

PUBLICATIE VAN DE HOGE GEZONDHEIDSRAAD nr. 8143

Inactivatie en securisatie van weefsels en cellen ten overstaan van bacteriën, virussen of prionen

Deel I: Ziekte van Creutzfeldt-Jakob en weefsel transplantatie: risico en preventie

2 juli 2008

SAMENVATTING EN TREFWOORDEN:

Deze literatuurstudie handelt over het risico van transmissie van de ziekte van Creutzfeldt-Jakob (CJD) in het kader van weefsel/cel transplantatie. Daartoe staan we eerst stil bij de algemene kenmerken van prionziekten, als achtergrond voor de inschatting van de grootte van het transmissieprobleem. Vervolgens gaan we dieper in op de diagnostiek van CJD, aangezien dit onze grondslag zal zijn voor de risicobepaling in de context van prelevatie.

Specifiek wordt dan de iatrogene vorm van Creutzfeldt-Jakob besproken: de gerapporteerde case-reports uit het verleden hebben ons geleerd welke de voornaamste overdrachtswegen zijn. Met onze betere kennis van de ziekte zijn we in staat, en is het nodig uit standpunt van infectiepreventie, om een risico-inschatting te doen van potentiële weefsel/cel donoren. Experimentele decontaminatie-studies hebben tenslotte ook geleid tot enkele behandelingsmethoden die bruikbaar zijn op materialen en cellen/weefsels in de preventie van iatrogene CJD.

LITERATUROPZOEKING

Literatuur werd gezocht in de periode 08/ 2005 tot en met 10/2007 in de zoekmachines sumsearch, medline (pubmed), en google op basis van de volgende trefwoorden: [*Creutzfeldt-Jakob disease*] and [*transmission, tissue allograft, cornea allograft, dura mater, tympano-ossicular graft, human growth hormone, blood*], [*iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease*]. De websites van de volgende organisaties werden bezocht: Belgian Health Council, European Union law, EURO-CJD, Department of Health UK, UK CJD Disease Surveillance Unit, Spongiform Encephalopathy Advisory Committee (SEAC), EMEA, FDA, WHO. Bij de finalisatie van het rapport werden nog enkel belangrijke documenten toegevoegd.

Slutelwoorden: CJD, Creutzfeld-Jacob, BSE, prion, transplantatie, weefselbank, autopsie, dura mater, cornea, sclera, tympano-ossiculaire, bloed.

INHOUDSTAFEL

1. INLEIDING	5
2. DEFINITIES	5
3. EPIDEMIOLOGIE – DEMOGRAFIE	10
4. ETIOLOGIE – PATHOGENESE	16
4.1 Prionproteïne structuur – functie – eigenschappen	16
4.2 Conversiemechanisme PrPc naar PrPSc	17
5. DIAGNOSE	18
5.1 Waarschijnlijkheidsniveaus	18
5.2 Diagnose bij leven	20
5.2.1 Computer Tomografie (CT)	20
5.2.2 Magnetische resonantie beeldvorming (MRI)	20
5.2.3 Electroencefalogram (EEG)	21
5.2.4 Proteïnen in cerebrospinaal vocht (CSV)	21
5.2.5 (Toekomstige?) bloedtesten	22
5.2.5.1 <i>Protein Misfolding Cyclic Amplification</i>	22
5.2.5.2 Immunologische methodes	23
5.3 Diagnose bij dood	23
5.3.1 Hersenautopsie	23
5.3.1.1 Histopathologie	23
5.3.1.2 Immunohistochemie	24
5.3.2 <i>Bio-assay</i>	24
5.3.3 Conformatie dependente immuno-assay (CDI)	24
5.3.4 Western Blot	25
5.3.5 Immunokwantitatieve Polymerase chain reaction (PCR)	25
6. IATROGENE CJD: OVERDRACHT DOOR BESMET WEEFSEL, HORMONEN OF INSTRUMENTEN	26
6.1 Inleiding	26
6.2 Transmissiewegen	27
6.2.1 Injecties met humaan groeihormoon, gonadotrofines en runder RNA	27
6.2.2 Dura mater	27
6.2.3 Cornea	28
6.2.4 Sclera	28
6.2.5 Tympano-ossiculaire allogreffes	28
6.2.6 Medische instrumenten	28
6.2.7 Bloed (enkel overdracht van vCJD)	29
6.2.8 <i>Fetal Calf Serum</i>	29
6.2.9 Besluit	30

6.3	Gastheer gevoeligheid	30
6.4	Risicobepaling	31
6.4.1	Risico donor	31
6.4.1.1	Screening	31
6.4.1.2	Poolen	33
6.4.1.3	Dura mater	33
6.4.2	Risico weefsels	34
6.4.2.1	Bloed en bloedderivaten	34
6.4.2.2	Spierweefsel	36
6.4.2.3	Huid	36
6.4.2.4	Oculaire weefsels	36
6.4.3	Risico ingreep	37
7.	PREVENTIE VAN CJD-OVERDRACHT	39
8.	DECONTAMINATIE ALLOGREFFES	40
8.1	Algemene principes inactivatie prionen	40
8.2	Decontaminatie weefsels	41
8.2.1	Dura mater	41
8.2.2	Cornea	42
8.2.3	Sclera	42
8.2.4	Tympano-ossiculaire greffes	42
8.2.5	Musculoskeletale allogreffes	43
8.2.6	Bloed en bloedderivaten	43
8.3	Medische instrumenten, specifiek endoscopen	44
8.3.1	Algemeen	44
8.3.2	Nieuwe decontaminatiemethodes	45
8.3.2.1	Radiofrequentie gasplasma behandeling	45
8.3.2.2	Chemische behandeling medische instrumenten	45
9.	BESLUIT	46
10.	PRAKTISCHE AANBEVELINGEN I.V.M. WEEFSELPRELEVATIE – TRANSPLANTATIE VAN DE HOGE GEZONDHEIDSRaad TER VOORKOMING VAN DE OVERDRACHT VAN SPONGIFORME ENCEFALOPATHIEËN (ZIEKTE VAN CREUTZFELDT-JAKOB)	47
10.1	De specifieke voorzorgsmaatregelen voor het vCJD-agens:	47
10.2	Voorzorgsmaatregelen met betrekking tot prionziekten:	47
10.3	De specifieke voorzorgsmaatregelen bij het transcranieel preleveren van tympano-ossiculaire allogreffes (Schuknecht H)(Schuknecht, 1993)	48
11.	REFERENTIES	49
12.	SAMENSTELLING VAN DE WERKGROEP	55

AFKORTINGEN EN SYMBOLEN

CJD	Creutzfeldt-Jakob
spCJD	Sporadische vorm van CJD
vCJD	Nieuwe variant van CJD
BSE	Boviene spongiforme encefalopathie
PrP	Prion proteïne
PrP ^c	Prionproteïne (c = <i>cellular</i>)
PrP ^{Sc}	Prion proteïne PrP ^{Sc} (Sc = <i>scrapie associated</i>)

1. INLEIDING

Deze literatuurstudie handelt over het risico van transmissie van de ziekte van Creutzfeldt-Jakob (CJD) in het kader van weefsel/cel transplantatie. Daartoe staan we eerst stil bij de algemene kenmerken van prionziekten, als achtergrond voor de inschatting van de grootte van het transmissieprobleem. Vervolgens gaan we dieper in op de diagnostiek van CJD, aangezien dit onze grondslag zal zijn voor de risicobepaling in de context van prelevatie.

Specifiek wordt dan de iatrogene vorm van Creutzfeldt-Jakob besproken: de gerapporteerde case-reports uit het verleden hebben ons geleerd welke de voornaamste overdrachtswegen zijn. Met onze betere kennis van de ziekte zijn we in staat, en is het nodig uit standpunt van infectiepreventie, om een risico-inschatting te doen van potentiële weefsel/cel donoren. Experimentele decontaminatie-studies hebben tenslotte ook geleid tot enkele behandelingsmethoden die bruikbaar zijn op materialen en cellen/weefsels in de preventie van iatrogene CJD.

2. DEFINITIES

De prionziekten werden als een specifieke nosologische categorie onderscheiden, na het ontrafelen van een nieuwe moleculaire pathologie, die gemeenschappelijk is aan een aantal ziekten vroeger gekend als spongiforme encefalopathieën, onconventionele virale infecties, of overdraagbare dementies.

De gemeenschappelijke kenmerken van deze prionziekten zijn:

- 1) een accumulatie van een abnormale vorm van een cellulair proteïne (prion proteïne),
- 2) neuronale celdood, synaptisch verlies, en microvacuolisatie in de hersenen,
- 3) overdraagbaarheid tussen mensen en andere zoogdieren (Sciot, 2004).

Prionziekten komen niet alleen voor bij de mens, maar ook bij verschillende zoogdierspecies; zo is vooral scrapie gekend bij het schaap en boviene spongiforme encefalopathie (BSE) bij het rund.

De prionziekten omvatten de volgende humane ziekten: de sporadische vorm van CJD (spCJD), familiale CJD, overgedragen CJD en de nieuwe variant van CJD (vCJD).

In ongeveer 85% van de gevallen zijn humane prionziekten sporadische gevallen (spCJD). In ongeveer 15% van de gevallen worden prionziekten overgedragen op een autosomaal dominante wijze. Deze familiale CJD zijn de ziekte van Gerstmann-Sträussler-Scheinker en fatale familiale insomnie.

Zeldzame keren worden prionziekten overgedragen door accidentele inoculatie tijdens een therapeutische procedure (iatrogene CJD, gekend sinds 1974), of door endokannibalisme (kuru). Kuru is ontstaan in New Guinea door het nuttigen van hersenen van overleden verwanten tijdens ritueel kannibalisme (gekend sinds 1957). vCJD is ontstaan ten gevolge van de blootstelling aan besmet vlees van runderen met BSE (gerapporteerd sinds 1995)(Prusiner & Bosque, 2005).

Het meest frequente fenotype van prionziekten is CJD. Patiënten presenteren zich typisch met subtiele motorische tekenen, die een weerspiegeling zijn van ernstige cerebellaire ataxie, en evolueren naar een globale demencie in niet meer dan een jaar tijd. Criteria voor de klinische diagnose van CJD werden voorgesteld en worden overal toegepast (Tabel 1).

Verschillende fenotypes van prionziekten verschillend van CJD werden geïdentificeerd (Tabel 2). In al deze blijft de houvast van diagnose het klinisch onderzoek samen met radiologische, elektrofysiologische en neuropathologische onderzoeken (Tabel 3). De enige molecule tot dusver geassocieerd met infectie is een isovorm van een normaal aanwezig eiwit (sialoglycoproteïne), het zogenaamde prion proteïne (PrP) (Johnson & Gibbs, 1998). De naam *prion* is een anagram van *proteinaceous infectious particle*, en werd bedacht door Stanley B. Prusiner (1982) (Sciot, 2004).

Tabel 1: Klinische criteria voor de diagnose van CJD.

Diagnose	Klinische criteria
Waarschijnlijke sporadische CJD	<ul style="list-style-type: none"> • Progressieve dementie • Typisch EEG • ≥ 2: <ul style="list-style-type: none"> - myoclonus - visuele of cerebellaire dysfunctie - pyramidale of extrapyramidale dysfunctie - akinetisch mutisme
Mogelijke sporadische CJD	<ul style="list-style-type: none"> • Progressieve dementie • Afwezigheid van typisch EEG • ≥ 2: <ul style="list-style-type: none"> - myoclonus - visuele of cerebellaire dysfunctie - pyramidale of extrapyramidale dysfunctie - akinetisch mutisme • Duur van minstens 2 jaar
Overgedragen CJD	<ul style="list-style-type: none"> • Progressief cerebellair syndroom in een hypofysehormoonreceptor • Sporadische CJD geassocieerd met een gekende risicofactor: <ul style="list-style-type: none"> - humane dura mater transplant - neurochirurgische ingreep met gekende expositie
Familiale CJD	<ul style="list-style-type: none"> • Bevestigde of waarschijnlijke CJD in 2 of meer eerstegraadsverwanten • Neuropsychiatrische stoornis geassocieerd met een ziekte-gerelateerde mutatie in het PrP gen
Variant CJD	<ul style="list-style-type: none"> • Psychiatrische ziekte (angst, depressie of <i>withdrawal</i>) • Progressieve cerebellaire ataxie op enkele weken of maanden tijd • Variabele dyesthesie in ledematen en aangezicht, chorea, extrapyramidale of pyramidale tekens • Geheugendeficit met dementie in de late stadia • Myoclonus in de late stadia • EEG vertoont niet de typische veranderingen van CJD • Autopsie bevestiging vereist voor de definitieve diagnose

Tabel 2: Fenotypes prionziekten verschillend van klassieke CJD.

Prionziekte	Fenotype
Ataxische ziekte van Gerstmann-Sträussler-Scheinker	<ul style="list-style-type: none"> • Autosomaal dominante cerebellaire aandoening • Milde dementie • Gemiddelde leeftijd bij overlijden: +/- 50 jaar • Duur van de ziekte: 4-5 jaren
Fatale familiale insomnie	<ul style="list-style-type: none"> • Autosomaal dominante aandoening • Vroegtijdige slaapstoornissen • Neuropsychiatrische ziekte • Laattijdige dementie
Progressieve spastische paraparese	<ul style="list-style-type: none"> • Autosomaal dominante aandoening • Progressieve spastische paraparese • Cerebellaire ataxie • Laattijdige dementie
Variant CJD	<ul style="list-style-type: none"> • Presenteert zich als een sporadische neuropsychiatrische aandoening • Tast typisch patiënten aan < 45 jaar • Cerebellaire ataxie • Dementie • Langere duur van de ziekte dan bij de klassieke vorm van CJD
Atypische priondementie	<ul style="list-style-type: none"> • Sporadisch 'late-onset' dementieel syndroom • Klinisch niet differentieerbaar van de ziekte van Alzheimer of Lewy body dementie
Kuru	<ul style="list-style-type: none"> • Cerebellaire ataxie geassocieerd met tremor en dementie, beperkt tot de Fore stam van New Guinea • Een fulminant verloop leidend tot onzelfredzaamheid en de dood binnen het jaar • Is zo goed als verdwenen sinds het stopzetten van specifieke begrafenisrituelen met het manipuleren of eten van hersenweefsel

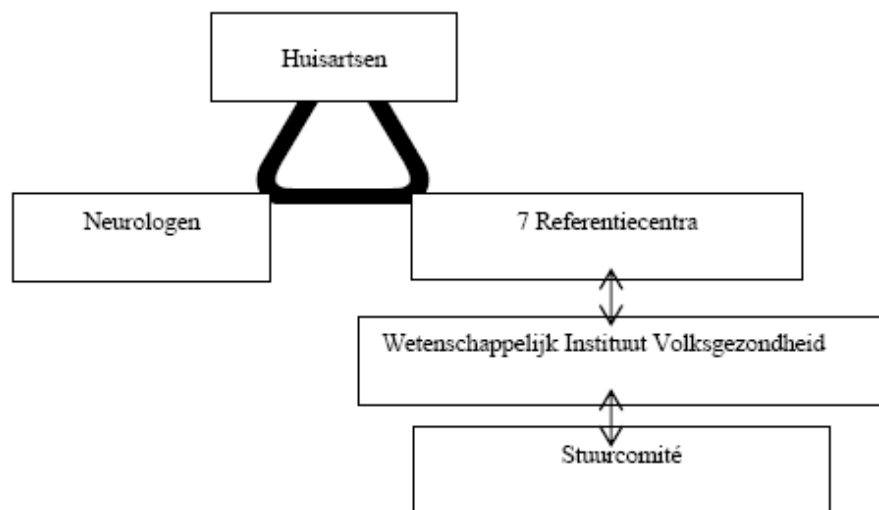
Tabel 3: Radiologisch, elektrofysiologisch, en neuropathologisch onderzoek van prionziekten.

Onderzoek	Bevindingen
Beeldvorming	<ul style="list-style-type: none"> • CT en MRI tonen variabele cerebrale en/of cerebellaire atrofie
EEG	<ul style="list-style-type: none"> • Vroegtijdig: diffuse of focale vertraging • Laattijdig: repetitieve bilaterale synchrone scherpe golven of trage piek- en golf-ontladingen • Finaal: synchrone trifasische piekgolfcomplexen (1-2/s) gesuperponeerd op progressieve suppressie van corticale achtergrondactiviteit
Hersenbiopsie	<ul style="list-style-type: none"> • Karakteristieke neuropathologische abnormaliteiten • Depositie van PrP detecteerbaar met immunohistochemie • Deze onderzoeken kunnen gesupplementeerd worden met PrP immunoblotting, en in sommige gevallen, met sequentie van het humaan PrP gen, PRNP.

3. Epidemiologie – demografie

In België bestaat sinds 1998 een netwerk voor de surveillance van de ziekte van Creutzfeldt-Jakob. De verschillende partners die deel uitmaken van dit netwerk (Figuur 1) zijn huisartsen, neurologen, 7 academische referentiecentra (Universitaire Antwerpen (UA), Université de Liège (ULg), Université Libre de Bruxelles (ULB), Universiteit Gent (UZG), Université Catholique de Louvain (UCL), Vrije Universiteit Brussel (VUB), Katholieke Universiteit Leuven (KUL)) en het Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid (WIV) (Quoilin, 2000; Quoilin, 2005; Quoilin 2006). Het is de verantwoordelijkheid van alle artsen, huisartsen en neurologen om alle verdachte CJD-gevallen systematisch te melden aan het surveillancenetwerk, zodat er een neuropathologische bevestiging van de diagnose kan plaatsvinden (Demotte). Alle zorgverstrekkers dienen daarenboven de volledige traceerbaarheid te waarborgen van alle toegediende producten van menselijke oorsprong. Door nauwgezet dossierbeheer, dient van alle verstrekte zorgen, behandelingen en verwickelingen een adequate documentatie en registratie verzekerd te worden (Demotte).

Figuur 1: Verschillende partners van het CJD surveillancenetwerk.



