原 著

回収式自己輸血に関する研究 —赤血球洗浄利用率，混入細菌除去に関する検討—

福井 明 松本 信夫 高折 益彦

川崎医科大学麻酔科学教室

(昭和62年3月3日受付)

STUDY ON INTRAOPERATIVE BLOOD SALVAGING AUTOTRANSFUSION —Improvement in Red Cell Salvaging and Minimization of Contamination—

Akira Fukui, Nobuo Matsumoto and Masuhiko Takaori

Department of Anesthesiology, Kawasaki Medical School

Several trials were carried out in 60 cases with intraoperative autotransfusion.

In order to minimize hemolysis and bacterial contamination in red cell suspension which was reconstructed from salvaged blood.

Surface activating agent, poloxamer 188, added in the aspiration fluid, had no protective effect for hemolysis.

The improvement of aspirator, that was able to mix with the aspiration fluid at the top and was able to minimize obstruction by the tissue fragment in the lumen, seemed effective to reduce the hemolysis.

Adding ampicillin sodium of 2 g in 1,000 ml of saline for aspiration fluid and furthermore adding either latamoxef sodium of 2 g or ceftizoxime sodium 2 g in 1,000 ml of saline for the rinsing red cells reduced the bacterial contamination rate from 47.8% to 13.5% significantly.

In addition, it seemed effective to minimize the bacterial contamination rate in this study that double or triple amount of the rinse solution was used in the process constructing red cell suspension and application of negative pressure in the aspiration system was limited strictly only when hemorrhage occurred in the operation field and the aspiration was needed essentially.

序 言

われわれは，術中出血量が3,000～4,000ml予想される手術症例に対して，1982年3月よりHaemonetics社製，赤血球分離器 Cell Saver®を用いた回収式自己輸血（intraoperative blood salvaging autotransfusion; IAT）と血液希釈性自己輸血（hemodilutional autotransfusion; HAT）を併用した自己輸血法を行い，同種血輸血の回避，または減量に努力してきた。そして本法の基礎的研究，臨床的実施方法等についてはすでに報告してきた^{1)～4)}。

今回，IAT 施行上残された問題としての IAT 回路内にて回収される赤血球の溶血を抑え，赤血

球洗浄利用率を向上する方法および IAT 血への細菌混入を少なくする方法について検討したので報告する。

対 象

1982年3月より1986年8月末まで川崎医科大学中央手術部において全身麻酔下に手術が施行され，IAT と HAT を併用した自己輸血を行った60例を対象とした。

60例の手術法別分類では整形外科症例の人工股関節全置換術23例（38.3%），椎弓切除・腫瘍摘出術16例（26.7%），人工骨頭置換術2例（3.3%），側弯症手術（Harrington's rod 法）2例（3.3%），および婦人科症例で，広汎子宮全摘出術14例

図 1

(23.3%), 子宮筋腫核出術 3 例(5.0%)であった。

年齢は 54.7 ± 14.6 歳, 身長は 153.0 ± 7.8 cm, 体重は 51.5 ± 8.6 kg であって, 男性15人, 女性45人によって構成されていた。

方 法

全身麻酔導入後, 図1に示すように, 乳酸加リンゲル液500mlを急速に静脈内に輸液し, 表在頸静脈より市販採血バックに各200ml/ずつ3回採血し, デキストラン70を500ml 輸注した。そして上記のごとき採血とデキストラン液の注入操作をくり返し, 1,200ml の新鮮自己血(HAT 血)を確保した。

手術開始時より手術野出血の回収を開始し回収式自己血(IAT 血)作成までは術中出血量がほぼ500ml 以上になる時点より HAT 血の輸血を開始し, 循環血液量の維持に努めた。

IAT 血作成は, 手術野出血を抗凝固薬入り生理食塩水と血液吸引子の可及的先端部で混合させ, 20cmHg の壁在吸引装置にてリザーバーに吸引した。これから Cell Saver® のローラーポンプを用いて回収血液を遠心分離ボールに移し, 遠心分離し, ボール内に赤血球のみの集積を続けた。そして一定量(225ml)の赤血球が集積した時点で洗浄用生理食塩水を連続的に遠心ボール内に注入して赤血球を洗浄し, 赤血球貯溜バックに移した。次にこの血液を microfilter 付き輸血セットを介し

て輸血した(図2)。

総出血量は $1,224 \pm 698$ ml, 集積 IAT 血液量は 705 ± 463 ml, そのヘマトクリット値は $42.3 \pm 15.0\%$ であった。

