

Sprječavanje rizika prijenosa priona neurokirurškim instrumentima: prikaz bolesnika

**Sanja ZEMBER, dr. med., specijalist
infektolog**
**Nenad KUDELIC, dr. med., specijalist
neurokirurg**
**Dubravka DOBEC-GORENAK, dr. med.,
specijalist neurolog**
**Dubravko TRŠINSKI, dr. med., specijalist
internist**
**Anita ATELJ, dr. med., specijalizant
infektologije**

Opća bolnica Varaždin, Ivana Meštrovića b.b.,
Varaždin

Ključne riječi

*Creutzfeldt-Jakobova bolest
prijenos priona
neurokirurški instrumenti*

Key words

*Creutzfeldt-Jakob disease
prion transmission
neurosurgical instruments*

Primljeno: 2013-07-04

Received: 2013-07-04

Prihvaćeno: 2013-09-05

Accepted: 2013-09-05

Prikaz bolesnika

U posljednjih 10 godina Hrvatskom zavodu za javno zdravstvo prijavljeno je 15 bolesnika oboljelih od Creutzfeldt-Jakobove bolesti (CJB). Tijekom lipnja 2012. godine u Općoj bolnici Varaždin (OBV) preminuo je 58-godišnji bolesnik premješten s Klinike za neurologiju KBC Zagreb pod sumnjom na sporadični oblik CJB. Nakon obdukcije bolesnika, koja je provedena u našoj ustanovi, dijagnoza CJB potvrđena je patohistološkom analizom mozga u Kliničkom institutu za neurologiju Medicinskog fakulteta u Beču. Povjerenstvo za sprječavanje i suzbijanje bolničkih infekcija OBV izradilo je upute o mjerama i načinu postupanja s prostorima, opremom i instrumentima koji su bili potencijalno kontaminirani prionima. Obzirom da se radilo o bolesniku koji je 2,5 mjeseca prije postavljene dijagnoze bio neurokirurški operiran u našoj ustanovi, a upotrijebljeni neurokirurški instrumenti nisu bili tretirani po principu dekontaminacije priona, postavljeno je pitanje potencijalnog prijenosa priona kontaminiranim instrumentima na 29 bolesnika koji su naknadno neurokirurški operirani. Analizom neurokirurškog zahvata utvrdili smo da su neurokirurški instrumenti bili u kontaktu s kožom, potkožjem, fascijama mišića, kostima i intervertebralnom hrskavicom bolesnika, ali ne i s tvrdom moždanom ovojnicom, niti je za vrijeme operacije bilo likvoreje. Zaključili smo da tijekom neurokirurškog zahvata nije došlo do kontakta instrumenata s tkivima visokog i srednjeg rizika za prijenos priona te je rutinski postupak s neurokirurškim instrumentima (rutinsko čišćenje i sterilizacija) bio dostatan za sprječavanje prijenosa priona, sukladno smjernicama britanske i kanadske grupe za kontrolu CJB. Naknadnim praćenjem nije registriran niti jedan slučaj sekundarne CJB u 29 bolesnika operiranih nakon ovog bolesnika u našoj bolnici.

Preventing the risk of prion transmission via neurosurgical instruments: a case report

Case report

In the last 10 years there have been 15 cases of Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) reported to the Croatian Institute of Public Health/Department of Epidemiology. In June 2012, a 58-year-old patient that had been relocated from the Department of Neurology of the University Hospital Centre Zagreb to General Hospital Varaždin, died from a suspected sporadic form of Creutzfeldt-Jakob disease. After autopsy was performed in our hospital, CJD was confirmed by histopathological analysis of the brain in the Clinical Institute of Neurology/Medical University of Vienna. The Hospital Infection Control Committee drafted guidelines for infection control measures regarding work areas, equipment and instruments that were potentially contaminated with prions. Since the patient had undergone a neurosurgical operation in our institution 2.5 months prior to CJD diagnosis, and the neurosurgical instruments used during this procedure were not processed according to the prion decontamination principles, a question was raised regarding a potential prion transmission via contaminated instruments to the 29 patients who subsequently underwent neurosurgical operation. By analyzing the neurosurgical procedure that the patient underwent, we established that neurosurgical instruments were in contact with the patient's skin, subcutaneous tissue, fascia muscle, bones and intervertebral cartilage and not with the dura mater and that there was no cerebrospinal fluid drainage during surgery either. Therefore, we concluded that during neurosurgery the instruments did not come into contact with tissues of higher or medium risk for transmission of prions and that routine procedure for cleaning and sterilization of neurosurgical in-

struments was sufficient for preventing prion transmission, which is in accordance with the British and Canadian CJD infection control guidelines. Subsequent follow-up recorded not a

single case of secondary CJD among the 29 patients who underwent surgery after the infected patient in our hospital.

