;294-298, 1996.)
4. 医療機関で、汚染が疑われる製剤の細菌検査を行う場合は、逆流等による患者血液の混入や使用後の細菌混入を避けることが重要である。

Ⅱ．分担研究報告書

分担研究者別の3年間のまとめ

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
研究総括報告

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)

諸外国における血小板製剤細菌感染への対応と輸血製剤に対するヘモビジランスの
実情：日本における輸血製剤の安全性について

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製剤の安全性向上のための様々な取り組みがなされている。本研究では諸外国における血小板製剤細菌感染への対応や輸血製剤全般に対するヘモビジランスの実情について調査を行い、日本における今後の輸血製剤の安全性の在り方について検討した。

1. 血小板製剤の保存期間

世界的には血小板の保存期間は 5 日であることが多い。血小板の保存温度はその機能を維持するために 20℃～24℃であり、細菌増殖に対しても至適温度であるため保存期間中の細菌増殖は一様に重大な問題である。

2. 細菌混入防止対策

1) 採血時の混入防止：ドナースクリーニングの向上、穿刺部位の選択と統一された消毒方法、初流血除去、2) 混入後の除去：採血一定時間後の白血球除去処理、3) 混入製剤の同定：外観確認、汚染製剤の検出技術導入、病原体の不活化導入に分類さ

れる。血小板製剤の細菌汚染への対応方法は国の政策により様々である。

3. 輸血製剤副作用管理

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¹⁾。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。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るなどその体制も様々である。

4. 上記1-3についての各国の対応状況

1) 米国

米国では血小板の細菌検出方法として4つの方法が認可されている。うち2つはBacT/Alert(bioMerieux, Durham, N.C)とeBDS(Pall, NY, USA)である。いずれも細菌増殖による呼吸量を利用した検出装置である。もう一つの検出装置Scansystem(Hemosystem, Marseilles: France)はレーザーを用いた固相サイトメトリー法で細菌の存在を迅速に検出することが可能である。試験時間が90分程度なのは培養系と比して利点だが、採血後30~70時間の検体を用いる上に陽性サンプルについては顕微鏡下での確定検査が必要である点が煩雑である。米国FDAでは血液センターに対してこれらによる細菌検出を行うことを条件にアフエレーション血小板の保存期間を5日から7日に延長することを認めているが、2007年に新たにPGD test (Verax Biomedical)がFDAによる認可を受けた。この原理はグラム陽性菌の細胞壁のリピタイコ酸、グラム陰性菌の細胞壁を構成するリポ多糖類に対する抗体をイムノアッセイ法にて検出するものであり、培養系ではないため極めて迅速に細菌の存在を検出することが可能である。

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例であり、敗血症の発生頻度は赤血球製剤の100万単位当たり0.21件に対して成分採血血小板A-PCでは9.98件、プール血小板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²⁾。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されている。³⁾

輸血副作用管理については、これまで血液センターごとに把握しているにとどまり、国主導型の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⁴⁾。

2) ヨーロッパ諸国とその他の国

ヨーロッパ諸国においても同様に培養系の細菌検出が主流であり、必須の工程として経常的に行っているのがベルギー、オランダ、ウェールズ、香港の血液センターである⁵⁾。ドイツでは品質保証のためにランダムサンプリングを行っているのみである。またヨーロッパの幾つかの国では保存期間を7日間に延長するために1日目、3日目に細菌培養検査を施行している。スウェーデン、ノルウェーでは白血球除去血小板製剤に対して細菌培養系検出装置を使って7日間保存としている⁵⁾⁶⁾。ベルギー、オランダ、デンマークからの培養法検出装置導入後の報告から、細菌検出には培養系がもっとも感度が良いと考えられており、ほぼコンセンサスが得られた状況である。ただし、結果が出るまでに時間がかかること、検査を行うタイミングなどから導入後も感染症例が報告されており、すべてを防ぐことは不可能である。