

## 輸血用血液製剤の細菌汚染の現状と対策

名雲 英人<sup>1)</sup> 佐竹 正博<sup>2)</sup>

キーワード：細菌汚染，輸血用血液，菌血症，有効期限

### はじめに

細菌に汚染された輸血用血液製剤を輸血されたことによる敗血症は、重篤な副作用の一つであるが、頻度は非常に低い。

献血血液の細菌汚染の防止対策として、問診の強化、皮膚消毒法の改良、赤血球製剤の有効期限の短縮、初流血液除去の導入などの対策が講じられてきた。これらにより細菌混入の頻度は下がったが、ごくわずかの細菌が採血バッグ中に混入した場合でも、保存中に加速度的に増殖する可能性があるため、リスクは依然として残っている。細菌が増殖するためには、発育に必要な栄養源と物理的な環境条件(酸素、温度、pH)が整っている必要がある。輸血用血液製剤中には、蛋白質、糖質、無機塩類など細菌が発育するのに必要な栄養源が含まれている。血液製剤中で細菌が増殖できる環境をそれぞれみると、①酸素：血液製剤中は、嫌気的な状態ではないので、好気性細菌や通性嫌気性菌が増殖可能である。増菌培養をする無菌試験で検出される *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) は、嫌気性のため輸血用血液製剤中で増殖することはできない(表1)。②温度：赤血球製剤では低温細菌、血小板製剤では中温細菌が主に増殖ができる。しかし、低温細菌には、25℃以上で増殖できる菌も多く、赤血球製剤で問題になった *Yersinia enterocolitica* (*Y. enterocolitica*) は低温細菌だが、至適発育温度は28~29℃である。③pH：血液製剤は、採血から有効期限までpHは7前後に保たれているため、多くの細菌が増殖可能な条件である。このように血液製剤は細菌が増殖するのに比較的よい条件下にあり、菌が混入した場合、多くの菌が増殖できる環境にあるといえる(表2)。それにもかかわらず増殖した細菌が血液製剤中で検出される頻度が低いのは、混入した細菌が白血球や血漿中の補体の働きにより増殖を抑制されていることなどによると考えられる<sup>1)2)</sup>。

### 近年輸血用血液製剤から検出されている細菌

#### 1. 日本

2007年~2011年に医療機関から細菌による輸血感染の疑いで報告され、輸血用血液製剤から細菌が検出された事例は、血小板製剤で *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) 2例、*Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (*S. dysgalactiae*) 2例、*Serratia marcescens* (*S. marcescens*) 1例、*Streptococcus agalactiae* (*S. agalactiae*) 1例の4菌種6例、赤血球製剤では保存前白血球除去や初流血除去導入前の2006年に *Y. enterocolitica* が2例検出されて以降事例はない<sup>3)~5)</sup>。

血小板製剤については、2005年から2008年にかけて全国の血液センターで採血後72時間の有効期限が過ぎた血小板製剤を培養して汚染頻度を検証した<sup>6)</sup>。初流血除去導入後の血小板からは、皮膚常在菌(*P. acnes*を除く)の *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) が1検体、皮膚通過菌またはドナー由来と思われる菌は、*S. aureus*、*Escherichia coli* (*E. coli*)、*S. dysgalactiae* がそれぞれ1検体検出された。初流血除去導入前の血小板製剤からは、初流血除去だけでは排除が難しいと思われるドナー由来の *Salmonella choleraesuis* (*S. choleraesuis*) や口腔内細菌の *Eikenella corrodens* (*E. corrodens*) が検出されている(表3)。2012年には、輸血には使用されなかった医療機関からの血小板製剤の苦情品の中に *E. coli* と *S. aureus* が検出されている<sup>7)8)</sup>。

#### 2. イギリス

SHOT (Serious Hazards of Transfusion) 報告において、輸血との関連性が高いと評価された細菌感染症例は、2010年と2011年の事例報告はない。2007年~2009年において赤血球製剤で *Enterobacter cloacae* 1例、*Pseudomonas putida* 1例、*Pseudomonas koreensis* 1例の3菌種3例、成分採血由来の血小板製剤でG群 *Streptococcus* 1ドナー2例、*Klebsiella pneumoniae* (*K. pneu-*

1) 日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター

2) 日本赤十字社中央血液研究所

〔受付日：2013年9月25日，受理日：2013年11月15日〕

表1 *P. acnes* の血小板製剤中の動態 (CFU/ml)

接種時	72 時間後	96 時間後	120 時間後
$4.4 \times 10^2 \sim 5.2 \times 10^2$	$3.2 \times 10^2 \sim 4.3 \times 10^2$	$3.2 \times 10^2 \sim 4.3 \times 10^2$	$3.0 \times 10^2 \sim 3.7 \times 10^2$

表2 増殖するための環境条件と増殖可能な血液製剤

○：増殖可 △：一部増殖可 ×：増殖不可

			PC	RCC
酸素	酸素がなければ増殖できない	好気性菌	○	○
	酸素があると増殖できない (O <sub>2</sub> 感受性)	嫌気性菌	×	×
	酸素あってもなくても増殖できる	通性嫌気性菌	○	○
温度	0℃～25℃ で増殖可能	低温細菌	△	○
	10℃～45℃ で増殖可能	中温細菌	○	△
	25℃～80℃ で増殖可能	高温細菌	×	×
pH	多くの細菌は 5.0～8.0 至適値は 7.0～7.6		○	○
	真菌：4.0～6.0		×	×