Uvod

Prijenosne spongiformne encefalopatije (PSE) skupina su rijetkih neurodegenerativnih poremećaja ljudi i životinja. Karakterizira ih dugo inkubacijsko razdoblje, a nakon pojave simptoma obično su brzo progresivne i bez iznimke smrtonosne. U humane prionske bolesti ubrajaju se Creutzfeldt-Jakobova bolest (CJB), sindrom Gerstmann-Straussler-Scheinker, obiteljska fatalna insomnija i kuru [1–4]. Godine 2008. opisana je i nova prionska bolest nazvana varijabilna na proteazu osjetljiva prionopatija [5]. Slične neurodegenerativne bolesti javljaju se prirodno kod nekih životinjskih vrsta poput bolesti scrapie kod ovaca i koza ili kronične razorne bolesti sobova i kanadskih jelena. Zbog izloženosti infektivnim životinjskim tkivima javlja se goveđa spongiformna encefalopatija, prijenosna encefalopatija kanadskih kuna te spongiformna encefalopatija domaćih mačaka i većeg broja životinjskih vrsta u zatočeništvu [6]. Od životinjskih prijenosnih encefalopatija za humanu medicinu najznačajnija je goveđa spongiformna encefalopatija.

Dileme oko etiologije ovih bolesti postoje još i danas te se kao etiološki čimbenik opisuju prioni (akronim od engl. *proteinaceous infectious particles*, proteinske infektivne čestice) iako u potpunosti nije isključena teorija o virusnoj etiologiji ovih bolesti [7, 8, 9]. Prionski gen je opisan 1985. godine, a nakon tri godine je definirana njegova lokacija na kromosomu 20 [10, 11]. Prioni su sitne proteinske čestice koje su patološki izo-oblik normalnih staničnih proteina te za razliku od drugih infektivnih uzročnika u svome sastavu nemaju nukleinskih kiselina. Kao model prionskih bolesti najviše su proučavani scrapie prioni. PrPSc (od engl. *prion protein scrapie*) konformacijski je izomer PrPC proteina (od engl. *prion protein cellular*), normalnog membranskoga proteina nađenog u moždanom tkivu zdravih životinja. PrPC može se naći u plazmatskoj membrani neurona, najviše u području sinaptičkih membrana, ali i u drugim tkivima. Normalna funkcija PrPC je nepoznata, a primarno je prisutan u obliku alfa uzvojnice, dok PrPSc ima beta nabranu strukturu koja je posljedica još neutvrđene konformacijske promjene u PrPC [12, 13]. PrPSc molekule otporne su na razgradnju proteazama i imaju sklonost polimeriziranju u amiloidna vlakna [14]. Prionske bolesti su najvjerojatnije posljedica nakupljanja abnormalnih izoformi PrP koje nastaju konverzijom normalnog PrPC u PrPSc [15, 16]. Kako se u domaćinu pojavljuje prva molekula PrPSc još uvijek je nerazjašnjeno, a ta inicijalna pojava potom trigerira replikaciju PrPSc. Pretpostavlja se da inicijalna molekula PrPSc u spora-

dičnim i jatrogenim prionskim bolestima potječe iz egzogenog izvora dok se u obiteljskim formama nalaze mutacije u genima koji kodiraju PrP [17]. Opisane su točkaste mutacije prionskog gena P102L, D178N i E200K kod kojih dolazi do promjene jednog purinsko-pirimidinskog baznog para DNA što dovodi do promjene sekvence aminokiselina u prionskom proteinu [18–20]. Ove mutacije najvjerojatnije destabiliziraju PrPC što može dovesti do spontane konverzije u PrPSc, a koji je neurotoksičan te nakupljanje ovog proteina ili njegovih fragmenata u neuronima dovodi do apoptoze i stanične smrti. Dokumentirana je i insercija oktapeptida u prionski protein u regiji 51–91, a koja može utjecati na stvaranje patološkog prionskog proteina PrPSc, što može biti od značaja za početak hereditarne prionske bolesti. Za razvitak bolesti potrebna je insercija od najmanje tri oktapeptida [21].