Tussen 1998 en 2006 werden er in totaal 140 gevallen met mogelijke of waarschijnlijke CJD geregistreerd in België. Over deze periode is het aantal vrij stabiel (Tabel 4). Dit geeft een incidentie van 1,54 per 10⁶ inwoners per jaar voor deze periode. In de jaren 2002-2004 is er een stijging in de Belgische incidentie ($\geq 1,8$ spCJD patiënten per 10⁶ inwoners per jaar) geweest die vooral uitgesproken is in de leeftijdsgroepen tussen 70 en 90 jaar oud. Ook in de meeste andere Europese landen is er een stijging in de incidentie van spCJD, vooral bij patiënten tussen 60 en 80 jaar (Van Everbroeck, 2005). Het Belgische incidentie cijfer tussen 1998 en 2006 (1,54 per 10⁶ inwoners per jaar) was vergelijkbaar met de incidentie in de meeste andere Europese landen in deze periode (Tabel 5). Alleen Frankrijk en Zwitserland hadden in deze periode een hogere incidentie (EUROCJD, 2001). Ook op wereldschaal worden soortgelijke incidenties weerhouden (Australië 1,28, Canada 0,98 en USA 1,00). Ook in de USA is de incidentie stabiel gebleven met 1 geval per 10⁶ inwoners tussen 1979 en 1995 (CDC, 1996).

Tabel 4: Aantal gevallen van de verschillende vormen van de ziekte van Creutzfeldt-Jakob in België tussen 1998 en 2006 (IPH/EPI rapport nr. 2007-018).

België	Sporadische CJD	Familiale CJD	Iatrogene CJD	Variante CJD	Totaal
1998	14	1	0	0	15
1999	13	0	0	0	13
2000	9	0	0	0	9
2001	15	1	0	0	16
2002	21	1	0	0	22
2003	19	1	0	0	20
2004	20	0	0	0	20
2005	12	0	0	0	12
2006	13	0	0	0	13
Totaal	136	4	0	0	140

Tabel 5: Incidentie per land (in afnemende volgorde) van 1998 tot 2003 van sporadische, familiale en iatrogene CJD (EUROCJD, 2001).

Frankrijk	2,01	Finland	1,28
Zwitserland	1,95	VK	1,21
België	1,54	Ierland	1,14
Italië	1,49	Nederland	1,01
Duitsland	1,43	Denemarken	1,00
Spanje	1,42	Portugal	0,83
Zweden	1,31	Noorwegen	0,81
Oostenrijk	1,31		

Uit tabel 4 blijkt tevens dat quasi alle gevallen in België van het sporadische type zijn. De iatrogene vorm van CJD werd, in tegenstelling tot in België (1998-2006: n = 0), wel in andere Europese landen geïdentificeerd. In Tabel 6 vindt men de allogreffes/hormonen die verantwoordelijk waren voor CJD transmissie in verscheidene landen van Europa tussen 1993 en 2005.

Tabel 6: Iatrogene CJD gevallen in Europa tussen 1993 en 2005.

1993-2005	Humaan groeihormoon (hGH)	Dura Mater (DM)	Cornea	Totaal
Frankrijk (EUROCJD, 2001)	93	11	0	104
Duitsland (EUROCJD, 2001)	0	8	2	10
Verenigd Koninkrijk (EUROCJD, 2001)	40	3	0	43
USA (FDA, 2002)	?	2	0	≥ 2

Volgens het IPH/EPI rapport nr. 2007-018 werden tussen 1995 en 2006 wereldwijd, in totaal 195 gevallen met de variante vorm (vCJD) gediagnosticeerd. Het Verenigd Koninkrijk (VK) is met 158 gevallen, het land met het grootste aantal, gevolgd door Frankrijk: 21; Republiek Ierland: 4; USA: 3; Saoedi Arabië en Nederland elk 2 en Italië, Canada, Japan, Portugal en Spanje elk 1. Volgens UK CJD (update 02-06-2008) zijn in het VK volgende aantallen geregistreerd: 115 overlijdens met bevestigd vCJD, 48 overlijdens met waarschijnlijk vCJD en 3 patiënten met bevestigd/waarschijnlijk vCJD. Dit brengt het totaal voor het VK – volgens deze bron – op 166 gevallen van vCJD. Bovendien kunnen 6 gevallen van vCJD (Frankrijk, Republiek Ierland, USA en Canada) gerelateerd worden aan het VK.

Verder stelt het IPH/EPI rapport nr. 2007-018 dat:

- 1) er sinds 2005 meer gevallen van vCJD buiten VK gediagnosticeerd werden met een toename in Frankrijk (2005 en 2006) en
- 2) het opduiken van nieuwe gevallen, die geen betrekking hebben op een verblijf in VK, in nieuwe landen zoals Nederland (2005 en 2006).

Een aantal andere recente publicaties bevestigen in grote lijnen deze tendensen (de Pedro-Cuesta et al., 2006; Heinemann et al., 2007; Gelpi et al., 2008). Gedurende een periode van 12 jaar prospectieve surveillance (1993-2005) werden geen gevallen van vCJD gerapporteerd in Duitsland (Heinemann et al., 2007). Tussen 1996 en juni 2006 werden door een actieve surveillance 206 gevallen van TSE (transmissible spongiform encephalopathy; waarvan 85% sCJD) gediagnosticeerd in Oostenrijk (Gelpi et al., 2008).

In de periode 1998-2003, bedroeg de man-vrouw verhouding in België 1,16/1. Dus er is geen ongelijke verdeling tussen mannen en vrouwen.

De gemiddelde leeftijd van de 95 gevallen (1998-2003) is 64 jaar, met een range van 32 tot 83 jaar (Quoilin, 2005). Recent, werden evenwel 2 gevallen van sporadische CJD in adolescenten beschreven (overleden op 16 en 20 jaar) (Murray et al., 2008).

Risicofactoren

De studie van risicofactoren mbt CJD is niet eenvoudig (Tabel 7).

- 1) Er blijkt geen seizoensvariatie te zijn in het voorkomen van CJD (Weber & Rutala, 2002).
- 2) De incidentie blijkt niet te wijzigen met de tijd (Weber & Rutala, 2002).
- 3) Over de mogelijke geografische aggregatie van CJD gevallen werden meerdere studies gepubliceerd. Doch, omwille van contradictorische resultaten kan men geen uitspraak doen in de ene of andere richting.
 - o Een spatiotemporale kluster van 6 bevestigde gevallen van spCJD werd geregistreerd over een periode van 13 jaar in een Australisch stadje (alle gevallen leefden in een straal van 11 km). Er kon geen point-source outbreak bevestigd worden, d.i. een epidemische curve geclusterd rond een piek aantal gevallen geïnfecteerd op hetzelfde moment. Ook geval-tot-geval overdracht tussen patiënten werd niet aangetoond. Naargelang het type statistische analyse op deze 6 gevallen, werd al dan niet een significant hoger risico van CJD gevonden in die stad (Collins et al., 2002).
 - o In een *matched case-control* studie met 220 spCJD patiënten uit het VK (1990-1998) concludeerde men dat herhaalde point-source outbreaks meer waarschijnlijk waren dan directe geval-tot-geval transmissie (Linsell et al., 2004).
- 4) Het probleem bij *case-control* studies over Creutzfeldt-Jakob is dat men geen idee heeft naar welke risicofactoren men dient te zoeken. Dit reduceert de zinvolheid van zulke studies. Bovendien is de incubatieperiode zeer lang, en weet men niet naar welke blootstellingen men moet vragen (Giesecke, 2002).
- 5) Er is een nieuwe classificatie voor sporadische en iatrogene CJD gebaseerd op moleculaire typering. Sporadische en iatrogene CJD zijn geassocieerd met PrP^{Sc} type 1-3, en variante CJD is geassocieerd met PrP^{Sc} type 4. Deze types verschillen in grootte van het fragment en in glycovorm ratio. Deze subclassificatie van spCJD kan belangrijk zijn voor de herevaluatie van epidemiologische data: moleculaire subtypes kunnen eventueel risicofactoren aan het licht brengen die verborgen blijven bij de analyse van spCJD als één entiteit (Collinge, 2005).
- 6) Vele *case-control* studies naar mogelijke risicofactoren/bronnen werden uitgevoerd maar lijden vaak aan inadequate studie-designs en ongeschikte controlepopulaties. Beroepsexpositie (bv. gezondheidswerkers, dieren contact) en dieetfactoren, zoals het nuttigen van hersenen, werden frequent onderzocht als mogelijke risicofactor. Toch werd geen consensus bereikt over hun relatief risico.

Tabel 7: Associatie tussen verschillende chirurgische interventies/risicofactoren en spCJD in *case-control* studies.

	Odds Ratio (95% BI)			
	(Collins et al., 1999)	(Ward et al., 2002)	(Van Duijn et al., 1998)	(Wientjens et al., 1996)
Controle-populatie gehospitaliseerd of niet	Niet-gehospitaliseerd	Niet-gehospitaliseerd	Gehospitaliseerd	Wel en niet-gehospitaliseerd
Elke chirurgische ingreep	1,7 (1,2-2,5)	1,8 (1,2-2,6)		
Neurochirurgie		1,1 (0,2-5,3)	1,8 (0,7-4,6)	0,3 (0,1-1,2)
Oogheelkunde	6,1 (3,2-11,9)	0,8 (0,5-1,3)	1,0 (0,6-1,6)	0,5 (0,2-1,1)
Tonsillectomie	0,6 (0,3-1,3)	0,3 (0,2-0,5)		0,7 (0,4-1,4)
Appendectomie	1,3 (0,8-2,3)	0,6 (0,4-0,8)		
Bloedtransfusie	0,9 (0,6-1,4)	0,8 (0,5-1,4)	0,6 (0,4-1,0)	0,6 (0,4-1,2)
Arbeid met dierlijk contact	2,6 (1,8-3,7)		<1,4 (0,5-4,6)	<1,7 (0,9-3,1)
Gezondheidswerker			0,9 (0,7-1,3)	1,5 (0,5-4,1)
Dieet met hersenen			1,7 (1,2-2,4) ^a	0,6 (0,3-1,8)
Psychische ziekte		2,6 (1,5-4,3)	Geen hoger risico	9,9 (1,1-86,1)
Verwante met dementie	0,2 (0,1-0,4)		2,3 (1,3-3,9)	1,9 (0,7-1,1)

^a Het verhoogde spCJD risico gekoppeld aan eten van hersenweefsel was niet meer significant na conditionele regressie-analyse.

Tabel 7 geeft een overzicht van *Odds Ratio's* die verscheidene studies bekwamen wanneer de associatie van chirurgische interventie, bloedtransfusie, dierlijk contact, gezondheidswerker, dieet, psychische ziekte en verwanten met dementie vergeleken werd met het voorkomen van spCJD.

Deze *case-control* studies zijn gebaseerd op vragenlijsten die werden ingevuld door verwanten van de spCJD patiënt en door een controlegroep, die al dan niet bestaat uit gehospitaliseerde controles. De keuze voor een bepaalde vergelijkingsgroep beïnvloedt deze resultaten. Het gebruik van gehospitaliseerde patiënten als controles kan een verkeerd beeld geven, aangezien gehospitaliseerde patiënten vaak een hogere frequentie hebben van chirurgische interventies en bloedtransfusie in vergelijking met CJD patiënten. Dit verklaart bij voorbeeld dat er een lager risico is van spCJD bij bloedtransfusie. Anderzijds, zullen ondervraagde verwanten van spCJD patiënten, door de ernst van de ziekte, de neiging hebben om chirurgische interventies bij hun dierbare overledene te overschatten in vergelijking met ondervraagde controles.

De studie van Collins et al., 1999 is gebiased omdat er verschillende methodes gebruikt werden voor informatieverzameling over CJD-gevallen en controles.

Tonsillectomie en appendectomie werden ingesloten als risicofactoren, omdat lymforeticulair weefsel prionen bevat bij vCJD patiënten. Men zou dus kunnen veronderstellen dat dit type weefsel ook geassocieerd is met risico van sporadische CJD transmissie.

Het feit dat tonsillectomie en appendectomie eerder protectief is tegen sporadische CJD is vermoedelijk te wijten aan de vroege leeftijd waarop deze ingrepen plaats vinden. Tenslotte, ondervraagde verwanten van patiënten met sporadische CJD weten vaak niet of deze ingreep heeft plaatsgehad bij hun familielid (Collins et al., 1999).

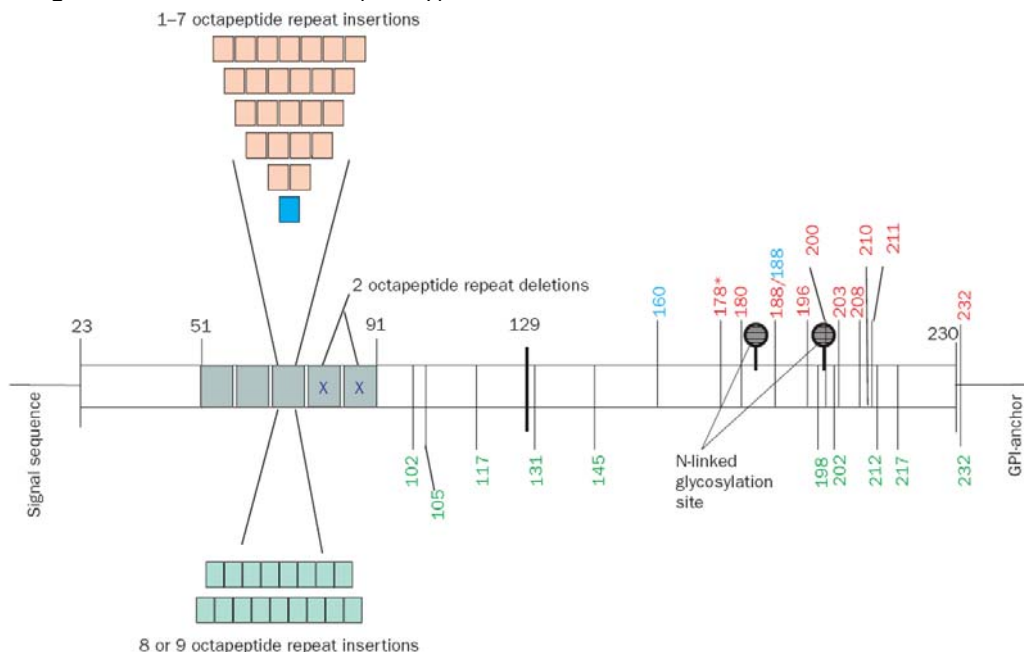
4. ETIOLOGIE – PATHOGENESE

4.1 PRIONPROTEÏNE STRUCTUUR – FUNCTIE – EIGENSCHAPPEN

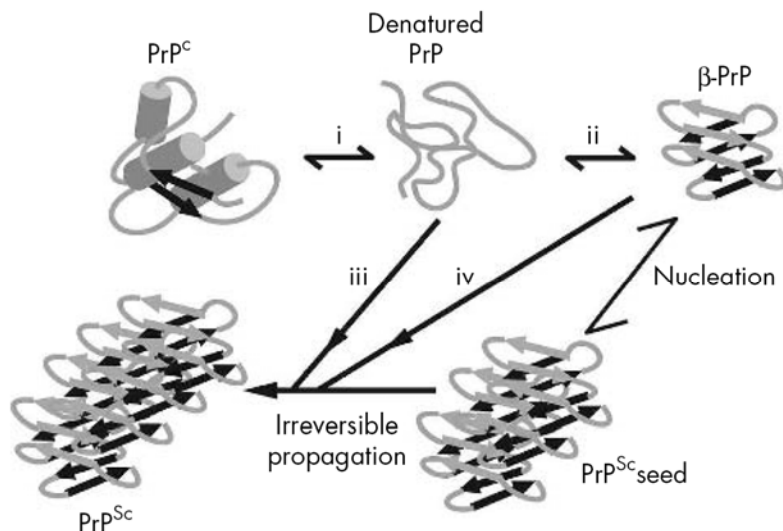
Het prionproteïne PrP^c (c = *cellular*) is een normaal gastheerproteïne bestaande uit 253 aminozuren, dat gecodeerd wordt door het PRNP gen en gelegen is op chromosoom 20. Er bestaat een normaal polymorfisme (valine of methionine) op residu 129 (Figuur 2). Het PrP^c is een glycoproteïne op de celmembraan van vooral neuronen, maar is ook te vinden in vele andere cellen van het lichaam: B- en T-lymfocyten, bloedplaatjes, gastro-intestinale epitheelcellen, keratinocyten (Ramasamy et al. 2002; Collins et al. 2004). De normale functie van dit proteïne is nog steeds niet goed gekend. Het proteïne heeft reeds functies toegeschreven gekregen in het kopermetabolisme en in synaptische transmissie.

De pathologische isovorm van het prion proteïne PrP^{Sc} (Sc = *scrapie associated*) heeft dezelfde primaire aminozuursequentie en dezelfde secundaire structuur als het normale prion proteïne PrP^c (Dormont, 1995). PrP^c is oplosbaar in milde detergenten, heeft een hoog (42%) percentage α -helices en slechts 3% β -sheets. PrP^{Sc} echter, is slecht oplosbaar in niet-ionische detergenten, heeft 30% α -helices en 43% β -sheets. PrP^{Sc} is ook verantwoordelijk voor amyloïdogeniciteit, aggregatie en fibrillenvorming (Figuur 3). Door het hoge gehalte β -sheets is deze PrP^{Sc} isovorm niet gevoelig aan proteinase K degradatie, in tegenstelling tot de PrP^c isovorm (Collinge, 2005).

Figuur 2: De aminozuursequentie van prionproteïne PrP met geassocieerde mutaties bij de familiale vormen (met de vriendelijke toestemming van Dr. Collins en Elsevier overgenomen uit The Lancet (2004)).



Figuur 3: Eigenschappen van PrP^c en PrP^{Sc} (Met de vriendelijke toestemming van Collinge J en de BMJ Publishing Group, (2005)).



4.2 CONVERSIEMECHANISME PRPC NAAR PRPSC

Het conversiemechanisme van PrP^c naar PrP^{Sc} is onvolledig opgehelderd. Naast een spontane stapsgewijze transformatie met verwerving van gewijzigde biofysische eigenschappen zijn er een aantal verklarende modellen zoals het *refolding* en het *seeding* model. Het 'refolding' model stelt dat conformatieverandering kinetisch gecontroleerd is. Een barrière van activatie-energie scheidt de twee toestanden PrP^c en PrP^{Sc}. PrP^{Sc} kan spontaan gevormd worden (sporadische en familiale CJD) of kan ontstaan door exogene introductie van PrP^{Sc}, wat verdere conversie van PrP^c induceert.