表3 血小板製剤の初流血除去導入前後で検出された細菌

細菌の由来 (推定)	初流血除去前	初流血除去後
皮膚	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (4) <i>Staphylococcus sp</i> (1) <i>CO (-) Staphylococcus sp</i> (1) <i>Staphylococcus saccharolyticus</i> (1) <i>Gram (+) bacillus, non-spore</i> (1) <i>P. acnes</i> (24)	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (1) <i>P. acnes</i> (7)
一時的皮膚付着又は血液	<i>Staphylococcus aureus</i> (2)	<i>Staphylococcus aureus</i> (1)
献血者血液	<i>Streptococcus constellatus</i> (1) <i>Salmonella choleraesuis</i> (1) <i>Eikenella corrodens</i> (1)	<i>Streptococcus dysgalactiae subsp. Equisimilis</i> (1) <i>Escherichia coli</i> (1)

*moniae*) 1 ドナー2 例, *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*) 1 例, プール血小板で *Bacillus cereus* 1 例, *S. epidermidis* 1 例, G 群 *Streptococcus* 1 例が報告されている<sup>9)</sup>. 細菌のスクリーニング検査は, 2011 年から血小板製剤について全自動培養装置 BacT/Alert システム (BioMérieux 社) により実施している.

### 3. アメリカ

FDA に報告された 2007 年～2011 年の輸血による細菌感染での死亡例報告では, 赤血球製剤によるものの報告はなく, 成分由来血小板製剤によるもので *S. aureus* 4 例, *Klebsiella* 属 2 菌種 2 例, *Coagulase negative Staphylococcus* (CNS) 3 菌種 3 例, *Morganella morganii* 1 例の 7 菌種 10 例, プール血小板で *S. aureus*, *E. coli*, *S. dysgalactiae*, *S. pneumoniae* の 4 菌種 4 例が報告された. *S. aureus* の感染報告が成分由来及びプール血小板合わせ 5 例と最も多い原因菌である<sup>10)</sup>. 細菌のスクリーニング検査は, 2004 年から血小板製剤について BacT/Alert システム, Pall eBDS 法 (Pall 社), PGD (Pan Genera Detection system, Verax 社) 等により実施さ

れている (下記参照).

### 血液製剤への細菌混入経路

#### 1. 皮膚からの混入

皮膚から検出される細菌は, 明確ではないが常在菌と通過菌に分けられている (表 4). 一般的な細菌感染症は, 通過菌によるものが多いが, 輸血による感染症は, 常在菌, 通過菌の区別なく血液製剤中で増殖可能な細菌全てが問題になる. 皮膚は, 弱酸性 (pH4.5～5.5) で一定の水分を保持している. 角層は何層もの細胞が重なった構造からなり, 通常外部から菌の入り込む余地は少なく<sup>11)</sup>, 菌が付着しても角層の脱落によりいっしょに脱落する. この健康人の皮膚からは, CNS, *Micrococcus* 属など皮膚常在菌と *Bacillus* 属菌が主に検出され<sup>12)13)</sup>, 通過菌はあまり検出されない. しかし, アトピー性皮膚炎の人は健康人に比較し *S. aureus* の検出率が有意に高く<sup>14)15)</sup>, アトピー部位以外でも検出率が高いと報告されている<sup>16)</sup>. 血小板製剤から *S. aureus* が検出されたドナーを調査すると肘窩または顔にアトピー性皮膚

表4 皮膚の主な細菌叢

	菌叢	グラム染色性	酸素条件
常在菌	<i>Coagulase negative Staphylococcus</i> (CNS)	(+) 球菌	通性嫌気性
	<i>Micrococcus</i> 属	(+) 放線菌	好気性
	<i>Corynebacterium</i> 属	(+) 桿菌	好気性・通性嫌気性
	<i>Propionibacterium</i> 属	(+) 桿菌	嫌気性
	<i>Acinetobacter</i> 属	(-) 桿菌	好気性
通過菌	<i>Staphylococcus aureus</i>	(+) 球菌	通性嫌気性
	<i>Streptococcus</i> 属	(+) 球菌	通性嫌気性
	<i>Escherchia coli</i>	(-) 桿菌	通性嫌気性
	<i>Klebsiella</i> 属	(-) 桿菌	通性嫌気性
	<i>Enterobacter</i> 属	(-) 桿菌	通性嫌気性
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(-) 桿菌	好気性

炎が確認されることがある<sup>6)</sup>。アトピー患者においては、皮膚から侵入し菌血症を起こしやすい<sup>17)</sup>と言われていることから、細菌がドナーの皮膚から末梢血に侵入し、最終的に血小板を汚染した可能性は否定できない。

## 2. 無症候の菌血症ドナー血液からの混入

健康な人でも激しい歯磨きにより口腔内細菌が血中に入ったり、食物の消化時に細菌が腸から血流に入り一過性の菌血症を起こす場合があるが、混入する細菌量が少なく血液中から即座に除去されるため、これらが健康人において全身感染症を引き起こすことは稀である。しかし、血液製剤中に細菌が混入するとその中で増殖する危険性がある。無症候の菌血症ドナーから採血した血液からは、*Y. enterocolitica*<sup>18)19)</sup>、*Salmonella enterica* (*S. enterica*)<sup>20)</sup>、*S. aureus*<sup>21)</sup>、*Streptococcus bovis* (*S. bovis*)<sup>22)</sup>の感染が報告されている。通常感染の原因と思われる対象からは大量の細菌が検出される。

