

[原著]

輸血後細菌感染副作用疑いの調査における 迅速な検査体制構築の必要性

日本赤十字社北海道ブロック血液センター¹⁾, 旭川医科大学病院臨床検査・輸血部²⁾, 札幌北楡病院³⁾
福地信昭¹⁾, 須合奈留美¹⁾, 岸本信一¹⁾, 松林圭二¹⁾, 深井寛治¹⁾, 佐藤進一郎¹⁾, 加藤俊明¹⁾,
池田久實¹⁾, 紀野修一^{1), 2)}, 太田秀一³⁾, 高本 滋¹⁾

The necessity of the rapid testing system for investigation of transfusion adverse reaction by bacterial contaminated blood products

*Japanese Red Cross Hokkaido Block Blood Center¹⁾, Asahikawa Medical University Hospital²⁾,
Sapporo Hokuyu Hospital³⁾*

Nobuaki Fukuchi¹⁾, Narumi Sugo¹⁾, Shinichi Kishimoto¹⁾, Keiji Matsabayashi¹⁾,
Kanji Fukai¹⁾, Shinichiro Sato¹⁾, Toshiaki Kato¹⁾, Hisami Ikeda¹⁾, Shuichi Kino^{1), 2)},
Shuichi Ota³⁾ and Shigeru Takamoto¹⁾

抄 錄

症例は、80歳代女性の骨髄異形成症候群患者。輸血直前に外来看護師が輸血製剤の外観を確認し、Ir-PC-LR10を1本輸血した。続いてRCC-LR2の輸血を開始したところ、5分後に悪寒・戦慄、1時間後に発熱、呼吸困難、脈拍上昇を認め、輸血を中止した。患者はステロイド、酸素、抗生素を投与され回復した。

輸血翌日、当センターに副作用報告があり、「血液製剤等に係る遡及調査ガイドライン」に従い、公的検査機関に当該製剤の細菌同定検査を依頼した。輸血後19日目に血小板製剤バッグからA群溶血性レンサ球菌が同定されたと報告を受けた。輸血後5日目に発症当日の患者検体から医療機関での検査により同菌が同定されていた。両株が遺伝子解析および毒素型試験により同一であることは輸血後55日目に判明した。

公的機関の同定検査に時間がかかることが予測されたため、本症例では当センターにて輸血製剤残余を無菌的に分取し増菌、民間臨床検査センターで細菌同定試験を実施した。その結果、輸血後5日目には細菌が同定され、医療機関に迅速に情報提供ができた。

Key words: bacterial contamination, platelet concentrate,
Streptococcus pyogenes, adverse transfusion reaction

【はじめに】

輸血後細菌感染副作用疑いの調査により、輸血用血液による細菌感染が特定された事例は、初流血除去製剤供給開始以降も、年間1～2件報告されている¹⁾。輸血による感染を証明するためには、患者検体と被疑血液製剤から同種の細菌が同定され、それらが同一株であることを証明する必要がある^{2), 3), 4), 5)}。現在日本では、厚生労働省の「血液製剤等に係る遡及調査ガイドライン」⁶⁾(以下、「ガイドライン」という。)に従い、細菌の同定と同一性確認検査をすべて公的検査機関に依頼している。結果判明までは通常2カ月程度かかることから、医療機関からは迅速な情報提供が求められている状況にある。今回、輸血後細菌感染副作用が疑われた症例の調査において、公的検査機関に提出する製剤から検体を一部無菌的に分取、増菌培養を当センターにて行い、選択培地による同定検査を民間臨床検査センターに、また、質量分析による細菌同定を大学病院に依頼したところ、医療機関に迅速な情報提供を行うことができた症例を経験したので報告する。

【症 例】

患者は80歳代の女性。原疾患は骨髄異形成症候群。2012年8月23日、外来で血小板製剤(Ir-PC-LR10)1本と赤血球製剤(RCC-LR2)1本を輸血した。輸血前に当該医療機関の看護師により、輸血製剤の外観に異常がないことが確認された。午前9:00からIr-PC-LR10が輸血され、午前10:45に終了した。血小板輸血中、患者状態には著変はなかった。引き続き午前10:50にRCC-LR2の輸血を開始したところ、約5分後に悪寒・戦慄を訴え、さらに約1時間後に39.8℃の発熱(輸血前:36.4℃)を認め、脈拍は120bpmまで上昇(輸血前:77bpm)、酸素飽和度分圧は90%まで低下した。輸血を中止し、酸素投与、ステロイド、抗生素の投与により、呼吸困難は消失し、他の症状についても翌日までに回復した(図1)。抗生素投与前に患者から血液培養用検体が採取された。

【血液製剤と患者検体の調査】

1. 公的検査機関による細菌検査

輸血翌日に医療機関に保管された当該血小板製剤および赤血球製剤の残余を当センターで受理、公的検査機関である「東京都健康安全研究センター」に検査を依頼した。同施設における当該製剤の同定試験は、各種選択培地を用いて行われた。菌種同定後、同株と医療機関で培養された患者検体株を用いて、制限酵素*Sma* Iおよび*Sfi* Iを用いたパルスフィールドゲル電気泳動法(PFGE法)による遺伝子型および毒素型が解析された。

2. 非溶血性副作用関連検査

当血液センターにおいて、当該製剤の原料血液検査用検体および輸血前後の患者検体に対し、HLA抗体(精製抗原ビーズ法)、顆粒球抗体(GIFT-FCM法)、HPA抗体(MPHA法)および血漿タンパク抗体(ELISA法)による抗体スクリーニング検査、ならびに各検体における血清とリンパ球(LIFT-FCM法)、血小板(PIFT-FCM法)、顆粒球(GIFT-FCM法)との交差試験を実施した。また、TRALI(Transfusion Related Acute Lung Injury)の関与を否定するため、胸部X線像による診断を中央血液研究所にて実施した。

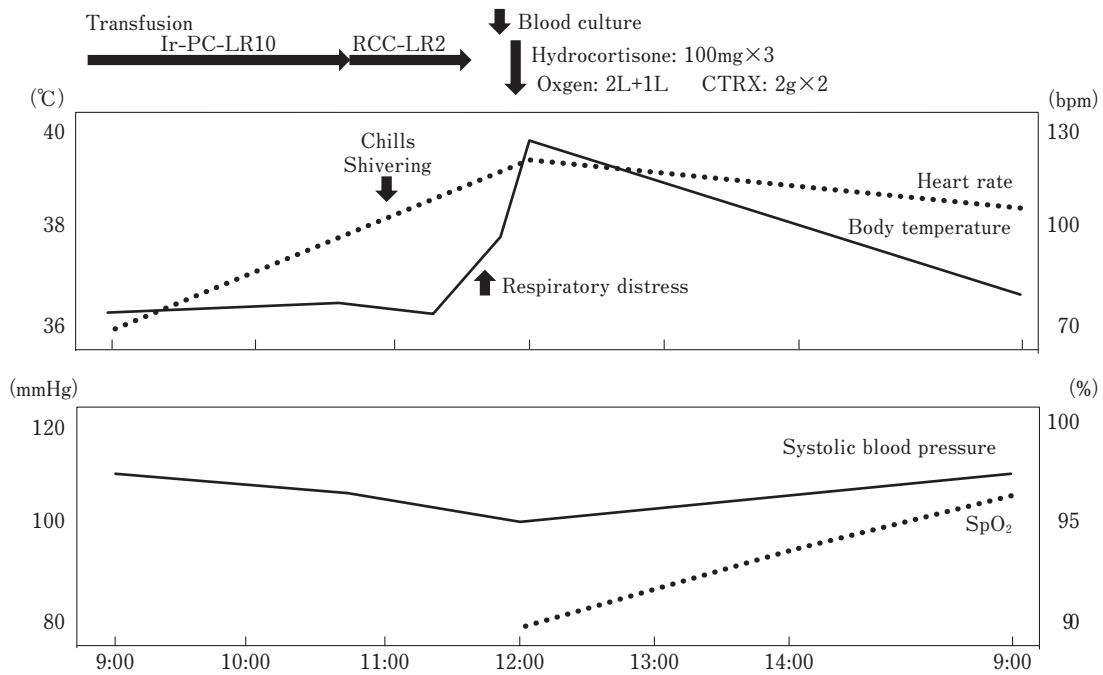
3. 当血液センターにおける細菌検査

東京都健康安全研究センターに検査を依頼する前に、当血液センターにて当該製剤から無菌接合装置SCDを用いて製剤検体を分取、pH測定、細菌培養検査(ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地‘栄研’(SCD培地):栄研化学)を行った。増菌された培養株は、民間の臨床検査センターに同定(選択培地による同定検査)を依頼した。また、旭川医科大学病院に質量分析機(VITEC-MS:システムズ・バイオメリュー社)による同定を依頼した。

【結 果】

1. 公的検査機関による細菌検査

輸血2日後の8月25日に東京都健康安全研究センターに輸血に用いられたバッグの細菌検査を依頼した。9月11日(輸血後19日目)に血小板製



After Ir-PC-LR10 was transfused, no adverse events happened to the patient. Five minutes after starting RCC-LR2 transfusion, the patient complained of chills and shivering, then after fifty minutes, developed respiratory distress, tachycardia and high fever. Immediately, transfusion of RCC-LR2 was stopped. Symptoms resolved by administration of hydrocortisone, oxygen and antibiotics.

図 1 Clinical course

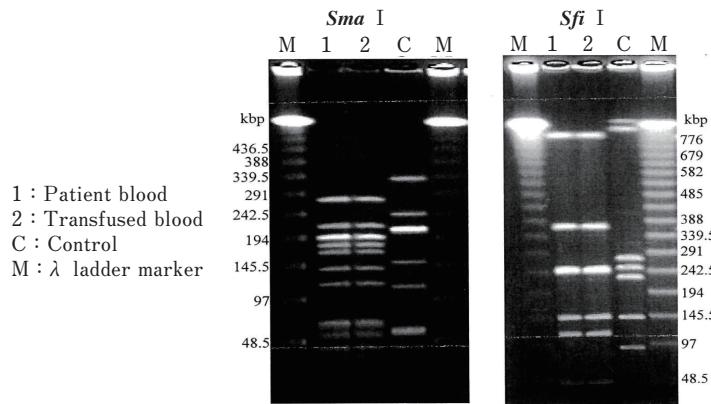
剤からA群溶血性レンサ球菌(*Streptococcus pyogenes*)が同定されたと報告を受けた。8月28日(輸血後5日目)に医療機関にて患者の血液培養から同種の細菌が同定されていた。患者検体の菌株を8月31日に同センターに送付し、両培養株の菌株同一性の解析を依頼した。10月17日(輸血後55日目)に両培養株が同じPFGEパターンであること(図2), および毒素型がSPE:Bであることから、両株が同一であることが判明した。

2. 非溶血性輸血副作用関連検査

当該製剤の原料血液検査用検体および輸血前後の患者検体からは、HLA抗体、顆粒球抗体、HPA抗体、血漿タンパク抗体は検出されなかった。また、各検体の血清と細胞の交差試験はすべて陰性であった。胸部X線像では、TRALIを疑う所見はなかった。

3. 当血液センターにおける細菌検査

輸血翌日の8月24日, 2つの対象製剤から分取した内容液をSCD培地に2mL接種したところ、接種後数時間で血小板製剤から採取した培地に発育を認めた。また、当該血小板製剤のpHは5.4で、製品基準の6.2を下回っていた。同日、SCD培地に発育を認めたコロニーの細菌同定検査を民間の臨床検査センターに依頼した。8月28日(輸血後5日目)にA群溶血性レンサ球菌との同定結果が得られた。直ちに医療機関に中間報告として同定結果を報告したところ、患者検体の同定結果と一致していた。また、SCD培地で発育した菌の質量分析機による同定を旭川医科大学病院に依頼したところ、検体引渡し後約1時間でA群溶血性レンサ球菌との報告を得た。



The bacterial isolates from patient blood (lane 1) and transfused blood (lane 2) had the same PFGE patterns of DNA restricted *Sma* I and *Sfi* I, suggesting transfusion/transmission of bacteria.

図2 Pulse-field gel electrophoresis (PFGE) patterns of *Streptococcus pyogenes*

【考 察】

輸血した血小板製剤の残余と患者から同一株のA群溶血性レンサ球菌が検出された。他の非溶血性輸血副作用の関与が否定され、医療機関からは輸血時の血液の逆流はなかったとの回答が得られたことから、本副作用は同菌に汚染された血小板製剤の輸血によるものと結論された。

現在のガイドラインにおける細菌感染副作用疑いに対する調査は、医療機関から提供された使用済みバッグを公的検査機関および必要に応じて第三者機関に検査を依頼することが規定されている。また、患者検体から同一の細菌が検出された場合は、遺伝子解析により菌株の同一性試験を行うこととなっている。

本症例では、ガイドラインに則った方法の他に、当センター内で前培養を行って増菌した培養株を民間の臨床検査センターと、質量分析機を用いた細菌同定ができる施設に送る方法を試みた。同定結果を得られるまでの期間は、ガイドラインに則り公的検査機関で検査を行った場合は19日、前培養した菌株を外注する方法では5日、質量分析機を用いる方法では1日であった。我々は、ガイドラインの規定を遵守した上で、並行して自施設にて血液培養を行い、菌の増殖が確認できた段階

で直ちに民間の臨床検査センターに同定検査を依頼した。短時日で同定結果を得ることができ、医療機関には迅速な情報提供ができた。

我々の取り組みは医療機関への速やかな情報提供という観点からみると成功したが、同様な取り組みを全国の各製造所で実施する場合には2つの問題がある。第一に今後、無菌試験実施施設が集約された場合に、当該施設での血液培養が困難となることが挙げられる。第二には各地の民間臨床検査センターの同定検査結果のレベルが均一でないため、公的検査機関の結果と乖離するリスクが高まることが挙げられる。

これらのこととを解決し、迅速な情報提供を実施するためには、日赤として検査実施施設を1カ所(たとえば中央血液研究所)に集約し、培養から同定検査までを迅速に実施できる体制を整備することが望ましい。細菌培養は、現在の製造所の無菌試験施設と同等の設備を整備することで解決できるが、細菌同定検査は現在日赤の業務として行われていないため、分離培養による一般的な細菌同定環境の整備は困難と考えられる。今回、我々が試みた質量分析法を原理とする細菌同定検査は、細菌同定環境の整備は不要で、血液培養陽性ボトルから直接検体を作成し、1時間程度で菌種の同

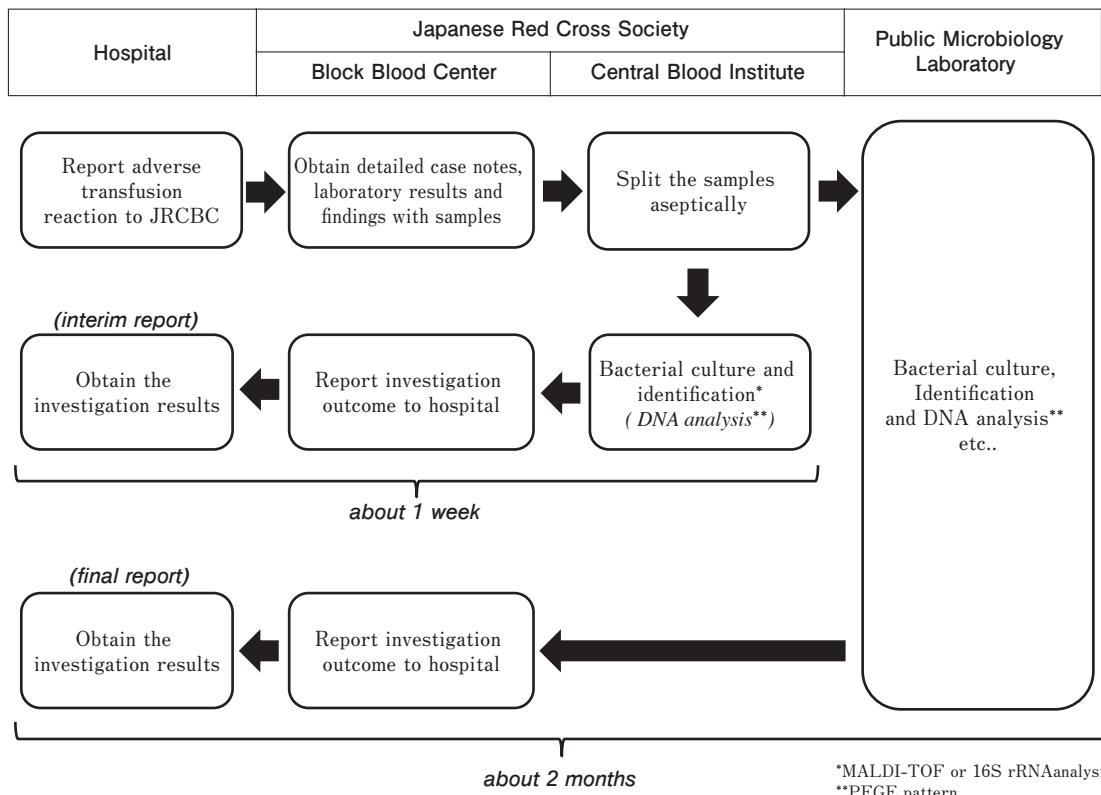


図3 Proposal flowchart for investigation of transfusion adverse reaction due to bacterial contamination

定が可能^{7), 8), 9)}なため、検査の迅速化に有効である。しかし、同法には高額な検査装置を必要とするため、整備が困難な場合は、比較的安価に整備が可能で、技術的に対応可能な16S rRNAおよびPFGE法による遺伝子解析、さらに生化学的性状試験を組み合わせることで、日赤においても迅速で正確度の高い同定検査および菌株の同一性試験が可能になると考える。

以上のことから、今後の細菌感染副作用疑いの調査のあり方は、現状のガイドラインを遵守しつつ、中央血液研究所などの日赤内部の検査施設と公的検査機関の並行検査にて医療機関への迅速な情報提供を行う体制の構築が望ましいと考える(図3)。

【まとめ】

1. 今回我々は、血小板輸血によるA群溶血性レ

ンサ球菌(*Streptococcus pyogenes*)による細菌感染副作用事例を経験した。

2. 「血液製剤等に係る週及調査ガイドライン」に沿った公的検査機関への検査委託では、菌種同定まで約3週間、菌株の同一性確認まで約2カ月要した。
3. 公的検査機関における検査と並行して輸血した血小板製剤のpH測定、使用済みバッグに残余する血液の増菌培養で得られた培養株を用いた民間臨床検査センターでの細菌同定では、発生から5日後に医療機関に対して情報提供ができた。
4. 今後の輸血後細菌感染副作用疑いの調査は、公的検査機関での検査と平行して、中央血液研究所などの日赤内の検査施設においても、質量分析装置、遺伝子解析などの細菌同定検査が可能な体制を整備する必要がある。

文 献

- 1) 日本赤十字社血液事業本部医薬情報課：輸血用血液製剤との関連性が高いと考えられた感染症症例、2008年～2012年：輸血情報0908-120, 1010-125, 1108-129, 1209-133, 1310-136
- 2) 宇留間元昭, 加藤栄史, 安藤高宣, 他：濃厚血小板に混入したMSSAにより発症した敗血症の1例。日本輸血・細胞治療学会誌54(1)：38-42, 2008
- 3) 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
- 4) 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(10): e106-e109, 2004
- 5) Barron MA, Woods PA, Campbell G, et al: Septic platelet-transfusion reactions due to methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*. Infection Control and Hospital Epidemiology, 30(1): 98-100, 2009
- 6) 厚生労働省医薬食品局血液対策課：「血液製剤等に係る週及調査ガイドライン」(改定版)：13-15, 平成17年3月(平成24年3月一部改正)
- 7) 曽川一幸, 渡邊正治, 野村文夫：質量分析計による微生物迅速同定。臨床病理61(1)：44-51, 2013
- 8) 宇木望, 於保恵, 永沢善三, 他：質量分析装置 MALDIバイオタイバーによる血液培養陽性ボトルからの直接迅速同定法に関する検証。臨床病理61(3)：224-230, 2013
- 9) 伊藤栄祐, 渡智久, 東由桂, 他：Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) 2機種による血液培養分離菌の同定成績について。臨床病理61(5)：382-389, 2013