

濃厚血小板に混入した MSSA により発症した敗血症の 1 例

宇留間元昭¹⁾ 加藤 栄史¹⁾ 安藤 高宣¹⁾ 丹羽 玲子¹⁾ 片井 明子¹⁾
 林 恵美¹⁾ 浅井真理子¹⁾ 伊藤 公人²⁾ 仁田 正和²⁾ 土井まつ子³⁾
 高本 滋¹⁾

背景：近年，輸血による細菌感染症の報告は増加傾向にある。しかし，輸血との因果関係を直接証明した症例はほとんどない。今回，濃厚血小板（PC）の細菌汚染により発症した敗血症の一例を経験したので報告する。

症例：70 歳男性。再生不良性貧血にて愛知医科大学病院外来通院中。血小板 10,000/ μ l，ヘモグロビン 7.9g/dl のため PC 輸血，引き続き赤血球（RBC）輸血を受けた。RBC 輸血開始後 15 分より，発熱，軽度の呼吸困難が出現し，感染症疑いにて入院となった。入院後無菌室にて抗生物質等の抗菌剤の投与を受け，全身状態は比較的安定していたが，翌朝死亡が確認された。病理解剖の承諾は得られなかった。

原因検索のため，発熱時に患者血液検査及び血液培養を行った。さらに，PC バッグ，セグメントチューブおよび RBC バッグ内の残余血液を用いて血液培養を施行した。患者白血球は著明に減少しており（300/ μ l），初期の血液培養にて黄色ブドウ球菌が検出されたことより，敗血症と診断された。一方，PC バッグ，セグメントチューブ双方から黄色ブドウ球菌が検出されたが，RBC バッグから菌は検出されなかった。これら 3 種（患者血液，PC バッグおよびセグメントチューブ）の菌株に対する薬剤感受性試験より，全て methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) と判定され，さらに感受性パターン，コアグラゼ試験，遺伝子検査により，全て同一と判定されたことより，PC に混入した MSSA により発症した敗血症であることが明らかとなった。

結語：輸血による細菌感染を疑った場合，患者のみならず，該当製剤バッグ内，さらにはセグメント内の血液を用いて細菌培養することが重要と考えられた。また，MSSA などの皮膚常在菌は採血の際に血液製剤に混入する可能性があるため，特に常温保存の PC については感染の危険性を認識する必要があると考えられた。

キーワード：methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA)，敗血症，血小板製剤

はじめに

輸血後感染症は，ABO 型不適合輸血，輸血関連急性肺障害（TRALI）などと並び重要な輸血副作用の一つである。輸血後感染症の病原菌としてはウイルス，原虫，細菌などが知られているが，ウイルス感染のリスクは 1999 年 11 月の核酸増幅検査（NAT）の導入により減少傾向にある。しかし，細菌に関しては必ずしも同様の状況になく，むしろ日本赤十字社に寄せられた細菌感染症疑い例は，2000 年の 10 例から 2005 年の 54 例と増加傾向にある¹⁾。ただし 2000 年以降に限定すれば，血液製剤と患者血液から同一の細菌が検出された事例は 3 例^{2)~4)}に留まり，それ以外の症例では細菌感染症と輸血との直接の因果関係は明らかになっていない。今回，再生不良性貧血で血小板輸血後敗血症を発症し，

患者血液と製剤から同一の methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) を検出した事例を経験したので報告する。

症 例

症例は 70 歳男性。既往歴，家族歴に特記事項なし。
 現病歴：平成 15 年 9 月に皮下出血出現。重症型再生不良性貧血と診断され，同年 11 月の初回入院で antithymocyte globulin, cyclosporine A 療法を受けたが効果なく，6 回/週 granulocyte colony-stimulating factor 投与，週 1~2 回の輸血（赤血球，血小板），蛋白同化ホルモン投与（連日）などを行い，白血球数 2,000/ μ l 前後，ヘモグロビン値（Hb）8g/dl 前後，血小板数 10,000/ μ l 前後で維持されていた。その間，好中球減少による重