### 1) ペットからの感染

犬、猫、爬虫類をペットとして飼育している飼い主は、生活域を共有する密接な関係にあり、ペットとの距離が近いほど人への伝播は容易になる。家庭やペットショップなどで飼育されている爬虫類（カメ類、トカゲ類、ヘビ類等）は、*Salmonella* 菌の保有率が高く、日本では54.4%、イタリアで23.9%、ベルギーで62.5%、ドイツ及びオーストラリアで45.5%と報告されている<sup>23)</sup>。また、ペットとして飼育されている爬虫類は、人のサルモネラ感染症から分離される生物型や血清型が同一の *Salmonella* 菌を高率に保有しているとある<sup>23)</sup>。動物病院に来院した細菌感染症の犬や猫からは、*E. coli*、*K. pneumoniae*、*P. aeruginosa*、*Streptococcus* 属菌、CNS など多くの菌が高頻度に検出されている<sup>24)25)</sup>。人と特に親密な関係にある犬や猫は、室内飼いが増え、人に感染するケースが増えているので注意が必要である<sup>26)</sup>。

### 2) 鼻腔内細菌の感染

健康人の鼻腔内からは、CNSのほかしばしば *S. aureus* が検出され、20%~40%の一般健康人の鼻腔内に *S.*

*aureus* が常在しているとされる<sup>27)</sup>。副鼻腔炎をおこしている人は、鼻腔内から多くの細菌が検出される。第4回全国耳鼻咽喉科領域感染症臨床分離菌全国サーベイランス報告によると、成人急性副鼻腔炎患者（20~59歳）から検出された菌の25.8%が *S. pneumoniae*、21.3%が *S. pneumoniae* を除く *Streptococcus* 属菌、9.0%が *S. aureus*、18.0%が CNS とされている<sup>28)</sup>。米国でも155人の副鼻腔炎の患者を調査した結果、*S. pneumoniae*、*S. aureus*、*S. pyogenes*、*K. pneumoniae*、*E. coli*、*P. aeruginosa*、*Bacteroides* sp.、*P. acnes* など好気性菌、嫌気性菌、通性嫌気性菌合わせて300菌株以上が検出されている<sup>29)</sup>。また、ハウスダストによるアレルギーのある人22名のうち15名の鼻腔内から黄色ブドウ球菌を検出したが、アレルギーのない人では18人中4人しか検出されず、有意に差があったという<sup>30)</sup>。黄色ブドウ球菌がサイトカインを活性化して、IgEの産生を促す可能性を示唆するという。

鼻腔内の細菌が菌血症を起こしうる原因菌であるかどうかについてドイツで多施設共同検証をした結果、219例の *S. aureus* 菌血症患者のうち180例、82%で血液中から分離した株と鼻腔から分離した株が同一であった。また、*S. aureus* が定着している患者を経過観察した結果、1,278人のうち14人が後に *S. aureus* 菌血症をおこし、その中の12人は血液からの分離株と鼻腔からの分離株のクローンが一致したと報告されている<sup>31)</sup>。SHOTには、血小板製剤から検出された *S. aureus* とドナーの鼻腔からクローンタイプが一致した報告もある<sup>9)</sup>。また、鼻腔内の *S. aureus* キャリアの人を除菌治療することにより、病院内の感染リスクが低減したとの報告がある<sup>32)</sup>。

### 3) 腸管からの感染

*Y. enterocolitica* に感染したドナーの血液に由来する輸血感染症はよく知られているが、腹痛・発熱・下痢を起こして腸管から血液感染を起こす細菌には、*Salmonella* 菌や *E. coli* など様々な細菌がある。我が国では、

有効期限を過ぎた濃厚血小板から *S. enterica* が検出された事例がある。このドナーは、中国旅行から帰国後、発熱・筋肉痛が続き、帰国1カ月後5日間入院加療した。その後も微熱が続いていたが、退院から2週間後、献血時にそれらの内容を自己申告しないまま血小板を献血した。この採血された血小板は輸血に使用されなかったが、有効期限後に培養した結果、*S. enterica* が検出された。そして1カ月後に200mlの全血採血を行い、赤血球、血漿、パフィーコートをそれぞれ培養した結果、パフィーコート部分から再び *S. enterica* が検出された。*Salmonella* 菌は通性細胞内増殖寄生体の一種で生体内のマクロファージに貪食され細胞内に取り込まれた後、その殺菌機構を逃れて生存し、むしろ食細胞内で増殖することができるため、感染すると長期間生存している場合がある。このため問診時にドナーの健康状態をチェックすることと、ドナー自身が健康状態を正確に申告することが重要である。*S. bovis* は、大腸がん患者との関連が指摘されている<sup>33)</sup>。*S. bovis* の慢性感染が成立すると大腸での発がんを助長すると言われ<sup>34)</sup>、また大腸がん患者は *S. bovis* の菌血症を起こしやすいことから、大腸がんを保有するドナーからの血液は汚染製剤の原因となり得ると同時に、ドナーへの適切なアドバイスも必要となる。

#### 4) 口腔内細菌からの感染

口腔内には嫌気性菌や *Streptococcus* 属菌、*Staphylococcus* 属菌など多くの細菌が常在菌として生息している<sup>35)36)</sup>。これらの様々な菌種が歯磨きや歯科治療等により一時的な菌血症<sup>37)38)</sup>を引き起こす可能性がある。

### 3. その他

海外では、血液バッグのシール部分からの漏れ、チューブ、バッグの破損などが原因となった事例が報告<sup>39)</sup>されているが、日本の輸血用血液製剤の製造状況からみて製造工程中に細菌が混入したり、赤血球製剤や血小板製剤のバッグが製造工程中に破損したのに気がつかないまま出荷されることは非常にまれなケースと考える。

