

## 細菌を接種した血小板製剤における 3 種類の細菌検出システムの評価

杉浦さよ子 高橋 勲 井上千加子 高柳 美行 神谷 忠

【背景】本邦における濃厚血小板製剤 (PC) はすべて単一ドナー由来のアフェレーシス血小板 (SDPs) で、有効期限は細菌増殖の可能性を考え 72 時間としている。一方、海外では細菌スクリーニング検査を実施し、血小板製剤の有効期限を 5 日間から 7 日間に延長している国もある。培養法の BacT/ALERT<sup>®</sup> と eBDS<sup>®</sup>、および菌の DNA 特異染色法を用いた Scansystem<sup>™</sup> について、細菌接種血小板製剤における検出時間と感度を比較検討し、その操作性について考察を加えた。

【対象および方法】12 例の採取直後の白血球低減 SDPs (10 単位) に、*Serratia liquefaciens*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*, *Propionibacterium acnes* を各 10cfu/ml の濃度で接種 (各 n=3) し、20~24℃ で振盪保存した。検体を 24 時間ごとに採取し、3 種類の検出装置で陽性判定されるまで最長 7 日間検討した。

【結果】*Serratia liquefaciens* を接種した 3 例中 1 例で、採血後 24 時間で採取した検体は 3 機種ともに false-negative を示した。好気性菌の検出感度は、BacT/ALERT<sup>®</sup> と eBDS<sup>®</sup> でほぼ同等であった ( $\leq 10\text{cfu/ml}$ )。嫌気性菌 *Propionibacterium acnes* は 3 機種中、BacT/ALERT<sup>®</sup> の嫌気性ボトルでのみ検出できたが、3.2 日を要した。Scansystem<sup>™</sup> は、最短 70 分で検出できるため増殖の速い菌の検出には優れていた。

【考察】細菌スクリーニングは、輸血による細菌感染症低減に有効な手段であるが、検体採取時期によっては検出できないことに留意しなければならない。また細菌検出装置を導入した場合、血小板製剤は現行より 1 日もしくは 2 日以上供給開始が遅れることが予想され、有効期限の延長が必須である。細菌スクリーニング実施にあたっては、高い血小板機能をより長期に保存できるよう合わせて検討が必要であろう。

キーワード：細菌検出装置, BacT/ALERT<sup>®</sup>, eBDS<sup>®</sup>, Scansystem<sup>™</sup>

## はじめに

現在の日本の血小板製剤 (以下 PC) はすべて、単一ドナーから成分採血装置を用いて採取された single donor apheresis platelets (SDPs) である。血液製剤による細菌感染症の多くは、穿刺部の皮膚常在菌や供血者由来細菌が採血時に極少量混入し、保存期間中に増殖して引き起こされる。PC の細菌汚染による輸血副作用を減少させるための方策として、皮膚消毒の徹底や SDPs にすることの他に、初流血除去法の採用や細菌検出装置の使用<sup>1)2)</sup> があげられている。今回、検出原理の異なる 3 種類の細菌検出装置について検討を行なった。BacT/ALERT<sup>®</sup> 3D (bioMérieux, UK) は、培養により菌が産生する炭酸ガス量に比例して変化する培養ボトルセンサーの色調を、連続モニタリングし結果を自動判定する<sup>3)4)</sup>。eBDS<sup>®</sup> (川澄化学工業株式会社, 東京) は、固形培地 (Trypticase soy Broth, Sodium Polyanethol Sulfonate) を含んだ閉鎖系サンプリングセット (以下

パウチ) に検体を採取し、20~24 時間の培養後、オキシジェンアナライザーで菌の酸素消費量を測定する<sup>5)6)</sup>。Scansystem<sup>™</sup> (Hemosystem, France) はキット中に含まれるモノクローナル抗体 CD9 により凝集させた血小板をフィルター除去後、菌を DNA 特異蛍光色素で染色し、蛍光顕微鏡下で目視判定する<sup>7)8)</sup>。細菌汚染 PC に類似した条件とするため、採取後 2~3 時間の白血球低減 10 単位 PC に細菌を接種し、24 時間ごとに採取した検体を用いて 3 機種の検出時間と感度を測定した。

## 材料及び方法

## 1. 対象

当研究に同意の得られた健常男性 12 名より、成分採血装置を用いて 10 単位 PC を採取した。感度試験は、採血後 60~72 時間以内の減損 PC を用いて検討した。

## 2. 細菌検出システムの比較評価

## 1) 細菌接種法

各 PC バッグから Scansystem<sup>™</sup> の希釈用 (菌未接種)