Prema teoriji virusne etiologije bolesti, varijanta CJB i jatrogena CJB te kuru, scrapie i goveđa spongiformna encefalopatija mogu biti uzrokovane klasom tzv. *slow-virusa*. U prilog ovoj teoriji govori činjenica da su u infektivnom materijalu i nakon ekstenzivne digestije nukleinskog materijala nađene nukleinske kiseline 1–5 Kb. Uzročnike je bilo moguće držati u kulturi, obično miševa, a za uspoređivanje su služile elektronske slike kojima su otkrivene čestice veličine 25–35 nm u dijametru. TSE agensi se mogu razlikovati u virulenciji za specijes, u inkubaciji i neuropatološkom nalazu mozga [9, 22].

Creutzfeldt-Jakobova bolest najčešća je od ljudskih prionskih bolesti, a pojavljuje se u sporadičnom (sCJB), familijarnom (fCJB) i jatrogenom obliku (iCJB) te kao nova varijanta CJB (vCJB) [23]. Sporadična CJB čini 85–95 % slučajeva CJB s prosječnom incidencijom od 1/1 000 000 slučajeva godišnje u svjetskoj populaciji, a javlja se u dobi između 57 i 62 godine života [24]. Ne postoje razlike u spolnoj zastupljenosti, a u SAD-u je dokumentirana veća incidencija bolesti u bijeloj rasi [25, 26]. Jatrogena CJB čini manje od 1 % slučajeva CJB. Povezana je s primjenom humanih kadaveričnih pituitarnih hormona poput hormona rasta (226 slučajeva) i gonadotropina (4 slučaja), potom s upotrebom transplantata dure (228 slučajeva) i transplantata rožnice (2 slučaja) kao i s izloženosti kontaminiranim neurokirurškim instrumentima (4 slučaja) te stereotaktičkim elektrodama (2 slučaja). Dokumentiran je i prijenos bolesti kao posljedica sekundarne infekcije varijantnom CJB putem transfuzije pripravka eritrocita (3 slučaja) [27].

Inkubacijsko razdoblje za iCJB je nepoznato i vjerojatno ovisi o načinu prijenosa. Jedna je studija procijenila

prosječnu duljinu trajanja inkubacije 9 – 10 godina [28, 29]. Ipak, opisani su slučajevi u kojima je inkubacija trajala i do 30 godina [28, 30, 31]. Obiteljski oblik CJB čini 5 – 15 % slučajeva CJB, a javlja se kao posljedica mutacije PRNP gena. Veća je učestalost fCJB u određenim zemljopisnim područjima uključujući dijelove sjeverne Afrike, Izraela, Italije i Slovačke [32 – 36]. Nova varijanta CJB javlja se kao posljedica prijenosa bolesti s goveda oboljelih od goveđe spongiformne encefalopatije, a do infekcije dolazi nakon jedenja mesnih produkata bolesnih životinja. Nova varijanta CJB prvo je zabilježena u ožujku 1996. u Velikoj Britaniji. Javlja se u prosječnoj životnoj dobi od 28 godina, a razlikuje se od sCJB po kliničkoj prezentaciji te po neuropatološkom nalazu [37].