研究 I : 赤血球洗浄利用率に関する研究

IAT 血液量(a)は赤血球貯溜バック中の血液量にそのヘマトクリット値を乗じたものを, HAT 後の患者血中ヘマトクリット値で除して求めた。

$$a = \frac{\text{赤血球貯溜バック内血液量} \times \text{赤血球貯溜バック内ヘマトクリット値}}{\text{HAT 後患者血中ヘマトクリット値}}$$

IAT 血として回収されなかった血液量, すなわち回収過程に溶血した血液量(b)は図2の洗浄液廃棄バック中の排液量と排液中の遊離ヘモグロビン量から次式により求めた。

$$b = \frac{\text{総排液量} \times \text{排液中ヘモグロビン値}}{\text{HAT 後患者血中ヘモグロビン値}}$$

したがって総出血量は $a + b +$ (ガーゼ等の出血量)となり, 回収過程で失われた赤血球を除いた赤血球洗浄利用率は $a/a + b$, 血液回収率は $a + b /$ 総出血量で計算した。なお遊離ヘモグロビン量は, シアンメトヘモグロビン測定法にて測定した。

赤血球洗浄利用率を, 1) 整形外科症例と婦人科症例別, 2) 図3に示した血液吸引子の構造による差, すなわち T 字型コネクター($n=8$), Y 字型コネクター($n=8$)それぞれについて比較検討した。3) 図2に示した抗凝固薬入り生理食塩水中に体

図 2

図 3

外循環用添加剤のポロクサマー188 (エキソコルボール®) を全く加えなかったもの (n=10) と、40ml (n=10), 80ml (n=9), 添加したものとの差について検討した。

研究II：混入細菌除去に関する研究

図2の抗凝固薬入り生理食塩水1,000mlに ampicillin sodium (AB-PC) 2gを加え、さらに赤血球遠心分離ボール内(225ml)に赤血球を集積し

た時点で、latamoxef sodium (LMOX) 2gあるいは、ceftizoxime sodium (CZX) 2gを加えた洗浄用生理食塩水1,000mlにて赤血球を連続的に2回洗浄した。その後赤血球を赤血球貯溜バックに移した。無菌的操作によりこの血液10mlを採血し、blood culture tube (Vacutainer®)へ移し、GAM 半流動高層培地、GAM 寒天培地、チョコレート寒天培地、血液寒天培地、BTB 寒天培地の5種類で培養し、1週間後の生着について同定を行った。

IAT 血中の細菌検出率ならびに検出細菌の種類については、洗浄用生理食塩水中の抗生物質に LMOX, あるいは CZX を用いた場合についてそれぞれ比較検討した。

統計処理は student t test あるいは、 χ^2 test を用いた。すべての成績は平均±標準偏差で表示した。

成 績

研究 I：赤血球洗浄利用率に関する研究

整形外科症例と婦人科症例における赤血球洗浄利用率は、それぞれ $81.8 \pm 10.1\%$, $81.8 \pm 18.3\%$ で両群間に差をみとめなかった。エキソコルボール®添加の有無による検討では無添加、40ml 添

表 1 赤血球洗浄利用率 (%)

整 形 外 科	81.8±10.1 n=37
婦 人 科	81.8±18.3 n=17
T字コネクタ－	82.9± 7.7 n=8
Y字コネクタ－	87.6± 4.4 n=8
ポロクサマー188 無添加	83.5± 4.5 n=10
ポロクサマー188 40ml 添加	87.3± 6.6 n=10
ポロクサマー188 80ml 添加	85.6± 7.0 n=9

加, 80ml 添加で赤血球洗浄利用率はそれぞれ 83.5±4.5%, 87.3±6.6%, 85.6±7.0%で, 3 者間いづれにおいても有意差をみとめなかった (表 1)。

しかし吸引子に図 3 上の T 字型コネクタ－を用いた場合では赤血球洗浄利用率は82.9±7.7%, 下の Y 字型コネクタ－を用いた場合では87.6±4.4%と Y 字型コネクタ－を用いた方が赤血球洗浄利用率を向上させる傾向を示した。

研究 II：混入細菌除去に関する研究

1982年 3 月の本法施行開始より1984年 7 月末までの洗浄赤血球濃厚液中よりの細菌検出率は 47.8% (11/23) であり, その検出細菌は *staphylococcus epidermidis* が 6 例に, *staphylococcus aureus* が 2 例に, *staphylococcus faecalis*, *bacillus cereus*, *aspergillus nigra* が各 1 例にみとめられた。一方, 1984年 8 月より1986年 8 月末までの期間にあって抗凝固薬入りと洗浄用の生理食塩水にそれぞれ所定の抗生物質を使用した場合の細菌検出率は13.5% (5/37) であって, 後者群における細菌検出率は低下していた (p=0.006)。なお, この後期における検出細菌はいずれも *staphylococcus epidermidis* であった (表 2)。

