

病原体不活化技術導入の準備について

(追加報告)

1. はじめに

平成 20 年 12 月 25 日開催の血液事業部会で血小板製剤における不活化技術の一つであるリボフラビン法で、血小板製剤中の血漿を 60～70%除去して不活化する方法(いわゆる、リボフラビン第二世代)の細菌に対する不活化効果について報告した。

今回、細菌への不活化効果を追加的に検証するとともに、不活化処理した血小板製剤の品質を評価したので報告する。

2. リボフラビン法(第二世代)による試験

1) 細菌に対する不活化能の試験

- ・使用した細菌の種類：*Staphylococcus aureus* 黄色ブドウ球菌
(ATCC 25923 及び ATCC 11632)

リボフラビン第一世代と第二世代の不活化能の比較

2) 不活化処理した製剤の品質に関する試験

- ・使用した血小板製剤の規格：10 単位製剤
- ・pH、グルコース、乳酸、スワーリング・スコアの測定

リボフラビン第一世代と第二世代により処理された血小板機能の比較
第一世代のデータは 2005 年に日赤が評価したもの

3. 試験結果(詳細は別添参照)

1) 細菌に対する不活化能

- (1) 同じ種類の菌種でも菌株の違いにより不活化に違いがみられる。
- (2) 菌量 4,150～8,600 cfu/bag の場合でも完全に不活化されることがあるが、菌量 390～480 cfu/bag の場合に必ず不活化されとは限らない。
- (3) 第一世代と第二世代で不活化能について、大きな違いはない。

2) 製剤の品質

- (1) 試験した採血後 5 日までは、pH、グルコースの消費量、乳酸の産生量、スワーリング・スコアについて、第一世代と第二世代との間で品質に大きな違いはない。

4. 今後の予定

これまでの日赤のリボフラビン法の評価結果から、細菌に対しての不活化効果は菌株の違い等によりバラツキがみられるものの、その効果は期待できること及び本邦での血小板製剤の多様な規格にも対応可能と考えられることから、引き続きリボフラビン法について残された検討を実施していく。

具体的には第一世代と第二世代の不活化効果の比較を継続するとともに、15 単位以上の高単位血小板製剤における不活化処理された製剤の品質について、本年 8 月頃を目途に評価する。

また、引き続き欧州諸国での不活化に関する情報を収集していく。

・ リボフラビン法（第一世代・第二世代）による血小板製剤の細菌に対する不活化効果

(1) 第一世代と第二世代の不活化能を同一供血由来製剤における比較試験 *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)

| | 血漿容量 (mL) | 処理前 cfu/ bag | 処理直後 | 1日目 (24hr) | 2日目 (48hr) | 3日目 (72hr) | 4日目 | 5日目 | 6日目 |
|------------|--------------|-----------------|------|---------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 対照 | 112 | 1,523 | 未検出 | 40 | 4.48 × 10 ⁵ | 4.00 × 10 ⁵ | 2.00 × 10 ⁵ | 1.66 × 10 ⁵ | 3.57 × 10 ⁶ |
| 第一世代(血漿+) | 250 | 1,175 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 |
| 第二世代(保存液+) | 110 | 1,496 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 |
| 第一世代(血漿+) | 225 | 3,300 | 未検出 | 未検出 | 3.28 × 10 ³ | - | - | - | - |
| 第二世代(保存液+) | 102 | 3,300 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 1.65 × 10 ³ | - | - | - |

