

【スライド19】

それではまず検査方法として、使用する検査装置を紹介したいと思います。大量検体の培養が可能な代表的な検査装置としては、BacT/ALERT 3DとVIRTUOの2機種があります。右にデータを示しましたが、いずれの菌種においてもVIRTUOのほうが3Dよりも平均で約2時間30分早く陽性と判定される結果が得られています。有効期間が短い血小板製剤の細菌スクリーニングにおいては、陽性判定までの時間短縮は大きなアドバンテージとなりますので、VIRTUOを用いてスクリーニングの準備を進めています。

+ 日本赤十字社
www.jrc.or.jp

細菌スクリーニングで使用する検査装置

● BacT/ALERT 3D(3D)

陽性判定基準 (アルゴリズム)	3種の判定基準 Acceleration Rate Initial Value
操作性(装填)	手動
操作性(ボトル登録)	手動
操作性(取出し)	手動
処理能力	240本/モジュール

● BacT/ALERT VIRTUO(VIRTUO)

陽性判定基準 (アルゴリズム)	3種の判定基準 RAUC RZR EI
操作性(装填)	自動
操作性(ボトル登録)	自動
操作性(取出し)	自動
処理能力	432本/モジュール

菌種	接種菌数 (CFU)	3Dと比較したVIRTUOでの陽性判定平均短縮時間	
		BPA(好気性)培地 (h:min)	BPN(嫌気性)培地 (h:min)
S. aureus	6	2:52	3:35
	61	2:58	2:44
S. dysgalactiae	12	1:15	2:29
	120	2:04	2:20
E. coli	12	2:44	2:21
	120	2:48	2:06
K. pneumoniae	12	2:50	2:19
	120	2:34	2:23
平均		2:30	2:32

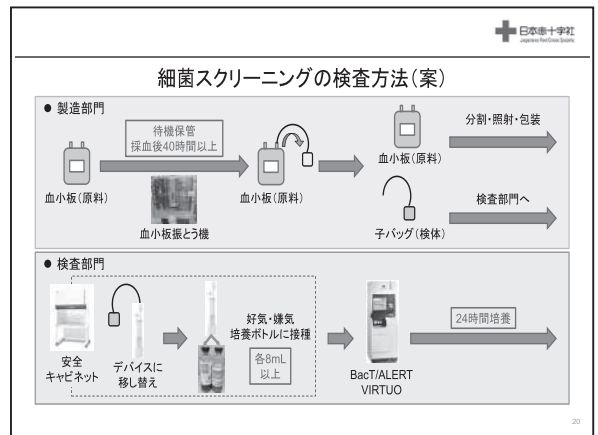
* 過去の輸血感染事例より検出された臨床分離株

松本ら、日本輸血細胞治療学会誌、67(3):432-439、2021(一部改変)

全ての菌種において、VIRTUOのほうが3Dより平均で約2時間30分早く(陽性と判定された。

【スライド20】

現在準備を進めています細菌スクリーニングの検査方法を示します。まず製剤部門で血小板を採血後40時間以上待機保管した後、子バッグを接続して検体をサンプリングし、検査部門に渡します。そして検査部門では検体を好気・嫌気の培養ボトルにそれぞれ8mL以上ずつ摂取して、それをVIRTUOに投入して24時間の培養を開始します。LVDS方式というのは、血小板の待機保管を長く取ることがポイントになりますので、ここに示しました工程全体が細菌スクリーニングの検査方法になります。



【スライド21】

これは先のスライドの検査方法の基礎データになります。時間の関係で詳しい説明はいたしません、この傾向により40時間待機保管した血小板製剤中の菌数が10CFU/mL以上であれば、VIRTUOで24時間以内に検出が可能であることが示されています。

+ 日本赤十字社
www.jrc.or.jp

細菌スクリーニングの基礎データ

【方法】
 ・ 菌種：S. aureus, S. dysgalactiae, E. coli, K. pneumoniaeの標準株と臨床株（4菌種8株）
 ・ 接種：血小板バッグ（容量170～203mL）あたり菌液1mL（菌量100(50～200)CFU）を接種（8株×5バッグ）
 ・ 試験：40時間保管後、好気・嫌気性培地にBacT/ALERT VIRTUOで測定（9菌測定）