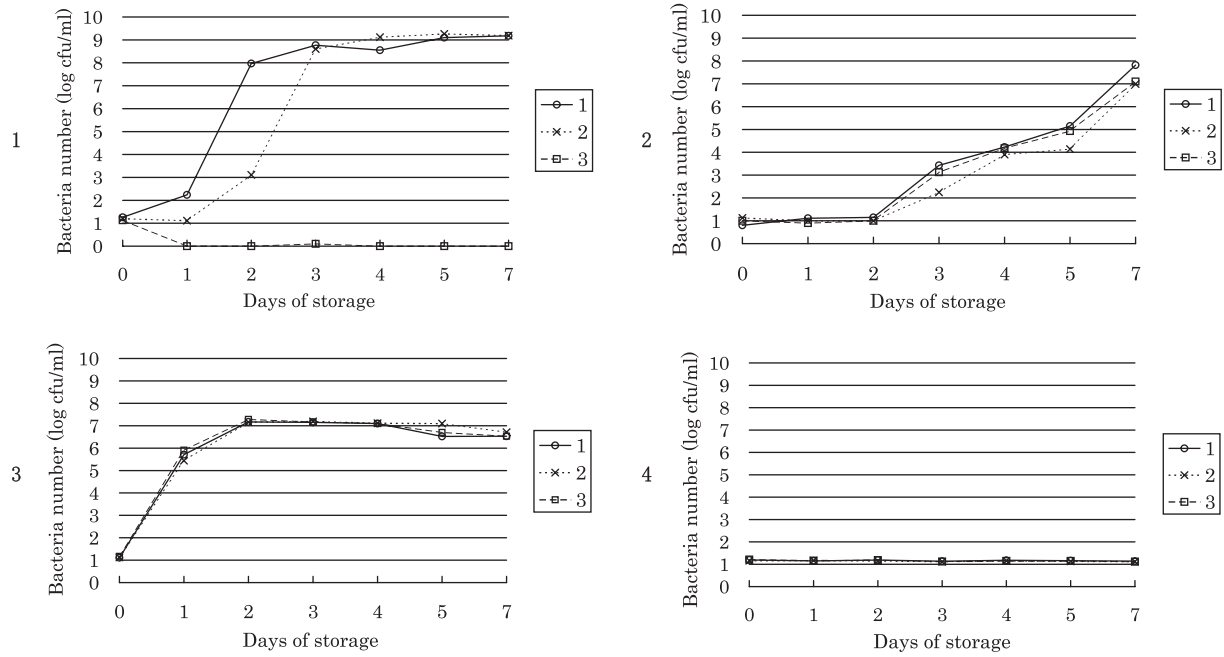


Fig. 1 Proliferation of bacteria inoculated at 10 cfu/ml immediately after collection of PC.  
 (1) *S. liquefaciens*; (2) *S. epidermidis*; (3) *B. cereus*; (4) *P. acnes*

Table 1 Detection of *S. liquefaciens* spiked in PC by BacT/ALERT, eBDS and Scansystem

	Sample No.	Day/0	1	2	3	4	5	7
BacT/ALERT (hr) <sup>*1</sup>	1	BPA 16.3	12.0	5.8	NT	NT	NT	NT
		BPN 16.6	12.5	5.8	NT	NT	NT	NT
	2	BPA 16.8	(-) <sup>*2</sup>	8.8	3.6	NT	NT	NT
		BPN 16.8	(-)	8.8	3.6	NT	NT	NT
	3	BPA 17.3	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
		BPN 17.8	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
eBDS (Percent oxygen)	1	Fail <sup>*3</sup> (0)	Fail (0)	Fail (0)	NT	NT	NT	NT
	2	Fail (0)	Pass (17.7)	Fail (0)	Fail (0)	NT	NT	NT
	3	Fail (0)	Pass <sup>*3</sup> (16.9)	Pass (14.1)	Pass (17.7)	Pass (15.4)	Pass (17.6)	Pass (17.2)
Scansystem (Positivity rate)	1	NT	Positive <sup>*4</sup> (71.7)	Positive (100)	NT	NT	NT	NT
	2	NT	Negative <sup>*4</sup> (1)	Positive (77.7)	Positive (100)	NT	NT	NT
	3	NT	Negative (0)	Negative (0)	Negative (0)	Negative (0)	NT	Negative (0)

<sup>\*1</sup>: Detection time    <sup>\*2</sup>: Negative during 7 days incubation