Het 'seeding' model stelt dat PrP^c en PrP^{Sc} in evenwicht zijn, met het evenwicht verschoven naar PrP^c. PrP^{Sc} heeft een aggregaat nodig voor haar stabiliteit. Eens zo een aggregaat gevormd is, kunnen PrP^{Sc} snel adhereren. Door fragmentatie van aggregaten vergroot het aantal beschikbare oppervlaktes voor accretie van nieuwe PrP^{Sc} (Weissman et al. 2002).

Wat het conversiemechanisme ook is, de accumulatie van PrP^{Sc} in neuronen leidt tot irreversiebele beschadiging van deze cellen. Mogelijks bindt PrP^{Sc} aan bcl-2, een proteïne dat apoptose normalerwijze inhibeert. Daardoor zou de protectieve functie van bcl-2 uitgeschakeld worden met als gevolg neuronale celdood (Sciot, 2004).

De migratie van prionen naar het centraal zenuwstelsel zou mogelijk zijn via orale weg. Na orale inname kan het prion gedetecteerd worden in de platen van Peyer en in het enterisch zenuwstelsel. Prionen kunnen repliceren en accumuleren in folliculaire dendritische cellen in milt en lymfeknopen. Prionen migreren vanuit het lymforeticulair systeem langs het perifeer zenuwstelsel naar de hersenen. Deze migratie kan gebeuren direct langsheen de N. vagus, ofwel langs het ruggemerg via de sympathicus (Weissman et al., 2002). Er werd een potentiële receptor van prionproteïnen in de brush border van de mucosa van de dunne darm gedetecteerd. PrP^c kon aangetoond worden in zenuwen en enterische gliacellen. Nauwe associatie tussen PrP^c positieve zenuwuiteinden en epitheelcellen toont aan dat er slechts een dunne epitheelbarrière is tussen opgenomen PrP^{Sc} en gastheer PrP^c in enterische zenuwcellen (Axon et al., 2001).

5. DIAGNOSE

5.1 WAARSCHIJNLIJKHEIDSNIVEAUS

Bij het stellen van de diagnose van ziekte van Creutzfeldt-Jakob maakt men onderscheid tussen drie waarschijnlijkheidsniveaus (HGR, 2006a).

Men spreekt van een **bevestigde** ziekte van Creutzfeldt-Jakob indien er een mogelijke of waarschijnlijke ziekte is gepaard gaande met een aantal karakteristieken bij post-mortem neuropathologisch onderzoek. Dit onderzoek toont:

- a) spongiforme degeneratie van de cerebrale en/of cerebellaire grijze stof en/of subcorticale grijze stof,
- b) astrogliose,
- c) neuronenvlies,
- d) amyloïde plaques (bij 10% van de sporadische vorm van CJD)
- e) en floriede plaques in 100% van de variante vorm van CJD,
- f) Afwezige inflammatoire respons.

Een **waarschijnlijke** ziekte van Creutzfeldt-Jakob vergt:

- a) snel progressieve dementie
en
- b) typische EEG veranderingen: trifasische ontladingen en vertraagde achtergrondactiviteit
en/of
- c) lumbaal vocht: verhoogd gehalte 14-3-3 proteïne
en
- d) 2 of meerdere van de volgende klinische tekens:
 - 1) visusstoornissen
 - 2) myoclonieën
 - 3) cerebellaire stoornissen (ataxie, dysdiadochokinese)
 - 4) pyramidale of extrapyramidale tekens
 - 5) akinetisch mutisme.

Een **mogelijke** ziekte van Creutzfeldt-Jakob omvat:

- a) Snel progressieve dementie (< 2 jaren)
en
- b) 2 of meerdere van de vorige klinische tekens.

Klinisch kan men een onderscheid maken tussen de **variante vorm van CJD** en de **sporadische vorm** van CJD (Tabel 8) (FDA, 2002; Knight & Will, 2004).

Tabel 8: De belangrijkste differentiële kenmerken van variante CJD en sporadische CJD (FDA, 2002).

Klinische presentatie	Variante CJD	Sporadische CJD
Mediane leeftijd bij overlijden (jaar)	28	68
Psycho-sensorische symptomen	Vroegtijdig	Later
EEG	Niet diagnostisch	Vaak diagnostische veranderingen
Mediane overleving (maanden)	13	4
Neuropathologie	Floriëde plaques, spongiose	Geen floriëde plaques
Immuunhistochemie	Abnormaal PrP ^{Sc} in lymfoïd weefsel	Geen abnormaal PrP ^{Sc} in lymfoïd weefsel

Belangrijke klinische kenmerken van de **iatrogene vorm** van CJD zijn (Tabel 9) (29-31):

- Cerebrale** inoculatie (dura mater, cornea?, neurochirurgie, stereotactisch EEG) CJD presenteert zich primair als een *dementieel* syndroom zoals de sporadische vorm van CJD. **Perifere** inoculatie (groeihormoon, cornea?) en cerebrale oppervlakte infecties (dura mater) presenteren zich echter met een *cerebellair* syndroom cfr. Kuru.
- De priontiter bepaalt de incubatieperiode
- De incubatieperiode hangt af van de besmettingswijze:
 - directe intracerebrale besmetting met PrP^{Sc}: incubatie van 16 tot 28 maanden;
 - dura materimplantaten: incubatie van 16 maanden tot 23 jaar;
 - perifere inoculatie: subcutane injecties met humane hypofysaire hormonen: incubatie van 4 tot 36 jaar.

Tabel 9: Samenvatting van de klinische kenmerken van de iatrogene vormen van CJD (Brown et al., 2000; Brown et al., 2006).

Oorsprong infectie	Neuro-invasie via	Mediane incubatieperiode (range)	Klinische tekens bij presentatie
Groeihormoon	Hematogeen	15 jaren (4 – 36 jaren)	<i>Cerebellair</i>
Gonadotrofines	Hematogeen	13 jaren (12 – 16 jaren)	<i>Cerebellair</i>
Dura mater	Cerebrale oppervlakte	11 jaren (16 maanden – 23 jaren)	<i>Cerebellair</i> (visueel/ dementie)
Cornea	N. opticus II	16, 18, 320 maanden	Dementie / <i>cerebellair</i>
Stereotactische EEG	Intracerebraal	16, 20 maanden	Dementie / <i>cerebellair</i>
Neurochirurgie	Intracerebraal	17 maanden (12 maanden – 28 maanden)	Visueel / dementie / <i>cerebellair</i>
Bloed transfusie	Hematogeen	6,5 jaren en 8 jaren	Psychiatrisch

5.2 DIAGNOSE BIJ LEVEN

De laatste jaren is er vooruitgang geboekt in de diagnostische technieken om een exacte diagnose van CJD te stellen bij leven van de patiënt. Diagnose op hersen- en lymfoïde weefsels zijn in deze context slechts beperkt bruikbaar.

Volgende punten beschrijven de technieken.

Tabel 10 geeft de sensitiviteit en specificiteit bekomen met deze technieken door verschillende auteurs.

Tabel 10: Vergelijking diagnostische waarde van diagnostische technieken gebruikt bij CJD.

	Conventionele T ₂ -MRI	EEG	14-3-3 proteïne in cerebrospinaal vocht (CSV)
	(Tschampa et al., 2005; Kübler et al., 2003)	(Tschampa et al., 2005; Zerr et al., 2000)	(Tschampa et al., 2005; Zerr et al., 2000)
Sensitiviteit (%)	63 / 63	32 / 66	91 / 94
Specificiteit (%)	88 / 92	94 / 74	44 / 84

5.2.1 COMPUTER TOMOGRAFIE (CT)

In de vroege stadia van de ziekte zijn de resultaten van cerebrale beeldvorming gewoonlijk normaal. Bij ziekteprogressie kan men op CT progressieve gegeneraliseerde atrofie zien (Johnson & Gibbs, 1998). Dit is echter een zeer aspecifieke bevinding.

CT wordt als screening instrument gebruikt om andere ziekten met gelijkaardige initiële presentatie uit te sluiten (Taber et al., 2002).

5.2.2 MAGNETISCHE RESONANTIE BEELDVORMING (MRI)

Met T2-gewogen MRI beelden ziet men in typische (60%) spCJD gevallen een intens signaal in het striatum (nucleus caudatus en putamen). Minder prominente hyperintense veranderingen komen voor in de thalamus en in de cerebrale cortex (Tschampa et al., 2005). In 75% vCJD gevallen vindt men een intens T2 signaal in de posterieure thalamus (het pulvinar teken) (Collins et al., 2004).

De laatste jaren zijn nieuwe MRI sequenties ontwikkeld. Zo is er een variatie van de T2-gewogen MRI waarbij de hoge signaalintensiteit van lumbaal vocht verwijderd wordt: vocht-geattenuëerde inversie recovery (FLAIR) beeldvorming (Taber et al., 2002). Diffusie gewogen (DW) MRI is een handige techniek om vroegtijdige veranderingen in de hersenen te zien (Taber et al., 2002). Verschillende studies tonen aan dat DW MRI en FLAIR beeldvorming te verkiezen zijn voor een sensitieve (91%) en specifieke (95%) diagnose van CJD (Young et al., 2002). FLAIR MRI toont beter corticale hyperintensiteiten aan dan conventionele MRI technieken (Vrancken et al., 2000). FLAIR MRI is meest sensitief in de latere stadia van de ziekte (Taber et al., 2002).

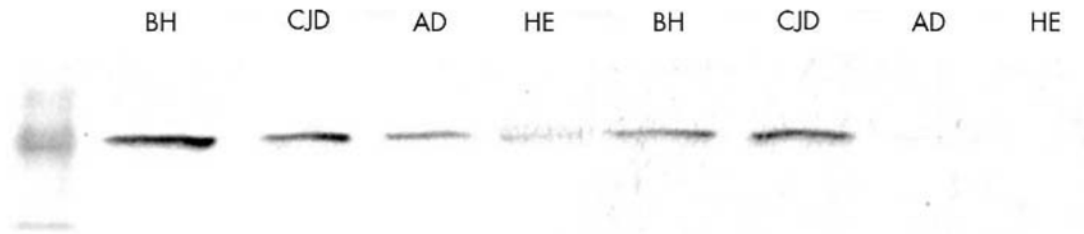
5.2.3 ELECTROENCEFALOGRAM (EEG)

In het begin van de ziekte kan het EEG normaal zijn of een niet-specifieke vertraging tonen. Later zullen periodische repetitieve di/trifasische synchrone scherpe ontladingen gesuperponeerd op het trage achtergrondritme verschijnen bij 86% van de spCJD patiënten (Johnson & Gibbs, 1998; Collins et al., 2004). Deze bevinding is vrij specifiek (86%), maar heeft een sensitiviteit van slechts 66-70% bij spCJD (Johnson & Gibbs, 1998). Wanneer men echter herhaalde registraties doet bij een patiënt, zullen deze periodische abnormaliteiten bij 90% van de patiënten gedetecteerd worden (Johnson & Gibbs, 1998). Let wel dat deze periodische golven niet pathognomonisch zijn, ze kunnen bij voorbeeld ook voorkomen bij de ziekte van Alzheimer (Taber et al., 2002).

5.2.4 PROTEÏNEN IN CEREBROSPINAAL VOCHT (CSV)

Het aantonen van verschillende proteïnen in het CSV kan helpen in de diagnose van CJD. Immunodetectie van het 14-3-3 en het tau proteïne zouden de meest sensitieve en specifieke merkers zijn in de klinische diagnose van CJD. Desondanks worden deze merkers ook teruggevonden in ander ziekten met overlappende symptomen (Van Everbroeck et al., 2003). Gereduceerde concentraties van het volledige lengte CSV β -amyloïd 1-42 ($A\beta_{1-42}$) worden eveneens regelmatig teruggevonden bij CJD patiënten (Van Everbroeck et al., 2003). De 14-3-3 proteïnes zijn een familie van intracytoplasmatische cel-signaal proteïnes die vele biochemische functies in het celmetabolisme toegeschreven gekregen hebben (Aksamit, 2003). Tau is een normaal axonaal proteïne, dat door de binding aan tubuline in microtubuli hun samenstelling en stabiliteit promoot (Sjogren et al., 2001). Zowel 14-3-3 als tau en $A\beta_{1-42}$ proteïnes kunnen gedetecteerd worden in CSV. In een prospectieve studie van Van Everbroeck et al. 2003 bleek de detectie van 14-3-3 proteïne in lumbaal vocht superieur aan EEG met een sensitiviteit van 96% en een specificiteit van 97%. In België wordt 14-3-3 proteïne enkel bepaald in het labo neurobiologie in de UA (Prof. Dr. P. Cras) met een immunoblot techniek (Collins et al., 2004; Van Everbroeck et al., 2003). Dit proteïne is verhoogd in 95% van de spCJD vormen maar bij slechts 50% van de vCJD gevallen. Vals positieven kunnen o.a. voorkomen bij virale encefalitis (vooral Herpes simplex virus), recente cerebrale infarcten, paraneoplastische neurologisch stoornissen, multiple sclerose, Lewy body dementie en vasculaire dementie (Van Everbroeck et al., 2003). Spijtig genoeg heeft 14-3-3 proteïne een lagere sensitiviteit (70%) wanneer de ziekte langer dan een jaar duurt (zowel in sporadische CJD als bij specifieke genetische en iatrogene vormen van CJD) (Van Everbroeck et al., 2003; Van Everbroeck et al., 2005). Vroeg en laat in het verloop van de ziekte zijn de levels 14-3-3 proteïne lager dan in de middenfase van de ziekte (Van Everbroeck et al., 2003). Daarom wordt aangeraden om, wanneer deze biomerker negatief is en het klinisch beeld na drie maanden suggestief blijft voor CJD, een herhaling van de biomerker analyse uit te voeren (Van Everbroeck et al., 2003). Het meest complexe probleem is de visuele afhankelijkheid van de Western Blot analyse om de aanwezigheid van 14-3-3 te evalueren (Figuur 4) (Van Everbroeck et al., 2005). Toch resulteerde visuele analyse van de 14-3-3 blot in steeds dezelfde evaluatie in een studie van Van Everbroeck et al onder 250 patiënten met mogelijke CJD (Van Everbroeck et al., 2003). Densitometrische analyse van de blots, gaf een variantie van 3% (Van Everbroeck et al., 2003). Tau proteïne (met een *cut-off* van 1.300 pg/ml) had in deze studie een lagere sensitiviteit van 87% maar een hogere specificiteit (98%) dan de 14-3-3 immunoblot (Van Everbroeck et al., 2003). Enkel in combinatie met 14-3-3 analyse kon $A\beta_{1-42}$ analyse (*cut-off* van 400 pg/ml) een hogere specificiteit geven aan de 14-3-3 bepaling (98% in vergelijking met 92% voor 14-3-3 proteïne alleen) (Van Everbroeck et al., 2003). Het bewaren van stalen in bevroren toestand of op kamertemperatuur bleek geen significante invloed te hebben op de resultaten voor al deze biomarkers (Van Everbroeck et al., 2003).

Figuur 4: Western blot detectie van het 14-3-3 proteïne met Sc-731 pAs (polyclonaal antiserum) (lijnen 1 - 4) en CG31 mAs (commercieel monoonaal antilichaam) (lijnen 5 - 8). De moleculaire merker is te zien aan de linkerzijde. De banden van de positieve controle (BH - hersenhomogenaat) en de CJD-patiënt (CJD) worden in beide gevallen als positief gescoord. Met de Sc-731 pAs is het staal van een Alzheimer patiënt (AD) positief en dat van een patiënt met Hashimoto encefalitis (HE), dat enkel in een zwakke band resulteerde, negatief. Met CG31 mAs zijn de AD en de HE stalen negatief (Van Everbroeck et al., 2005b).



5.2.5 (TOEKOMSTIGE?) BLOEDTESTEN

5.2.5.1 Protein Misfolding Cyclic Amplification

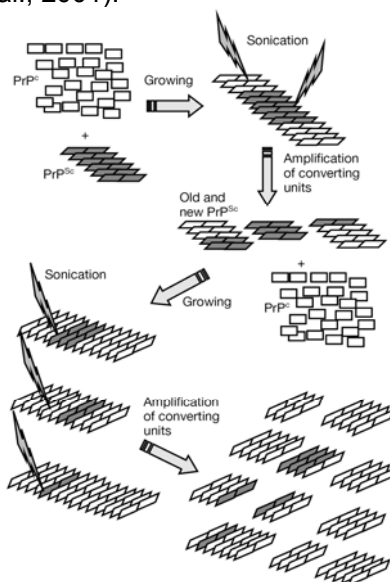
Een diagnostische test wordt beoordeeld op zijn mogelijkheid om positieve stalen als positief te identificeren (sensitiviteit) en om negatieve stalen als negatief te identificeren (specificiteit). Wat betreft de technische analyse is de analytische sensitiviteit, of mate waarin het antigen kan gedetecteerd worden door een specifieke test van belang.

PrP^{Sc} is het analyt voor de CJD diagnose. Omdat PrP^{Sc} exponentieel (en niet lineair) accumuleert in de hersenen tijdens de incubatiefase van de ziekte, correleert de analytische sensitiviteit niet met de diagnostische sensitiviteit. Daarom zullen kleine aanpassingen in analytische sensitiviteit niet resulteren in een hogere diagnostische sensitiviteit, want de tijd tussen “niet detecteerbaar” en “full level” PrP^{Sc} is relatief klein (Kubler et al., 2003). Omdat bovendien de hoeveelheid PrP^{Sc} buiten het centraal zenuwstelsel, zoals in circulerend bloed of urine, zeer klein is, is de sensitiviteit van diagnostische testen cruciaal (Kubler et al., 2003; WHO, 2003). Daarom werd de *Protein Misfolding Cyclic Amplification* (PMCA) techniek ontwikkeld (WHO, 2003).