1) 愛知医科大学病院輸血部

2) 愛知医科大学病院血液内科

3) 愛知医科大学看護学部

〔受付日：2007 年 1 月 19 日，受理日：2007 年 8 月 2 日〕

Table 1 Blood examination pre- and post-PC transfusion

	Pre-PC Transfusion	Post-PC Transfusion
Time	10:30	14:15
WBC (μl)	2,000	300
Neutro (%)	12	23
Lympho (%)	70	76
Mono (%)	18	1
Eosino (%)	0.0	0.0
Baso (%)	0.0	0.0
RBC ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	2.53	2.90
Hb (g/dl)	7.9	8.8
Ht (%)	22.1	25.7
PLT ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	10	74
TP (g/dl)	6.9	8.0
T-Bil (mg/dl)	0.62	0.72
BUN (mg/dl)	13.5	14.5
Cr (mg/dl)	0.82	0.84
AST (U/l)	24	31
ALT (U/l)	52	57
LDH (U/l)	136	184
CRP (mg/dl)	1.52	1.61

Platelet count increased after PC transfusion, while WBC count decreased.

症感染症、血小板輸血によるショックなどで計5回の入院の既往があった。平成18年5月定期受診のため来院。血液検査の結果、Hb7.9g/dl、血小板10,000/ μl であったが、貧血に伴う息切れがあり、血小板数は予想値より高かったものの外来通院治療であったこともあり、赤血球及び血小板輸血を実施した。輸血前の状態は血圧165/76mmHg、脈拍69/分、体温35.8度であり、胸腹部の理学的所見および自覚症状などに特に異常は認められなかった。

臨床経過をFig.1に示す。血小板輸血によるショックの既往があるため、予防的に抗アレルギー剤（セレスタミン[®]1T内服）、ステロイド剤（ソルコーテフ[®]100mg、静注）の投与を行った。その後、10時50分より10単位の濃厚血小板（PC）、を開始したが、輸血中（約2時間）身体所見の大きな変化はなく終了した。輸血後約20分間、患者に異常所見のないことを確認後、赤血球MAP（MAP）2単位を開始した。開始後15分より悪寒、戦慄が出現し、体温が37.5度まで上昇したため直ちに輸血を中止し、Plus Aerobic、Anaerobic/F culture Vialsを用いた血液培養と血液検査を施行した。血液検査では白血球数は輸血前の2,000/ μl から300/ μl へと著減したが、溶血反応、播種性血管内凝固（DIC）を疑う所見はなかった。その後体温は40.7度まで上昇、酸素飽和度は一過性に84%となり、午後4時30分、患者は重症感染症の疑いの下緊急入院となった。胸部X線検査では陳旧性肺炎以外の所見はなく、TRALIならびに心不全を疑う所見は認められなかった。入院後は無菌室に入室し、酸素吸入（経鼻2l）、抗生剤（MEPM

0.5g、AMK 400mg：共にMSSAに感受性あり）、抗真菌剤（ファンガード[®]75mg）、G-CSF（ノイトロジン[®]250 μg ）、 γ グロブリン製剤（ベニコロン[®]5g）の治療を受けた。体温は38度から39度を推移し、血圧は130台、O₂2lの酸素吸入により酸素飽和度も97%前後と安定しており、下痢症状はあったが、それ以外自覚症状もなく全身状態は安定していた。同日20時の血液検査では白血球400/ μl 、Hb7.6g/dlと輸血直後と同様の値であったが、血小板は輸血により44,000/ μl に増加していた。看護師による巡視は約2時間ごとに行われ、入眠中の呼吸状態は良好であった。しかし、翌朝午前6時20分の訪室時に心肺停止の状態で見られ、蘇生術が行われたが回復せず7時36分に死亡された。病理解剖の承諾は得られなかった。

