

REFERENZZENTRUM FÜR SPONGIFORME ENZEPHALOPATHIEN (Prionkrankheiten)

version 8.03

Vorsichtsmaßnahmen bei der Durchführung von Autopsien bei Verdacht auf Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (CJD) [Patienten mit rasch fortschreitender Demenz]

Durchführung der Autopsie

Für die Durchführung einer Autopsie bei Verdacht auf eine Creutzfeldt-Jakob Erkrankung ist kein spezieller Seuchensaal erforderlich. Die Sektion kann im normalen Sektionssaal erfolgen.

1. Kontamination von Umgebung und Geräten ist zu vermeiden. Es empfiehlt sich deshalb, den Autopsietisch abzudecken und absorbierendes Material bereitzuhalten.
2. Als Personenschutz wird das Tragen von geeignetem Augenschutz, Mundschutz und von KEVLAR-Handschuhen (mit darübergestülpten Latexhandschuhen) empfohlen.
3. Die Körpersektion sollte vor der Kopfsektion erfolgen. Grundsätzlich kann davon ausgegangen werden, dass nur das zentrale Nervensystem hochinfektiös ist. Trotzdem sollten bei der Körpersektion die vorstehend genannten Vorsichtsmaßnahmen eingehalten werden. Es wird eine in-situ Sektion empfohlen.
4. Die **Hirnentnahme** wird folgendermaßen durchgeführt (1, 2):
 1. Abdecken des Tisches mit undurchlässigem Material (Plastikfolie), hierauf wird unter dem Kopf Zellstoff ausgebreitet.
 2. Die notwendigen Instrumente werden in unmittelbarer Nähe bereitgelegt.
 3. Hautinzision und Schädelpräparation werden in gewohnter Weise durchgeführt.
 4. Das Aufsägen des Schädels soll mit einer Handsäge aus Edelstahl erfolgen, da diese Handsägen leicht dekontaminiert werden können. Die Verwendung einer oszillierenden Säge ist wegen der entstehenden Schwebstäube nicht zu empfehlen.
 5. Die Hirnentnahme wird in der gewohnten Weise durchgeführt.
 6. Der Leichnam kann nach der Obduktion zur Dekontamination mit 1N NaOH abgewaschen werden. Nach Ende der Autopsie sollte der Leichnam in einem Leichensack abgegeben werden. Dieser sollte nicht mehr unnötig geöffnet werden.
5. **Asservierung des Hirngewebes:** Es sollte **ein Teil des Hirngewebes** für die biochemische Prionproteintypisierung (notwendig zur sicheren Abgrenzung der neuen Variante der CJD) tiefgefroren und der **Rest in 4% Formalin fixiert** werden. Dazu empfiehlt sich folgendes Vorgehen:
 - Nach der Entnahme des Gehirns aus der Schädelhöhle wird der Hirnstamm zusammen mit dem Kleinhirn auf Höhe des Mittelhirns abgetrennt und die beiden Großhirnhemisphären in der Sagittalebene separiert.
 - Von **einer** Hemisphäre sollten folgende Frontalschnitte bei -20 bis -80°C eingefroren werden: **Frontalpol, Hemisphärenschnitt unter Einschluss des Corpus mamillare und Okzipitalpol sowie ein keilförmiger Schnitt aus einer Kleinhirnhemisphäre.**
6. Alle während der Autopsie mit infektiösem Material in Berührung gekommenen Geräte werden durch die unten angegebenen Methoden dekontaminiert.

