

Pismo uredništvu/Letter to the editor

CREUTZFELDT-JAKOBOVA BOLEZEN IN DEKONTAMINACIJA PRIONOV

Mirko Jung

Säumerstrasse 45, CH-8800 Thalwil/Zürich

Izvleček – Članek opisuje do sedaj znane metode za dekontaminacijo prionov in o njih razpravlja. Edina uporabna kemikalija je NaOCl, vendar je neuporabna za nerjaveče jeklo. Najboljše rezultate so dobili z avtoklaviranjem 0,1 ali 1N NaOH pri 121–134 °C, vendar je NaOH neuporabna za steklo in aluminij. Kombinacija alkalnih detergentov in proteolitičnih encimov je bila v nekaterih eksperimentih uspešna, priporočajo pa tudi kombinacijo z avtoklaviranjem za termostabilne instrumente. Sušenje instrumentov takoj po uporabi je treba na vsak način preprečiti, tj. še v obdobju prenosa med operacijsko dvorano in oddelkom za sterilizacijo. Za to je možno poskrbeti brez velikih investicij. Na splošno velja, da v večini bolnišnic po svetu dekontaminacija prionov ni ustrezna, kar velja v enaki meri tudi za Slovenijo.

Abstract – Prion decontamination methods known so far have been described and discussed in this article. The only usable chemical is NaOCl but not effectfull in all cases and unusable for stainless steel. Best results were obtained autoclaving 1 or 0.1N NaOH simultaneously at 121–134 °C but this cannot be used for glass and aluminium. Combination of alkaline detergents and proteolytic enzymes has been successful, in some cases, but they also can be combined with autoclaving for thermostabile devices. Drying of instruments after use must be avoided under any circumstances during the transport of instruments from operation rooms to the sterilization department. This can be done without great investments. In general, in most world hospitals prion decontamination methods are not adequate. This guilt for Slovenia as well.

O dekontaminaciji patološkega prionskega proteina, t. i. priona (PrPSc), ki so ga praviloma dokazali pri Creutzfeldt-Jakobovi bolezni (CJB) in sorodnih spongiformnih encefalopatijah, je na voljo obsežna literatura. Vendar si pogosto nasprotujoče in jo je težko primerjati zaradi različnih raziskovanih patoloških materialov in metod dela. Iatrogeni prenos z okuženimi tkivi ali medicinskimi instrumenti je znan že več kot 30 let. Povzročitelja bolezni oz. indikatorja PrPSc niso našli le v možganih in očesnem ozadju, ampak tudi v hrbtenjači, mišicah, olfaktorni sluznici in v izcedku iz nosu, v mandljih, vranici, slepiču (osem mesecev pred izbruhom bolezni), bezgavkah, dlesni, zobni pulpi in ganglijih trigeminusa (razpr. 1). Minutni stik z okuženim tkivom je dovolj, da se za instrument okuži (1, 2). Nekateri menijo, da je vsak tretji primer CJB posledica predhodne operacije (3). Inkubacija okužbe traja več let ali desetletij, zato je diagnozo retrogradno zelo težko potrditi.

Tudi pri nas je že dolgo znano, da je dekontaminacija prionov zelo problematična (4). Danes se vé, da večina dezinfekcijskih kemijskih sredstev praviloma rahlo znižuje titer infektivnosti priona, kar so merili v živalskih poskusih. To pa za uspešno dekontaminacijo ne zadostuje. NaOCl je edina kemikalija, ki so ji pripisovali uspeh (20.000 ppm za eno uro na temperaturi okolice). To je sprejela tudi Svetovna zdravstvena organizacija (SZO) (5). Vendar delo s to kemikalijo ni enostavno. V rabi je le tam, kjer drugih metod ni mogoče uporabiti. Poleg tega pa je kemikalija neuporabna za nerjaveče jeklo. Dobre rezultate so dobili tudi z 1N ali 2N NaOH za eno ali dve uri na temperaturi okolja (5), še posebej, če so postopek kombinirali z avtoklaviranjem, ločeno ali (še boljše) hkrati pri temperaturi 121 °C 30 minut (5). V literaturi so poročali tudi o nižjih koncentracijah NaOH (6, 7) ali celo o milimolarnih koncentracijah (8). Raba NaOH za dekontaminacijo je velik napredek, ker:

Razpr. 1. Prioni v centralnih in perifernih tkivih pri CJB.