菌種	菌量 (CFU/mL)	BPA(好気性)培地		BPN(嫌気性)培地	
		陽性数/試験数 × 試験バッグ数	陽性判定時間 最短～最長 (h:m)	陽性数/試験数 × 試験バッグ数	陽性判定時間 最短～最長 (h:m)
		9/9 × 5	5:13～9:05	9/9 × 5	5:14～11:16
S. aureus	標準株 1.7E+04～2.7E+05	9/9 × 5	5:13～9:05	9/9 × 5	5:14～11:16
	臨床株 1.2E+07～2.5E+07	9/9 × 5	2:44～2:59	9/9 × 5	2:44～2:53
S. dysgalactiae	標準株 9.1E+06～1.7E+08	9/9 × 5	2:42～2:52	9/9 × 5	2:31～2:52
	臨床株 1.0E+04～3.2E+06	9/9 × 5	2:48～5:01	9/9 × 5	2:46～4:49
E. coli	標準株 2.4E+05～8.5E+05	9/9 × 5	2:42～2:52	9/9 × 5	2:42～3:04
	臨床株 <10～8.8E+05	9/9 × 4, 0/9 × 1*	2:44～6:52	9/9 × 4, 0/9 × 1*	2:43～7:51
K. pneumoniae	標準株 1.4E+08～2.9E+08	9/9 × 5	1:10～1:44	9/9 × 5	1:10～1:29
	臨床株 <10～1.1E+08	9/9 × 4, 0/9 × 1*	1:10～5:35	9/9 × 4, 1/9 × 1*	1:10～8:24

* 40時間保管後の菌量が10CFU/mL以下であり、血漿成分の影響(補体等)を受け菌量が減少・死滅したと考えられた。標準株は補体に抵抗性がある菌株を事前に選択したため全て増殖したと考えられた。

松本ら、日本輸血細胞治療学会誌、67(3):432-439、2021(一部改変)

40時間待機保管した血小板製剤中の菌数が10CFU/mL以上であれば、BacT/ALERT VIRTUOにより24時間以内に検出が可能であると考えられた。

【スライド 22】

次は血小板製剤の有効期間延長になります。細菌スクリーニングを導入するに当たっては、製剤の待機時間と培養時間を確保するために、有効期間を延長する必要があります。ただし、細菌スクリーニングを行ったとしても、有効期間が長いほど細菌感染のリスクが上がることに変わりはありませんので、細菌スクリーニングに要する

時間分として、有効期間を4日間から6日間に延長します。今後承認申請となるため、ここではデータを見せませんが、スライドに示した試験等を行っています。6日間保存した血小板については、欧米では長きにわたって使用実績があるところですが、次に有効期間延長に係る血小板の有効性と安全性についてのデータを紹介します。

【スライド 23】

まず血小板製剤の保存期間と有効性の関係を、輸血後の回収率と生体内寿命で評価した報告になります。左の表にありますけれども、2日間と6日間保存した血小板輸血において、回収率と生体内寿命は同等であったと報告されています。またマーカーの部分においても、6日目の値は同等であることが示されています。さらに右の表の論文では、採血後6日から9日目まででもFDAの基準を満たすことが報告されています。

また有効性の指標としてのCCIについてですが、有効期間により低下傾向は見られるものの、幹細胞移植や化学療法患者1,200名を対象とした調査を始め、ここに示した調査において6日間保存した血小板のCCIは諸外国、日本の指標を満たした結果となっています。

【スライド 24】

また有効性の指標としてのCCIについてですが、有効期間により低下傾向は見られるものの、幹細胞移植や化学療法患者1,200名を対象とした調査を始め、ここに示した調査において6日間保存した血小板のCCIは諸外国、日本の指標を満たした結果となっています。

【スライド 25】

関連する文献はこのスライドに示しましたので、詳細はこちらをご覧くださいと思います。

+ 日本赤十字社
Japan Red Cross Society

血小板製剤の保存期間と有効性(3/3)