<sup>\*3</sup>: Fail ≤ Oxygen 9.4% < Pass

<sup>\*4</sup>: Negative < 20% ≤ Positive

NT: Not tested

として 50ml を子バッグに分取後、対数増殖期にある *Serratia liquefaciens* (*S. liquefaciens*, ATCC27592), *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*, ATCC49134), *Bacillus cereus* (*B. cereus*, ATCC10876), *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*, ATCC6919) を生食で各 10 colony forming units (cfu)/ml の濃度に調整して PC バッグに接種した (各 n=3)。菌接種 PC および分取した子バッグは

試験終了まで 20~24℃ で振盪保存した。検体採取は day 0 (菌接種直後) ~day 7 に無菌的に行なった。感度試験は、上記 4 種の細菌を生食で 10<sup>2</sup>, 10<sup>3</sup>, 10<sup>4</sup>cfu/ml の濃度に調整後、採取後 60~72 時間以内の PC に接種して検討した (各 n=1)。

2) 菌増殖数の測定

バッグから無菌的に 1~5ml を採取後、希釈法により

Table 2 Detection of *S. epidermidis* spiked in PC by BacT/ALERT, eBDS and Scansystem

	Day/0 Mean ± SD (n = 3)	1	2	3	4	7
BacT/ALERT hr *1	BPA 20.2 ± 0.2	19.6 ± 2.1	15.2 ± 0.9	13.0 ± 1.3	NT	NT
	BPN 21.2 ± 0.8	19.7 ± 1.7	16.5 ± 0.9	13.2 ± 1.7	NT	NT
eBDS (Percent oxygen)	Fail *2 (1.14 ± 0.04)	Fail (0.88 ± 0.29)	Fail (0.64 ± 0.07)	Fail (0.62 ± 0.07)	NT	NT
	NT	Negative *3 (0)	Negative (2.1 ± 0.6)	Positive *3 (45.0 ± 5.2)	Positive (49.6 ± 19.1)	Positive (100 ± 0)

\*1: Detection time

\*2: Fail ≤ Oxygen 9.4%

\*3: Negative &lt; 20% ≤ Positive

NT: Not tested

Table 3 Detection of *B. cereus* spiked in PC by BacT/ALERT, eBDS and Scansystem

	Day/0 Mean ± SD (n = 3)	1	2
BacT/ALERT hr *1	BPA 8.4 ± 0.3	4.8 ± 0	NT
	BPN 9.5 ± 0.6	4.9 ± 0.2	NT
eBDS (Percent oxygen)	Fail *2 (0.5 ± 0.06)	Fail (0.5 ± 0)	NT
	NT	Positive *3 (100 ± 0)	Positive (100 ± 0)

\*1: Detection time

\*2: Fail ≤ Oxygen 9.4%

\*3: 20% ≤ Positive

NT: Not tested

寒天培地上に播種し (*P. acnes* は培地混和法), 37°C で培養した. 好気性菌は 24 時間後に, *P. acnes* は嫌気性菌簡易培養システム (アネロメイト J, 日水) を用いて 72 時間後に, 各寒天培地に出現したコロニー数から算定した.

### 3) 細菌検出システムの測定方法

3 機種とも各マニュアルに準じて測定した.

#### ① BacT/ALERT® 3D

採取直後および菌接種後の PC 各 5ml を好気性菌ボトル (Blood Product Aerobic: BPA) と嫌気性菌ボトル (Blood Product Anaerobic: BPN) へクリーンベンチ内で接種し, 装置に装着した. 37°C 振盪培養で最長 7 日間培養した.

#### ② eBDS®

PC バッグとサンプリングパウチを無菌回路接続装置 (TSCD: TERUMO sterile connection device) で接合後, 落差を利用してパウチチューブ内の空気 (約 7ml) と PC をパウチの規定線まで (2~3ml) 入れ, チューブシーラー (TERUMO) でシール後バッグを切り離れた. パウチは 35°C 振盪機付きインキュベーター内で 24 時間培養後, 1 パウチずつオキシジェンアナライザーで気体中酸素濃度 (ベースライン平均 20.9%) を測定した. 判定は酸素濃度 9.4% 以上を PASS (陰性), それ以下を FAIL (陽性) で表示される.