### 細菌汚染防止対策

我が国では、問診から医療機関へ出荷するまでの種々の段階に、細菌による汚染事故を減少させるための対策を施している。

#### 1. 細菌を血液製剤に混入させない対策

##### 1) 問診チェック

献血申込時には、ドナーに対して23の質問を行っている。そのうち細菌汚染防止に関する質問事項は、①口腔内細菌等による菌血症ドナーの排除を目的に「3日以内の出血を伴う歯科治療（抜歯、歯石除去等）の有無」、②エルシニア菌等の保菌ドナーの排除を目的に「1カ月以内の発熱を伴う下痢の有無」、③皮膚や傷口等

からの細菌感染ドナーの排除を目的に「6カ月以内にピアスまたは刺青をしたことの有無」である。ピアスは、他人と器具を共有せずに穴をあけた場合、感染の疑いや局所に炎症がなく1カ月経過していれば採血可としている。ただし、口唇、口腔、鼻腔などの粘膜を貫通しているピアスを挿入している場合は、採血不可としている。

##### 2) 穿刺部位の消毒

採血時の皮膚消毒液については、消毒効果はもちろん速効性と速乾性が求められる。日本の血液センターでの献血時の皮膚消毒は、消毒用綿花で2回以上ふき取り、その後10%ポピドンヨードを塗布し、完全に乾燥してから穿刺するようにしている。ポピドンヨードは、抗菌スペクトルが広く、芽胞を形成する *Bacillus* 属等の一部にも殺菌効果がある。採血時の消毒効果については、10%ポピドンヨードより2%クロルヘキシジナルアルコールのほうが汚染リスクが67%低いとの報告<sup>40)</sup>や、成分血小板採血の皮膚消毒における細菌汚染に関する評価では、2%クロルヘキシジナルアルコールで1回拭き取ったほうがポピドンヨード2回消毒より汚染防止効果があるなどの報告がある<sup>41)</sup>。英国では血液培養時の皮膚消毒に2%クロルヘキシジン70%イソプロパノールを推奨している<sup>42)</sup>。高濃度のクロルヘキシジナルアルコール消毒効果について検証する必要があるが、日本では、2%クロルヘキシジナルアルコールは販売されていない。いっぽう、高濃度のグルコン酸クロルヘキシジンによるアナフィラキシーショックの報告があり<sup>43)</sup>、その発生頻度は、欧米人と比較して日本人では高いとの報告もある<sup>44)</sup>。

##### 3) 白血球除去・初流血除去

わが国では保存前白血球除去と25mlの初流血除去を、血小板製剤に対しては2006年10月、全血由来製剤に対しては2007年3月から全面導入している。血小板製剤については、2005年から2008年にかけて全国の血液センターにおいて、初流血除去前後それぞれ約22,000本ずつ細菌の汚染率を検証した。その結果、陽性率は初流血除去前で0.17%、初流血除去後0.05%と71%の低減効果がある結果を得ている<sup>9)</sup>。しかし、保存前白血球除去、初流血除去導入後も血小板製剤輸血との関連性が高いと考えられる細菌感染事例が報告されている<sup>3)~5)</sup>。赤血球製剤については、初流血30ml除去の検証で初流血除去群と対照群それぞれ約3,000検体を検証した結果、検出率は対照群が7検体0.24%、評価群が *P. acnes* の2検体0.07%が陽性であった<sup>45)</sup>。白血球除去には、*Yersinia* 菌を貪食した白血球とともに除去する効果があり<sup>46)47)</sup>、我が国で2007年3月に全血由来製剤の保存前白血球除去が導入された後は、*Y. enterocolitica* 菌による赤血球製剤の汚染の報告はない。

表5 外観変化の特徴

血小板製剤	外観変化の目安		スワーリングの消失	
	菌数 CFU/ml	凝集・凝固物析出色調変化等	菌数 CFU/ml	(-)/(±)
グラム陽性菌			(+) : positive, (±) : intermediate, (-) : negative	
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 <sup>4</sup> ~ 10 <sup>8</sup>	凝集, 凝固	10 <sup>7</sup> ~ 10 <sup>8</sup>	(±) ~ (-)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	10 <sup>7</sup> ~ 10 <sup>8</sup>	無	10 <sup>7</sup> ~ 10 <sup>8</sup>	(+) ~ (±)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	10 <sup>7</sup>	凝集, 黄緑	10 <sup>7</sup> ~ 10 <sup>8</sup>	(-)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	10 <sup>6</sup> ~ 10 <sup>8</sup>	凝集, 黄緑/緑	10 <sup>8</sup>	(±) ~ (-)
<i>Streptococcus mitis</i>	10 <sup>7</sup> ~ 10 <sup>8</sup>	凝集, 黄緑/緑	10 <sup>8</sup>	(-)
グラム陽性桿菌				
<i>Bacillus cereus</i>	10 <sup>6</sup> ~ 10 <sup>7</sup>	凝集, 混濁	10 <sup>6</sup> ~ 10 <sup>7</sup>	(-)
グラム陰性桿菌				
<i>Enterobacter cloacae</i>	10 <sup>7</sup> ~ 10 <sup>8</sup>	凝集, 凝固	10 <sup>7</sup> ~ 10 <sup>8</sup>	(-)
<i>Escherichia coli</i>	10 <sup>8</sup> ~ 10 <sup>9</sup>	凝集, 凝固	10 <sup>7</sup> ~ 10 <sup>8</sup>	(-)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10 <sup>7</sup> ~ 10 <sup>8</sup>	無/凝集, 凝固	10 <sup>7</sup> ~ 10 <sup>8</sup>	(+)/(±) ~ (-)
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	10 <sup>7</sup>	凝集	10 <sup>7</sup> ~ 10 <sup>8</sup>	(±) ~ (-)
<i>Serratia liquefaciens</i>	10 <sup>6</sup> ~ 10 <sup>8</sup>	凝集・凝固	10 <sup>6</sup> ~ 10 <sup>8</sup>	(-)
<i>Serratia marcescens</i> 赤色色素産生株	10 <sup>8</sup>	凝固・一部ピンク	10 <sup>8</sup>	(-)