一方, 洗浄用生理食塩水中に LMOX と CZX を用いた場合, 細菌検出率は LMOX 群で11.1%(2/18), CZX 群で15.8%(3/19)と両群間に差をみとめなかった。

なお, 抗生物質使用前の整形外科手術症例からの細菌検出率は18例中 9 例(50%), 婦人科手術症例からのそれは 5 例中 2 例 (40%) と有意差をみとめなかった。

表 2 洗浄赤血球濃厚液中の細菌検出率・検出細菌

期 間	細菌検出率	検 出 細 菌
1982年 3月 ↓ 1984年 7月	11/23 (47.8%)	<i>staphylococcus epidermidis</i> ……6 <i>staphylococcus aureus</i> ……2 <i>staphylococcus faecalis</i> ……1 <i>bacillus cereus</i> ……1 <i>aspergillus nigra</i> ……1
1984年 8月 ↓ 1986年 8月	5/37 (13.5%)	<i>staphylococcus epidermidis</i> ……5

考 察

IAT によって吸引された赤血球は, 回収回路内を通過する際に主として機械的衝撃によって障害される。これらの主なものは, 1) 出血から抗凝固薬との混合までの時間, 2) 吸引子の先端での吸引子と赤血球との衝撃, 3) 吸引圧の影響, 4) 回路内吸引血液リザーバ－内フィルター通過時の衝撃, 5) Cell Saver®内ローラーポンプによる赤血球への圧迫, 6) 抗凝固薬入り生理食塩水等の回路内液の浸透圧の影響, 7) 回路内での気泡発生にともなう障害, 等が考えられる。われわれは, この赤血球の溶血率をいかにして減少させ, 赤血球洗浄利用率を向上させる努力を行ってきた。われわれは, 当初図 3 上図のような T 字型のコネクタ－を使用した吸引子を用いていた。しかし, T 字型コネクタ－では T 字の中心に線維成分, 組織片などが附着し, 吸引回路の閉塞を頻回に発生させ, 吸引圧を上昇させ, また狭窄部を急速度で赤血球を通過させることが赤血球の溶血を著しくさせる一因と考えた。そこで図 3 の下図のような Y 字型のコネクタ－に改良した。このようにすることによって, さらに抗凝固薬注入チューブを吸引子の先端近くまで挿入することができ, 吸引子の先端にての抗凝固薬の混入を容易ならしめた。そしてまた回路の狭窄, 閉塞も完全に回避することができた。

第 2 に整形外科症例では, 骨組織からにじみ出るように出血が持続し, 吸引子先端で手術野をこするような吸引操作となっている。これが手術野においても赤血球破壊を発生させる要因となって

いる。そこで、スポイドなどによって抗凝固薬入り生理食塩水を術野に撒布、注入し、赤血球をこの液の中に浮遊させる方法を推奨してきた。

第3に極度の吸引陰圧を用いないことも大切と思われた。すなわち著しい陰圧が急激な外気のリザーバー内吸引によりリザーバー内の血液に衝撃を与え、さらに泡沫形成をも著しくするためである。われわれは壁を吸引を用いているが吸引圧は20 cmHgを超えないように注意している。

第4にポンプによる機械的障害を最小限にするため、ローラーポンプの回転速度を 2×10^4 回転/min以下にし、吸引操作を可及的非衝撃的にする努力を行ってきた。しかし、これらの機械的障害を人為的に可及的最小限に抑えても、なお発生する赤血球破壊に対して、今回の研究ではエキソコルポール®の使用による赤血球保護効果について検討した。本剤の主剤であるボロクサマー-188は非イオン性界面活性剤であり、赤血球の溶血防止作用を有している。すなわち、松川ら⁵⁾は体外循環下開心術において、本剤を全循環血に対して1mg/mlの割合で添加し、投与群で溶血量を非投与群の1/2に減少させたと報告している。また、大石ら⁶⁾は同様の研究において投与群では分時溶血量 $0.43 \pm 0.27 \text{ mg/dl} \cdot \text{min}$ であって、非投与群の $0.97 \pm 0.64 \text{ mg/dl} \cdot \text{min}$ に対して、1/2量以下に減少させたと報告している。しかしながら今回、エキソコルポール®使用による赤血球洗浄利用率は無添加で84%、40ml添加で87%、80ml添加で86%といずれにおいても有意差をみとめなかった。すなわちIAT時においては本剤との接触時間が短期間であることが影響しているとも考えられた。しかしこれらの種々の努力によって、われわれは81.8% (n=60)の赤血球洗浄利用率をうることができた。この値は、Flynnら⁷⁾の70%に比して高値であった。