Dvije glavne kliničke manifestacije sCJB su brzo progresivno mentalno propadanje i mioklonus [38]. Prosječno trajanje bolesti je 4–5 mjeseci, a smrtni ishod obično nastupa unutar godinu dana od pojave prvih simptoma bolesti. Mentalno propadanje se može manifestirati kao demencija, poremećaji ponašanja te slabljenja viših moždanih funkcija. Čest rani znak bolesti je slabljenje pamćenja, koncentracije i rasuđivanja. Učestale su promjene raspoloženja u vidu apatije i depresije, a rjeđe se susreću euforija, emocionalna labilnost i anksioznost. Mogući znak bolesti mogu biti i poremećaji spavanja češće u vidu hipersomnije nego insomnije. Kako bolest napreduje najdominantniji znak je brzo progresivna demencija. Kod 2/3 bolesnika javljaju se ekstrapiramidalne smetnje u vidu hipokinezije i cerebelarnih smetnji uključujući ataksiju i nistagmus. U 40 do 80 % bolesnika javljaju se i znakovi zahvaćanja kortikospinalnog trakta uključujući hiperrefleksiju, ekstenzorne plantarne odgovore i spastičnost [39 – 41]. Klinički tijek bolesti kod vCJB je nešto sporiji s prosječnim trajanjem bolesti od 13 do 14 mjeseci. Češći su psihijatrijski poremećaji i poremećaji ponašanja te bolne parestezije [37].

Zlatni standard u dijagnostici CJB je biopsija mozga. Međutim, postoji veći broj testova koji uz kliničke znakove mogu biti od pomoći u postavljanju vjerojatne dijagnoze. Prema CDC-u kriteriji za dijagnozu vjerojatne sporadične CJB su progresivna demencija te prisutnost najmanje dvije od četiri značajke: mioklonus, vidni ili cerebelarni poremećaji, piramidalna/ekstrapiramidalna disfunkcija i akinetički mutizam. Naredni kriterij je atipični EEG i/ili pozitivan nalaz 14-3-3 proteina u cerebrospinalnom likvoru i/ili karakterističan nalaz MRI u vidu hiperintenzivne lezije u nukleusu kaudatusu i/ili putamenu na DWI ili FLAIR [42]. Definitivna dijagnoza obuhvaća gore navedene kriterije u kombinaciji s jednim ili više sljedećih neuropatoloških nalaza: gubitak neurona, gliozna, spongiformna degeneracija ili plakovi pozitivni na PrPSc u patohistološkom nalazu moždanog tkiva, potom pozitivno bojanje na PrPSc nakon tretiranja moždanog tkiva proteinazom K kako bi se uništila PrPC reaktivnost ili pozitivan *histoblotting* na PrPSc. Jedan od mogućih krite-

rija je i prijenos karakteristične neurodegenerativne bolesti na eksperimentalne životinje ili dokaz mutacija PRNP gena [43]. CT mozga uglavnom je uredan te služi za isključivanje drugih dijagnoza. MRI mozga može doprinijeti dijagnozi, no negativan MRI ne može isključiti dijagnozu CJB. Najčešći MRI nalaz je hiperintenzivan signal u T2 i FLAIR tehnici u putamenu i glavi kaudatusa, a rjeđe se vide hiperintenzivna područja u T2 i FLAIR u globusu palidusu, talamusu, cerebralnom i cerebelarnom korteksu te bijeloj tvari kao i laminarne lezije u cerebralnom korteksu i malom mozgu. Za detekciju lezija vezanih uz CJB najosjetljivija je DWI tehnika osobito za kortikalne promjene [44]. EEG nalaz ima karakterističan uzorak u vidu periodičnih sinkronih bifazičnih ili trifazičnih kompleksa oštih valova (PSWC). PSWC se ne pojavljuju kod bolesnika s varijantom CJB [45]. U dijagnostici se koriste i proteinski markeri u likvoru poput 14-3-3 proteina. Rjeđe korišteni proteinski markeri su S100 protein, neuron-specifična enolaza, timozin $\beta 4$ te tau protein [46 – 50]. Rutinski biokemijski nalazi kod CJB obično su uredni, osim povremeno povišenih jetrenih enzima [51]. Biokemijskom analizom likvora ne nalazi se pleocitoza niti hipoglikorahija, a proteinorahija je prisutna u otprilike 40 % pacijenata [52]. Jedini definitivni dokaz bolesti i zlatni standard je patohistološka analiza tkiva mozga uzetog tijekom obdukcije ili biopsijom mozga te dokaz na proteaze rezistentnog PrPSc imunohistokemijskim metodama poput ELISA-e, Western blot metode ili CDI (*conformation-dependent immunoassay*). Glavne histološke karakteristike prionskih bolesti su spongiformne promjene u vidu vakuolizacije, gubitak neurona bez znakova upale te odlaganje abnormalnog prionskog proteina. U većini slučajeva prisutna je atrofija moždanog tkiva koja može uključivati i bazalne ganglije, no za razliku od Alzheimerove bolesti, hipokampus je pošteđen [37, 53].