  

赤血球製剤	外観変化の目安	
	菌数 CFU/ml	色調変化等
グラム陰性桿菌		
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	10 <sup>7</sup> ~ 10 <sup>8</sup>	暗赤色, 保存とともにさらに黒色に変化
<i>Serratia liquefaciens</i>	10 <sup>7</sup> ~ 10 <sup>8</sup>	暗赤色, 保存とともにさらに黒色に変化, 硫黄臭あり
<i>Serratia marcescens</i>	10 <sup>7</sup> ~ 10 <sup>8</sup>	暗赤色, 保存とともにさらに黒色に変化, 硫黄臭あり
<i>Yersinia enterocolitica</i>	10 <sup>7</sup> ~ 10 <sup>9</sup>	暗赤色, 保存とともにさらに黒色に変化, 硫黄臭あり

・菌数は、外観変化時の数を示した。

2. 混入した細菌による汚染事故を減少させる対策

1) 血液製剤の有効期限

①赤血球製剤：我が国の赤血球製剤の有効期限は、赤血球製剤の保存液として MAP 液が導入された当初は 42 日であった。その後、保存 44 日目の赤血球製剤から *Y. enterocolitica* が検出<sup>48)49)</sup>されたことや、諸外国で起きた輸血による *Yersinia* 菌の感染事例の 70% が保存 22 日目以降の製剤によるもので、死亡例の 68% が保存 22 日目以上の製剤で起きている<sup>50)</sup>ことなどから、日本では 1995 年に赤血球製剤の有効期限を 21 日へ変更し今日に至っている。有効期限の変更から 2007 年の保存前白血球除去の導入までの間に、*Yersinia* 菌の感染事例は残念ながら 2 件報告されている。

②血小板製剤：日本の血小板の有効期限は、4 日(採血日を 1 日目とした場合、実質は 72 時間+最大 11 時間)であるが、欧米では 6 日(採血日を 1 日目とした場合)とするところが多い。欧米での培養スクリーニング導入前の死亡例を含む重症例において、原因となった血小板製剤の保存日数の記載がある文献<sup>51)~53)</sup>を集計すると、4 日までの保存によるものが 39%、5、6 日保存の血小板製剤によるものが 61% である。このことは、日本で血小板製剤の有効期限を 4 日(3+α 日)と短く

していることが、重篤な細菌感染の発生を実際に抑えていることを示唆している。

細菌の検出方法

1. 低感度検査

1) 外観検査

外観の変化は、菌種や菌濃度によってその状態はさまざまであり(表 5)、また感度は 10<sup>6</sup>~10<sup>8</sup>cfu/ml と低い最も簡便な方法である。特徴的な外観変化は、①赤血球製剤：主に溶血が観察される。細菌が極度に増殖すると著しい溶血を起こす。また血液バッグ全体は黒色化するが、セグメント内の赤血球は通常、正常な色調である。そのため、本体バッグとの色調比較は、外観検査の指標のひとつになる。②血小板製剤：菌種の違いにより様々な外観変化を起こす。特徴的な変化としてスワーリングの消失、凝集、凝固物の析出、また混濁や緑色変化がみられる場合もある。セグメントは、表 6 に示すように本体バッグと比較して細菌が増殖しにくいいため、通常細菌による凝集、凝固物は認められない。たとえば、血小板本体に *S. aureus* を接種した後 18 時間目にセグメントを作成した場合、セグメント作成時の本体バッグ中の菌量が 10<sup>2</sup>~10<sup>6</sup>CFU/ml 以上



表6 血小板製剤とセグメント中の *S. aureus* の増殖性

No	接種菌量 (CFU/bag)	血小板本体			セグメント	
		18時間後 セグメント作成時 (CFU/ml)	72時間後 (CFU/ml)	外観 (凝集・凝固物 色調変化等の有無)	72時間後 (CFU/ml)	外観 (凝集・凝固物 色調変化等の有無)
1	10	未検出	$7.0 \times 10^6$	凝集物有	未検出	無
2		未検出	$6.7 \times 10^6$	凝集物有	未検出	無
3	100	未検出	$2.1 \times 10^8$	凝集物有	未検出	無
4		25	$2.2 \times 10^6$	凝集物有	未検出	無
5	1,000	$3.6 \times 10^3$	$8.7 \times 10^7$	凝集物有	$2.3 \times 10^7$	凝集物有
6		$1.6 \times 10^2$	$1.5 \times 10^6$	凝集物有	$1.7 \times 10^7$	凝集物有

でないと72時間後のセグメント中から菌を確認できなかった。採血時に混入する細菌量は、100 CFU/bag以下であると考えられていることから、セグメントを細菌検出のためのサンプルとして用いることは多くの場合不適切であると思われる。

## 2) 菌体成分を媒介とする反応を利用するシステム

① PGD (Pan Genera Detection system, Verax 社) : PCの1滴を垂らしてイムノクロマト法で菌体を検出する簡便な方法である<sup>54)</sup>。グラム陰性菌は lipopolysaccharide を、グラム陽性菌は lipoteichoic acid を標的としている。感度は  $10^4 \sim 10^5$  cfu/ml とされ、米国 FDA に認可されている。② BacTx システム (BacTx Assay System) : 細菌の細胞壁の成分ペプチドグリカンに特異的に結合する蛋白を介した酵素標識法で、PGD 同様 FDA の認可を受けている。感度は、 $10^3 \sim 10^4$  cfu/ml で  $10^4$  cfu/ml 以上の細菌汚染を48時間~72時間後に100%検出できると報告されている<sup>55)</sup>。いずれも、医療機関でも簡便に実施できることが必要条件である。③ pH, グルコース濃度,  $pO_2$  や  $pCO_2$  の変化をみる。