Tot op heden is geen enkele techniek sensitief genoeg om PrP^{Sc} op te sporen in bloed. De meest belovende techniek is de PMCA techniek (Figuur 5). Deze techniek werd initieel ontwikkeld op hersenmateriaal en wordt nu aangepast voor toepassing op bloed. Met deze techniek kon men prionen detecteren in hersenhomogenaten van hamsters met scrapie. De techniek is gebaseerd op multiple cycli van PrP^{Sc} incubatie in aanwezigheid van een overmaat PrP^C, gevolgd door sonicatie. Tijdens de incubatie worden PrP^C geïncorporeerd in het groeiende aggregaat en neemt de lengte van de oligomere PrP^{Sc} toe. Door sonicatie fragmenteren de aggregaten wat meer van zulke converterende units beschikbaar maakt (Saborio et al., 2001).

Er zijn echter problemen met de toepassing van deze techniek bij de mens. Men weet niet wanneer prionen juist aanwezig zijn in humaan bloed, en of de aanwezigheid van prionen in bloed gelimiteerd is tot vCJD of niet (mogelijk ook bij bepaalde iatrogene vormen van CJD omv de perifere inoculatie van bv. groeihormoon). Bij de validatie van de techniek bleken er eveneens problemen te zijn (bv. juiste ratio amplificatie onzeker, invloed technische factoren, ...) (persoonlijke communicatie, B. Van Everbroeck, 6-9-2005).

Figuur 5: Schematische voorstelling PMCA techniek (met de vriendelijke toestemming van Dr. G. Saborio, and the Nature Publishing Group (Saborio et al., 2001).



5.2.5.2 Immunologische methodes

Verschillende ELISA (bv. Platelia test[®], BioRad; Enfer test[®], Enfer; Prionics-Check LIA[®], Prionics AG, (Bonetta, 2001)) en Western Blot (bv. Prionics-Check Western[®], Prionics AG) methodes zijn commercieel beschikbaar onder de vorm van klaar-voor-gebruik kits. Zij werden gevalideerd in door de Europese Commissie als screening testen voor BSE in geslacht vee ("sneltesten"). Geen enkele van deze immunologische methodes is echter voldoende sensitief gebleken om PrP^{Sc} te detecteren in bloed van geïnfecteerde mensen (WHO, 2003). Zodra gevalideerde assays beschikbaar zijn voor de screening van bloed, zullen ze op efficaciteit dienen beoordeeld te worden op kadaver stalen. Indien succesvol, kunnen ze dan gebruikt worden als onderdeel van een screeningsalgoritme (Warwick & Eglin, 2005).

5.3 DIAGNOSE BIJ DOOD

5.3.1 HERSENAUTOPSIE

5.3.1.1 Histopathologie

In het verleden werden prionziekten gediagnosticeerd door hun meest prominente kenmerken waaronder de histologische kenmerken van spongiforme veranderingen (95% bij spCJD, (Van Everbroeck et al., 2000)), astrocytaire gliose (93% bij spCJD, (Van Everbroeck et al., 2000)), en soms amyloïde plaques.

Postmortem neuropathologisch onderzoek van hersenweefsel is nog steeds het **gouden standaard**onderzoek voor de diagnose van CJD.

Deze analyse includeert de detectie van vacuoles binnen specifieke hersenregio's door middel van lichtmicroscopie en kan gebruikt worden voor de analyse van verschillende stammen prionen (Kubler et al., 2003).

Spongiose kan onderverdeeld worden in micro- en macrospongiose. Microspongiose zijn diffuse wijdverspreide kleine intraneuronale caviteiten die ontwikkelen tot lokale grote confluerende caviteiten (macrospongiose) (Van Everbroeck et al., 2000).

Spongiose en reactieve astroglie zijn meest uitgesproken in de occipitale cortex, neuronaal verlies is meest prominent in de frontale cortex. Het cerebellum is minst aangetast (Van Everbroeck et al., 2000)).

5.3.1.2 Immuunhistochemie

De uitgebreidheid van astrocytaire glie in hersenweefsel kan beoordeeld worden met immuunhistochemische kleuring die gebruik maakt van antistoffen tegen de astrocytaire merker gliaal fibrillair zuur proteïne (GFAP). PrP^{Sc} deposities zijn eveneens zichtbaar met immuunhistochemische technieken gebruik makend van anti-PrP antistoffen zoals monoclonaal antistof (Mab) 3F4 (Signet Laboratories, Senetekplc) of F89/160.1.5 (niet commercieel beschikbaar) (Van Everbroeck et al., 2000)). Epitopen op het PrP^{Sc} kunnen gedemaskerd worden door een voorbehandeling met een hitte, enzyme of zuur bv. autoclaveren in gedistilleerd water (O'Rourke et al., 1998). Niet alleen de aanwezigheid van PrP^{Sc}, maar ook de distributie ervan in hersenen en in lymfoïd weefsel kan als diagnostisch middel gebruikt worden (Kubler et al., 2003). Er zijn een aantal prion- aankleuringspatronen beschreven: perivacuolaire, Kuru plaques en synaptische kleuring zijn de voornaamste (Van Everbroeck et al., 2000).

PrP immunopositieve floride plaques omgeven door spongiforme vacuolen worden gezien bij vCJD maar niet bij andere humane prionziekten (Kubler et al., 2003).

PrP deposities worden meest gezien in het cerebellum en in de frontale cortex.

De voorkeur van sommige stammen prionen voor lymfocyten (bv. vCJD) maakt het ook mogelijk immuunhistochemie op lymfoïd weefsel (bv. amandelbiopt) te gebruiken in de preklinische diagnose van vCJD (Kubler et al., 2003).

Immuunhistochemisch onderzoek wordt uitgevoerd in 5 van de referentiecentra: UA, UCL, Ulg, KUL, VUB. Deze techniek is de meest kosteffectieve (persoonlijke communicatie B. Van Everbroeck, 6-9-2005).

5.3.2 BIO-ASSAY

De *bio-assay* blijft de meest sensitieve methode voor priondetectie binnen hetzelfde species. Transmissie barrières tussen species limiteren het gebruik van de *bio-assay*: voor de transmissie van klassieke CJD had men tot voor kort primaten nodig. Nu zijn er transgene muizen die humane PrP exprimeren en dus geen species barrière hebben tegen de transmissie van CJD. Zij zijn zeer gevoelig aan alle types van klassieke CJD. Nochtans worden vCJD prionen niet gemakkelijk overgedragen naar zulke transgene muizen (Wadsworth et al., 2001). Daarenboven zijn *bio-assays* langdurige testen (+/- 150 dgn, (Kubler et al., 2003)). Toch blijft dit de enige methode om infectiviteit rechtstreeks te testen (Kubler et al., 2003).

5.3.3 CONFORMATIEDEPENDENTE IMMUNO-ASSAY (CDI)

Dit is een nieuwere techniek met slechts beperkte experimentele evaluatie.

De CDI techniek is ontwikkeld om PrP^{Sc} te kwantificeren in weefselstalen van zoogdieren. Er zijn nog maar enkele studies gepubliceerd (door en/of in samenwerking met de firma Aventis Behring) die gebruik maken van deze techniek op humane stalen (Safar et al., 2005; Bellon et al., 2003). Deze techniek heeft een diagnostische sensitiviteit en specificiteit van 100% (Safar et al., 2005). Uit deze studie van Safar et al., 2004 met 28 CJD patiënten bleek de analytische sensitiviteit gelijkwaardig te zijn aan die van de *bio-assay* (studies naar infectiviteit gebruik makend van primaten, normale of transgene muizen) (Safar et al., 2005). Een vergelijking tussen CDI, histologie en immuunhistochemie op hersenbiopten van 10 CJD patiënten toonde een diagnostische sensitiviteit aan van respectievelijk 100%, 17% en 22% (Safar et al., 2005).

De CDI techniek maakt gebruik van de differentiële binding van antistoffen aan wel- of niet-gedenatureerd PrP^{Sc}. De detectie antistof herkent een conformatie-afhankelijke epitoom die altijd geëxposeerd is in de niet-infectieuze vorm van PrP^C maar enkel na denaturatie geëxposeerd is in de infectieuze vorm van PrP^{Sc}. Kwantificatie van de bindingsplaatsen leidt tot een verschil tussen de signalen van gedenatureerd PrP^{Sc} en ongedenatureerd PrP^C. Dit wordt gebruikt als diagnostisch criterium (Kubler et al., 2003).

5.3.4 WESTERN BLOT

Deze techniek wordt zowel toegepast bij de snelle screening van hersenweefsel van runderen (*rapid BSE test*), als bij de bevestiging van de diagnose (op autopsie materiaal) bij overleden patiënten.

De Western blot kan meer sensitief zijn dan de *bio-assay* (species barrière)(Wadsworth et al., 2001).

Stalen (bv. hersenen, oogweefsel, lymfocyten) worden gehomogeniseerd en gecentrifugeerd. Men kan een grotere PrP^{Sc} precipitatie bekomen mits een extra centrifugatiestap met 0,3% Natrium phosphotungstenuur. De pellets worden vervolgens gelyseerd met proteïnase K. Prionproteïnen worden volgens hun moleculegewicht electroforetisch gescheiden op polyacrylamidegels. Deze gels worden 'electroblotted' op een nitrocellulosemembraan, geïncubeerd met een monoclonaal antistof tegen PrP (3F4), gewassen, geïncubeerd met een tweede geiten-antistof tegen muis-IgG/IgM alkalische fosfatase conjugaat, ontwikkeld in chemiluminiscentie substraat en gevisualiseerd op een (bv. Biomax) film (Wadsworth et al., 2001). Met deze *high sensitivity enhanced chemiluminescence* methode kon men de PrP^{Sc} detectielimiet verbeteren (Wadsworth et al., 2001). Stalen worden positief beschouwd als proteïnase K resistente digeglycosileerde, monogeglycosileerde, en ongeglycosileerde banden, met electroforetische motiliteit indicatief voor PrP^{Sc}, geïdentificeerd kunnen worden (Glatzel et al., 2003).

Western Blot wordt in België uitgevoerd in de UA (Prof. Dr. Cras) omdat hiervoor vers of bevroren hersenweefsel noodzakelijk is en dus in een L2+ of L3 omgeving dient te worden gewerkt (persoonlijke communicatie B Van Everbroeck, 6-9-2005). L2+ en L3 ruimtes zijn ruimtes in een laboratorium waarin het risico beperkt wordt zowel van overdracht van menselijke pathogenen naar externe ruimtes als van besmetting van personen die hierin werken.

5.3.5 IMMUNOKWANTITATIEVE POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)

De immunokwantitatieve PCR procedure koppelt een antistof detectiestap, zoals in een ELISA, aan een nucleïnezuuramplificatie met een real-time PCR procedure. Gofflot et al., 2005. vergeleken deze techniek op humaan hersenweefsel met o.a. ELISA. De detectie treshhold van de immunokwantitatieve PCR was tien keer lager dan deze van de ELISA. De specificiteit was 100%. Deze methode zou dus de detectie kunnen bevorderen van minimale hoeveelheden PrP^{Sc} in weefsel en lichaamsvochten. Hersenbiopsies worden zelden uitgevoerd bij patiënten met een sterk vermoeden van CJD. Verfijningen aan de techniek zouden in de toekomst eventueel de PrP^{Sc} detectie in extraneuraal weefsel mogelijk maken (Gofflot et al., 2005).

6. IATROGENE CJD: OVERDRACHT DOOR BESMET WEEFSEL, HORMONEN OF INSTRUMENTEN

6.1 INLEIDING

Algemene transmissiewegen van CJD

- De ziekte van Creutzfeldt-Jakob is niet besmettelijk maar wel overdraagbaar.
- CJD kan niet overgedragen worden via rechtstreeks contact, droplets, of transplacentair.
- Het grootste risico van overdracht gebeurt via intracerebrale inoculatie (Weissman et al., 2002).
- Bij intraveneuse en subcutane inoculatie zijn de risico's minstens 25 keer minder groot dan bij intracerebrale routes (Dormont, 1995).
- Intra-oculaire, intraperitoneale, intraspinale, subcutane injecties, perifere inoculatie en orale transmissie vormen een minder groot risico en vereisen dus een hoger prion inoculum (Weissman et al., 2002).
- Drie omstandigheden waaronder CJD kan overgedragen worden zijn goed gekend:
 - transplantatie van centraal zenuwstelsel weefsel,
 - gebruik van gecontamineerde instrumenten tijdens invasieve neurologische en
 - neurochirurgische procedures en tenslotte perifere toediening van humane hypofysaire hormonen.

Sinds 2000 zijn er geen nieuwe transmissiewegen van CJD vastgesteld. Tabel 11 geeft een overzicht van alle gekende iatrogene gevallen van CJD (Health Canada, 2002).

Chronische subklinische infectie

De mogelijkheid op transmissie is afhankelijk van de ziekteprevalentie in de populatie. Naast symptomatische geïnfekteerde personen zijn ook asymptomatisch geïnfekteerden van belang voor het schatten van het risico van overdracht (Van Tienhoven & Wassenaar, 2002). De mogelijke chronisch asymptomatisch CJD-geïnfekteerde patiënten houden ook de mogelijkheid in van potentiële subklinische reservoirs. Hierdoor is secundaire transmissie in gezondheidsinstellingen niet ondenkbaar. Er is echter nog steeds geen betrouwbare, specifieke, minimaal invasieve merker voor de preklinische diagnose.

Tabel 11: Overzicht van alle internationaal gekende gevallen van iatrogene CJD van 1974 tot 07/2000 (Health Canada, 2002).

	Infectie-origine	Aantal patiënten	Voorbeelden
Weefseltransplantatie	Cornea	3	Geïnfekteerde donor cornea's
	Dura mater	114	Geïnfekteerde donor dura maters; embolisatieprocedures (n = 2)
Instrumenten	Neurochirurgie	5	Gecontamineerde diepte-electrodes/neurochirurgische instrumenten onvoldoende gewassen en gesteriliseerd
	Stereotactische EEG	2	
Weefselextracten	Groeihormoon	139	Perifere injecties humaan kadaver hormoon
	Gonadotrofines	4	

6.2 TRANSMISSIEWEGEN

6.2.1 INJECTIES MET HUMAAN GROEIHORMOON, GONADOTROFINES EN RUNDER RNA

Humaan groeihormoon (hGH) werd in de jaren 1960 tot 1980 gebruikt voor de behandeling van groeihormoondeficiëntie. Het risico van CJD overdracht via deze weg is gekend sinds het midden van de jaren 1980 (Alter, 2000). De meeste gevallen zijn gerapporteerd in Frankrijk met 74 (4,4%) gevallen op de 1.700 behandelde patiënten met hGH (Strandberg et al., 2002). In het VK (Jackson et al., 1985) zijn er 35/1.880 (1,9%) patiënten gekend en in de USA 23/8.000 (0,3%). Verschillende factoren kunnen het groter aantal gevallen van iatrogene CJD in Frankrijk verklaren. Er kan kruiscontaminatie opgetreden zijn tijdens processing van partijen hGH. Alternatief kunnen details van de chromatografische purificatie een belangrijke determinant in de contaminatie geweest zijn. De verschillende hypofysaire bronnen (landen, donoren) en de striktheid waarmee donors gescreend worden in de verschillende centra hebben vermoedelijk een bijkomende rol gespeeld in de veiligheid van hormoonextracten. Sinds 1985 is het humaan groeihormoon teruggetrokken en is men gestart met de productie van recombinant groeihormoon (Brown et al., 2000).

Gonadotrofine injecties hebben een 4-tal CJD-overdrachten veroorzaakt kort na de ontdekking van CJD overdracht via hGH in 1985 (Alter, 2000).

Regeneresen[®] is een product bestaande uit biologisch actieve ribonucleïne-zuren (RNA). Het product werd ontwikkeld door de Duitse Prof. Dr. H. Dyckerhoff. Hij extraheerde RNA uit verschillende runderklieren en -organen waaronder hersenen. Al deze extracten zouden de regeneratie van beschadigde cellen in het lichaam stimuleren. Het product werd aangewend in de behandeling van chronische en degeneratieve aandoeningen. Patiënten rapporteerden een hogere vitaliteit en kracht na een reeks injecties. Een patiënt heeft na 10 jaar behandeling met intramusculaire injecties van dit gezuiverd RNA CJD ontwikkeld (Hainfellner et al., 1996).

6.2.2 DURA MATER

Humane dura mater werd gebruikt in neurochirurgische ingrepen, orthopedische ligamentaire verstevigingen, vasculaire embolisatieprocedures, herniarafies, ureters...

Tussen 1979 en 1991 registreerde men in Japan een cumulatieve incidentie van iatrogene CJD van 0,025% (67/260.000) en in de USA een incidentie van 0,006% (3/52.000). De meerderheid van de gecontamineerde dura maters werden geproduceerd door een enkele firma (Lyodura[®]) voor het jaar 1987 (Brown et al., 2000; Alter, 2000; Strandberg et al., 2002; Hannah et al., 2001; Lang et al., 1998; CDC, 2003; 1993; Yamada et al., 1994). Deze firma poolde dura maters en hield geen dossiers bij van donoren, wat donortracing achteraf sterk bemoeilijkte (Belay, 1999). Inadequate donorscreening en inadequate inactivatie van dura maters kan het grote aantal CJD overdrachten met Lyodura[®] mogelijks mee verklaren (Eastlund & Strong, 2006). Pas sinds 1987 heeft de firma de processing van dura mater aangepast met een immersie in een 1M NaOH oplossing.

Zelfs met de meest strenge donorscreeningcriteria en dura mater processing is een volledige inactivatie van prionen niet 100% zeker. Daarom wordt chirurgen aangeraden gebruik te maken van alternatieven zoals autologe fascia lata, temporalis fascia of synthetische substituten (Belay, 1999; FDA 2003).

6.2.3 CORNEA

Cornea-greffes worden in de regel gebruikt voor de behandeling van keratitis, (traumatische) corneaperforaties, keratoconus, bulleuze keratopathie, ...

Het vCJD prion accumuleert in lymfoïd weefsel zoals milt en tonsillen. De cornea heeft ook 'lymfoïd' weefsel: corneale dendritische cellen die een belangrijke rol spelen in de regulatie van de immuunrespons in het voorste oogsegment. De aanwezigheid van deze cellen in de cornea wijst op de theoretische mogelijkheid van vCJD transmissie tussen patiënten (Armstrong, 1997).