Za sada ne postoji učinkovita metoda liječenja CJB već se provodi samo suportivno i simptomatsko liječenje. Djelomična stabilizacija ili poboljšanje bolesti ostvarena je, prema nekim izvještajima, primjenom amantadina [54], vidarabina [55] i metizoprinola [56], dok je liječenje aciklovirom [57], interferonom [58], polianionima [59] i amfotericinom B [60] bilo bez dokazane učinkovitosti.

Prikaz slučaja

Kod 58-godišnjeg bolesnika započela je neurološka simptomatologija sredinom ožujka 2012. godine pojavom parestezija desne šake u području C7–C8 dermatoma. Neuroradiološkom obradom mozga verificiran je uredan nalaz, dok je nalaz MR kralježnice pokazao protruziju diska u nivou C5–C6 uz znakove mijelopatije. Na temelju ovog nalaza, dana 29. ožujka 2012. bolesniku je u OB Varaždin učinjen neurokirurški zahvat: prednja cervikalna diskektomija s fuzijom.

Sredinom travnja 2012. godine intenziviraju se kod bolesnika parestezije u desnoj ruci uz nespretnost iste. Kontrolni MR mozga i vratne kralješnice pokazao je uredan postoperativni nalaz, a učinjenom likvorskom analizom nije dokazana upalna pleocitoza. Nalaz EEG-a bio je uredan. Zbog progresije neurološke simptomatologije bolesnik je hospitaliziran na neurološkom odjelu OB Varaždin u svibnju 2012. godine. U neurološkom statusu prati se razvoj desnostrane diskretne faciopareze uz hemiglosoparezu. Uočava se usporenost u kretanjama i nestabilnost u hodu uz nevoljne kretnje desnom rukom tipa hipertonusa s distoničkim elementima, kao i otežan govor, usporen misaoni tijek te sniženo raspoloženje. Verificiran je gubitak na tjelesnoj težini od 8 kilograma. Nalaz ponovljene lumbalne punkcije i MSCT-angiografije krvnih žila glave i vrata bio je uredan, nalaz dok se u EEG-u uočavaju dizritmičke promjene lijevo fronto-temporalno. U daljem tijeku bolesti u neurološkom statusu prati se pojava dvoslika, ataksije i mioklonija desnih ekstremiteta. Provedeno je simptomatsko liječenje klonazepamom, losartan-hidroklorotiazidom, escitalopramom i acetilsalicilnom kiselinom.

Kako neurološki simptomi progrediraju, bolesnik se koncem svibnja premješta na Kliniku za neurologiju KBC Zagreb. Na ponovljenom MR-u mozga opisana je asimetrija u području bazalnih ganglija s voluminoznijim nukleusom kaudatusom s lijeve strane koji je pokazivao restrikciju difuzije na DWI snimkama i ACD mapi. Promjena je naročito bila izražena u području glave nukleusa kaudatusa. U EEG-u su opisane difuzne dizritmičke promijene s fokusom lijevo fronto-temporo-bazalno uz elemente dvogrbi i trogrbi delta valova s učestalom paroksizmalnom tendencijom te elementima abortivnog šiljak-val kompleksa. U cerebrospinalnom likvoru je dokazana prisutnost 14-3-3 proteina. Temeljem učinjene obrade uz prateću kliničku simptomatologiju postavljena je dijagnoza vjerojatnog sporadičnog oblika CJB. U neurološkom statusu razvija se potom rigor na svim ekstremitetima, nemogućnost vertikalizacije, razvoj mutizma i smetnje gutanja. Liječenje je usmjereno na kupiranje mioklinizama klonazepamom i levotiracetamom.