原因検索

原因検索のため、PC輸血後30分に患者血液の静脈血培養と血液検査を施行した。さらに、輸血後のPCバッグおよび中止したMAPバッグを回収し、バッグ内の残余液で細菌培養検査を施行した。ただし、PCに関しては残量が殆どなく、残余液（PC-remnant）とセグメントチューブ（PC-segment）内の血液から小児用PEDS Plus/FCulture Vialsで検査を行った。その結果、患者血液、PCの残余液、セグメントチューブの3検体から黄色ブドウ球菌が検出され、MAPからは検出されなかった。菌株の同一性を検討するため、薬剤感受性検査、遺伝子検査を行ったところ、共にMSSAであり同一の菌であると判断された。確認のため、当院で得られた3菌株を用いて、日本赤十字社において薬剤感受性検査、遺伝子検査およびコアグラゼ型検査を行った。その結果、3菌株は全てMSSAで、感受性パターン、遺伝子学的にも同一であり、当院での検査結果と相違なかった。また、日本赤十字社において同一献血者の血漿についてチオグリコレート培地を用いた無菌検査を行った結果、陰性であった。さらに患者検体について輸血副作用に関連する血漿蛋白の欠損、これらに対する抗体の有無等について検索したが、全て陰性であった。

考 察

現在、血液センターでは採血時に穿刺部の厳密な除菌のための消毒が施行されているが、毛根部など除菌困難な部位があり、皮膚常在菌の混入を完全に防止することは困難である。特に、PCは室温で保存されるため、細菌が増殖する危険性が高い。事実、Bacon Study⁵⁾では敗血症の頻度が100万単位当りRBCの0.21に対しPCでは10.64と報告され、BACTEM Study⁶⁾でもPCのリスクがRBCより約10倍高いと報告されている。原因菌について高橋ら⁷⁾は海外の論文を集計し、PC

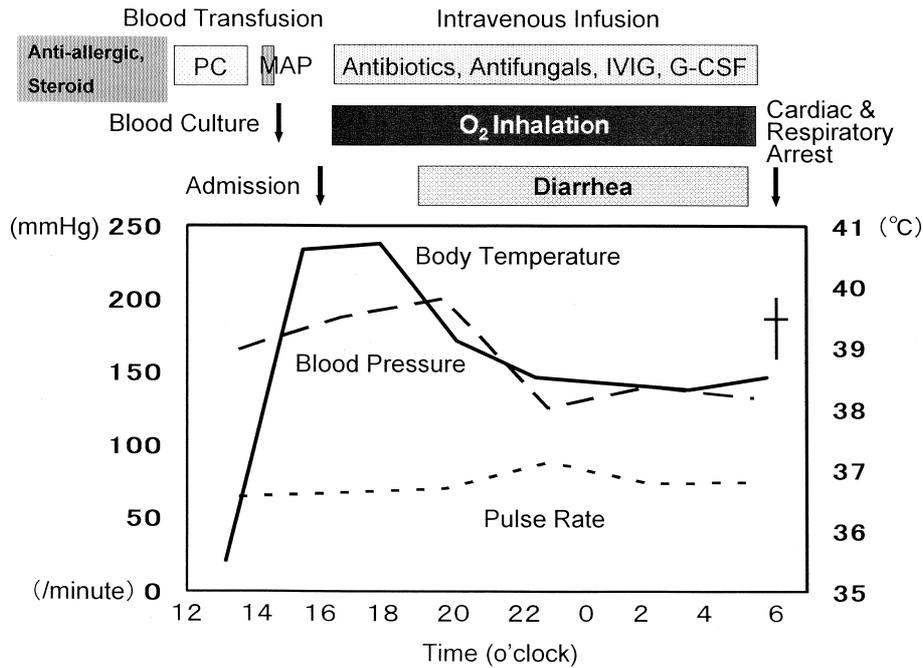


Fig. 1 Clinical course

After PC was transfused, general conditions were observed for 20 minutes to ensure that no adverse events happened with the patient. Fifteen minutes after starting RC-MAP transfusion, fever and chills developed. Immediately, RC-MAP was stopped, and blood culture was performed. As fever increased and O₂ saturation decreased, the patient was admitted to the hospital under suspicion of severe infection. He received several medications after admission, including antibiotics, and his vital signs became stable. However, he died unexpectedly the following morning. Autopsy was refused by the family.