Dekontamination

1. Zur Dekontamination von Arbeitsflächen kann die Exposition mit **2N NaOH (80 g pro Liter)** als ausreichend angesehen werden (6). NaOH ist sehr gut auf Stahloberflächen, jedoch nicht auf Aluminium- oder Zinkoberflächen zu verwenden.*
2. Zur Dekontamination von **autoklavierbarem Material** ist das Dampfautoklavieren bei 134°C für 1 Stunde (7) bei 121°C für 4,5 Stunden (4) bzw. bei 136°C in zwei aufeinanderfolgenden Zyklen von je 36 min Länge geeignet. Da allerdings in der Literatur über die Sterilisierung durch das Autoklavieren keine übereinstimmende Ansicht herrscht, wird für die Dekontamination von Instrumenten, die möglicherweise für invasive Eingriffe weiter genutzt werden sollen, eine Dekontamination mit einem weiteren suffizienten Verfahren vor dem Autoklavieren empfohlen (8).
3. **Nicht autoklavierbares Material** wird durch **Einlegen in 2N NaOH für 2 x 30 Minuten** oder ohne Wechseln der Lauge für mindestens 12 Stunden dekontaminiert.
4. **Instrumente**, die durch Formalin-fixiertes, nicht Ameisensäure-vorbehandeltes Gewebe kontaminiert worden sind, lassen sich durch Autoklavieren nicht ausreichend dekontaminieren (9), sondern werden durch Einlegen in **2N NaOH** (s.o.) dekontaminiert.
5. **Kontaminierte Haut** wird für 10 Minuten **1N NaOH** ausgesetzt, danach unter laufendem Wasser gründlich abgespült (10).
6. **Kontaminierte Flüssigkeiten** (Brauchwasser, Formalin) müssen der Verbrennung zugeführt werden (eventuell vorher in einem Plastikeimer in Zellstoff absorbieren).

Restgewebe können dem Referenzzentrum zur Verfügung gestellt werden.

- ★ Für die Dekontamination wird anstelle von NaOH mitunter auch die Verwendung von Natrium-Hypochlorit empfohlen. Dabei ist jedoch darauf zu achten, dass die Lösungen 20 000 ppm freies Chlor enthalten. Konzentrierte Lösungen sind nur 2-3 Wochen stabil, verdünnte Lösungen müssen immer frisch angesetzt werden. Natrium-Hypochlorit korrodiert Metalle und sollte nicht auf Oberflächen verwendet werden, da sich leicht irritierende Gase bilden.

Bei eigener Aufarbeitung:

Hirnsektion und histologische Untersuchung

Das Hirngewebe wird nach Formalinfixierung sezirt. Es empfiehlt sich, dabei eine Plastikfolie auf dem Sektionstisch auszubreiten, auf die eine Zellstoffschicht und darüber eine zweite Plastikfolie gebreitet wird, auf der sezirt wird (Sandwich-Technik). Nach der Sektion wird die Abdeckung des Sektionstisches in einer Verbrennungstonne entsorgt.

Das Hirngewebe wird nach Formalinfixierung (2-3 Wochen) zugeschnitten. **5 mm-dicke Blöcke werden für eine Stunde in konzentrierter (96-98%) Ameisensäure dekontaminiert**, die Ameisensäure wird mit Wasser ausgespült und danach werden **die zugeschnittenen Blöckchen 48 Std. in frischem Formalin nachfixiert**.

- **Autopsie, Asservierung des Gefriermaterials**
- **Fixierung der übrigen Asservate in 4% Formalin**
- **Zuschnitt für Histologie**
- **Dekontamination des Zuschnitts für 1 Stunde in Ameisensäure**
- **48 Stunden in frischem Formalin nachfixieren**

Das Gewebe wird dann in gewohnter Weise eingebettet.

Durch die Ameisensäurebehandlung wird das infektiöse Agens inaktiviert (um einen Faktor $\sim 10^7$ (3)). Die Formalinfixierung führt nicht zu einer nennenswerten Herabsetzung der Infektiosität (4). Die Fixierungsflüssigkeit selbst ist als infektiös zu betrachten. Wir empfehlen bei der weiteren Bearbeitung des Materials (Anfertigen von Paraffinschnitten) das Tragen von Handschuhen.