Sredinom lipnja bolesnik je u terminalnom stadiju neurološke bolesti premješten na Odjel za infektivne bolesti OB Varaždin u svrhu nastavka liječenja hospitalno zadbivene pneumonije. Dan kasnije Povjerenstvu za sprječavanje i suzbijanje bolničkih infekcija OB Varaždin dojavljen je smrtni ishod 58-godišnjeg bolesnika s dijagnozom sporadičnog oblika CJB zbog čega se donose mjere o načinu postupanja s prostorima, opremom i instrumentima koji su potencijalno kontaminirani prionima. Bolesnička soba u kojoj je boravio bolesnik, uključujući kontaktne površine namještaja, dekontaminirana je upotrebom 10 000 ppm klora, dok je pribor s kojim je bolesnik bio u kontaktu, uključujući krevetninu i madrac, termički uništen.

Osnovni problem predstavljala je činjenica da je bolesnik koncem ožujka neurokirurški operiran u našoj ustanovi dok još nije postojala sumnja na CJB, a nakon operativnog zahvata neurokirurški instrumenti nisu dekontaminirani niti sterilizirani po protokolu za prione. Potom je u razdoblju od 2,5 mjeseca neurokirurški operirano još 29 bolesnika s istim instrumentima koji su potencijalno bili kontaminirani prionima. Isti su instrumenti bili upotrebjeni i kod bolesnika kod kojih je izvršena donorska eksplantacija organa, uz napomenu da rožnica nije bila eksplantirana niti u jednog bolesnika.

Povjerenstvo je stoga donijelo odredbu da se svi neurokirurški instrumenti stave izvan upotrebe. Samim time zaustavljen je cjelokupni neurokirurški operativni program izuzevši vitalnih indikacija u kojima bi se upotrijebili postojeći neurokirurški instrumenti, a koji su naknadno tretirani po principu dekontaminacije za prione i autoklavirani na 134 °C tijekom 18 minuta [61]. Naravno, svjesni smo bili vremenskog odmaka dekontaminacije instrumenata u odnosu na termin neurokirurškog zahvata te samim time i fiksacije proteina i potencijalnih priona na površine instrumenata.

Zbog potrebe postavljanja definitivne dijagnoze prionske bolesti patohistološkom analizom mozga, učinjena je obdukcija pokojnika u našoj ustanovi. Tijekom obdukcije liječnik i asistent su za osobnu zaštitu koristili nepropusnu odjeću i obuću, kape, vizire, maske N95 te žičane rukavice. Tijelo pokojnika je pri obdukciji stavljeno u plastičnu vreću sa zatvaračem, a po završenoj obdukciji smješteno je u lijes izrađen od mekog drveta bez metalnih i plastičnih spojeva. Zbog potrebe transporta lijesa na kremiranje isti je stavljen u veći metalni lijes. Nakon završene obdukcije sredstva osobne zaštite odložena su u crvenu vreću koja je potom stavljena u nepropusni kartonski kontejner koji je termički uništen. Odukcijaska sala je dekontaminirana upotrebom 10 000 ppm klora, a obdukcijски instrumenti su nakon upotrebe potopljeni u otopinu 0,1N NaOH i tako potopljeni autoklavirani u Odsjeku sterilizacije na 134 °C tijekom 18 minuta te su ostali u autoklavu još 2,5 – 3 sata prema propisanim preporukama [62, 63].

Patohistološka analiza mozga provedena je u Kliničkom institutu za neurologiju Medicinskog fakulteta u Beču gdje je potvrđena dijagnoza CJB. Neuropatološkim pregledom mozga uočene su spongiformne promjene neuropila u većini istraživanih anatomske regije, no dominantno u parijetalnom i okcipitalnom korteksu, uz pridružen gubitak neurona i reaktivnu astrocitozu. PrP imunobojenjem dokazani su sinaptički imunodepoziti.