について *Staphylococcus epidermidis* が約 20%, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) が 14%, *Bacillus cereus* が 10% であり, 皮膚常在菌の *Staphylococcus* 類が多くを占めると報告した. 一方, RBC では *Yersinia enterocolitica* (*Y. ect*) が約 50%, *Pseudomonas fluorescens* が 17% であり, その他 *Serratia marcescens*, *Enterobacter agglomerans* などであった. 本邦では原因菌について 3 例の報告例^{2)~4)}があり, 1 例は RBC による *Y. ect* 感染²⁾であり, 他の 2 例は PC による *Morganella morganii*³⁾, *Streptococcus pneumoniae* 感染⁴⁾であった. 今回の原因菌である *S. aureus* の報告例は本邦では見られないものの, 海外では散見されている⁸⁾. したがって皮膚常在菌として, 採血の際には十分に注意する必要がある.

血液製剤による感染を疑う場合, 培養検査の対象として, 1) 製剤バッグ, 2) セグメントチューブ(チューブ), 3) 製剤と同時に採取した原料血漿(PCの場合)の 3 種類が挙げられるが, 実際には細菌が検出される例は殆どない. その原因として以下のことが考えられる. 製剤バッグの場合, 発熱などが発症した時点で血液残量が殆どない場合も多く, バッグ内の残余液では培養のための必要量(約 20ml)に満たないことから検査が困難になる. 次にチューブの場合, 通常は採取後

約 5~6 時間で本体と分離されバッグ内と同条件ではないため, 陽性となりにくい. すなわち, バッグ内では細菌が増殖していても, チューブ内では増殖しておらず検査結果が陰性となる可能性がある. さらに, 原料血漿の場合, 遠心して PC と分離するため, 細菌は PC 製剤側に沈殿し, 血漿成分からは検出困難となる可能性が強い. 事実, 本症例においても該当製剤と同時に採取した血漿の培養検査は陰性であった. 本邦における細菌感染疑い例は年間数十例あるが, 上記の理由により実際には細菌が同定されないと推測される. 今回, 検出困難とされるチューブ内から細菌が検出できた要因としては, 該当チューブは採血約 16 時間後に本体と分離され, チューブとバッグ内の血液が長時間同様の保存条件であったことが考えられる. さらに, 本菌は増殖評価試験においてごく少量の菌接種(10CFU/bag)にもかかわらず 48 時間後には 10⁶ レベルまで増殖したことから, 極めて増殖速度が早く, チューブ内に高濃度で存在していたことも 1 因と考えられた. 本症例では剖検がなされなかったため, 敗血症と死因との直接の関連は証明できなかったが, 本菌の異常な増殖力の速さにより患者が敗血症ショックに陥り急変したことも否定しきれない.

Table 2 Identification of three MSSA strains isolated from patient blood, PC segment, and PC remnant by several methods

	Sources	Strain Type	Drug Sensitivity	Coagulase	DNA
Aichi Medical University Hospital	Patient Blood	MSSA *	identical		identical
	PC-segment				
	PC-remnant				
	MAP	(-)			
Blood-Center	Patient Blood	MSSA *	identical	identical (Type VIII)	identical
	PC-segment				
	PC-remnant				

* MSSA (Methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*)

At Aichi Medical University Hospital, MSSA was detected from patient blood, PC-segment, and PC-remnant. Drug sensitivity tests and DNA analysis of strains from the three samples proved them to be identical. At the blood center, when similar investigations were performed using the three strains, the same result was obtained. No bacteria were detected from MAP. In addition, immunological examinations using patient serum, were negative for anti-HLA antibody, anti-HPA antibody, defect of plasma proteins, anti-plasma protein antibodies, and tryptase increase.