【参考文献】

- Recovery & Survival
 1. A. Shanwell, H. Gulliksson, B. K. Berg et al., Evaluation of platelets prepared by apheresis and stored for 5 days. In vitro and in vivo studies., *Transfusion* 1989;29:783-788
 2. S. J. Slichter, D. Bolgiano, J. Corson et al., Extended storage of autologous apheresis platelets in plasma, *Vox Sanguinis* 2013;104:324-330
 3. L. J. Dumont, J. P. AuBuchon, P. Whitley et al., Seven-day storage of single-donor platelets: recovery and survival in an autologous transfusion study., *Transfusion* 2002;42:847-854
 4. Vassallo R, Murphy S, Einarson M et al., Evaluation of platelets stored for 8 days in PL 2410 containers. *Transfusion* 2004;44(9S):28A
 5. D. M. Arnold, N. M. Heddle, M. Kulczycky, et al., In vivo recovery and survival of apheresis and whole blood-derived platelets: a paired comparison in healthy volunteers. *Transfusion* 2008;48:257-264
 6. J. P. AuBuchon, L. Herschel, J. Roger and S. Murphy, Preliminary validation of a new standard of efficacy for stored platelets., *Transfusion* 2004;44:36-41
 7. S. J. Slichter, D. Bolgiano, M. K. Jones et al., Viability and function of 6-day-stored apheresis platelets., *Transfusion* 2006;46:1763-1769
 8. S. Ezaki, T. Kanno, H. Oho et al., Survival and recovery of apheresis platelets stored in a polyolefin container with high oxygen permeability., *Vox Sanguinis* 2008;94:292-298
- CCI
 9. A. Dragani, A. Iacono, A. Angelini et al., Seven-day Storage of Single Donor Platelets in Polyolefin Bags: Clinical, Biochemical, Morphological and Microbiological Evaluation., *The International Journal of Artificial Organs* 1988;11:51-58
 10. M. F. Leach and J. P. AuBuchon, Effect of storage time on clinical efficacy of single-donor platelet units., *Transfusion* 1993;33(8):661-664
 11. H. Kluter, I. Dorges, E. Maass et al., In-vivo evaluation of random donor platelet concentrates from pooled buffy coats, *Annals of Hematology* 1996;73:85-89
 12. D. J. Triulzi, S. F. Asmann, R. G. Strauss et al., The impact of platelet transfusion characteristics on posttransfusion platelet increments and clinical bleeding in patients with hypoproliferative thrombocytopenia, *Blood* 2012;119:5532-5562

25

【スライド 26】

次に保存期間と安全性の関係についてですけれども、この論文は保存期間を含む血小板輸血に関するさまざまな輸血関連有害事象の関係について、多施設共同のランダム化比較試験のデータを用いて事後解析したのになります。結果は血小板の保存期間について、採血後6日目の血小板をリファレンスとして1~5日目の血小板輸血の有害事象を比較した結果、発生リスクとは有意には関連していなかったと報告されています。

+ 日本赤十字社
Japan Red Cross Society

血小板製剤の保存期間と安全性(1/2)

Transfusion related adverse events in the Platelet Dose study

Richard M. Kaufman, Susan F. Asmann, Darrell J. Triulzi, Ronald G. Strauss, Paul Ness, Suzanne Granger, and Sherrill J. Slichter

血小板(PLT)の投与量、血小板の由来(全血由来又はアフェレーシス)、保存期間、ABO適合性などの特性と輸血関連有害事象(TRAE)のリスクについて、PLADO(※)のデータを事後解析し、その影響を調査した。

その結果、PLTの由来、PLTの保存期間(採血後6日目をリファレンスとし、採血後1~3日目、4日目、5日目を比較)、ABO適合性は、いかなるTRAEの発生リスクにも有意に関連していなかった。また、PLTの由来、保存期間、ABO適合性は、臨床的な出血の転帰と有意に関連していないことが示された。

※ PLADO: 造血幹細胞移植又は悪性腫瘍の化学療法による血小板減少症患者への血小板の予防的投与における投与量の効果を評価することを目的としたランダム化比較試験

26

【スライド 27】

また、これは4日間から6日間へ有効期間を延長した場合の直接的なデータにはなり得ませんが、SHOTの非溶血性輸血副作用の報告件数を参考として示します。イングランドでは2011年に有効期間を6日間から8日間に延長していますが、その前後の報告件数には大きな差異はないように見受けられます。

+ 日本赤十字社
Japan Red Cross Society

血小板製剤の保存期間と安全性(2/2)