Tkivo	Oblika CJB
Možgani, očesno ozadje (mrežnica, vidni živec)	sporadična, varianta, iatrogena, genska
Hrbtenjača (vratna do lumbalna)	sporadična
Vranica	sporadična, varianta
Mišice	sporadična
Olfaktorna sluznica (nosna votlina)	sporadična
Dlesen, zobna pulpa, trigeminus, gangliji	sporadična, varianta
Tonzile, vranica, bezgavke, slepič	varianta (lahko več let pred boleznijo)
Transfuzija krvi (koncentrirani eritrociti dajalcev, okuženih z varianto CJB)	en bolnik umrl, en diagnosticiran pred kliničnimi znaki bolezni
Urin	nasprotujoči si podatki

- razkroja visokomolekularne sestavine na mikromolekularne, ki jih je lažje dekontaminirati;
- deluje baktericidno;
- je instrumente, potopljene v NaOH, neprimerno lažje čistiti po avtoklaviranju (tudi naše babice so uporabljale pepel po kurjenju z drvmi za čiščenje kuhinjske posode, to pa je precej podoben postopek);
- instrumente po operacijah je možno držati potopljene več ur, da ne pride do sušenja, ki učvrsti proteine na površino instrumenta in tako preprečuje dekontaminacijo.

To v polni meri velja za instrumente na poti iz operacijske dvorane v oddelk za sterilizacijo. Za to so najbolj primerne termostabilne in posode iz polipropilena, primerne za avtoklaviranje. NaOH ni nevarna za avtoklav in naravno okolje. To še posebej velja za nižjo koncentracijo NaOH (0,1 N). Tudi za zaposlene je toksičnost minimalna.

Metode avtoklaviranja smo opisali v razpredelnici 2. Za avtoklaviranje niso primerni t. i. porous-load avtoklavi, ki jih je sedaj največ, in smo jih leta 1996 priporočali (4). Taki avtoklavi delajo z alternativnim vakuumom in pritiskom. Vakuum pričvrsti proteine (tudi PrPSc) na površini instrumenta, zato dekontaminacija ni učinkovita (9). Tudi instrumentov, potopljenih v nepopolno zaprtih posodah, ni mogoče avtoklavirati. Za to so dobri gravitacijski avtoklavi brez vakuuma s pritiskom, večjim od 5 barov, in homogeno atmosfero ter popolnoma zaprtim sistemom (10, 11), ki onemogoča kontaminacijo okolič in tehnikov.

Razpr. 2. Avtoklaviranje / gravitacijski tip.

- Instrumente je treba po uporabi potopiti v tekočino, da se ne posušijo. Suhih instrumentov ni možno dekontaminirati.
- Potopitev je najbolj enostavna, če so na voljo posode iz polipropilena, ki jih je mogoče avtoklavirati (predlog FDA, december 2004).
- Instrumentov se pred dekontaminacijo ne sme čistiti. V nasprotnem primeru (WHO 1999 dovoljuje) je treba vse materiale, ki so se uporabljali pri čiščenju, dekontaminirati z NaOH (ni zelo učinkovito). Prioni v okolju preživijo več let.
- Instrumentov se ne sme čistiti v avtomatskem stroju, če niso prej dekontaminirani (WHO 1999), ker okuženi instrumenti lahko okužijo nekontaminirane (čiste, brez prionov).
- Temperatura od 121 do 134 °C.
- Varnostni ukrepi vključujejo popolno izolacijo kontaminiranih instrumentov od okolice (brez zraka in hermetično zaprtost kondenzata) tako, da je okolica popolnoma čista. T. i. aerosolnih filtrov niso nikoli preizkušali na nepropustnost prionov.
- Najpogosteje uporabljajo temperature 134 °C 18 min., v ZDA 60-90 min. (nepotrebno).
- Čas standardnega procesa je 2 uri.
- NaOH ni možno uporabljati za čiščenje stekla in aluminija, NaOCl pa za nerjavče jeklo. Previdnost je potrebna pri čiščenju instrumentov iz karbonskega jekla z NaOH, za nerjavče jeklo je NaOH neškodljiv. Odlična rezultata smo dobili v naših laboratorijih z 0,1N NaOH.