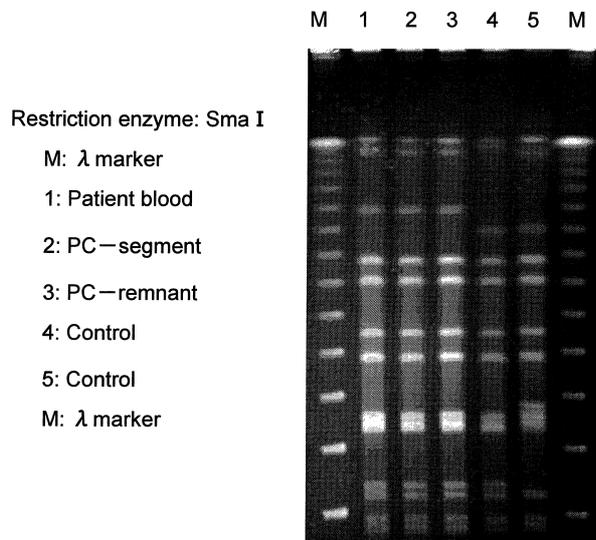


Fig. 2 DNA analysis (PFGE patterns) of three MSSA strains isolated from patient blood, PC segment, and PC remnant, respectively.

PFGE (pulse field gene electrophoresis) patterns of Sma I-digested DNAs which were extracted from bacteria of each material. The patterns of lines 1, 2, and 3 were proved identical.

我国では血液製剤の安全性を考慮して、各血液製剤の保存期間が欧米より短期間に設定され、その分細菌感染のリスクは低いと考えられている。しかしながら、本例のように血液製剤の細菌汚染による敗血症例も散見されており、より積極的な対策が必要と考えられる。その一つに初流血除去が挙げられる。Bruneauら⁹⁾は15mlの初流血を除去することにより細菌汚染のリスクが28%に減少することを報告した。事実、欧米では初流血除去が導入され、その効果が認められてい

る。我国では血小板製剤に関しては、日本赤十字社が平成18年10月に導入しており、今後、細菌汚染に対する予防効果が期待される。さらに、室温保存するPCの安全性を向上するには、供給前における細菌培養検査の導入も選択肢の一つとして考えられる。ただし、この実用化のためには短期間培養で判定するシステムが必要となる。現在、PCに対する培養システムの開発企業は数社にのぼり、既に米国にて実用化されているものもある¹⁰⁾。今後、我が国においても初流血除去のみならず培養システムを導入することができれば、理論的には血液製剤の安全性をさらに増加させることができる。ただし、培養システム導入については擬陽性、擬陰性の評価を含めた培養システムの信頼性、費用対効果の評価など慎重に検討する必要がある。

謝辞：本症例の検査にご協力いただいた愛知医科大学病院中央検査部、愛知県赤十字血液センター、日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所の関連諸氏に深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) 百瀬俊也：輸血後の感染症報告の現状。第14回赤十字血液シンポジウム：16—21, 2006.
- 2) 山本和央, 高瀬栄司, 高見泰宏, 他：輸血による *Yersinia enterocolitica* 感染症により死亡した1例。ICUとCCU, 29 (2)：145—149, 2005.
- 3) 石田 明, 上村知恵, 橋詰賢一, 他：血小板輸血後に敗血症性ショックを呈し, *Morganella morganii* 菌による輸血後感染症が強く示唆された1例。日本輸血学会雑誌, 50 (5)：726—729, 2004.
- 4) 片山俊夫, 神谷昌弓, 保科定頼, 他：肺炎球菌に汚染された血小板濃厚液の輸血直後に発症した敗血症性ショック