## 2. 高感度検査

### 1) 培養法

① BacT ALERT システム : BacT ALERT 専用のボトル (好気性, 嫌気性) に検体を接種し、定温で振とう培養しながら、菌が産生する  $CO_2$  量に比例して変化し、培養ボトル底部のセンサーの色調変化 (青色→黄色) を、反射光検出器で連続的にモニターリングし、結果を自動判定する。細菌の増殖が指数増殖期に入るまでの期間 (誘導期) は、加速度的な  $CO_2$  産生量を検出し、指数増殖期は  $CO_2$  産生率を検出する。静止期にはすでに基準値に達している  $CO_2$  を検出する。この3つの検出アルゴリズムにより判定される。検出感度は、米国での成分血小板製剤 (9 菌種)、PASSIII 添加血小板製剤 (10 菌種) のバリデーション結果では、ボトル接種菌量  $1 \sim 22$  CFU/ml の範囲で100%の検出率と報告されている<sup>56)57)</sup>。② eBDS (Pall enhanced bacterial detection system) : 細菌の増殖とともに消費する酸素を測定することで細菌を検出するシステムである。検出感

度は、 $1 \sim 15$  cfu/ml と報告されているが、嫌気性菌は検出できない<sup>58)</sup>。

2) PCR 法 : すべての細菌に共通の 16s ribosomal RNA を増幅するプライマーと DNA ポリメラーゼを用いて核酸増幅により細菌の有無を判定するもの、或いは、代表的な細菌の塩基配列に対応するプライマーをプールして用いるものがある。これらの検出方法は、最近ドイツ赤十字社で、保存2日目の10プール検体でも100%検出可能なシステムを完成させ、ポール・エールリッヒ研究所の認可を受けた<sup>53)</sup>。

3) 蛍光染色法 : 蛍光色素で染色した細菌を蛍光顕微鏡, CCD カメラやフローサイトメータにより検出する。煩雑な前処理が必要になる。

いずれの方法も感度は高いので、血液センターでの在庫期間中の検査に適しているが、混入細菌数が低い初期の血液製剤から高率に細菌をサンプリングするには、一定以上のプレインキュベーションの時間が必要となるため、適切なサンプリングの時期を見極める必要がある。

4) 病原体低減化法 : 輸血用血液製剤の病原体低減化技術はその解決策の一つであるが、多くの問題点を含みまだ完成されたものとは言い難い。血小板製剤の病原体低減化を国策として全面導入したのは、スイスのみである。ベルギーも全国での導入を決定しているが、北半分では導入が滞っている。フランスも導入を決めてはいるが、まだ一部の地域のみにとどまって数年が経過している。我が国でも細菌検出技術の開発や低減化する技術の導入を検討しているが、感染リスクの低減のためには、医療機関の協力も必要である。

## 最後に

輸血用血液製剤の品質や安全性は高まっているが、細菌汚染のリスクを完全になくすことは現時点では困難である。医療機関では、輸血開始にできるだけ近い時点で血液製剤の外観試験を実施し、細菌汚染が疑われる場合は血液を使用しないことが重要である。外観試験の感度は  $10^6 \sim 10^8$  CFU/ml であるが、Jacobs らの

報告<sup>59)</sup>によると血小板製剤を輸血後、死亡または重篤な症状を起こした製剤に含まれる細菌の濃度は、 $10^6$ CFU/ml以上であったと報告されている。外観試験は簡便で、しかも重大な敗血症を防止できる可能性がある。輸血開始後は、輸血フィルターをスムーズに通過するかに注意し、輸血開始後は最低5分間患者をよく観察し、約15分経過した時点で再度観察をする。臨床症状は、一般的な発熱反応とあまり変わらないが、より重篤感がある。突然の高度の発熱、振戦、血圧の上昇または低下、筋肉痛、ショック様顔貌、或いはショック症状が認められたような場合は、即座に輸血を中止し患者の血液培養を行い適切な抗生物質を投与し全身管理を行う。また輸血に使用した血液製剤は、「血液製剤等に係る週及調査ガイドライン」に従い、可能な限り確保して二次汚染を避けた状態で冷蔵保管することが大事である。最後にできるだけ早く血液センターへの連絡をお願いしたい。