Ostaja problem termolabilnih instrumentov (posebej v oftalmologiji) in številnih endoskopov. Zanje so v poslednjih letih z uspehom kombinirali alkalne detergente (pH 12) in proteaze (12). Alkalne detergente že dolgo rabijo za avtomatske pralne stroje. Sicer je prepovedano avtomatsko pranje instrumentov, če niso dekontaminirani (5), vendar se tega nihče ne drži. Posebej učinkovita je tristopenjska metoda (SDS-proteinaza K-pronaza). Kemikalije so lahko dostopne in niso nevarne (13). Vendar je metoda zapletena in praktično v bolnišnici neizvedljiva, dokler se ne bo poenostavila in komercializirala. Tudi avtorji teh publikacij še vedno priporočajo za termostabilne instrumente kombinacijo z avtoklaviranjem. Metoda dekontaminacije za termolabilne instrumente in material, ki bo uspešna, bo velikega pomena. Metode dekontaminacije, ki se danes uporabljajo, so zbrane v razpredelnici 3. V razpredelnici 4 je prikazana idealna metoda dekontaminacije. Če se čiščenje opravlja pred dekontaminacijo, kar je dovoljeno (5), so kontaminirani ves material in oprema. Zato je treba vse potem še dekontaminirati (5), kajti prioni preživijo leta dolgo v naravnem okolju. Pa še skoraj vsak drugi instrument kaže po ročnem čiščenju sledove krvi in tkiva. Pranje v stroju je pred dekontaminacijo prepovedano (5).

Prepričanje, da prionov ni mogoče dekontaminirati, ki se uveljavlja v Sloveniji, je zgrešeno. Nekatere metode so v poskusih dale zelo dobre rezultate. Omenili smo tudi pot instrumentov od operacijske dvorane do oddelka za sterilizacijo (na Škotskem traja ta pot povprečno do štiri ure). To je po izkušnjah običajno najbolj neprimerna faza pri pripravi instrumentov. Avtoklaviranje je primarnega pomena, vendar le v kombinaciji z NaOH ali drugimi pripravki. Metode za termolabilne instrumente se še razvijajo. Nekatere so dale obetajoče rezultate. Potrebno je ločiti dekontaminacijo od končne sterilizacije. Izvedljiva je z že očiščenimi in prepakiranimi in suhimi in-

Razpr. 3. Dekontaminacije instrumentov, okuženih s prioni.

- Instrumente potopimo v 1N NaOH in hkrati avtoklaviramo pri 121 °C na min. (WHO 1999).
- Instrumente potopimo v 1N NaOH ali NaOCl (20.000 ppm Cl) za eno uro pri sobni temperaturi; nato preložimo instrumente v vodo in avtoklaviramo pri 121 °C eno uro (WHO 1999).
- Instrumente v vodi avtoklaviramo pri 134 °C 18 min. (Zahteva švicarskega zakona, ki velja za vse javne in zasebne nevrologe oz. nevrokirurge, oftalmologe, otorinolaringologe in čeljustne in orofacialne kirurge ne glede na bolnikovo diagnozo.)
- Instrumente dekontaminiramo v alkalnih detergentih (pH 12 ali več) ali v proteazah, po možnosti v kombinaciji z avtoklaviranjem pri 121-134 °C.
- Instrumente v 0,1N NaOH avtoklaviramo pri 134 °C 18 minut (ni škodljivo za instrumente in osebe).

Razpr. 4. Postopek za pripravo medicinskih instrumentov.