(2) 第一世代と第二世代の不活化能の比較試験 *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)

| | 血漿容量 (mL) | 処理前 cfu/ bag | 処理直後 | 1日目 (24hr) | 2日目 (48hr) | 3日目 (72hr) | 4日目 | 5日目 | 6日目 |
|----------------|--------------|-----------------|------|---------------|------------------------|------------------------|-----|-----|-----|
| 第一世代 (血漿+) | 196 | 8,600 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 |
| | 195 | 8,600 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 |
| | 199 | 4,150 | 未検出 | 未検出 | 7.43 × 10 ² | 1.56 × 10 ⁷ | - | - | - |
| | 202 | 4,150 | 未検出 | 未検出 | 4.65 × 10 ² | 7.15 × 10 ⁶ | - | - | - |
| | 225* | 3,300 | 未検出 | 未検出 | 3.28 × 10 ³ | - | - | - | - |
| 第二世代 (保存液+) | 250* | 1,175 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 |
| | 101 | 3,900 | 未検出 | 未検出 | 3.61 × 10 ⁴ | - | - | - | - |
| | 102* | 3,300 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 1.65 × 10 ³ | - | - | - |
| | 110* | 1,496 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 |
| | 96 | 390 | 未検出 | 未検出 | 2.13 × 10 ² | - | - | - | - |
| 103 | 480 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 2.25 × 10 ⁴ | - | - | |
| 108 | 48 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | - | |

* 再掲

(3) *S. aureus* の異なる菌株に対する不活化能 *Staphylococcus aureus* (ATCC 11632)

| | 血漿容量 (mL) | 処理前 cfu/ bag | 処理直後 | 1日目 (24hr) | 2日目 (48hr) | 3日目 (72hr) | 4日目 | 5日目 | 6日目 |
|------------|--------------|-----------------|------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| 対照 | 103 | 13,287 | 未検出 | 4.23×10^5 | 2.27×10^8 | 3.57×10^8 | 5.93×10^8 | 4.00×10^8 | 6.00×10^8 |
| 第二世代(保存液+) | 109 | 13,298 | 未検出 | 未検出 | 5.18×10^6 | 3.50×10^8 | 3.59×10^8 | 5.53×10^8 | 5.40×10^8 |
| 第二世代(保存液+) | 98 | 4,150 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 |
| 対照 | 112 | 1,456 | 未検出 | 6.33×10^3 | 2.93×10^8 | 8.73×10^8 | 6.06×10^8 | 1.06×10^9 | 1.61×10^9 |
| 第二世代(保存液+) | 110 | 1,430 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 |
| 第二世代(保存液+) | 105 | 380 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 | 未検出 |