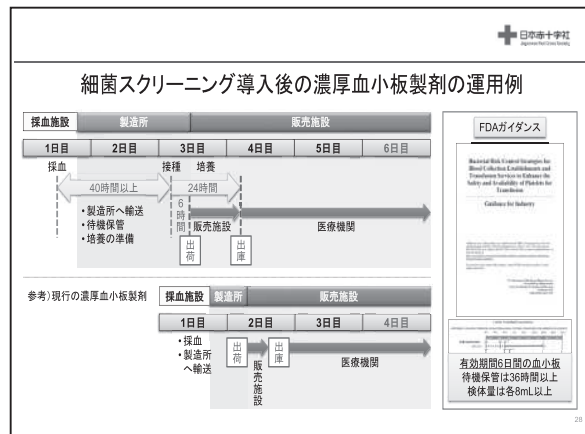
イングランドにおける非溶血性輸血副作用の報告事例 (SHOT Report 2008~2014)

	6日間		血小板の有効期間		8日間	
■ Unclassified	5	5	4	10	6	7
■ Mixed/hypotensive		7				
■ Hypotensive	5		3	3	3	4
■ Mixed allergic/febrile	6		7	9	5	12
■ Anaphylactic/severe allergic	15	12	14	15	11	12
■ Allergic	23	42	38	67	32	26
■ Febrile	10	20	29	41	22	36

27

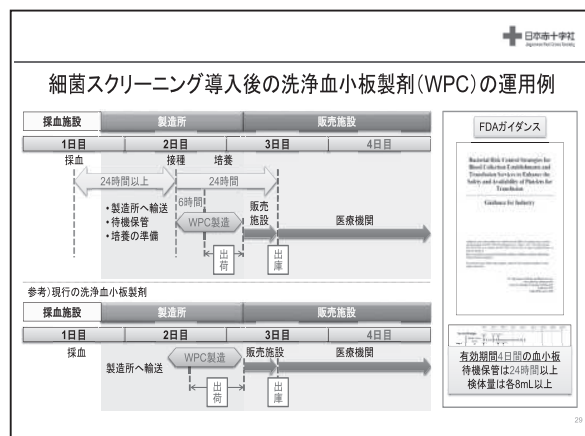
【スライド 28】

ということで、有効期間を6日に延長した濃厚血小板製剤の運用例を示します。下に参考として、現行の濃厚血小板製剤の運用を示しました。採血後40時間以上バッグを待機保管した後、培養を開始し6時間で陰性のものをブロックセンターから地域センターへ出荷し、24時間で陰性のものを医療機関に出庫する流れで、医療機関の持ち時間は現行製剤と同等な時間を維持する予定です。なお、この運用の培養プロトコルは先ほどお話ししたイングランドの改良培養法を参考にしましたが、右にあるFDAのガイダンスにも準じています。



【スライド 29】

次に洗浄血小板の基本的な運用例を示します。洗浄血小板については4日目以降に洗浄した血小板製剤の臨床データが国内外でも確認できないことから、有効期間は現行から変更せずに4日間とする予定です。そのため、FDAのガイダンス等に準じ、有効期間4日間に合わせた待機保管時間24時間を設定しますので、こちらも医療機関での使用期間は現行製剤と同様な時間を維持します。



【スライド 30】

最後ですけれども、細菌スクリーニング導入に合わせて予定している製品規格の変更について3点、お話をさせていただきます。1つ目は供給割合が0.5%まで減少した未照射製剤の現状を鑑みまして、製造・販売する血小板製剤は全て放射線を照射した製剤とさせていただきます。2つ目は緊急発注への対応が難しく、供給割合が0.01%未満である1単位、2単位の製剤については製造・販売を停止させていただきます。3つ目としては、10単位の規格に満たない場合の運用を考慮して、HLA製剤に5単位の製剤を追加させていただきます。以上の変更を予定しておりますので、ご理解のほど、よろしくお願いいたします。

細菌スクリーニング導入後の血小板製剤の品目及び規格(案)

製剤の種類	照射	現在		細菌スクリーニング導入後	
		規格	有効期間	規格	有効期間
濃厚血小板製剤	未照射製剤	1単位	採血後4日間	-	-
		2単位			
		5単位			
		10単位			
		15単位			
		20単位			
濃厚血小板製剤	照射製剤	1単位	採血後4日間	-	-
		2単位			
		5単位			
		10単位			
		15単位			
		20単位			
洗浄血小板製剤	照射製剤	10単位	製造後48時間 (ただし、採血後4日間を 除かない)	10単位	製造後48時間 (ただし、採血後4日間を 除かない)
		HLA10単位			