#### ③ Scansystem™

sampling device は PC3 検体を各 3ml ずつプールして総量 9ml とし, そのうちの 3ml を用いて検出する方式のため, 細菌接種 PC と子バッグに分取しておいた菌接種前の PC2 検体を各 3ml ずつプール後使用した. 検体を platelet kit 付属の注射器内で 40 分間室温で振盪後 (CD9 による PC 凝集反応), 血小板凝集塊を 5µm filter で除去した. 20 分~2 時間室温で静置後 (血小板 particle の可溶化と菌の DNA 特異蛍光色素染色反応の促進), 0.4µm black membrane 上に吸引吸着させ solid-phase laser scanning cytometer を用い, 蛍光顕微鏡下で蛍光強度, 大きさ, 形状から菌の有無を目視判定した. 感度試験には background を低減する quenching dye を用い, モニターに表示される蛍光スポットを専用カウンターで順次移動させながら, 蛍光顕微鏡下で細菌が 1 cfu でも検出されたスポットを陽性, 未検出スポットを陰性とし, 50 カ所カウントした. 細菌が検出されたスポット数を顕鏡した総スポット数で除した割合が 20% 以上で Positive と判定される.

## 結 果

### 1. PC の菌増殖動態

PC 中での接種細菌の増殖動態を図 1 に示した. *S. liquefaciens* は用いた PC により菌の増殖が異なった. 1 例目は day 1, 2 例目は day 2 に増殖を開始し, day 3 以降はほぼ同様に 10<sup>9</sup>cfu/ml まで増殖した. しかし, 3 例目は day 1 で菌が検出されず, その後も day 7 まで増殖しなかった. *S. epidermidis* は 3 例とも day 2 以降に菌の増殖が認められ, day 7 までほぼ同じ増殖動態を示し 10<sup>7</sup>cfu/ml まで増殖した. *B. cereus* は検討した 4 菌種の中で最も増殖が速かった. *P. acnes* は 3 例とも day 7 まで菌の増殖は認められなかった.

### 2. 細菌検出時間 (表 1~表 4)

day 0 (菌接種直後) の結果は, 好気性菌 3 菌種で BacT/ALERT® と eBDS® において陽性を示し, *P. acnes* も BacT/ALERT® の BPN ボトルで陽性判定されたことから, すべての菌が確実に接種されたことを示す. *S. liquefaciens* は用いた PC sample により検出結果が異なるため個別

Table 4 Detection of *P. acnes* spiked in PC by BacT/ALERT, eBDS and Scansystem

	Day/0 Mean ± SD (n = 3)	1	2	3	4	5	7
BacT/ALERT day *1	BPA ( - ) *2 BPN 3.19 ± 0.51	( - ) 3.17 ± 0.17	( - ) 3.13 ± 0.09	( - ) 3.20 ± 0.09	NT NT	NT NT	NT NT
eBDS (Percent oxygen)	Pass *3 (15.7 ± 1.75)	Pass (16.0 ± 0.95)	Pass (15.9 ± 0.53)	Pass (17.2 ± 0.52)	Pass (17.9 ± 0.49)	Pass (18.9 ± 0.36)	Pass (18.4 ± 0.35)
Scansystem (Positivity rate)	NT	Negative *4 (0.5 ± 0.8)	Negative (0)	Negative (0)	Negative (0.7 ± 1.2)	Negative (0)	Negative (0)

\*1: Detection time \*2: Negative during 7 days incubation

\*3: Oxygen 9.4% &lt; Pass

\*4: Negative &lt; 20%

NT: Not tested

Table 5 Sensitivity of three bacteria detection systems

	BacT/ALERT (Detection time)						eBDS *2 (Percent oxygen)			Scansystem *3 (Positivity rate)		
	cfu/ml						cfu/ml			cfu/ml		
	10 <sup>2</sup>		10 <sup>3</sup>		10 <sup>4</sup>		10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>
	BPA	BPN	BPA	BPN	BPA	BPN						
<i>S. liquefaciens</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	
	(11.3hr)	(12hr)	(10.1hr)	(10.8hr)	(8.7hr)	(9.2hr)	(0%)	(0%)	(0%)	(5%)	(50%)	(100%)
<i>S. epidermidis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	
	(15.6hr)	(16.8hr)	(13.2hr)	(15.2hr)	(10.8hr)	(12.5hr)	(0.54%)	(0.68%)	(0.62%)	(4%)	(17%)	(100%)
<i>B. cereus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	
	(9.2hr)	(10.4hr)	(8.2hr)	(9.4hr)	(6.5hr)	(7.5hr)	(0.54%)	(0.56%)	(0.45%)	(7%)	(29%)	(100%)
<i>P. acnes</i>	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+
	(7d) *1	(2.9d)	(7d) *1	(2.8d)	(7d) *1	(2.3d)	(16.01%)	(16.3%)	(16.32%)	(6%)	(41%)	(100%)