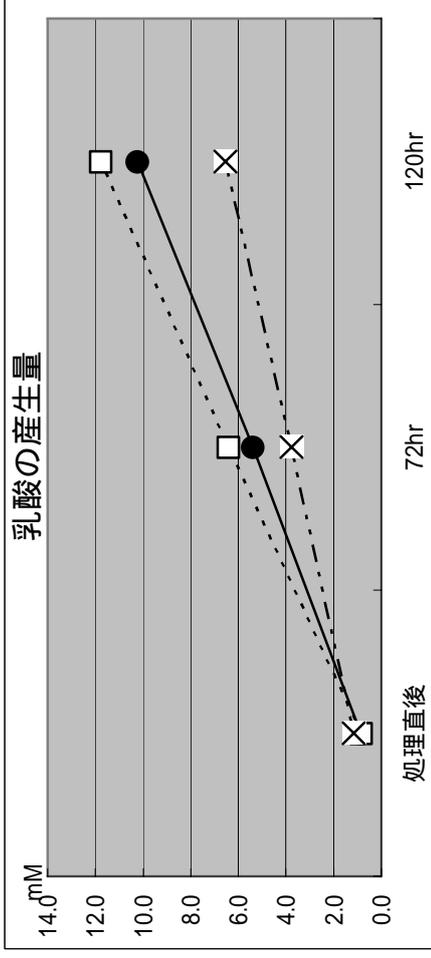
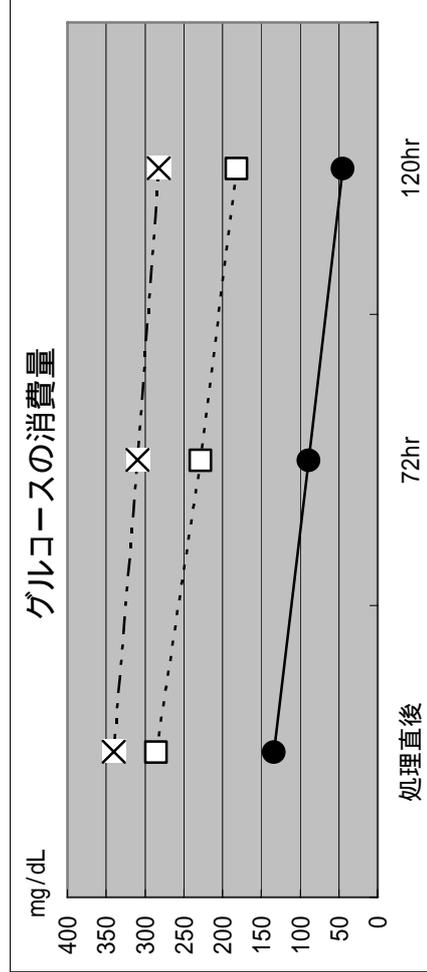
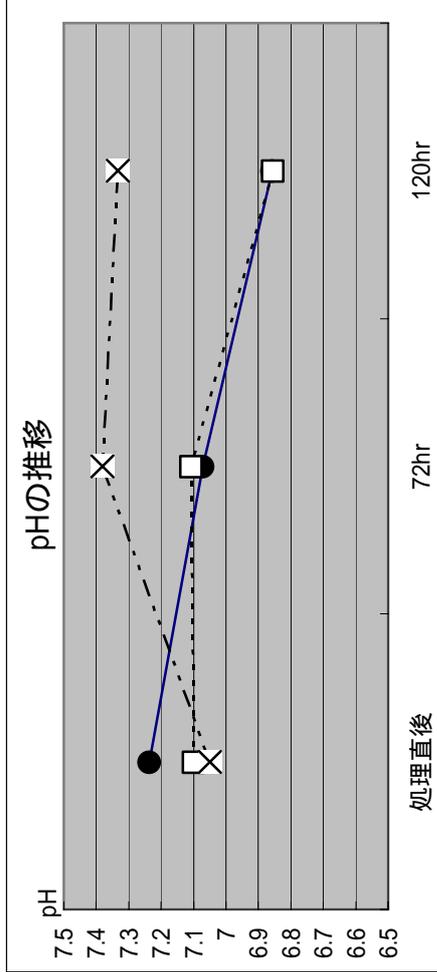
・ リボフラビン法（第一世代・第二世代）により不活化処理した血小板製剤の品質

スワーリング・スコア

| | 処理直後 | 3 日目 (72hr) | 5 日目 (120hr) |
|------|------|-------------|--------------|
| 第一世代 | 2 | 2 | 2 |
| 第二世代 | 3 | 3 | 3 |
| 対照 | 2 | 2 | 2 |

血小板が平板であることにより、光の反射が起き、円盤形の比率の高い血小板製剤では、光の反射によるスワーリングと呼ばれる現象がみられる。血小板製剤の品質を良好に保つ pH で保存された血小板製剤ではスワーリングが良く観察され、同スコアが高くなる。

スワーリング・スコア：3（正常）> 2 > 1 > 0（ナシ）



第一世代, 第二世代, × 対照

血小板はその機能を保つために、グルコースを代謝し、乳酸、CO₂等を産生している。乳酸が保存バッグ中で増加すると pH が低下する。pH の低下は血小板製剤の品質低下を引き起こすことが分かっており、日赤の血小板製剤の基準でも保存中の pH を 6.2 以上としている。（欧米も同様）不活化処理による血小板の活性化や代謝経路の傷害により、グルコース代謝、乳酸産生、pH 低下が促進する可能性がある。そこで、pH だけでなく、不活化処理が血小板へ及ぼす傷害の程度を評価するため、グルコースの消費量、乳酸の産生量を測定している。