献血のドナーには、安全な血液を患者に提供するために、細菌感染症の実情と問診の意義を理解し、正確な健康状態の申告をすることが求められる。

著者のCOI開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

## 文 献

- Cervia J S, Wenz B, Ortolano G A.: Leukocyte Reduction's Role in the Attenuation of Infection Risks among Transfusion Recipients. *CDC*, 45 (15): 1008—1013, 2007.
- Hoguman C F, Engstrand L: Factors Affecting Growth of *Yersinia enterocolitica* in Cellular Blood Products. *Transfusion Medicine Reviews*, 10 (4): 259—275, 1996.
- 百瀬俊也：輸血製剤による細菌感染の現状と対応—日本赤十字社への報告例より。 *Medical Technology*, 39(13) : 1600—1604, 2011.
- 日本赤十字社血液事業本部医薬情報課：輸血用血液製剤と関連性が高いと考えられる感染症症例—2011—。日本赤十字社 輸血情報, 1209—133, 2012.
- 川尻千華, 横田 朗, 山崎敦子, 他：濃厚血小板に混入したと思われる *Serratia marcescens* により敗血症性ショックを発症した1例。 *日本輸血細胞治療学会誌*, 57 (1) : 46—50, 2011.
- Satake M, Mitani T, Oikawa S, et al: Frequency of bacterial contamination of platelet concentrates before and after introduction of diversion method in Japan. *Transfusion*, 49: 2152—2157, 2009.
- 今村由美子, 名雲英人, 佐竹正博, 他：外観試験を契機に大腸菌汚染が判明した血小板製剤について。 *日本輸血細胞治療学会誌*, 59 (2) : 279, 2013.
- 鈴木裕子, 飴谷利江子, 小野寺秀樹, 他：苦情調査より判明した血小板製剤への細菌混入事例について。第37回日本血液事業学会総会, 36, 2013.
- SHOT Annual Report and summaries, *Transfusion-Transmitted infection 2007~2011*. <http://www.shotuk.org/shot-reports>
- Fatalities Reported to FDA Following Blood Collection and Transfusion, Annual summary for Fiscal Year 2011.
- Elias PM: Epidermal lipids, barrier function and desquamation. *J Invest Dermatol*, 80: 44—49, 1983.
- 松本真実, 名雲英人, 篠崎久美子, 他：カップスクラブ法による皮膚消毒効果の評価。 *日本血液事業学会誌*, 35 (2) : 453, 2012.
- 金子 萌, 松本千恵子, 松本真実, 他：献血時採血に用いる内肘表面および生活環境中の細菌スクリーニング。 *日本輸血・細胞治療学会誌*, 59 (2) : 321, 2013.
- Cardona ID, Cho SH, Leung DY: Role of bacterial superantigens in atopic dermatitis: implications for future therapeutic strategies. *Am J Clin Dermatol*, 7: 273—279, 2006.
- 遠藤 薫, 檜沢孝之, 吹角孝之, 他：簡易スクラブ法によるアトピー性皮膚炎における細菌数の検討。 *皮膚*, 40 (1) : 9—14, 1998.
- Aly R, Maibach HI, Shinefield HR: Microbial Flora of atopic dermatitis. *Arch Dermatol*, 113 (6): 780—782, 1977.
- Grabczynska SA, Cerio R: Infective endocarditis associated with atopic eczema. *Br J Dermatol*, 140: 1193—1194, 1999.
- Jacobs, J, Jamaer, D, et al: *Yersinia enterocolitica* in Donor Blood: A Case Report and Review. *Journal of clinical microbiology*, May: 1119—1121, 1989.
- Stubbs, J.R, Reddy, R.L, et al: Fatal *Yersinia enterocolitica* (Serotype 0: 5, 27) sepsis after blood transfusion. *Vox Sang*, 61: 18—23, 1991.
- Jarfari M, Forsberg J, et al: Salmonella sepsis caused by a platelet transfusion from a donor with a pet snake. *N Engl J Med*, 347: 1075—1078, 2002.
- Bertrand X, Leconte des Floris MF, Bardonnnet K, et al: *Staphylococcus aureus*-contaminated apheresis platelets traced to donors' nasal carriage. *Transfusion*, 46: 310—311, 2006.
- Chun-yu L, Shih-bin T, Po-liang L, et al: Isolation of *Streptococcus bovis* apheresis Platelets of asymptomatic donor warranted colonoscopy investigation: case report and literature review. *Transfusion*, 51: 2023—2027, 2011.
- 林谷秀樹, 岩田剛敏, 中臺 文：爬虫類とサルモネラ。 *モダンメディア*, 54 (6) : 165—170, 2008.