\*1: Max test time

\*2: Positive ≤ Oxygen 9.4% &lt; Negative

\*3: Negative &lt; 20% ≤ Positive

に示した。また、*S. epidermidis*, *B. cereus*, *P. acnes* は PC 間に差が無く各々平均で示した。

#### 1) *S. liquefaciens*

day 1 以降、3 検出法ともに検出できたのは 1 例目のみであった。2 例目は day 2 で BacT/ALERT® (BPA と BPN, 各 8.8 時間), eBDS® (Fail, 0%), Scansystem™ (77.7%) で検出できたものの、day 1 で 3 機種ともに検出できず false negative と判定された。3 例目は 3 方法とも day 7 まで検出できなかった (表 1)。

#### 2) *S. epidermidis*

BacT/ALERT® は day 1~day 3 のすべてで BPA (19.6~13.0 時間), BPN (19.7~13.2 時間) の両ボトルで検出できた。保存日数の経過とともに検出時間が短縮されたが、*S. liquefaciens* と *B. cereus* に比べ検出時間を要した。eBDS® も day 1~day 3 で検出でき酸素濃度は日数経過とともに低下した (0.88~0.62%)。Scansystem™ で菌が検出できたのは day 3 (45%) 以降であった (表 2)。

#### 3) *B. cereus*

day 1 で BacT/ALERT® は BPA 4.8 時間, BPN 4.9 時間で検出され、eBDS® も Fail (0.5%) であった。Scansystem™ は陽性率 100% で約 70 分で検出できた (表 3)。

#### 4) *P. acnes*

BacT/ALERT® の BPA ボトルでは嫌気性菌の検出はできないが、BPN ボトルで、day 1~day 3 すべてで検出できたものの 3 日以上を要した。eBDS® と Scansystem™ は day 7 まで検出できなかった (表 4)。

### 3. 感度試験

菌接種濃度 10<sup>2</sup>~10<sup>4</sup>cfu/ml で比較した結果を表 5 に示した。

#### 1) BacT/ALERT®

10<sup>2</sup>~10<sup>4</sup>cfu/ml の全濃度で、好気性菌 *S. liquefaciens*, *S. epidermidis*, *B. cereus* (BPA, BPN の両ボトルで 24 時間以内) と嫌気性菌 *P. acnes* (BPN のみで 3 日以内) のすべてが検出できた。

#### 2) eBDS®

10<sup>2</sup>~10<sup>4</sup>cfu/ml の全濃度で *S. liquefaciens*, *S. epidermidis*, *B. cereus* が検出できたが、*P. acnes* は 10<sup>4</sup>cfu/ml でも検出できなかった。

#### 3) Scansystem™

10<sup>2</sup>cfu/ml では *S. liquefaciens*, *S. epidermidis*, *B. cereus*, *P. acnes* のすべてが検出できなかった。10<sup>3</sup>cfu/ml で *S. liquefaciens*, *B. cereus*, *P. acnes* が検出でき、*S. epidermidis* は 10<sup>4</sup>cfu/ml で検出できた。

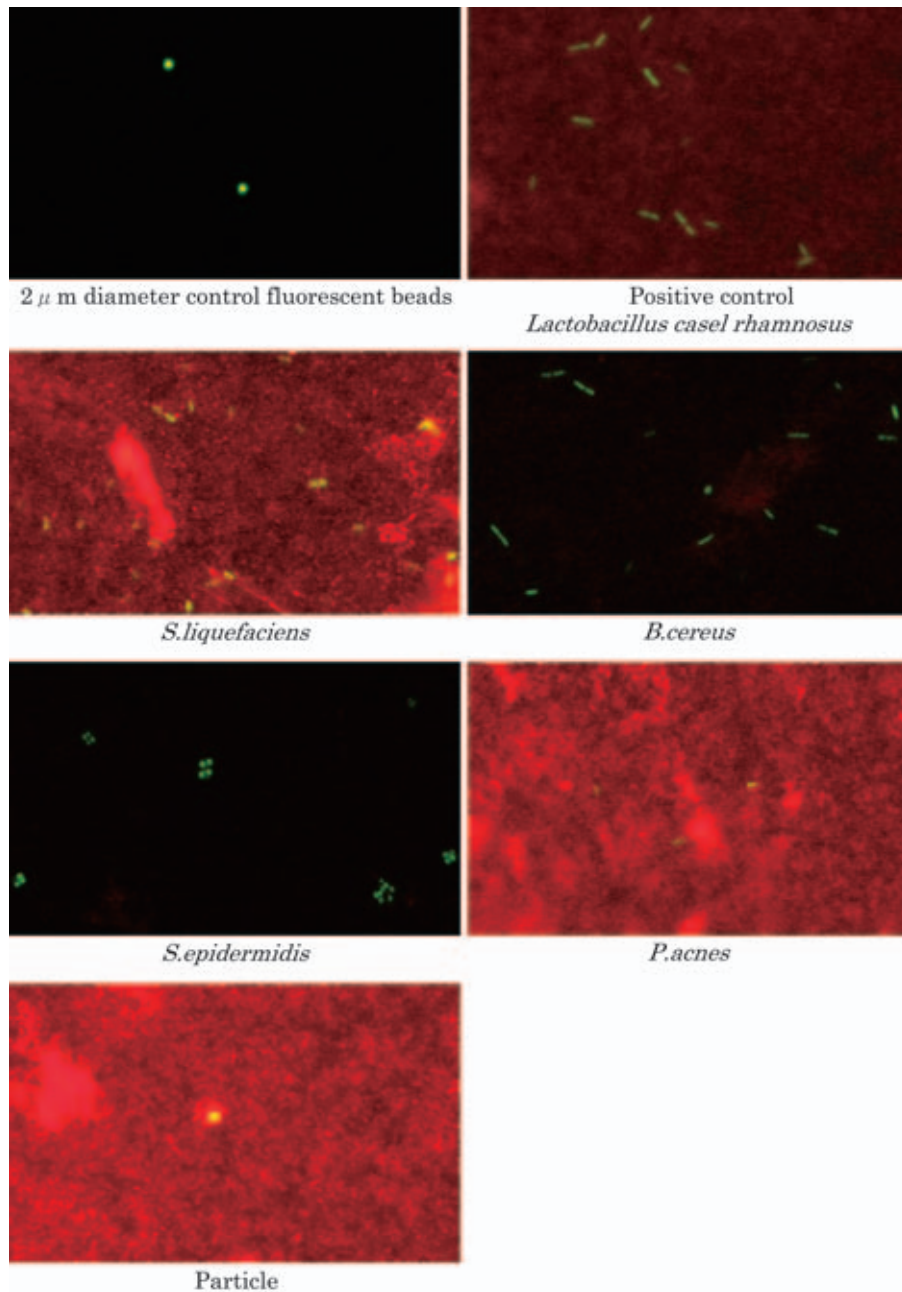


Fig. 2 Microphotographic appearance of bacteria and particles on a black membrane at a 500× original magnification.

Scansystem™で陽性判定した細菌の蛍光顕微鏡写真を図2に示した。

## 考 察

培養法による細菌検出システムである BacT/ALERT® と eBDS® は欧米で細菌スクリーニング検査としての使用が報告されている<sup>5)9)</sup>。今回、本邦において初めて検討の機会を得た Scansystem™ も併せ、3機種の細菌検出能力の比較を行なった。

細菌スクリーニング検査は、採血後24時間前後で検体が採取されることが多い。今回の検討でPCに *S. lique-*

*faciens* を接種し、採取後24時間でサンプリングした1例で、3検出法ともに false-negative を示した。培養法による細菌スクリーニング検査を採用している施設の報告で、te Boekhorest ら<sup>10)</sup> はスクリーニング検査陰性のPCから *B. cereus* による重篤な輸血感染症2例を報告している。Larsen ら<sup>11)</sup> はスクリーニング検査後に期限切れとなったPCを再度培養して、*Bacillus spp.*, *S. epidermidis* を検出し、false-negative が起こりうるとしている。細菌スクリーニング検査は輸血による細菌感染症低減に寄与すると考えられるが、どのような細菌検出装置を用いても、検体採取の時期によっては検出で

きないことが起こりうると考えられる。BacT/ALERT<sup>®</sup>を用いてPC出荷後も培養を継続した場合、輸血後に陽性判定されることがある。これまでの報告で、輸血後に細菌陽性が判明したPCを輸血された患者は、臨床的に明らかな輸血副作用を示さなかったとするものが多い<sup>10)11)</sup>。しかし、BacT/ALERT<sup>®</sup>によるスクリーニングを実施する場合は、PC出荷後陽性判定時の医療機関との連絡法やその後の対処法をあらかじめ設定し、輸血同意書等に記載して患者に説明しておくことが必要と思われる。