Das Referenzzentrum für spongiforme Enzephalopathien bietet neben der Abholung und Bearbeitung der gesamten Asservate auch die konsiliarische Referenzbegutachtung anhand von Paraffinblöckchen an. Analog zu Braak und Braak (5) werden folgende Regionen für die Demenzdiagnostik standardmäßig untersucht:

Neokortex:

- a) Gyrus frontalis med.
- b) Gyrus temporalis sup./med.
- c) Gyrus parietalis inf.
- d) Area striata/parastriata

Limbischer Kortex:

- a) anteriorer Gyrus cinguli
- b) Hippocampus auf Höhe Corpus geniculatum lat.
- c) Hippocampus auf Höhe des Uncus/ transentorhinaler Cortex

Subkortikale Kerngebiete:

- a) anteriores Striatum,
- b) Putamen/ Pallidum/ Corpus mamillare,
- c) Nucleus mediodorsalis thalami

Kleinhirn:

- a) Vermis cerebelli,
- b) Kleinhirnhemisphäre mit Nucleus dentatus

Hirnstamm:

- a) Mittelhirn (Substantia nigra pars compacta, Colliculi sup.)
- b) Pons (Locus coeruleus)
- c) Medulla oblongata (Nucleus olivaris inf., Hirnstammkerne)

Literaturhinweise:

1. Bell J.E., Ironside J.W.: How to tackle a possible Creutzfeldt-Jakob disease necropsy. *J Clin Pathol* 1993; 46: 193-197
2. Schulz-Schaeffer WJ, Giese A, Kretzschmar HA: Creutzfeldt-Jakob Krankheit - neue Aspekte für die Rechtsmedizin. *Rechtsmed* 1998; 8: 123 – 129
3. Brown P. et al.: A simple and effective method for inactivating virus infectivity in formalin-fixed tissue samples from patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurol* 1990; 40: 887-890
4. Brown P. et al.: Transmission of Creutzfeldt-Jakob disease from formalin-fixed, paraffin-embedded human brain tissue. *N Engl J Med* 1986; 315: 1614-1615
5. Braak H, Braak E: Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 1991; 82: 239 – 259
6. Prusiner S.B. et al.: Human slow infections caused by prions. In: *Clinical and molecular aspects of neurotropic virus infections*. Gildea DH and Lipton HL (eds) pp 423-467, 1989, Kluwer Academic Publishers.
7. Committee on Health Care Issues, American Neurological Association: Precautions in handling tissues, fluids, and other contaminated materials from patients with documented or suspected Creutzfeldt-Jakob disease. *Ann Neurol* 1986; 19: 75-77
8. Desinfektion und Sterilisation von chirurgischen Instrumenten bei Verdacht auf Creutzfeldt-Jakob Erkrankungen. *Bundesgesundheitsblatt* 1996; 39: 282-285
9. Taylor D.M., McConnell I.: Autoclaving does not decontaminate formalin-fixed scrapie tissues. *Lancet* 1988; I: 1463-1464
10. Brown P. et al.: Sodium hydroxide decontamination of Creutzfeldt-Jakob disease virus. *N Engl J Med* 1984; 310: 727

Neurobiobank München

Koordinierendes Mitglied des Brain-Net Deutschland
und des BrainNet Europe

**Leitung:**

Prof. Dr. med. Jochen Herms
Zentrum für Neuropathologie und Prionforschung
Prof. Dr. med. Peter Falkai
Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie

Zentrum für Neuropathologie und
Prionforschung
Feodor-Lynen-Str. 23
81377 München
Tel.: 089 / 2180-78345
Fax: 089 / 2180-78037

AN: Neurobiobank München
Per FAX: 089-2180-78037

Seiten inkl. Deckblatt:

Ihr Zeichen, Ihre Nachricht vom

Unser Zeichen

Datum:

TELEFAX**Meldung zur Abholung von Gewebe**

Zur Abholung liegt bereit:

Tiefgefrorenes Gewebe: _____

Formalinfixiertes Gewebe: _____

Name des Verstorbenen: _____

* _____ + _____

Klinische Diagnose:

Hausinterne Sektionsnummer: _____

Datum der Sektion: _____ Uhrzeit der Sektion: _____

Nativ-Hirngewicht: _____

Absender

Klinik:

Ansprechpartner:

Tel-Nummer: