

シンポジウム6

血小板製剤中の細菌の増殖態度

名雲英人(日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター)

はじめに

細菌に汚染された輸血用血液製剤を輸血されることによる敗血症は、まれではあるが重篤な副作用である。血液製剤中に細菌が混入する主な経路は、採血の穿刺時に皮膚の表面や深部に存在する細菌が混入する場合と無症候の菌血症ドナーから採血した場合とされる。採血から出荷時までのいくつかの段階で細菌汚染防止対策を講じているが、20°C～24°Cで振とう保存する血小板製剤から年間数細菌が混入した事例が確認され、昨年には *Escherichia coli* (*E. coli*) による死亡事例が発生している。

今回シンポジウムでは、血小板製剤中に混入する細菌、血小板製剤中の細菌の増殖態度と製剤の外観変化の特徴、血小板製剤中に混入した細菌の検出の課題について報告する。

1. 血小板製剤中に混入する細菌

我々の体には、皮膚をはじめ、口腔内や腸管などあらゆるところに細菌が存在しているが、これらの細菌が輸血用血液製剤中に混入し増殖した製剤を輸血することすることにより、まれではあるが重篤な副作用となりうる。

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かれている。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すべて問題になる。健常人の皮膚は、弱酸性で一定の水分を保持しているが、角層の水分量が減少すると、皮脂膜であるバリア機能が低下し、アルカリ性に傾くと通過菌とされる細菌が定着、増殖する環境になる。皮膚のバリア機能の障害による皮膚感染症としてアトピー性皮膚炎があげられ、健常人と比較して *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) の検出率が優位に高く、アトピー性の皮疹がない部位でも検出率が高いと報告されている¹⁾。アトピー性皮膚炎患者は、皮膚から

侵入し菌血症を起こしやすいといわれ、針治療や末梢点滴から皮膚を侵入経路とし *S. aureus* が血流に入り敗血症になった報告もされており²⁾、採血時に皮膚から細菌が血小板製剤中に混入する可能性がある。

腸内細菌叢は、90%が消化管に生息しているといわれ、血液製剤から検出されている *E. coli*, *Klebsiella* 属菌, *Staphylococcus* 属菌などの通性嫌気性細菌や嫌気性菌の *Clostridium* 属菌などが常在菌と言われている。また、腹痛、発熱や下痢などを起こした人の腸管から *Salmonella* 属菌, *Yersinia* 属菌などが検出されることがある。腸管のバリアは、炎症、抗菌薬や抗がん剤の投与などの他、脂肪や糖の多い食事を取り過ぎると腸内細菌叢の乱れが生じ腸管バリアが壊れ、腸内細菌が上皮細胞隙間からすり抜け血中へ移行することがあるとされる。日本人2型糖尿病患者の血中に含まれる腸内細菌の解析を2型糖尿病患者と非糖尿病の対照者、各50名において腸内細菌の比較をおこなった結果、対照者では2/50 (検出率4%)に対し、2型糖尿病患者では14/50 (検出率28%)の血液中から腸内細菌が検出されたことから2型糖尿病患者では血液中に腸内細菌が高い割合で検出され、血流中へ移行しやすいと解析している³⁾。

口腔内の細菌は、嫌気性菌や *Streptococcus* 属菌, *Staphylococcus* 属菌など多くの細菌が常在している。これらの細菌が歯磨きや歯科治療等により一時的な菌血症を引き起こす可能性がある⁴⁾。

2. 血小板製剤中の細菌増殖態度と外観変化

細菌が増殖するためには、発育に必要な栄養源、酸素、温度、pHなどの環境条件が整っている必要がある。血小板製剤中は、細菌が発育するのに必要な栄養源があり、多くの細菌が増殖できる環境にある。どのくらいの菌濃度の血小板を輸血すると臨床的に問題になるか、Jacobsらによると血小板製剤を輸血後、死亡例を含め重症以上の症状を

起こした血小板製剤中の細菌濃度は 10^6 CFU/mL以上であり、死亡の3例はいずれもグラム陰性菌で、エンドトキシン(ET)量が11,373EU～182,700EUであったと報告されている⁵⁾。グラム陰性菌が増殖した場合、ETも加味され重篤な症状が起きやすいと考える。一般的な細菌の増殖曲線は、分裂を行わない誘導期、分裂を開始し対数増殖する対数増殖期、対数期が終わると増殖が止まる定常期(静止期)になり、徐々に菌が減数する死滅期に入る。血小板製剤中の細菌の増殖性は細菌の種類によって異なるため、血小板製剤中の増殖態度と細菌が増殖した場合、血小板製剤がどのような外観的变化を示すのか、その特徴について紹介する。

*Bacillus cereus*は、増殖環境が悪くなると芽胞を形成し分裂増殖が止まるが、血小板製剤中では、接種時2CFU/mLから3日目に 10^6 CFU/mL、4日目に 10^7 CFU/mLの増殖を示し、菌の増殖とともに血漿の混濁がおこり、スワーリングの消失が見られた。*E. coli*は、接種時10CFU/mLから3日に 10^6 CFU/mL、スワーリングが消失、4日目に 10^8 CFU/mLの増殖を示し、大きな凝固物が観察された。*S. aureus*は、接種時1CFU/mLから3日に 10^5 CFU/mL、4日目に 10^7 CFU/mLまで増殖し、3日に凝集物が観察された。同じ1CFU/mL接種の*Staphylococcus epidermidis*は、3日に 10^2 CFU/mL、4日目に 10^5 CFU/mLと増殖が他の菌に比べて遅く、凝集物の析出やスワーリングの消失が見られなかった。*Streptococcus pneumoniae*は、Autolysinによって自己融解するため、静止期が極端に短い特徴があり、接種時1CFU/mLから3日に 10^5 CFU/mL、4日に 10^8 CFU/mLまで増殖したが、翌日には検出限界以下まで低下し、外観は血漿が緑色に変化してスワーリングの消失も見られた。嫌気性の*Propionibacterium acnes*(*P. acnes*)は、接種時 $4.3 \sim 5.2 \times 10^2$ CFU/mL(*n*=5)のものが4日に $3.2 \sim 4.3 \times 10^2$ CFU/mL、6日目でも $3.0 \sim 4.1 \times 10^2$ CFU/mLであり、増殖することなく減数傾向を示した。血小板製剤バッグは、ガス透過性を有しているため*P. acnes*などの嫌気性菌の増殖は抑制されると考える。

3. 血小板製剤中に混入した細菌の検出の課題

血小板の有効期限内に細菌の有無を検査するに

は、医療機関へ出荷する前か医療機関でなるべく輸血前に近い段階での検査が必要だが、出荷前の検査は低濃度の細菌を検出する必要があり、輸血前の検査は感度の方法かつ短時間で検査できることが求められる。細菌を検出する検体は、セグメントの場合、作成時に血小板製剤中の菌濃度が 10^2 CFU/mL以上でないとその後セグメントに菌を確認する確率が低く、細菌が混入した血小板と同時に製造された血漿も細菌検出率が2/16、12.5%(*P. acnes*除く)と低いことから菌の有無を確認するには血小板製剤本体を用いることが必要である。

医療機関への出荷前検査：欧米等は、出荷前の培養スクリーニングを実施しているが、偽陰性を少なくするため混入した細菌が増殖するまで24時間～36時間待って培養を開始し、6時間から12時間培養し判定しているが、血小板の有効期限が短い現状の日本では導入が難しい。簡便かつ短時間に検査できる方法：1. PGD(Pan General Detection)システム：イムノクロマト法でグラム陽性菌にみられるlipoteichoic acidまたはグラム陰性菌に見られるlipopolysaccharideを検出する。感度は $10^4 \sim 10^5$ CFU/mLとされる。2. BacTxシステム(BacTx Assay System)：酵素標識法で細菌の細胞壁成分であるPeptidoglycanに特異的に結合する蛋白を検出する。感度は $10^3 \sim 10^4$ CFU/mLとされる。いずれも米国FDAに認可され、検出時間は前処理を含め1時間程度で簡便な方法であるが、キットや試薬、卓上遠心機、測定機器等が必要になる。

4. まとめ

輸血用血液製剤には、蛋白質、糖質、無機塩類など細菌が増殖するための栄養源があり、血小板製剤の保管温度は多くの細菌が増殖可能な温度帯である。このため、ごくわずかな細菌が血液バッグ中に混入した場合でも保存中に増殖する場合がある。

血小板製剤中の細菌の増殖態度や外観変化は、菌種によりさまざまであり、外観変化だけで細菌の有無を確認することは非常に困難だと思われるが、明らかに外観に変化をきたした製剤を見逃さないで除外することは、重篤な敗血症を防止できる可能性があることから重要と考える。

菌血症ドナーから採血した血液製剤の汚染を完

全に防ぐことや、混入したすべての細菌を検出するには難しいが、今後も細菌汚染防止の安全対策

を推進していくことが重要である。

文 献

- 1) 遠藤薫, 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.
- 2) 川合祥子, 他: アトピー性皮膚炎の患者に発症した敗血症性肺栓塞症の2例. 日呼吸誌, 6(3): 170-173, 2017.
- 3) Sato J, et al. Gut Dysbiosis and Detection of "Live Gut Bacteria" in Blood of Japanese Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*, 37(8): 2343-50, 2014.
- 4) Durack DT, et al. Prevention of infective endocarditis. *N Engl J of Med*, Jan5; 32(1): 38-44, 1995.
- 5) Jacobs MR, et al. Relationship between bacterial load, species virulence, and transfusion reaction with transfusion of bacterially contaminated platelets. *Clin Infect Dis*, 46: 1214-1220, 2008.