- クと横紋筋融解症の致死の合併例. 臨床血液, 44 (6) : 381—385, 2003.
- 5) Kuehnert MJ, Roth VR, Haley NR, et al: Transfusion-transmitted bacterial infection in the United State, 1998 through 2000. *Transfusion*, 41: 1493—1499, 2001.
- 6) Perez P, Salmi LR, Follea G, et al: Determinants of transfusion-associated bacterial contamination: results of the French BACTHEM Case-Control Study. *Transfusion*, 41: 862—872, 2001.
- 7) 高橋雅彦, 名雲英人, 佐竹正博: 輸血による細菌感染症. 臨床検査, 48 : 1131—1140, 2004.
- 8) Perpoint T, Lina G, Poyart C, et al: Two Cases of Fatal Shock after Transfusion of Platelets Contaminated by *Staphylococcus aureus*: Role of Superantigenic Toxins. *Clinical Infections Disease*, 39: e106—109, 2004.
- 9) Bruneau C, Perez P, Chassaing M, et al: Efficacy of new collection procedure for preventing bacterial contamination of whole-blood donations. *Transfusion*, 41: 74—81, 2001.
- 10) Jacobs MR, Bajaksouzian S, Windau A, et al: Evaluation of the Scansystem method for detection of bacterially contaminated platelets. *Transfusion*, 45: 265—269, 2005.

A FATAL CASE OF SEPSIS CAUSED BY MSSA CONTAMINATION OF PLATELET CONCENTRATE

Motoaki Uruma¹⁾, Hidefumi Kato¹⁾, Takanori Ando¹⁾, Reiko Niwa¹⁾, Akiko Katai¹⁾, Megumi Hayashi¹⁾, Mariko Asai¹⁾, Masato Ito²⁾, Masakazu Nitta²⁾, Matsuko Doi³⁾ and Shigeru Takamoto¹⁾

¹⁾Department of Transfusion Medicine, Aichi Medical University School of Medicine

²⁾Department of Internal Medicine, Division of Hematology, Aichi Medical University School of Medicine

³⁾Aichi Medical University College of Nursing

Abstract:

Reports of transfusion-related bacterial infection have recently increased, although direct causality between patient infection and blood products has been proven in only few instances. Here, the authors report a case of sepsis caused by methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) contamination of platelet concentrate (PC). The 70-year-old patient concerned had aplastic anemia, and was receiving regular out-patient treatment at Aichi Medical University Hospital.

When his platelet count fell to 10,000 / μ l and hemoglobin to 7.9 g/dl, he was transfused with ten units of PC and two units of RBC. Fifteen minutes after the beginning of RBC transfusion, he developed a fever (40.7°C) and mild dyspnea, and was admitted as an in-patient, receiving medication, including antibiotics, in a Clean Room. Although vital signs were stable (systolic blood pressure: 130 mmHg; fever: 38–39°C; SaO₂ : 97%), he died unexpectedly the following morning. His family refused autopsy.

After he had developed fever and chills, his blood tests and blood culture had been examined. Additionally, blood samples in the PC bag, the segment tube and the RBC bag were subjected to blood culture. He was found to be leukocytopenic (WBC: 300 / μ l), and his blood yielded *Staphylococcus aureus*. Blood taken from the PC bag and the segment tube similarly developed *Staphylococcus aureus*, while no bacteria were detected from the RBC bag. Drug sensitivity testing of the three strains proved them to be MSSA, and the coagulase test and DNA analysis showed them to be identical, revealing that the sepsis was caused by MSSA contamination of the PC. Thus, when bacterial infection by blood products is suspected, blood culture should be examined not only for patient blood, but also relevant bags or segment tubes. It is necessary to prevent contamination of blood products by bacteria such as *Staphylococcus* residing in the skin, especially regarding PC, which is primarily kept at room temperature.

Keywords:

MSSA (methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*), sepsis, platelet concentrate (PC)