Wereldwijd zijn er slechts 3 casussen beschreven die de ziekte van Creutzfeldt-Jakob via cornea overgedragen gekregen hebben: 1 geval uit Duitsland (320 maanden incubatie), 1 uit de USA (18 maanden incubatie) en 1 uit Japan (incubatietijd 16 maanden) (FDA, 2002; Alter, 2000; Strandberg et al., 2002; Lang et al., 1998; Allan & Tuft; 1997; Heckmann et al., 1997). De twee casussen met 16 en 18 maanden incubatietijd werden neuropathologisch bevestigd, in tegenstelling tot de derde casus (Heckmann et al., 1997). Dit maakt dat het risico van een CJD-overdracht maximaal 1 CJD geval is per enkele 10^6 donoren.

Alternatieve behandelingen voor cornea greffes zijn o.a. fotoretractieve keratectomie.

6.2.4 SCLERA

Scleraal weefsel wordt toegepast bij het behandelen van necrotiserende scleritis, ooglid reconstructie, trauma, glaucoom drainage buisjes, ...

Tot op heden is er geen overdracht van CJD gemeld via scleraal weefsel (Mehta & Franks, 2002).

Als alternatieven voor dit weefsel zijn er autogreffes, allogene fascia lata of synthetische materialen.

6.2.5 TYMPANO-OSSICULAIRE ALLOGREFFES

Toepassingen voor tympano-ossiculaire greffes zijn o.a. tympanoplastie, chronische otitis media en congenitale malformaties.

In de literatuur zijn er geen overdrachten van CJD gerapporteerd. Het risico wordt even groot geschat als voor cornea-enten (maximum 1 CJD overdracht per enkele 10^6 donoren).

Er zijn twee technieken om gehoorbeentjes vrij te prepareren: transmeetaal of transcraniaal. Het grootste potentieel risico bestaat bij de transcraniële (*bone plug*) techniek volgens Schuknecht, waarbij de dura mater geopend wordt (Schuknecht, 1993). Dit is de enige manier om een volledige keten van gehoorbeentjes te preleveren.

Als alternatief voor allogene trommelvlies gebruikt men autologe fascia en (keramische) biomaterialen.

6.2.6 MEDISCHE INSTRUMENTEN

In 1977 werd CJD gerapporteerd in 2 patiënten, 16 en 20 maanden na inplanting van stereotactische electro-encefalografische diepte-electrodes voor epilepsie. Deze electrodes waren voordien gebruikt voor stereotactische exploratie bij een CJD patiënt. De CJD-inadequate "sterilisatie" van deze electrodes gebeurde met benzeen, 70% alcohol en formaldehyde dampen. Een chimpansee, die de electrodes nadien ingeplant kreeg, ontwikkelde spongiforme encefalopathie (Brown et al., 1992; Rutala & Weber, 2001).

Literatuur vermeldt 5 gevallen van mogelijke iatrogene transmissie tgv neurochirurgische procedures (incubatie 12 – 28 maanden) (Brown et al., 2000; Strandberg et al., 2002). Men neemt aan dat de routine sterilisatie procedures onvoldoende waren om infectiviteit te elimineren. De kans op transmissie via een gecontamineerd neurochirurgisch instrument is, hoewel ongekend, zeker geen 100%, dit ondanks de directe applicatie op hersenweefsel (Health Canada, 2002).

Alle transmissies via medische instrumenten deden zich vóór 1980 voor. De zeldzame transmissie van CJD via gecontamineerde medische instrumenten reflecteert het beperkte risico van transmissie, behalve wanneer contact met neurologisch weefsel mogelijk is. De zeldzame transmissie reflecteert eveneens de effectiviteit van conventionele reiniging en van huidige desinfectie- en sterilisatieprocedures (Weber & Rutala, 2002).

6.2.7 BLOED (enkel overdracht van vCJD)

Er is enige evidentie voor het risico van overdracht van de variante vorm van CJD via bloed(bevattende) producten. De volgende argumenten kunnen hiervoor aangehaald worden:

Pro:

- 1) Het PrP^{Sc} prion is aanwezig in lymforeticulair weefsel van vCJD patiënten: tonsillen, lymfeknopen, appendix, milt (Llewelyn et al., 2004).
- 2) Case-reports: 17 bloeddonaoren die later vCJD ontwikkelden gaven bloed aan 50 traceerbare receptoren. Drie receptoren hebben op hun beurt vCJD ontwikkeld (Llewelyn et al., 2004; McClelland & Contreras, 2005; Peden et al., 2004; Health Protection agency, 2006). De vraag blijft open of de infectie overgedragen werd via bloedtransfusie of via het eten van met PrP^{Sc} gecontamineerd voedsel.

Contra:

- 1) BSE kan overgedragen worden dmv bloedtransfusie in knaagdieren, schapen en primaten. Er is echter geen diermodel dat humaan PrP^{Sc} kon overdragen via bloedtransfusie (Karger & Kretschmer, 2002). Bloed van spCJD patiënten dat intracerebraal geïnjecteerd werd bij knaagdieren kon de infectie wel overdragen (DNV, 2003).
- 2) Er zijn geen *case-control* studies om het risico van vCJD te bepalen na een bloedtransfusie (Wilson & Ricketts, 2004).

Er is geen evidentie te vinden voor het risico van overdracht van sporadische CJD.

- 1) Het PrP^{Sc} prion is niet teruggevonden in lymforeticulair weefsel van spCJD patiënten (Llewelyn et al., 2004).
- 2) spCJD wordt niet overgedragen van mens tot mens door de transfusie van humane bloedproducten (Weber & Rutala, 2002). Zo zijn er bij voorbeeld geen gekende spCJD transmissies bij
 - a) hemofilie patiënten, behandeld met stollingsfactoren gederiveerd uit plasma,
 - b) IV druggebruikers,
 - c) patiënten die bloed kregen van spCJD patiënten.
- 3) Transmissie van spCJD via besmet humaan bloed intracerebraal geïnoculeerd bij proefdieren is gerealiseerd. De transfusie van spCJD gecontamineerd humaan bloed/serum bij primaten heeft echter geen SpCJD overdracht veroorzaakt (Rutala & Weber, 2001).
- 4) *Case-control* studies tonen geen verhoogd risico aan van spCJD na een bloedtransfusie.

6.2.8 FETAL CALF SERUM

Fetal Calf Serum (FCS) wordt gebruikt als (kweek)medium van verschillende cellen/weefsels zoals cornea, chondrocyten en keratinocyten. Corneas kunnen volgens de warme bewaringsmethode bewaard worden in celkweekmedia die o.a. FCS bevatten.

Ook bij het kweken van chondrocyten maakt men gebruik van FCS (HGR, 2000a). Het gebruik van FCS brengt met zich mee dat er een risico is van transmissie van prionziekten. Daarom dient FCS vrij te zijn van BSE-prionen. In de toekomst zal ook gewerkt worden aan serumvrije media (HGR, 2000a). Gruber et al (1996) bekwamen voor chondrocyten goede resultaten met een alternatief kweekmedium voor FCS op basis van autoloog humaan serum (Gruber et al., 1996).

De serumvrije media voor keratinocyten die hypofyse-extracten, hypothalamische extracten of extracten van cerebrale weefsels bevatten, mogen momenteel niet gebruikt worden voor klinische applicaties om het risico van transmissie van prionen te vermijden (HGR, 2005c).

6.2.9 **BESLUIT**

Voor de te verwachten gevallen van iatrogene CJD in de toekomst kan men eerder optimistisch zijn om de volgende redenen (Brown et al., 2000):

- 1) Verhoogd bewustzijn van het gevaar in wetenschappelijke en medische verenigingen.
 - 2) Het hoog-risico weefsel voor potentiële CJD overdracht is gekend.
 - 3) Donorscreening- en selectiecriteria zijn geoptimaliseerd om potentiële CJD patiënten te excluseren.
 - 4) Desinfectiemethodes voor met prionen gecontamineerd materiaal zijn gedefinieerd.
 - 5) Alternatieven voor humaan weefsel werden ontwikkeld: bv. Recombinant groeihormoon.
- Er is weinig kans op nieuwe outbreaks van iatrogene CJD.

Toch zijn niet alle risico's geweken:

- 1) De mogelijkheid bestaat dat er chronisch asymptomatisch CJD-geïnfecteerde mensen zijn, die echter niet kunnen gedetecteerd worden met een preklinische diagnostische test (Collins et al., 2004).
 - 2) Er is een probleem voor chirurgisch materiaal dat niet bestand is tegen actieve chemicaliën of autoclaving (Brown et al., 2000).
 - 3) Omwille van de toegenomen beschikbaarheid van neurochirurgische ingrepen wordt ook het potentiële risico van CJD transmissie groter.
- Bezorgdheid voor transmissie blijft omwille van de gedocumenteerde gevallen en omdat er geen therapie is voor deze lethale ziekte.

6.3 **GASTHEER GEVOELIGHEID**

Het humane prionproteïne heeft een polymorfisme voor methionine of valine op codon 129. Dit polymorfisme kan een significante rol spelen in het bepalen van gastheer gevoeligheid en de fenotypische ziekte-expressie van o.a. iatrogene CJD.

In de normale blanke populatie is er homozygositeit van methionine en valine van 40% en 10% respectievelijk. Homozygoten zijn oververtegenwoordigd in de meeste types van CJD. Men veronderstelt dat de transitie van een normale naar een pathologische isovorm van het gecodeerd proteïne gemakkelijker is in moleculen met dezelfde aminozuursequentie, zodat codon 129 homozygositeit een voorbeschikkende factor kan zijn.

Zoals tabel 12 toont, is methionine homozygositeit het belangrijkste genotype in dura mater geassocieerde CJD, in sporadische CJD en in vCJD. Valine homozygositeit is in hogere frequentie aanwezig in groeihormoon gerelateerde CJD. Het is echter niet mogelijk om definitieve besluiten te trekken over het effect van genotype op incubatietijd van groeihormoon gerelateerde CJD. Men moet immers een bepaald punt tijdens de hGH behandeling kiezen als infectie-ogenblik (Brown et al., 2000).

Tabel 12: Verhoudingen van codon 129 genotypes in verschillende vormen CJD vergeleken met een normale populatie (Brown et al., 2000).

Patiënten categorie	Totaal aantal geteste patiënten	Codon 129 genotype			% homozygoten
		Met/Met (%)	Met/Val (%)	Val/Val (%)	
Normale blanke populatie	398	156 (39)	198 (50)	44 (11)	50
iatrogene CJD:	128	73 (57)	26 (20)	29 (23)	80
Dura mater	43	32 (74)	8 (19)	3 (7)	81
Groeihormoon	82	39 (47)	17 (21)	26 (32)	79
Sporadische CJD	832	587 (71)	112 (13)	133 (16)	87
Variant CJD	47	47 (100)	0 (0)	0 (0)	100

6.4 RISICOBEPALING

Voor infectiepreventie/controlen en om maatregelen tegen transmissie van CJD te nemen, is het van belang het CJD risico van donor en weefsel te beoordelen.

Drie factoren zijn daarbij van belang:

- a) het risico van de donor om CJD te hebben of te ontwikkelen;
- b) de graad van infectiviteit van het betreffende weefsel,
- c) aard van de ingreep waarvoor het weefsel gebruikt zal worden.

Bij de risico-analyse voor vCJD is het ook belangrijk om te weten wat de vCJD-prevalentie is in functie van de geografische herkomst van de donoren (HGR, 2005c).

6.4.1 RISICO DONOR

6.4.1.1 Screening

De belangrijkste preventieve maatregel is de **screening** van een potentiële weefseldonor. Op verschillende niveaus zijn er algemene richtlijnen voor screening van donoren:

- 1) Internationaal niveau: WHO, Raad van de Europese Unie, European Association of Tissue Banks (EATB), FDA - USA, Department of Health (DH) - VK.
- 2) Nationaal niveau: Hoge Gezondheidsraad (HGR) - België.

Er zijn ook weefsel-specifieke richtlijnen, o.a.:

- 1) HGR: specifieke richtlijnen per type weefsel.
- 2) European Eye Bank Association (EEBA): Minimal standards for cornea banking.
- 3) European Association of Musculoskeletal Tissue Banking (EAMST).

De meest frequent vermelde contra-indicaties voor weefseldonatie, specifiek voor de screening op mogelijke CJD bij de donor, staan vermeld in tabel 13.

Tabel 13: Contra-indicaties voor weefseldonatie met betrekking tot overdracht van CJD: richtlijnen van verschillende (inter)nationale organisaties.

	OMS (2003)	FDA (2002)	IAEA ^a (2002)	DH (2000)	EU (2006)	Loty (1996)	HGR 2005c; HGR 2006b; HGR 2005b
Bevestigde of waarschijnlijke overdraagbare spongiforme encefalopathie	-	X	X	X	X	X	X
Aanwezigheid of verdacht voor centraal neurologische degeneratieve aandoening van ongekende origine	-	X	X	X	X	X	X
Familiale geschiedenis van familiale CJD, Gerstmann-Scheinker disease, fatale familiale insomnia	X	X	X	X	X	X	X
Behandeling met humaan groeihormoon uit extracten van humane hypofyzen	X	X	X	X	X	X	X
Implantatie van een oculair weefseltransplant	-	-	-	X	X	-	X
Implantatie van een dura mater allogreffe	X	X	X	X	X	X	X
Voorgeschiedenis van intracraniële heelkunde	-	-	X	X	X	X	X
Receptor van een tympano-ossiculaire greffe	-	-	-	-	-	-	X
X: vermeld -: niet vermeld ^a : International Atomic Energy Agency							

Bijkomende exclusiecriteria, ontstaan door de associatie die gelegd werd tussen BSE, variante CJD en verblijf in VK:

- 1) De WHO (2003) vermeldt dat vele landen de toegelaten verblijfsduur van een potentiële donor in BSE landen aangepast hebben aan de waarschijnlijke intensiteit van blootstelling aan het BSE agens in vergelijking met deze in het VK.
- 2) Verschillende Europese landen opteerden ervoor om donoren te excluderen die een cumulatieve periode van minstens 1 jaar in het VK verbleven tussen 1980 en 1996 (AFSSAPS, 2003).
- 3) De USA (FDA guidelines, 2002) excludeert potentiële donoren op basis van:
 - a) verblijf in Europa voor minstens 5 jaren vanaf 1980 tot op heden;
 - b) verblijf in VK voor minstens 3 maanden van 1980 tot 1996;
 - c) USA militairen die minstens 6 maanden in Noord-Europa gewoond hebben van 1980 tot 1990, of minstens 6 maanden in Frankrijk van 1980 tot 1996;
 - d) personen die een bloedtransfusie gekregen hebben in het VK van 1980 tot op heden;
 - e) personen die runderinsuline geïnjecteerd hebben vanaf 1980 (tenzij er bewijs is dat dit niet afkomstig was van VK vee, geslacht na 1980).

De VK Blood and Tissue Services hebben deze bijkomende exclusiecriteria niet in acht genomen voor weefseldonoren, omdat deze maatregelen het donoraanbod te sterk zouden beperken (JPAC, 2004; SEAC, 2005).

De HGR oordeelde dat het niet aangewezen is bloed-, orgaan-, weefsel- en celdonoren uit te sluiten die plasmaderivaten/bloedbestanddelen toegediend kregen. Donoren die na 1980 een transfusie met bloedbestanddelen ondergaan hebben in het VK worden echter op permanente basis uitgesloten (HGR, 2005b). Bloeddonatie is tevens uitgesloten voor personen die gedurende zes maanden of langer tussen 1980 en 1996 (cumulatief) in het VK verbleven (HGR, 2005b).

6.4.1.2 Poolen

Om het risico van kruiscontaminatie te voorkomen is het van belang weefsel van verschillende donoren niet te poolen. Dit wordt expliciet verboden door de HGR (HGR, 2006b), Spongiform Encefalopathy Advisory Committee (SEAC, 2005; Loty, 1996; FDA2003).

6.4.1.3 Dura mater

Tot slot zijn er specifieke maatregelen vereist bij het preleveren van humane dura mater.

- In het VK, Canada, Frankrijk en Japan is het gebruik van dura mater expliciet verboden.
- De WHO heeft in 1997 aanbevolen geen dura mater meer te gebruiken, vooral in de neurochirurgie, tenzij er geen ander alternatief is (cfr. FDA aanbevelingen) (WHO, 1997).
- De FDA heeft bovendien een *Guidance for Industry* opgesteld (FDA, 2003). In de USA wordt er geen restrictie opgelegd aan de distributie van humane dura mater greffes.

Indien dura mater gepreleveerd en geprocessed wordt, dienen er wel extra veiligheidsmaatregelen genomen te worden. Dit betekent: goede donorscreening, neuropathologische screening, desinfectie van de dura mater met 1N NaOH, geen pooling en goed donor en receptor dossierbeheer.

6.4.2 RISICO WEEFSELS

De WHO heeft weefsels geklasseerd volgens hun graad van infectiviteit (Tabel 14). In deze tabel worden de weefsels/organen/cellen die gebruikt worden als allogreffen, in het vet weergegeven.

Tabel 14: Weefsels ingedeeld volgens categorie van infectiviteit (data gemodificeerd naar (WHO, 2003)).

	Weefsel, secreties risicovol voor sporadische CJD	Weefsel, secreties risicovol voor variant CJD
Hoog	Hersenen, ruggemerg, retina, N. opticus, hypofyse, spinale en trigeminale ganglia, dura mater	
Laag	Milt, lymfeknopen, placenta, long, lever, nier, cornea, bloedvaten , olfactore mucosa, cerebrospinaal vocht, perifere zenuwen, beenmerg?	Milt, lymfeknopen, tonsil, enterisch zenuwstelsel, bloedvaten , bijnieren, perifere zenuwen
Geen	Bloed? , skeletspier?, pericard, huid , lichaamsvochten	
Niet getest op PrP ^{Sc} aanwezigheid	Bot, pees	

In tabel 14 wordt een onderscheid gemaakt tussen hoog, laag en niet infectieus weefsel. Hoog infectieus weefsel is centraal zenuwstelsel (CZS) weefsel met een hoge titer van infectiviteit in de latere stadia van alle overdraagbare spongiforme encefalopathieën, en hoog infectieus zijn ook bepaalde weefsels die anatomisch geassocieerd zijn met het CZS.