細菌スクリーニング検査では、検出対象菌種の範囲についても検討が必要である。これまでの報告<sup>12)</sup>と同様に今回の検討でも、PC中では*P. acnes*の増殖は認めなかった。また、*P. acnes*はBacT/ALE RT<sup>®</sup>嫌気性(BPN)ボトルでのみ検出され、10cfu/mlを接種したPCで平均3.2日を要し、出荷前の検出は困難となる可能性が高い。*P. acnes*の臨床的意義は議論があるが、細菌スクリーニングの対象を好気性菌としてeBDS<sup>®</sup>の採用やBacT/ALE RT<sup>®</sup>の好気性(BPA)ボトルのみを使用し、嫌気性菌を対象外としている施設もある<sup>11)13)</sup>。

検出感度はBacT/ALE RT<sup>®</sup>とeBDS<sup>®</sup>は1cfu/ml<sup>6)14)15)</sup>との報告がある。一方、Scansystem<sup>™</sup>は、われわれの結果で*B. cereus*は10<sup>3</sup>cfu/mlで陽性率29%、*S. epidermidis*は10<sup>4</sup>cfu/mlで100%であったが、Schmidtら<sup>16)</sup>は新しい解析ソフトとquenching dyeを用いてbackground低減により感度を向上させ、*B. cereus*は50cfu/ml(real number 3cfu/ml)で陽性率40%、*S. epidermidis*は400cfu/ml(real number 119cfu/ml)で26%としている。さらなる解析ソフトの向上とbackground particleの低減が期待される。

3機種種の操作性はそれぞれ長所と短所が確認された。BacT/ALE RT<sup>®</sup>は、ボトルへの接種にはクリーンベンチの整備と無菌的操作が必要となるが、ボトルを装置に装着後は自動判定結果を待つのみで管理は容易である。eBDS<sup>®</sup>は、操作を作業室で行なうことができ、好気性菌の検出能力はBacT/ALE RT<sup>®</sup>とほぼ同等で操作も容易であるが、多検体管理ができるよう改良が望まれる。培養法2機種はともに、検体接種後数時間~24時間の培養時間が必要となるのに対し、Scansystem<sup>™</sup>は最短70分で判定結果が得られる利点を持つ。Scansystem<sup>™</sup>の一連の操作は作業室で可能なものの、操作はやや複雑で、細菌の蛍光退色時間も数秒と早く、蛍光顕微鏡下での目視判定に熟練と迅速性を要する。

今後、検体採取時期を採血後24時間と設定して細菌スクリーニングを導入した場合、PCは現行より1日もしくは2日以上、供給開始が遅れることになり有効期限の延長が必須となる。血小板機能は7日以上保存が可能とされているが、保存日数に従い機能の低下や

サイトカイン、免疫装飾因子等の蓄積が報告されている<sup>17)~19)</sup>。細菌スクリーニングの実施にあたっては、高い血小板機能をより長期に保存できるようあわせて検討が必要であろう。

## 文 献

- 1) Ness P, Braine H, King K, et al: Single-donor platelets reduce the risk of septic platelet transfusion reactions. *Transfusion*, 41: 857—861, 2001.
- 2) de Korte D, Curvers J, de Kort WL, et al: Effects of skin disinfection method, deviation bag, and bacterial screening on clinical safety of platelet transfusions in the Netherlands. *Transfusion*, 46: 476—485, 2006.
- 3) Brecher ME, Heath DG, Hay SN, et al: 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*, 42: 774—779, 2002.
- 4) McDonald CP, Rogers A, Cox M, et al: Evaluation of the 3D BacT/ALERT automated culture system for the detection of microbial contamination of platelet concentrates. *Transfus Med*, 12: 303—309, 2002.
- 5) Holme S, McAlister MB, Ortolano GA, et al: Enhancement of a culture-based bacterial detection system (eBDS) for platelet products based on measurement of oxygen consumption. *Transfusion*, 45: 984—993, 2005.
- 6) McDonald CP, Pearce S, Wilkins K, et al: Pall eBDS: an enhanced bacterial detection system for screening platelet concentrates. *Transfus Med*, 15: 259—268, 2005.
- 7) Ribault S, Harper K, Grave L, et al: Rapid screening method for detection of bacteria in platelet concentrates. *J Clin Microbiol*, 42: 1903—1908, 2004.
- 8) Schmidt M, Weis C, Heck J, et al: Optimized scansystem<sup>™</sup> platelet kit for bacterial detection with enhanced sensitivity: detection within 24 h after spiking Vox Sang 89: 135—139, 2005.
- 9) Fang CT, Chambers LA, Kennedy J, et al: Detection of bacterial contamination in apheresis platelet products: American Red Cross experience, 2004. *Transfusion*, 45: 1845—1852, 2005.
- 10) te Boekhorst PA, Beckers EA, Vos MC, et al: Clinical significance of bacteriologic screening in platelet concentrates. *Transfusion*, 45: 514—519, 2005.
- 11) Larsen CP, Ezligini F, Hermansen NO, et al: Six years' experience of using the BacT/ALERT system to screen all platelet concentrates, and additional testing of outdated platelet concentrates to estimate the frequency of false-negative results. *Vox Sang*, 88: 93—97, 2005.