今後の課題として、抗凝固薬入り生理食塩水の浸透圧が赤血球へ及ぼす影響、さらに赤血球自体を溶血に対して強化するような方法についても考慮しなければならないと考えている。

Keelingら⁸⁾によれば、725例のCell Saver®を使用した症例でIAT血中からまれにsta-

phylococcus epidermidis, もしくは diphtheroids が検出されたと報告している。またKhanら⁹⁾はIAT施行症例22例中の15例(68%)に diphtheroids や staphylococcus albus を主とする細菌が検出されたと報告している。われわれも、当初23例中11例(48%)に staphylococcus epidermidis を主とする空中落下細菌を検出した。そのため、われわれは本法のような抗生物質を回路内に使用し、血液回収、赤血球集積過程においてこれらの微生物体を死滅させる方法を試みた。これにより、少なくともIAT血処理時間の40分間以上にわたり、抗生物質とこれら微生物体とを接触させIAT血中からの細菌検出率を低下させることができた。さらに細菌混入を少なくするために出血していない時は吸引回路の陰圧を解除することも必要であろう。整形外科疾患と婦人科疾患別細菌検出率の比較で、前者が18例中9例(50%)、後者が5例中2例(40%)と有意差こそみとめなかったものの、婦人科疾患で低値を示した。すなわち整形外科疾患での手術時間は 240 ± 54 分、婦人科疾患で 118 ± 36 分と前者では手術時間が長く、空中の落下細菌の混入等の機会が多くなったためと思われた。さらに、最終過程での赤血球洗浄を可及的大量(約4,000ml)の生理食塩水で洗浄することも細菌混入率を減少させる一法と考えられる。

まとめ

以上の結果、抗溶血作用のあるボロクサマー-188の抗凝固薬入り生理食塩水内混入は必ずしも吸引にともなう赤血球障害、そして溶血防止に有効ではなかった。しかし、吸引回路の改良、すなわち吸引子内に組織片の閉塞が発生しないような改良、吸引方法の改良、すなわち術野に生理食塩水を撒布するような努力によって、赤血球洗浄利用率を82%と高めることができた。

IAT血中の細菌混入を減少させるために抗凝固薬入り生理食塩水1,000mlにAB-PC 2gを加え、さらに赤血球遠心分離ボール内(225ml)に赤血球を集積した時点でLMOX 2g,あるいはCZX 2gを加えた洗浄用生理食塩水にて赤血球を連続的に2回洗浄した。この結果、抗生物質使用前の細菌検出率47.8%から13.5%に減少させることが

できた。

本稿の要旨は、第31回日本輸血学会中国・四国地方会、1986年11月、徳島において発表した。

文 献

- 1) 森本正樹, 酒井資之, 高折益彦: 出血血液利用に関する基礎的研究. 日本輸血学会雑誌, 25: 67—72, 1979.
- 2) 中山雅人, 小川重男, 高折益彦: 拡大血液希釈性自己輸血に関する研究. 日本輸血学会雑誌, 30: 168—174, 1984.
- 3) 高折益彦, 福井 明, 奥坊康士: 自己輸血. 麻酔, 34: 530—550, 1985.
- 4) 福井 明, 高折益彦, 三宅康之, 難波正義: 血液回収自己輸血におけるマイトマイシンC使用に関する研究. 日本輸血学会雑誌, 32: 6—11, 1986.
- 5) 松川哲之助, 坂下 勲, 桜井淑史ら: 体外循環下用心術における溶血防止策—とくに Pluronic F-

68 投与について. 血液と脈管, 3: 473—477, 1972.

- 6) 大石喜六, 星野芳弘, 諫本義雄ら: 体外循環における溶血防止剤としての Poloxamer188 (Ex-ocorpol) の二重盲検法による臨床的評価. 胸部外科, 34: 346—351, 1981.
- 7) Flynn, J.C. and Csencsitz, T.S.: Present status of intraoperative blood recovery during orthopaedic surgery. The jefferson Orthopaedic Journal, 8: 22—25, 1979.
- 8) Keeling, M.M., Gray, L.A., Brink, M.A., Hillerich, V.K. and Bland, K.I.: Intraoperative autotransfusion. Experience in 725 consecutive cases. Ann. Surg., 197: 536—541, 1983.
- 9) Khan, R.M.A. and Bassett, H.F.M.: Intraoperative autologous blood transfusion: Report of a technique. Thorax, 30: 447—451, 1975.