Laag infectieus zijn perifere weefsels die positief getest werden voor infectiviteit met een *bio-assay* en/of PrP^{Sc} in ten minste een vorm van overdraagbare spongiforme encefalopathieën. Weefsels zonder detecteerbare infectiviteit zijn weefsels die negatief getest werden voor infectiviteit met *bio-assay* en/of PrP^{Sc}.

6.4.2.1 Bloed en bloedderivaten

Het risico van bloed en plasmaderivaten is nog steeds niet goed te definiëren. Er zijn tot op heden 3 receptoren van bloed (meer bepaald erythrocytenconcentraten (HGR, 2005b)) besmet met vCJD prionen die later zelf vCJD ontwikkeld hebben (Llewelyn et al., 2004; McClelland & Contreras, 2005; Peden et al., 2004; Health Protection agency, 2006). De infectiviteit in het bloed is echter nog niet aangetoond (McClelland & Contreras, 2005).

Det Norske Veritas (DNV) consulting heeft voor het DH (VK) een risicobeoordeling gemaakt van infectie met vCJD via bloed en bloedproducten (DNV, 2003).

De door hen uitgevoerde studie gaat ervan uit dat gecontamineerd bloed infectieus is.

Infectiviteit van bloed wordt geschat volgens drie stappen:

- 1) infectiviteit van bloed van een persoon geïnfecteerd met vCJD door in te schatten hoe bloed verzameld, verwerkt en gebruikt wordt,
- 2) de effecten van bloedproduct processing (ultrafiltratie, chromatografie) op infectiviteit,
- 3) blootstellingsrisico van patiënten die gecontamineerd bloed kregen; dit hangt af van de infectiviteit van het bloed(product), de grootte van de dosis, het aantal doses en de grootte van de pool bloedproducten.

Verschillende dierenexperimenten hebben aangetoond dat humaan bloed van patiënten met sporadische of iatrogene CJD mogelijks infectieus is. Er waren experimenten waarbij overdracht mogelijk was, andere niet (DNV, 2003). Men weet niet goed of infectiviteit van bloed tijdens de incubatieperiode toeneemt, afneemt of constant blijft (DNV, 2003).

Er zijn verschillen in de infectiviteitsgraad van de verschillende bloedcomponenten.

Volgens Brown et al zou de hoogste infectiviteitsconcentratie in de *buffy coat* (witte bloedcellen en bloedplaatjes) zitten, maar veel van de totale infectiviteit blijft achter in rode bloedcel- en plasma-componenten (Tabel 15, DNV, 2003). De helft van de infectiviteit zou in plasma zitten en de andere helft zou verdeeld zijn over de rode bloedcellen en de *buffy coat* (DNV, 2003). Een alternatieve aanpak, gebaseerd op de betrokkenheid van het lymforeticulair systeem in de infectiviteit van vCJD (Bruce et al., 2001) stelt dat de graad van infectiviteit in proportie is met het aantal aanwezige witte bloedcellen (DNV, 2003). Dit is echter niet in overeenstemming met de experimenten van Brown et al (DNV, 2003).

De infectiviteit van bloed van vCJD patiënten wordt verondersteld 2 (0,2 – 60) humane intraveneuze (iv) ID₅₀/ml humaan bloed te zijn (1 ID₅₀ heeft de probabilliteit om in 50% van de gevallen infectie te veroorzaken, 2 ID₅₀ of meer wordt verondersteld zeker infectie te veroorzaken) (DNV, (DNV, 2003)). Dit betekent dat een volledige eenheid rode bloedcellen, plaatjes of plasma (ook gedeleucocyteerd bloed) volstaan om infectie over te dragen indien deze eenheden bloed van een geïnfecteerde vCJD-patiënt zouden bevatten.

Plasma vertoont een infectiositeit vergelijkbaar met die van cellulaire producten, dewelke leucocyten bevatten, maar tijdens de fractionering komen daar verschillende zuiveringsstappen bij die de infectiositeit van de resulterende plasmaderivaten beperken (HGR, 2000c; HGR, 2005b). Daarom worden de plasmaderivaten onder de bloedproducten beschouwd als de producten met het kleinste risico van overdracht van het vCJD-agens.

De infectiviteit van plasmaderivaten hangt af van de volgende factoren:

Grootte van de donorpool

Omdat plasma normaal bestaat uit een pool van zowat 20.000 donaties, zal de infectiviteit gereduceerd worden tot maximaal 1×10^{-4} iv ID₅₀/ml. Dit is niet het geval voor immunoglobulines en anti-trombine, waar kleinere donorpools gebruikt worden (350-3.500 donaties).

Grootte van de dosis

Deze is variabel, en dient per bloedproduct bekeken te worden.

Aantal doses per jaar

De DNV neemt aan dat de infectiviteit van elke individuele dosis een lineaire dosis-respons relatie volgt zonder treshhold dosis. Het cumulatief effect van verschillende doses over een jaar verspreid zou additief zijn. Kleine doses hebben kleine probabilliteiten van infectie. Het cumulatief effect van een regelmatige dosis is minder dan van een eenmalige toediening van de cumulatieve dosis.

Tabel 15: Infectiviteit van bloedcomponenten gebaseerd op Brown et al (1998) (naar (DNV, 2003).

Bloedproduct	Volume (ml/unit)	Infectiviteit (ID ₅₀ /unit)	Infectiviteitsconcentratie (ID ₅₀ /ml)
Vol bloed	450	900	2,0
Plasma	225	480	2,1
Rode bloedcellen	212	219	1,0
<i>Buffy coat</i>	14	201	14,9
Plasma (gefilterd)	225	480	2,1
Rode bloedcellen (na leucodepletie)	212	2	0,01
Bloedplaatjes (ongefilterd)	3	20	7
Bloedplaatjes (gefilterd)	3	2	0,7

6.4.2.2 Spierweefsel

Spierweefsel wordt verondersteld geen infectiviteit te hebben (WHO). Glatzel et al (2003) hebben echter met een meer sensitieve Western blot (met Na fosfotungstenuur) kunnen aantonen dat in 8/32 skeletspierfragmenten van patiënten met spCJD PrP^{Sc} aanwezig was in een concentratie 10⁴ van deze in het CZS van patiënten met spCJD. Deze vaststelling doet de vraag rijzen naar de mogelijkheid van iatrogene transmissie van sporadische CJD via o.a. naaldelectrodes (electromyografie) (Glatzel et al., 2003).

6.4.2.3 Huid

In normale huid is er een zekere expressie van PrP^C. Schapen met ernstige jeuk gerelateerd aan scrapie, schuren zich aan objecten. Dit zou kunnen overgedragen worden op andere schapen die zich vervolgens aan die objecten schuren. Op dezelfde wijze zouden huidallogreffes een mogelijke inoculatieweg kunnen betekenen van prionen (Pammer et al., 1998). Nochtans heeft men geen PrP^{Sc} kunnen aantonen in huid (tabel 8).

6.4.2.4 Oculaire weefsels

Wadsworth et al., 2001 analyseerden oculaire weefsels van spCJD en vCJD patiënten met Western Blotting (high sensitivity enhanced chemiluminiscence). Hij kwam tot de conclusie (Tabel 16) dat enkel retinaal weefsel en N. opticus van vCJD patiënten een detecteerbare hoeveelheid PrP^{Sc} bevatten. In deze tabel 16 staat de detecteerbare concentratie PrP^{Sc} als een percentage van PrP^{Sc} aanwezig in 10% hersenhomogenaat van dezelfde patiënt.

Tabel 16: PrP^{Sc} concentraties in verschillende oculaire weefsels van spCJD en vCJD patiënten.

Western blot	PrP ^{Sc} concentratie tov hersenweefsel	
	spCJD	vCJD
Oculaire component		
Cornea	ND	ND
Iris	ND	ND
Kamervocht	ND	ND
Lens	ND	ND
Sclera	ND	ND
Retina	ND	2,5%
N. opticus	ND	25%
ND: niet gedetecteerd		

6.4.3 RISICO INGREEP

De aard van de ingreep waarbij de greffe zal geapliceerd worden dient eveneens beschouwd te worden. Alle procedures met **direct contact** met de hersenen, het zenuwstelsel, de ogen of de dura mater (bv. lumbaalpunctie, spinale chirurgie, NKO ingrepen, sommige maxillofaciale ingrepen) zijn **hoog risico** handelingen. Alle andere invasieve ingrepen zijn mogelijk risico handelingen en niet-invasieve handelingen/klinische contacten zijn risicoloze handelingen.

De **perifere route is minder effectief**. Dierexperimentele studies hebben aangetoond dat de intraveneuze of subcutane weg 25 keer minder effectief is dan de intracerebrale weg (Dormont, 1995). Brown et al hebben aangetoond dat vijf (*buffy coat*) tot zeven (plasma) maal meer infectieus materiaal nodig is om de ziekte over te dragen via de intraveneuze weg dan via de intracerebrale weg (Brown et al., 1999). Een primatenstudie waarbij geadapteerd BSE hersenhomogenaat oraal of intraveneus gegeven werd, toonde een duidelijk verschil aan in de incubatietijd tot fulminante ziekte tekens en in de vereiste hoeveelheid hersenhomogenaat. Makaken die 5 g homogenaat oraal kregen toegediend, stierven pas na 49 maanden, terwijl de aap die 4 mg homogenaat intraveneus kreeg, na 38 maanden stierf (1.000 maal hogere dosis en 10 maanden langere incubatietijd oraal dan intraveneus) (Herzog et al., 2004).

De *case-control* studie "Surgery and risk of Creutzfeldt-Jakob disease", gesteund door de EU (EUROSURGYCJD Research Group), heeft het vermoedelijke extra risico van spCJD bij chirurgie gekwantificeerd (Rabano et al., 2005). De studiepopulatie waren inwoners van Denemarken, Zweden en Finland. Men **categoriseerde** chirurgische ingrepen op basis van hun potentieel risico van overdracht van CJD.

Ze baseerden zich op de volgende veronderstellingen:

- ii) een weefsel kan als ingangspoort fungeren als het in normale omstandigheden PrP^c exprimeert,
- iii) de mate van PrP^{Sc} expressie van een geïnfecteerd weefsel correleert positief met het risico van priontransmissie door dat weefsel,
- iv) elk weefsel betrokken in de propagatie van infectie vanuit perifere weefsels naar het CZS kan als ingangspoort fungeren voor priontransmissie (Rabano et al., 2005).

Op deze manier bekwamen zij een tabel gebaseerd op deze van de WHO (WHO, 2003), met enkel de weefsels met bevestigde infectiviteit/aanwezigheid van PrP^{Sc} voor spCJD en familiale CJD, mits enkele kleine toevoegingen (tonsil en thymus). Verschillende mogelijke ingangspoorten, gebaseerd op klinische en experimentele evidentie (bv. voorste oogweefsels, skeletspier, peritoneum, subcutane weefsels rijk aan sensibele zenuwen) werden ook toegevoegd (Rabano et al., 2005). Deze benadering liet niet toe om praktische aanbevelingen betreffende chirurgie te geven, noch om preventieve maatregelen te suggereren (Rabano et al., 2005).

7. PREVENTIE VAN CJD-OVERDRACHT

De HGR heeft praktische aanbevelingen geformuleerd om de overdracht van spongiforme encefalopathieën te voorkomen (HGR, 2006a). Verantwoordelijken van verzorgings- en bloedtransfusie-instellingen worden aangeraden hun personeel te informeren over de vermelde risico's en de nodige voorzorgsmaatregelen in de praktijk te brengen (Demotte). Het is ook essentieel de ziekenhuizen en bloedtransfusie-instellingen op de hoogte te brengen van het bestaan van een CJD netwerk. Bloedtransfusiecentra zouden moeten doorgeven aan het CJD-netwerk welke CJD patiënten bloedproducten gegeven of gekregen hebben (HGR, 2005b). Het reële CJD-overdrachtsrisico is waarschijnlijk zeer laag, maar het kan niet uitgesloten worden en het kan onmogelijk gekwantificeerd worden (HGR, 2005c). De HGR beveelt daarom aan dat volledige traceerbaarheid van de donor naar de receptor toe en omgekeerd en traceerbaarheid van de receptor naar het toegediende product verplicht wordt gemaakt voor alle plasmaderivaten, uitgezonderd degene die als excipiëntia worden gebruikt (HGR, 2005c). Tot slot beveelt de HGR aan om uitsluitend bloedbestanddelen die afkomstig zijn van Belgische donoren te leveren aan ziekenhuizen (zelfvoorziening) (HGR, 2005b).

8. DECONTAMINATIE ALLOGREFFES

8.1 ALGEMENE PRINCIPES INACTIVATIE PRIONEN

Prionen hebben een ongewone resistentie tegen fysische en chemische decontaminatieprocedures die bij voorbeeld wel conventionele virussen inactiveren. Prionen worden vermoedelijk beschermd door het weefsel. Hersenhomogenaten geven thermische stabiliteit aan kleine subpopulaties van het scrapie agens. Deze subpopulaties kunnen het gevolg zijn van het protectief effect van aggregatie of van populatie heterogeniteit (Young et al., 2005). Het zijn waarschijnlijk kleine subpopulaties die resistent zijn aan vele inactiverende middelen. Snelle fixatie van prionen op oppervlaktes door fixatie in alcoholen of aldehyden (glutaraldehyde) of door snelle verhitting, kan de thermostabiliteit van prionen substantieel verhogen (Taylor, 2000). Prionen worden dan ook moeilijker inactiveerbaar door daarop volgende methodes.

Vele chemische inactivatiestudies zijn inconsistent en gebruiken geen standaard methodologie. Variabelen wisselen in de verschillende studies, zoals de gebruikte prionstam, prionconcentratie, testweefsel, testdier, duur van de *follow-up*, methode van berekening van log-reductie van het prion en expositie condities (Weber & Rutala, 2002).

Naast de WHO, hebben Rutala en Weber een lijst opgesteld van de actieve en inactieve decontaminatieprocedures voor prionen (Tabel 17).

Bij de thermische inactivatie procedures kan men gebruik maken van twee soorten autoclaven: de poreuze lading/prevacuüm autoclaaf of de *gravity displacement* autoclaaf.

Een poreuze lading/prevacuüm autoclaaf wordt luchtledig gemaakt en de ruimte wordt snel opgevuld met stoom. Deze autoclaven zijn geschikt voor de sterilisatie van gereinigde instrumenten, handschoenen, lakens, handdoeken, en andere droge materialen voor chirurgie. Ze zijn niet geschikt voor sterilisatie van vloeistoffen.

In een *gravity displacement* autoclaaf wordt lucht verplaatst door stoom via een deur op de bodem van de kamer. Deze autoclaaf is bedoeld voor algemene decontaminatie en sterilisatie van vloeistoffen en instrumenten.

Het is belangrijk te noteren dat geen enkele methode 100% effectief is tegen prionen en dat de meest voorzichtige werkwijze voor decontaminatie van weefselallogreffes en medische instrumenten de combinatie van verschillende methodes is (Axon et al., 2001).

Tabel 17: Effectieve prion desinfectiemethodes.

Chemische desinfectantia ($\geq 3 \log_{10}$ reductie in 1 u)	Weber & Rutala, 2002	WHO, 1999	Praktische (altijd verse) bereiding van de oplossing
Chloride > 1.000 ppm	X	0	
NaOH $\geq 1N$	X	-	40g NaOH in 1 L gedistilleerd water
NaOH 2N onderdompeling 1 u op 20°C	X	X	8% NaOH (80g NaOH in 1 L gedistilleerd water)
Guanidine thiocynaat 4M	X	0	472,64g Guanidine thiocynaat in 1 L gedistilleerd water
NaClO 20.000 ppm (2%) onderdompeling 1 u op 20°C	-	X	50% NaClO van 10-12° (520 mL oplossing + 480mL water)
Fenol > 0,9%	X	0	

Thermische inactivatie ($\geq 3 \log_{10}$ reductie in 1 u)	Weber & Rutala, 2002	WHO, 1999
Autoclaveren op 134°C ged. 18 min of 6 X 3 min opeenvolgend (poreuze lading)	X	X
Autoclaveren op 121-132°C ged 1u (<i>gravity displacement</i>)	X	-
0,09N of 0,9N NaOH ged 2u + 121°C ged 1u (<i>gravity displacement</i>)	X	X
X: effectief 0: ineffectief of partieel effect -: niet vermeld		

8.2 DECONTAMINATIE WEEFSELS

8.2.1 DURA MATER

Kearny et al., 1991 onderzochten het morfologische effect op dura mater van een 18 uren durende behandeling met 0,1 M en 1M NaOH op 4°C. Men stelde vast dat er een sterke gevoeligheid ontstond aan collagenase digestie: na 24 u was de dura mater behandeld met 0,1M NaOH ultradun geworden en vertoonde vele gaten. Deze behandeld met 1M NaOH was volledig opgelost. Bovendien was er een maximale extractie van proteïnen (55,6 µg proteïne/mg drooggewicht) uit de dura mater behandeld met 1,0 M NaOH. De auteur stelt dat geïmplanteerde humane dura mater snel zou kunnen desintegreren door hun gevoeligheid aan collagenase tgv de NaOH behandeling.

De TSEAC (Transmissible Spongiform Encefalopathy Advisory Committee, USA) (1997) bevoel toch aan om dura mater te behandelen met 1,0 M NaOH (Hannah et al., 2001; FDA, 2003). Men verwijst hiervoor naar een dierenstudie in dewelke 1,0 M NaOH behandeling de CJD-infectiviteit sterk reduceerde. Een van de 40 hamsters uit deze studie die intracerebraal geïnjecteerd werden met NaOH behandelde scrapie gecontamineerde dura ontwikkelde toch scrapie (Diringer & Braig, 1989).

De meeste centra hebben nu humane dura mater verlaten in ruil voor o.a. autologe/allogene fascia lata, autologe temporalis fascia of synthetische substituten zoals Gore Preclude[®] MVP (een fluoropolymeer).