- 24) 嶋田恵理子, 宮本 忠, 鳩谷晋吾: 犬猫における臨床材料からのグラム陰性菌の検出状況と薬剤感受性. 日獣会誌, 64: 879—884, 2011.
- 25) 嶋田恵理子, 宮本 忠, 鳩谷晋吾: 犬猫における臨床材料からのグラム陽性菌の検出状況と薬剤感受性. 日獣会誌, 65: 131—137, 2012.
- 26) 今岡浩一: 犬, 猫由来細菌感染症. 獣医学雑誌, 13 (1): 65—70, 2009.
- 27) Nilsson P, Ripa T: Staphylococcus aureus throat colonization is more frequent than colonization in the anterior nares. Journal of Medical Microbiology, 44 (9): 3334—3339, 2006.
- 28) 鈴木賢二, 黒野祐一, 小林俊光, 他: 第4回耳鼻咽喉科領域感染症臨床分離菌全国サーベイランス結果報告. 日本耳鼻咽喉科感染症研究会誌, 26 (1): 15—26, 2008.
- 29) Brook I: Discrepancies in the recovery of bacteria from multiple sinuses in acute and chronic sinusitis. Journal of Medical Microbiology, 53: 879—885, 2004.
- 30) Riechelmann H, et al: Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* in house dust mite allergic patients and healthy controls. Allergy, 60: 1418—1423, 2005.
- 31) Von Eiff C, Becker K, Machka K, et al: Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia Study Group. N Engl J Med, 344 (1): 11—16, 2001.
- 32) Lonneke G.M.B, Kluytmans JA, J.W, et al: Preventing Surgical-Site Infection in Nasal Carriers of *Staphylococcus aureus*. N Engl J Med, 362 (1): 9—17, 2010.
- 33) Klein RS, Recco RA, Catalano MT, et al: Association of *Streptococcus bovis* with carcinoma of the colon. N Engl J Med, 297: 800—802, 1977.
- 34) Biarc J, Nguyen IS, Pini A, et al: Carcinogenic properties of proteins with proinflammatory activity from *Streptococcus infantarius* (formerly *S. bovis*). Carcinogenesis, 25: 1477—1484, 2004.
- 35) Theilade E: Factors controlling the microflora of the healthy mouth. In: Hill MJ, Marsh PD, eds, Human Microbial Ecology, CRC Press, Boca Raton, FL, 1990, 1—56.
- 36) Whittaker CJ, Klier CM, Kolenbrander PE: Mechanisms of adherence by oral bacteria. Annu Rev Microbiol, 50: 513—552, 1996.
- 37) Hall G, Heimdahl A, Nord CE: Bacteremia after oral surgery and antibiotic prophylaxis for endocarditis. Clin Infect Dis, 29: 1—10, 1999.
- 38) Lockhart PB, Brennan MT, Sasser H C, et al: Bacteremia Associated With Toothbrushing and Dental Extraction. Circulation journal, 117: 3118—3125, 2008.
- 39) Hogman CF, Engstrand L: Serious bacterial complications from blood components—how do they occur? Transfus Med, 8: 1—3, 1998.
- 40) Noorani A, Rabey N, Walsh SR, et al: Systematic review and meta-analysis of preoperative antisepsis with chlorhexidine versus povidone-iodine in clean-contaminated surgery. Brit J Surg, 97: 1614—1620, 2010.
- 41) Benjamin RJ, Dy B, Warren R, et al: Skin disinfection with a single-step 2% chlorhexidine swab is more effective than a two-step povidone-iodine method in preventing bacterial contamination of apheresis platelets. Transfusion, 51: 531—538, 2010.
- 42) Department of Health: Taking Blood Cultures. A summary of Best Practice. High Impact Interventions. rewritten in July 2010. internet publication at <http://hcai.dh.gov.uk/whatdoido/high-impact-interventions>
- 43) Krautheim AB, Jermann TH, Bircher AJ: Chlorhexidine anaphylaxis: case report and review of the literature. Contact Dermatitis, 50 (3): 113—116, 2004.
- 44) 高橋敦子, 小林寛伊, 大久保憲: クロロヘキシジングルコン酸塩によるアナフィラキシー反応. Journal of Healthcare-associated Infection, 2: 18—19, 2009.
- 45) 名雲英人, 篠崎久美子, 佐竹正博, 他: 初流血除去による細菌汚染低減効果の検証. 日本輸血細胞治療学会誌, 53 (6): 598—601, 2007.
- 46) Hogman CF, Gong J, Hambraeus A, et al: The role of white cell in the transmission of *Yersinia enterocolitica* in blood components. Transfusion, 32: 654—657, 1992.
- 47) Dzik W: Use of leukodepletion filters for the removal of bacteria. Immunol Invest, 24: 95—115, 1995.
- 48) 池田 浩, 中島布貴子, 大坪正道, 他: 外観検査により返品されてきたRC-M・A・P製剤のエルスニア菌汚染について. 日本血液事業学会誌, 17: 105, 1994.
- 49) 幸 豊重, 笹平記生, 笠木義弘, 他: RC-M・A・Pより検出されたエルスニア菌について. 日本血液事業学会誌, 17: 106, 1994.
- 50) 高橋雅彦, 名雲英人: 輸血用血液の細菌汚染と敗血症. 日本輸血細胞治療学会誌, 54 (3): 359—371, 2008.
- 51) Kuehnert MJ, Roth VR, Haley NR, et al: Transfusion-transmitted bacterial infection in the United States, 1998 through 2000. Transfusion, 41: 1493—1499, 2001.
- 52) Morrow JF, Braine HG, Kickler TS, et al: Septic reactions to platelet transfusions A persistent problem. The Journal of the American Medical Association, 266: 555—558, 1991.
- 53) Seifried E, Schmidt M: Current status of bacterial detection in blood components Successes and challenges. Presentation at ISBT meeting at Cancun, 2012.



- 54) Vollmer T, Hinse D, Kleesiek K, et al: The Pan Genera Detection immunoassay: a novel point-of-issue method for detection of bacterial contamination in platelet concentrates. *J Clin Microbiol*, 48: 3475—3481, 2010.
- 55) Jacobs MR, Bajaksouzian S, Yomtovian R, et al: Detection of bacteria in leukocyte-reduced whole blood derived platelet units using the Immunetics BacTx<sup>®</sup> Test. Presentation at AABB Meetings, 2010.
- 56) Brecher ME, Hay SN, Rothenberg SJ: Evaluation of a new generation of plastic culture bottle with an automated microbial detection system for nine common contaminating organisms found in platelet components. *Transfusion*, 44: 359—363, 2004.
- 57) Dumont LJ, Hay SN, Louise Herschel L, et al: Validation of a microbial detection system for use with ACD-A platelets with PAS III platelet additive solution. *Transfusion*, 51: 2219—2227, 2011.
- 58) 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.
- 59) Jacobs MR, Good CE, Lazarus HM, et al: Relationship between bacterial load, species virulence, and transfusion reaction with transfusion of bacterially contaminated platelets. *Clin Infect Dis*, 46: 1214—1220, 2008.

## CURRENT STATUS AND PREVENTION OF BACTERIAL CONTAMINATION OF BLOOD PRODUCTS

*Hideto Nagumo*<sup>1)</sup> and *Masahiro Satake*<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Japanese Red Cross Kanto-Koshinetsu Block Blood Center

<sup>2)</sup>Japanese Red Cross Central Blood Institute

### **Keywords:**

Bacterial contamination, Blood component, Bacteremia, Shelf life