- 12) 橋本浩司, 布施ひとみ, 須合奈留美, 他: 血小板製剤における簡便な細菌汚染確認法の評価. 血液事業, 22: 491—497, 2000.
- 13) Silva MA, Gregory KR, Carr-Greer MA, et al: Summary of the AABB interorganizational task force on bacterial contamination of platelets: Fall 2004 impact survey. *Transfusion*, 46: 636—641, 2006.
- 14) McDonald CP, Colvin J, Robbins S, et al: Use of a solid-phase fluorescent cytometric technique for the detection of bacteria in platelet concentrates. *Transfusion Med*, 15: 175—183, 2005.
- 15) 杉浦さよ子, 井上千加子, 中島正三, 他: 全自動血液培養装置を用いた細菌の検出に関する検討. 血液事業, 25: 471—478, 2002.
- 16) Schmidt M, Hourfar MK, Wahl A, et al: Fluorescence quencher improves SCANSYSTEM™ for rapid bacterial detection. *Vox Sang*, 90: 276—278, 2006.
- 17) Dumont LJ, AuBuchon JP, Whitley P, et al: Seven-day storage of single-donor platelets: recovery and survival in an autologous transfusion study. *Transfusion*, 42: 847—854, 2002.
- 18) AuBuchon JP, Taylor H, Holme S, et al: In vitro and in vivo evaluation of leukoreduced platelets stored for 7 days in CLX containers. *Transfusion*, 45: 1356—1361, 2005.
- 19) Cognasse F, Boussoulade F, Chavarin P, et al: Release of potential immunomodulatory factors during platelet storage. *Transfusion*, 46: 1184—1189, 2006.

## EVALUATION OF THREE BACTERIA DETECTION SYSTEMS FOR CONTAMINATION OF APHERESIS PLATELETS

Sayoko Sugiura, Isao Takahashi, Chikako Inoue, Miyuki Takayanagi and Tadashi Kamiya

Aichi Red Cross Blood Center

### **Abstract:**

**Background:** In Japan, all platelet products are provided as single donor apheresis platelets (SDPs), and the storage period is limited to a maximum of 72 hours due to the possibility of bacterial contamination. In several countries, however, extension of storage to 5 to 7 days has been implemented with routine bacterial testing. Two culture methods, BacT/ALERT<sup>®</sup> and eBDS<sup>®</sup>, and one direct bacterial detection method, Scansystem<sup>™</sup>, were studied to evaluate their performance and detection sensitivity for contaminated platelets.

**Study design and methods:** Twelve freshly collected leukocyte-reduced SDPs were spiked with one of four bacteria species, *Serratia liquefaciens*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*, *Propionibacterium acnes* (each n = 3), at a concentration of 10 colony forming units (cfu)/ml. After inoculation, SDPs were stored for 7 days under standard conditions. Samples were taken every 24 hours until positive results with each detection system were obtained.

**Results:** One sample spiked with *Serratia liquefaciens* and obtained at 24 hours showed false-negative results with all detection systems. Detection sensitivity of aerobic bacterial species was almost the same between BacT/ALERT<sup>®</sup> and eBDS<sup>®</sup> ( $\leq 10$  cfu/mL). Only anaerobic culture bottles with the BacT/ALERT<sup>®</sup> system detected *Propionibacterium acnes*, but the mean detection time was 3.2 days. As the total test time for Scansystem<sup>™</sup> is 70 minutes, it showed an advantage for the detection of rapidly growing bacteria.

**Conclusion:** Although bacterial screening methods effectively contribute to reducing transfusion-transmitted infections, attention should be paid to possible false-negative results, and their dependence on sampling time. With implementation of bacterial testing, it is essential for platelet shelf-life extension because platelet products will have to be held inventory one or two more days. Strategies to maintain high platelet efficacy for longer periods should be considered at the same time.

### **Keywords:**

bacteria detection system, BacT/ALERT<sup>®</sup> 3d, eBDS<sup>®</sup>, Scansystem<sup>™</sup>