8.2.2 CORNEA

Cornea valt niet te desinfecteren met NaOH omwille van toxiciteit van NaOH voor de cellulaire viabiliteit. NaOH is corrosief en kan desintegratie van corneaal epitheel, corneale opacificatie en ulceratie veroorzaken (Bates, 2006).

8.2.3 SCLERA

Mehta et al., 2002 suggereren de desinfectie van scleraal weefsel met 1,0 M NaOH (Mehta & Franks, 2002). De auteurs bespreken echter niet de potentiële corrosieve effecten op scleraal weefsel. Ischemische necrose van de sclera kan voorkomen na NaOH blootstelling (Bates, 2006).

8.2.4 TYMPANO-OSSICULAIRE GREFFES

Romualdez et al. vergeleken de klassieke Cialit[®]-formaldehyde inactivatieprocedure (5% pH 5.6 gebufferde formaldehyde oplossing op 4°C gedurende 1 week, gevolgd door een behandeling met een 1:5.000 verdunde oplossing Cialit[®]/gedistilleerd water op 4°C gedurende enkele weken) (28 patiënten) met een inactivatiemethode met 1,0 M NaOH (gedurende 1 uur) en autoclavage (op 134°C gedurende 8 minuten) (22 patiënten) van incus allogreffes (Romualdez et al., 2005). Beide procedures hadden dezelfde performantie: er was geen extrusie van homogreffes, geen homogrefte resorptie of ziekte-transmissie werd geobserveerd tijdens de *follow-up* periode. De NaOH-autoclaveringsmethode is een gevalideerde methode voor de inactivatie van prionen (Romualdez et al., 2005).

Ook het autoclavieren van losse ossiculaire homogreffes (incus, malleus en stapes) aan 134°C gedurende 20 minuten werd voorgesteld als mogelijke inactiverende behandeling voor prionen (Miman et al., 2002). Volgens Miman et al. zou autoclavieren de biofysische eigenschappen van de botmatrix niet aantasten, de lamellaire structuur en externe morfologie blijven goed bewaard (Miman et al., 2002). Muller-Hermann vond dat geautoclaveerde incus allogreffes rigider waren en een minimale fragiliteit vertoonden, wat echter geen mechanische problemen veroorzaakte na ossiculoplastie (Miman et al., 2002). Ferreira et al. rapporteerden dat autoclavieren de osteo-inductieve eigenschappen van botmatrix aantast (Miman et al., 2002). Structurele eigenschappen (stijfheid en kracht) van afzonderlijke geautoclaveerde (134°C gedurende 60 minuten) gehoorbeentjes, en in mindere mate ook van 1,0 M NaOH (60 minuten op kamertemperatuur) behandelde gehoorbeentjes gaan verloren volgens Hotz et al. (Hotz et al., 1999).

Geautoclaveerde gehoorbeentjes vertoonden eveneens verminderde elasticiteit en microfracturen die niet na een 1,0 M NaOH behandeling te zien waren (Hotz et al., 1999). Specifiek voor volledige gehoorbeentjes "ketens" is er geen evidentie in de literatuur dat andere inactivatieprocedures dan de klassieke Cialit[®]-formaldehyde inactivatieprocedure bruikbaar zijn.

8.2.5 MUSCULOSKELETALE ALLOGREFFES

Aangezien botten en pezen niet getest zijn op de aanwezigheid van PrP^{Sc}, is het ook niet duidelijk in hoeverre deze weefsels van CJD-donoren prionen kunnen bevatten. Via eventuele bloedresten achterblijvend in bot of pezen is de mogelijkheid op overdracht van vCJD niet uitgesloten. Daarom kan een weefselbank opteren voor een bijkomende inactivering en securisatie van musculoskeletaal weefsel. Hiervoor is bij deze search echter geen evidentie in de literatuur en bijkomende securisatie is dus optioneel.

De inactivatie kan gebeuren met NaOH 1,0 M gedurende minstens 60 min of autoclaveren op 134°C gedurende minstens 30 minuten (HGR, 2000c). De schadelijke effecten van NaOH op bot en pezen zijn niet bestudeerd. Er zijn nog vele vragen bij het gebruik van NaOH: penetreert NaOH in dens botweefsel? Wat zijn de nadelige effecten ervan op de osteo-inductieve en biomechanische eigenschappen van botweefsel? Welke restfractie NaOH persisteert in het bot/peesweefsel na de prioninactivatie (Eastlund & Strong, 2006)?

Een alternatieve techniek om de load aan prionen te reduceren is de voorbehandeling van botallogreffes die gelyofiliseerd zullen worden met NaClO 2% (20000 ppm) gedurende 60 minuten.

Gammastralen aan een dosis van 50 kGy inactiveren scrapie prionen met 1,5 log₁₀. Dit voldoet echter niet aan een vereiste 'sterility assurance level' van 6 log₁₀ reductie (Miekka et al., 2003). Bovendien veroorzaken gammastralen in vergelijking met diepvriezen twee maal meer peroxidatie van medullaire lipiden in botweefsel. Geperoxideerde lipiden kunnen de celdood van osteoblasten induceren op celculturen rond botschijfjes. Bijgevolg zou de botnieuwvorming verstoord kunnen worden. Alternatief dienen botbanken die gebruik maken van ionisatie sterilisatie de botten vooraf te ontvetten (Moreau et al., 2000).

8.2.6 BLOED EN BLOEDDERIVATEN

Door de ontdekking van een eerste waarschijnlijk geval van overdracht van vCJD door transfusie van niet-gedeleucocyteerd bloed in het VK in 2003, heeft de HGR (in navolging van het VK) de volledige deleucocytering van alle bloedbestanddelen aanbevolen (HGR, 2005a). Het Koninklijk Besluit van 1 februari 2005 verplicht de systematische deleucocytering van bloedbestanddelen (HGR, 2005b). Deleucocytering houdt in dat de hoeveelheid witte bloedcellen gereduceerd wordt tot minder dan 1X10⁶ witte bloedcellen" en referentie is per eenheid gedeleucocyteerd bloed/bloedplaatjes (KB, 2005; DNV, 2003). De rationale voor deleucocytering is de betrokkenheid van lymforeticulair weefsel in vCJD en de detectie van lage levels van infectiviteit in de *buffy coat* van knaagdieren (EMEA, 2004). Met deleucocytering van rode bloedcellen/bloedplaatjes zou men een infectiviteitsreductiefactor bekomen van 2 grootte-orde (DNV, 2003).

Het DNV stelt vragen bij de stelling dat infectiviteitsreductie in proportie zou zijn met het aantal witte bloedcellen (DNV, 2003). Het kan zijn dat filtratie vastgehecht prion vrijzet van het oppervlak van witte bloedcellen en ze zo in de gedeleucocyteerde fractie brengt. Hier is echter geen evidentie voor. Bovendien vonden Brown et al substantiële infectiviteit in plasma.

De meeste plasmaderivaten ondergaan tijdens de fractionering belangrijke stappen met betrekking tot beperking van de infectiositeit (Foster, 2004). In de productie van plasmaderivaten houden verscheidene stappen een fysische verwijdering van subfracties in. Het zijn deze stappen die verondersteld worden infectiviteit te reduceren (DNV, 2003). De studies op het gebied van de verwijdering van het CJD-agens zijn echter niet homogeen omdat ze verschillende vormen van het agens van de overdraagbare spongiforme encefalopathie (hersenhomogenaat, microsomen, PrP^{Sc}, ...) en verschillende opsporingstechnieken (Western Blot, *bioassay*, ...) gebruiken (HGR, 2005c). De bekomen reductie bij de experimentele fractionering van albumine was zeer hoog (4 log₁₀ reductie) (HGR, 2005c). Het reële overdrachtsrisico is waarschijnlijk zeer laag, maar het kan niet uitgesloten en onmogelijk gekwantificeerd worden (HGR, 2005c).

8.3 MEDISCHE INSTRUMENTEN, SPECIFIEK ENDOSCOPEN

8.3.1 ALGEMEEN

Men maakt een onderscheid tussen reiniging, ontsmetting en sterilisatie van endoscopen (HGR, 2006a; HGR, 1995):

- 1) Reiniging: zichtbaar vuil en daarin aanwezige micro-organismen/prionen verwijderen.
- 2) Ontsmetting:
 - i. *Low-level*: doden van vegetatieve bacteriën, gevoelige schimmels, gisten en virussen;
 - ii. *Intermediate-level*: cfr. Low-level ontsmetting inclusief mycobacteriën en de meeste virussen (ook HBV);
 - iii. *High-level*: cfr. sterilisatie indien beperkte hoeveelheid sporen.
- 3) Sterilisatie: doden van alle vegetatieve en sporulerende micro-organismen, virussen en prionen.

De keuze tussen ontsmetting en sterilisatie wordt bepaald door verschillende factoren:

- 1) Het beoogde doel: de afwezigheid van ongewenste bacteriën of volledige afwezigheid van alle micro-organismen.
- 2) Het type onderzoek: wordt de huid-of slijmvliesbarrière doorbroken of niet.
- 3) De weerstand van de patiënt.
- 4) De besmettingsgraad van het gebruikte materiaal.

Om een doeltreffende inactivatie van prionen te verzekeren kan men een chemische inactivatie gevolgd door een thermische inactivatie doorvoeren (HGR, 2006a).

Daarbij zal het gespoelde materiaal gedurende 1 uur bij kamertemperatuur ondergedompeld worden in NaClO oplossing 20.000 ppm of in een NaOH 2M oplossing naargelang het type instrument. Na het inweken voert men een reinigingsbeurt uit in een instrumentenwasmachine (die enkel reinigt en prionen niet inactieveert). Daarna laat men de wasmachine een nieuwe reinigingscyclus doorlopen, ditmaal leeg. Het schoongemaakte materiaal steriliseert men ten slotte door (indien mogelijk volgens type endoscoop) autoclaveren op 134°C gedurende 18 minuten of 6 cycli van 3 minuten (Dienst Ziekenhuishygiene, 2002).

Omdat de meeste **flexibele** endoscopen niet weerstaan aan de normale stoomsterilisatie procedures, worden zij geprocessed door middel van high-level desinfectie eerder dan door sterilisatie (Allison et al., 2003). Dit kan bij voorbeeld zijn: gassterilisatie met ethyleenoxide aan 42 - 45°C (EMEA, 2004; Consensusdocument, 2004) of lage temperatuur plasmasterilisatie met waterstofperoxide op 45 - 50°C (EMEA, 2004; Consensusdocument, 2004). **Rigide** metalen rectoscopen en sigmoïdoscopen moeten grondig gereinigd en vervolgens geautoclaveerd worden (Allison et al., 2003). Autoclaveren kan gebeuren op 134°C gedurende 18 minuten (poreuze load) of op 121-132°C gedurende 60 minuten (*gravity displacement*) (Consensusdocument, 2004).

Omdat enkel bij vCJD patiënten PrP^{Sc} detecteerbaar is buiten het CZS, nl. in lymfoïd weefsel, bestaat in theorie de grootste waarschijnlijkheid op CJD-transmissie via endoscopen bij vCJD. Tot op heden is geen enkel geval van vCJD gemeld door overdracht via een endoscopische procedure (Bramble & Ironside, 2005).

Voor endoscopische ingrepen maakt men een onderscheid tussen spCJD en vCJD (Axon et al., 2001).

8.3.2 NIEUWE DECONTAMINATIEMETHODES

8.3.2.1 Radiofrequentie gasplasma behandeling

Baxter et al., 2005 rapporteerden radiofrequentie gasplasma behandeling (met argon/zuurstofmengsels) als effectieve methode voor het verwijderen van proteïne afval en prioninfectiviteit. Roestvrij stalen bollen gecontamineerd met scrapie stam 263K werden behandeld met gasplasma radiofrequentie. Na perifere implantatie van de bollen bij hamsters kon geen prionziekte worden overgedragen. Dit zou een alternatieve decontaminatiemethode kunnen betekenen voor medische instrumenten (Baxter et al., 2004).

8.3.2.2 Chemische behandeling medische instrumenten

Fichet et al., 2004 contamineerden roestvrije staaldraden met scrapie hersenhomogenaat (een hamster-geadapteerde scrapie stam 263K). Na drogen van de draden gedurende 16 uren op kamertemperatuur werden de draden gedecontamineerd met o.a. een aantal nieuwe procédés: een enzymatische oplossing (Klenzyme, STERIS, 0,8% v/v in water, 5 min, 43°C), een alkalische reiniger (HAMO 100 Prion Inactivating Detergent, STERIS, 1,6% v/v, 15 min, 43°C), een fenol desinfectans (Environ LpH of LpHse, STERIS, 5% v/v, 30 min, 20°C), en geïmpregneerde waterstofperoxide (concentratie: 1,0-1,5 mg/L voor 3 u bij 25°C).

De gedecontamineerde draden werden opnieuw subcorticaal ingeplant bij hamsters en deze dieren werden klinisch opgevolgd op tekens van spongiforme encefalopathie. Wanneer een behandeling een infectiviteitsreductie van 5,6 log₁₀ geeft (d.i. binnen de sensitiviteit van het model), beschouwt men dit als complete decontaminatie.

De enzymatische reiniger was effectief indien samen met autoclaveren op 121°C gedurende 20 min of samen met geïmpregneerde waterstofperoxide gebruikt. Ook effectief waren de alkalische reiniger en het fenol desinfectans (Fichet et al., 2004).

9. BESLUIT

De ziekte van Creutzfeldt-Jakob blijft een zeldzame aandoening, maar door de onzekerheid betreffende de incubatieperiode, de transmissiewegen en de genetische voorbeschiktheid blijft de noodzaak bestaan voor surveillance en preventie op alle mogelijke wegen. We baseren ons op een risico-evaluatie van priontransmissie door corneatransplantatie (Hogan et al., 1999). Aangezien de jaarlijkse CJD-incidentie stabiel blijft met 1 geval per 10^6 inwoners, worden er jaarlijks 270 nieuwe CJD-gevallen verwacht in de USA. Dit zou betekenen dat er per jaar 0,045 prion-geïnfecteerde cornea donoren in de donorpool zouden terechtkomen. Met het includeren van correctiefactoren voor leeftijd en mogelijke asymptomatische CJD patiënten zullen zich maximaal 2,12 gevallen per jaar als potentiële corneadonoren presenteren (0,005% van alle donoren). Terwijl asymptomatische patiënten tot op heden niet kunnen gescreend worden met behulp van een laboratoriumtechniek, kunnen de patiënten met karakteristieke cognitieve veranderingen, spraak abnormaliteiten, cerebellaire stoornissen en myoclonus gemakkelijk geëxcludeerd worden op basis van hun medisch dossier. In de USA wordt het risico voor een potentiële donor om vCJD te hebben, geschat op 4,2 gevallen per jaar (0,009%). Ook hier kan men de exclusiecriteria strikter maken om het transmissierisico te beperken (Hogan et al., 1999). Voor weefselbanken blijft de zorgvuldige screening van potentiële donoren bijgevolg prioritair mits inachtnaam van de meest recente CJD-diagnostische hulpmiddelen. Als bijkomende voorzorgsmaatregelen dienen bloed en beenmerg zoveel mogelijk verwijderd bij de reiniging van vers allogeen weefsel en dient het poolen van verschillende donoren vermeden (Hogan et al., 1999). Dit risico van transmissie dient men in het perspectief te plaatsen van de voordelen voor patiënten die een weefseltransplant krijgen en de beperkte beschikbaarheid van allogene weefsels (SEAC, 2005; Hogan et al., 1999). De voordelen van weefseltransplantatie overtreffen duidelijk het risico van transmissie van prionziekten via weefseltransplantatie (Hogan et al., 1999).

10. PRAKTISCHE AANBEVELINGEN I.V.M. WEEFSELPRELEVATIE – TRANSPLANTATIE VAN DE HOGE GEZONDHEIDSRaad TER VOORKOMING VAN DE OVERDRACHT VAN SPONGIFORME ENCEFALOPATHIEËN (ZIEKTE VAN CREUTZFELDT-JAKOB)

Melding, traceerbaarheid en epidemiologische opvolging

Tot nog toe werden in België enkel erfelijke en sporadische vormen van CJD gediagnosticeerd, en zijn geen gevallen bekend van de besmettelijke iatrogene of variabele vormen. Sinds 1998 bestaat er in ons land een surveillancenetwerk, gecoördineerd door de CJD-Commissie van de Hoge gezondheidsraad, het WIV, en zeven Universitaire Referentiecentra.

Het is de verantwoordelijkheid van alle artsen, huisartsen en neurologen, om alle verdachte gevallen van CJD systematisch te melden aan het surveillancenetwerk, zodat er een neuropathologische bevestiging kan plaatsvinden van de diagnose (autopsie) en opdat alle gevallen van CJD, en vooral van de overdraagbare vormen kunnen geïdentificeerd worden. Het is eveneens de verantwoordelijkheid van alle zorgverstrekkers om de volledige traceerbaarheid te garanderen van alle toegediende producten van menselijke oorsprong en door nauwgezet dossierbeheer een adekwate documentatie en registratie te verzekeren van alle verstrekte zorgen, behandelingsprocessen, en relevante feiten en verwickelingen (Demotte).

Preventie

Recent werden door de Hoge Gezondheidsraad een reeks praktische aanbevelingen geformuleerd om de overdracht van spongiforme encefalopathieën te voorkomen. Wij verzoeken de verantwoordelijken en de medische directie van de verzorgingsinstellingen en weefselbanken om hun personeel te informeren over de vermelde risico's en de nodige voorzorgsmaatregelen in de praktijk te brengen (Demotte).

10.1 DE SPECIFIEKE VOORZORGSMATREGELEN VOOR HET VCJD-AGENS:

Weefseldonatie van alle personen, die in Groot-Brittannië verbleven gedurende 6 maanden of langer tussen 1980 en 1996 (cumulatief), is uitgesloten (HGR, 2005b).