- Zbiranje in takojšnja dekontaminacija prionov, preden se instrumenti posušijo.
- Dekontaminacija prionov.
- Pregled ostankov na instrumentih, razstavljanje instrumenta na sestavne dele.
- Čiščenje sestavnih delov.
- Priprava na končno sterilizacijo.

strumenti; dekontaminacijska vrednost tega postopka je za zdaj v večini držav več kot vprašljiva.

Kako je z vprašanjem zdravniške odgovornosti? Vrhovno sodišče v Kanadi (14) je razsodilo, da je bolnika potrebno seznaniti o tveganosti medicinskega (kirurškega) posega (med drugim tudi o tem, kako so dekontaminirani instrumenti za operacijo). Tudi najnovejši švicarski zakon (15) obvezuje zdravnika, da bolnika obvesti o vseh dejavnih tveganja načrtovanega posega. Glede CJB je to manj pomembno za stare bolnike (zelo dolga inkubacija), je pa velikega pomena za mlade. Kaj pa, če bolnišnica sploh nima možnosti za dekontaminacijo prionov? Zavedati se je treba, da je znanje o možnosti okužbe vedno bolj dostopno širokemu krogu prebivalstva (16). Investicije v reorganizacijo dela v bolnišnicah pa sploh niso tako velike. Žal predpisi v državah EU in drugod še ne zahtevajo ustrezne dekontaminacije instrumentov glede prionov.

Literatura

1. Zobeley E, Flechsig E, Cozzio A, Enari M, Weissmann C. Infectivity of scrapie prions bound to a stainless steel surface. *Mol Med* 1999; 5: 240-3.
2. Flechsig E, Hegyi I, Enari M, Schwarz P, Collinge J, Weissmann C. Transmission of scrapie by steel-surface-bound prions. *Mol Med* 2001; 7: 679-84.
3. Ward HJT, Everington D, Croes A, Alperovitch A, Delasnerie-Laupretre N, Zerr I, et al. Sporadic Creutzfeldt-Jakob disease and surgery. A case-control study using community controls. *Neurology* 2002; 59: 543-8.
4. Jung M. Splošno o prenosljivih spongiformnih encefalopatijah. *Zdrav Vestn* 1996; 65: 463-7.
5. WHO. Infection control guidelines for transmissible spongiform encephalopathies. Report of a WHO Consultation; 1999 March 23-26; Geneva, Switzerland. Geneva: WHO; 1999.
6. Taylor DM. Prion decontamination. *The Biochemical Scientist* 2004; 48: 376.
7. Jung MJ, Pistolesi D, Panà A. Prions, prion diseases and decontamination. *Igiene Sanita Publica* 2003; 5: 331-4.
8. Käsermann F, Kempf C. Sodium hydroxide renders the prion protein PrPSc sensitive to proteinase K. *J Gen Virol* 2003; 84: 3173-6.
9. Jepsen OB. Infection control: Preventing iatrogenic transmission of spongiform encephalopathy in Danish hospitals. *APMIS* 2002; 110: 104-12.
10. Pistolesi D. Sterilization by moist heat. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* 2002: 2598-609.
11. Jung M. Nova metoda sterilizacije parom. *Infekt Glasnik* 2002; 22: 119-22.
12. McLeod AH, Murdoch H, Dickinson J, Tennis MJ, Hall GA, Buswell CM, et al. Proteolytic inactivation of the bovine spongiform encephalopathy agent. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 317: 1165-70.
13. Jackson GS, McKintosh E, Flechsig E, Prodromidou K, Hirsch P, Linehan J, et al. An enzyme detergent method for effective prion decontamination of surgical steel. *J Gen Virol* 2005; 86: 869-78.
14. Tapp A. Reuse of single use medical devices. *Canad Oper Room Nursing J* 2003; 21: 18-9, 28-9.
15. Das neue Patientengesetz. *Tages Anzeiger, Mittwoch*, 29 Dezember, 2004.
16. Lovrić B, Jung M. Apokalipsa s kirurškog stola. *Vjesnik*, april 2005. p. 16-7.