10.2 VOORZORGSMATREGELEN MET BETREKKING TOT PRIONZIEKTEN:

Het preleveren van weefsel is uitgesloten bij:

- potentiële donoren met bevestigde of waarschijnlijke overdraagbare spongiforme encefalopathie;
- potentiële donoren met aanwezigheid of verdenking van een centraal neurologische degeneratieve aandoening van ongekende origine;
- potentiële donoren met familiale geschiedenis van familiale CJD, Gerstmann-Scheinker disease, fatale familiale insomnia;
- potentiële donoren met een antecedent* van intracraniële heelkunde (syn. craniotomie);
- potentiële donoren die behandeld werden met uit menselijk hypofyseweefsel geëxtraheerd hormoon;
- potentiële donoren die behandeld werden met implantatie van een oculair weefseltransplant;
- potentiële donoren die behandeld werden met implantatie van een dura mater allogreffe;
- potentiële donoren die behandeld werden met implantatie van een tympano-ossiculaire allogreffe.

*onder antecedent verstaat men niet de huidige klinische toestand.

10.3 DE SPECIFIEKE VOORZORGSMAATREGELEN BIJ HET TRANSCRANIEEL PRELEVEREN VAN TYMPANO-OSSICULAIRE ALLOGREFFEN (SCHUKNECHT H)(Schuknecht, 1993)

Zie het advies van de HGR 8340: "Aanbeveling voor het uitvoeren van een hersenautopsie bij transcraniële prelevatie van gehoorbeentjes en toe te passen techniek voor het opsporen van (v)CJD bij deze autopsie" - 4 februari 2008.

11. REFERENTIES

- AFSSAPS - Agence Française de sécurité sanitaire des produits de santé. 2003. Analysis of the risk of transmission of the variant Creutzfeldt-Jakob disease by medicinal products of human origin and labile blood products.
- Aksamit A. Variability of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease, laboratory standards, and quantification. Abstract. Arch Neurol 2003;60:803-804.
- Allan B, Tuft S. Transmission of Creutzfeldt-Jakob disease in corneal grafts, Editorial. BMJ 1997;315:1553-1554.
- Allison M, Palmer K, Bradkey C, Bramble M, Valori R, Gray R et al. British Society of Gastroenterology BSE Guidelines for decontamination of equipment for gastrointestinal endoscopy. BSG working party report 2003. 2003.
- Alter M. How is Creutzfeldt-Jakob disease acquired? Neuroepidemiology 2000;19:55-61.
- Armstrong R. Creutzfeldt-Jakob disease and vision? Clin Exp Optom 2006;89:3-9.
- Axon A, Beilenhoff U, Bramble M, Ghosh S, Kruse A, McDonnell G et al. Variant Creutzfeldt-Jakob disease (vCJD) and gastro-intestinal endoscopy. Endoscopy 2001; 33:1070-1080.
- Bates N. Data File: Lye. 2006
<http://www.intox.org/databank/documents/chemical/sodihydr/ukpid26.htm>.
- Baxter H, Campbell G, Whittacker A, Jones A, Aitken A, Simpson A et al. Elimination of transmissible spongiform encephalopathy infectivity and decontamination of surgical instruments by using radio-frequency gas-plasma treatment. J Gen Virol 2004;86:2393-2399.
- Belay E. Transmissible spongiform encephalopathies in humans. Annu Rev Microbiol 1999; 53:283-314.
- Bellon A, Seyfert-Brand W, Lang W, Baron H, Gröner A, Vey M. Improved conformation-dependent immunoassay: suitability for human prion detection with enhanced sensitivity. J Gen Virol 2003; 84:1921-1925.
- Bonetta L. More sensitive tests for BSE needed. Nature Medicine 2001;7:261.
- Bramble M, Ironside J. Variant Creutzfeldt-Jakob disease: update. Gut 2005; 54:170.
- Brown P, Brandel J-P, Preese M, Sato T. Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease. The waning of an era. Neurology 2006;67: 389-393.
- Brown P, Cervenakova L, McShane LM, Barber P, Rubenstein R, Drohan WN. Further studies of blood infectivity in an experimental model of transmissible spongiform encephalopathy, with an explanation of why blood components do not transmit Creutzfeldt-Jakob disease in humans. Transfusion 1999;39:1169-1178.
- Brown P, Gibbs C, Rodgers-Johnson P, Asher D, Sulima M, Bacote A et al. Human spongiform encephalopathy: the National Institutes of Health series of 300 cases of experimentally transmitted disease. Ann Neurol 1994; 35:513-529.
- Brown P, Preece M, Brandel J, Sato T, McShane L, Zerr I et al. Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease at the millenium. Neurology 2000; 55:1075-1081.
- Brown P, Preece M, Will R. "Friendly fire" in medicine: hormones, homografts, and Creutzfeldt-Jakob disease. Lancet 1992; 340:24-27.
- Buyschaert I, Beel K, Ghesquière B, Naessens M. De ziekte van Creutzfeldt-Jakob: een zeldzame oorzaak van dementie. Tijdschrift Voor Geneeskunde 2005; 61:1341-1347.
- CDC-Centers for Disease Control. 1996. Surveillance for CJD United States. Morb Mortal Wkly Rep;45:665-668.
- CDC - Centers for Disease Control and Prevention. 2003. Update: Creutzfeldt-Jakob disease associated with cadaveric dura mater grafts – Japan, 1979-2003, MMWR;52:1179-1181.
- CDC - Centers for Disease Control – 2002. CDC and Florida Department of Health investigate a likely case of new variant Creutzfeldt Jakob disease in a U.K. citizen residing in the U.S. Press release April 18,
- Collinge J. Molecular neurology of prion diseases. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2005; 76:906-919.

- Collins S, Law M, Fletcher A, Boyd A, Kaldor J, Masters C. Surgical treatment and risk of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: a case-control study. *Lancet* 1999; 353:693-697.
- Collins S, Alison B, Fletcher A, Kaldor J, Hill A, Farish S et al. Creutzfeldt-Jakob disease cluster in an Australian city. *Ann Neurol* 2002; 52:115-118.
- Collins S, Lawson V, Masters C. Transmissible spongiform encefalopathies. *Lancet* 2004; 363:51-61.
- Consensusdocument nr 2004/02 provinciaal interdisciplinair overleg ziekenhuishygiëne Oost-Vlaanderen. 2004/02. 4.
- Creutzfeldt-Jakob disease in patients who received a cadaveric dura mater graft –Spain, 1985-1992. *MMWR* 1993;42:560-563.
- de Pedro-Cuesta J, Glatzel M, Almazán J, Stoeck K, Mellina V, Puopolo M et al. Human transmissible spongiform encephalopathies in eleven countries: diagnostic pattern across time, 1993-2002. *BMC Public Health*. 2006;10:278-288.
- Demotte R. Kabinet van Sociale Zaken en Volksgezondheid. Rondzendbrief betreffende: Ziekte van Creutzfeldt-Jakob, BSS en de besmettingsrisico's van bloedproducten en medisch materiaal.
- DH - Department of Health. 2000. Guidance on the microbiological safety of human organs, tissues and cells used in transplantation. Advisory committee on the microbiological safety of blood and tissues for transplantation (MSBT), UK.
- Dienst ziekenhuishygiëne. Creutzfeldt-Jakob: inactivatie van prionen. 2002. Richtlijnen UZ Gasthuisberg
- Diring H, Braig H. Infectivity of unconventional viruses in dura mater. *Lancet* 1989; 1(8635):439-440.
- DNV - Det Norske Veritas. 2003. Risk assessment of exposure to vCJD infectivity in blood and blood products, for Department of Health UK.
<http://www.dnv.com/consulting/news/riskofinfectionfromvariantcjdinblood.asp>
- Dormont S. Precautions to be taken to prevent transmission of non-conventional agents in the grafting process. In: Englert Y, editor. *Organ and tissue transplantation in the European Union: management of difficulties and health risks linked to donors*. London: Martinus Nijhoff Publishers, 1995: p.32-45.
- Eastlund T, Strong D. Infectious disease transmission through tissue transplantation. In: Phillips G, editor. *Advances in Tissue Banking*. Singapore: World Scientific Publishing Co, 2006: 79-80.
- EMEA – European Medicines Agency. 2004. CHMP position statement on CJD and plasma-derived and urine-derived medicinal products. 2879/02/rev1. 23-6-2004.
EMEA/CPMP/BWP/2879/02/rev
- EU - Europese Unie 2006. Richtlijn 2006/17/EG van de Commissie van 8 februari 2006 ter uitvoering van Richtlijn 2004/23/EG van het Europees Parlement en de Raad wat betreft bepaalde technische voorschriften voor het doneren, verkrijgen en testen van menselijke weefsels en cellen, Publicatieblad EU Nr. L 038: p 0040 – 0052
- EUROCD - The European and Allied Countries Collaborative Study Group of CJD; 2001
<http://www.eurocjd.ed.ac.uk>
- FDA 2002. Draft Guidance for Industry: Preventive measures to reduce the possible risk of transmission of Creutzfeldt-Jakob disease and variant Creutzfeldt-Jakob disease (vCJD) by human cells, tissues, and cellular and tissue-based products (HCT-Ps)..
- Ferreira S, Dernel W, Powers B, Schochet R, Kuntz C, Withrow S et al. Effect of gas-plasma sterilization on the osteo-inductive capacity of demineralized bone matrix. *Clin Orth Rel Res* 2001;388:233-239
- Fichet G, Comoy E, Duval C, Antloga K, Dehen C, Charbonnier A et al. Novel methods for disinfection of prion-contaminated medical devices. *Lancet* 2004; 364:521-526.
- Foster P. Removal of TSE agents from blood products. *Vox Sang* 2004; 87:S7-S10
- Gelpi E, Heinzl H, Höftberger R, Unterberger U, Ströbel T, Voigtländer T et al. Creutzfeldt-Jakob disease in Austria: an autopsy-controlled study. *Neuroepidemiology* 2008; 30:215-221.
- Giesecke J. The epidemiology of AIDS and variant CJD. In: Giesecke J, Arnold, editors. *Modern Infectious Disease Epidemiology*. London: Bentliff, G; 2002: p.241-259.

- Glatzel M, Abela E, Maissen M, Aguzzi A. Extraneural pathologic prion protein in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *N Engl J Med* 2003; 349(19):1812-1820.
- Gofflot S, Deprez M, El Moualij B, Osman A, Thonnart JF, Hougrand O et al. Immunoquantitative PCR for prion detection in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Clin Chem* 2005;51:1605-1611.
- Gruber R, Sittlinger M, Bujia J. In vitro cultivation of human chondrocytes using autologous human serum supplemented culture medium: minimizing possible risk of infection with pathogens of prion diseases. *Laryngorhinootologie* 1996;75:105-108.
- Guidance for Industry and FDA staff, Class II Special controls guidance document: Humand dura mater. 22-10-2003.
- Hainfellner JA, Jellinger K, Diringer H, Guentchev M, Kleinert R, Pilz P et al Creutzfeldt-Jakob disease in Austria. *Wien Klin Wochenschr.* 1996 Dec 13;108(23):759-63.
- Hannah E, Belay E, Gambetti P, Krause G, Parchi P, Capellari S et al. Creutzfeldt-Jakob disease after receipt of a previously unimplicated brand of dura mater graft. *Neurology* 2001; 56:1080-1083.
- Health Canada. Infection control guidelines for classic Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) in Canada. Part of the Infection Control Guidelines Series. *Canada Communicable Disease Report.* 2002; 1-84. <http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/ccdr-rmtc/02vol28/28S5/index.html>
- Health Protection Agency. New case of transfusion-associated variant-CJD. *CDR Weekly* 2006;16 (6).
- Heckmann J, Lang C, Petruch F, Druschky A, Erb C, Brown P, Neundörfer B. Transmission of Creutzfeldt-Jakob disease via a corneal transplant. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1997;63:388-390.
- Heinemann U, Krasnianski A, Meissner B, Varges D, Kallenberg K, Schulz-Schaeffer WJ et al. Creutzfeldt-Jacob disease in Germany: a prospective 12-year surveillance. *Brain* 2007;130:1350-1359.
- Herzog C, Etchegaray N, Charbonnier A, Freire S, Dormont D, Deslys J-P et al. Tissue distribution of bovine spongiform encephalopathy agent in primates after intravenous or oral infection. *Lancet* 2004; 363:422-428.
- HGR – Hoge Gezondheidsraad. 1995. Het onderhoud van endoscopisch materiaal en de preventie van infecties – HGR 5303-11
- HGR – Hoge Gezondheidsraad. 2000a. Kwaliteitsnormen voor celculturen van autologe en allogene kraakbeencellen – HGR 7968
- HGR – Hoge Gezondheidsraad. 2000b - Kwaliteitsnormen voor keratinocyten-allogreffes – HGR 7961
- HGR – Hoge Gezondheidsraad. 2000c - Kwaliteitsnormen voor allogreffes van het locomotorische stelsel – HGR 7963
- HGR – Hoge Gezondheidsraad. 2005a - Advies HGR betreffende het risico van overdracht van vCJD bij bloedtransfusie - HGR 8048-4
- HGR – Hoge Gezondheidsraad. 2005b - Advies van de HGR betreffende het risico van vCJD-overdracht door transfusie van plasmaderivaten - HGR 8048-5
- HGR – Hoge Gezondheidsraad. 2005c Advies van de HGR betreffende het werkelijk risico van overdracht van de variant van de ziekte van Creutzfeldt-Jakob (vCJD) door transfusie van plasmaderivaten van menselijke oorsprong - HGR 8097
- HGR – Hoge Gezondheidsraad. 2006a - Aanbevelingen ter voorkoming van de overdracht van de overdraagbare spongiforme encefalopathieën (ziekte van Creutzfeldt-Jakob) in verzorgingsinstellingen – HGR 7276-2
- HGR – Hoge Gezondheidsraad. 2006b - Gemeenschappelijke kwaliteitsnormen voor alle weefsels en cellen van menselijke oorsprong die voor toepassing op de mens bestemd zijn – HGR 7691-1
- HGR – Hoge Gezondheidsraad. 2007a – Te verstrekken informatie in geval van risico van overdracht van de ziekte van Creutzfeldt-Jakob – HGR 8152

- HGR – Hoge Gezondheidsraad. 2007b - Noodzaak om bepaalde onderzoeken verplicht te maken om het risico van overdracht van de ziekte van Creutzfeldt-Jakob te beperken in het belang van de volksgezondheid. HGR 8153
- Hogan R, Brown P, Heck E, Cavanagh H. Risk of prion disease transmission from ocular donor tissue transplantation. *Cornea* 1999;18:2-11.
- Hotz M, Speirs A, Oxland T, Müller M, Hämmerl C, Häusler R. Radiologic and mechanical properties of inactivated ossicles homografts. *Laryngoscope* 1999;109:65-69.
- IAEA: International Atomic Energy Agency. 2002. The IAEA programme in radiation and tissue banking, international standards on tissue banks, First meeting of the IAEA technical advisory committee Boston, USA.
- IPH/EPI rapport nr. 2007 – 018. S. Quolin, Dienst Epidemiologie, Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid.
- Jackson J, Weller R, Kennedy P, Preece M, Whitcombe E, Newsom-Davis J. Creutzfeldt-Jakob disease after administration of human growth hormone. *Lancet* 1985;326:244-246.
- Johnson R, Gibbs C. Creutzfeldt-Jakob disease and related transmissible spongiform encephalopathies. *N Engl J Med* 1998; 339:1994-2004.
- JPAC. 2004. Joint UK BTS/NIBSC professional advisory committee, position statement Creutzfeldt-Jakob disease.
- Karger R, Kretschmer V. Inline-filtration, transfusion and apheresis. *Science* 2002; 27:137-152.
- KB - Koninklijk besluit van 1 FEBRUARI 2005 tot wijziging van het koninklijk besluit van 4 april 1996 betreffende de afneming, de bereiding, de bewaring en de terhandstelling van bloed en bloederivaten van menselijke oorsprong
- Kearny J, Johnson C. Evaluation of NaOH treatment of human dura mater implants to obviate Creutzfeldt-Jakob disease transmission. *Biomaterials* 1991; 12:431-432.
- Knight R, Will R. Prion diseases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004; 75:36-42.
- Kübler E, Oesch B, Raeber A. Diagnosis of prion diseases. *Brit Med Bull* 2003;66:267-279.
- Lang C, Heckmann J, Neundörfer B. Creutzfeldt-Jakob disease via dural and cornea transplants. *J Neurol Sci* 1998;160:128-139.
- Linsell L, Cousens S, Smith P, Knight R, Zeidler M, Stewart G et al. A case-control study of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease in the United Kingdom. Analysis of clustering. *Neurology* 2004; 63:2077-2083.
- Llewelyn C, Hewitt O, Knight R, Amar K, Cousens S, Mackenzie J et al. Possible transmission of variant Creutzfeldt-Jakob disease by blood transfusion. *Lancet* 2004; 363:417-421.
- Loty B. EATB Standards for musculoskeletal tissue banking. 1996.
- McClelland B, Contreras M. Appropriateness and safety of blood transfusion. *Br Med J* 2005; 330:104-105.
- Mehta J, Franks W. The sclera, the prion, and the ophthalmologist. *Br J Ophthalmol* 2002; 86:587-592.
- Miekka S, Forng R, Rohwer R, MacAuley C, Stafford R, Flack S, MacPhee M, Kent R, Drohan W. Inactivation of viral and prion pathogens by gamma-irradiation under conditions that maintain the integrity of human albumin. *Vox Sang* 2003;84:36-44.
- Miman M, Cura O, Erdem T, Kirazli T, Oztop F, Ozturan O, Oncel S. An important procedure in ossiculoplasty: autoclaving the ossicles. Abstract. *Rev Laryngol Otol Rhinol* 2002;123:263-266.
- Moreau MF, Gallois Y, Baslé MF, Chappard D. Gamma irradiation of human bone allografts alters medullary lipids and releases toxic compounds for osteoblast-like cells. *Biomaterials* 2000;21:369-376.
- Murray K, Ritchie DL, Bruce M, Young CA, Doran M, Ironside JW et al. Sporadic Creutzfeldt-Jacob disease in two adolescents. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2008;79:14-18.
- O'Rourke K, Baszler T, Miller J, Spraker T, Sadler-Riggleman I, Knwoles D. Monoclonal antibody F89/160.1.5 defines a conserved epitope on the ruminant prion protein. *J Clin Microbiol* 1998;36:1750-1755.
- Pammer J, Weninger W, Tschachler E. Human keratinocytes express cellular prion-related protein in vitro and during inflammatory skin diseases. *Am J Path* 1998;153:1353-1358.