Uvidom u protokol operativnog liječenja našeg bolesnika uočena je ključna činjenica da tijekom neurokirurškog zahvata nije bilo manipulacije s tvrdom moždanom ovojnicom niti je za vrijeme operacije došlo do likvoreje. Zahvat je započeo poprečnom incizijom kože i tankog potkožja na vratu u dužini od oko 5 cm. Presječna

je platizma te se u avaskularnom sloju fascije vrata pristupilo na prednju stranu vratne kralješnice. Učinjena je mikrodisektomija te je uklonjen sekvestar ekstrudiranog diska, a koji je bio utisnut prema spinalnom kanalu. Hernijacija diska bila je subligamentarna, što znači da je između sekvestra diska i duralne vreće bio sloj stražnjeg uzdužnog ligamenta. Sama distrakcija kralješaka učinjena je postavljanjem metalnih pinova u trupove susjednih kralješaka te je u intervertebralni prostor postavljen implantat i učinjena je dodatna fiksacija metalnom pločicom i vijcima.

Dakle, tijekom neurokirurškog zahvata nije došlo do kontakta neurokirurških instrumenata s bilo kojim dijelom živčanog sustava, već su oni bili u kontaktu s kožom, potkožjem, fascijama mišića, kostima i intervertebralnom hrskavicom. Uvažavajući proučenu literaturu, Povjerenstvo je došlo do zaključka da se prema smjernicama britanske grupe za kontrolu CJB [64] tkiva s kojima su naši neurokirurški instrumenti došli u kontakt ubrajaju u tkiva niske infektivnosti za prijenos priona. Prema kandskim smjernicama [65] ista tkiva s kojima se manipuliralo pri operativnom zahvatu označavaju se kao tkiva bez dokazane infektivnosti za prijenos priona. Prema ovim smjernicama procesuiranje neurokirurških instrumenata ne zahtijeva dodatne postupke, osim rutinskog postupka čišćenja i sterilizacije [64, 65]. Temeljem navedenih smjernica o postupanju s kirurškim instrumentima, kao i činjenice da tijekom našeg operativnog zahvata nije došlo do kontakta instrumenata s tkivima visokog niti srednjeg rizika za prijenos priona (leđnom moždinom, spinalnim ganglijima, durom mater), stav Povjerenstva je bio da se neurokirurški instrumenti ne unište niti da se tretiraju potencijalno kodirajućim agensima.

Ravnatelj bolnice je obavijestio Ministarstvo zdravlja o svim poduzetim mjerama i načinu postupanja s prostorima, opremom i neurokirurškim instrumentima koji su potencijalno kontaminirani prionima. Nakon patohistološke potvrde dijagnoze CJB Ministarstvo se očitovalo preporukom da se usprkos niskom riziku prijenosa priona svi korišteni neurokirurški instrumenti ipak dodatno tretiraju na način kako se preporučuje za kirurške instrumente koji su bili u mogućem kontaktu s prionima, a prema protokolu Svjetske zdravstvene organizacije. Po provedenom protokolu kirurški instrumenti mogu ponovno ići u daljnju upotrebu. Također je Povjerenstvo zatražilo mišljenje Ministarstva o daljnjem postupanju i praćenju 29 bolesnika koji su operirani nekima od ovih neurokirurških instrumenata. Stav Ministarstva je bio da, temeljem niskog rizika prijenosa priona instrumentima, nije potrebno daljnje informiranje pacijenata niti njihovih liječnika. Ministarstvo nas je izvijestilo da je Zavod za transplantaciju i biomedicinu obavijestio Eurotransplant i sve transplantacijske centre koji su bili uključeni u transplantaciju organa donora iz naše bolnice, a koji su prije eksplantacijskog postupka bili u mogućem kontaktu s prionima, a u svrhu dugoročnog praćenja primatelja organa.

Rasprava

Creutzfeldt-Jakobova bolest se ubraja u bolesti koje se u Hrvatskoj obvezno prijavljuju prema Zakonu o zaštiti pučanstva od zaraznih bolesti i Listi zaraznih bolesti čije je sprečavanje i suzbijanje od interesa za Republiku Hrvatsku. Prema istom Zakonu propisano je laboratorijsko ispitivanje kod pojave ili sumnje na CJB [66, 67]. Služba za epidemiologiju Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo izvještava o 1–2 slučaja oboljenja od CJB u Hrvatskoj godišnje u razdoblju od 2001. do 2012. godine, izuzev 2010. godine kada je prijavljeno 5 oboljelih. Svi do sada prijavljeni slučajevi obolijevanja u Hrvatskoj svrstani su u klasičnu formu CJB, dok varijanta CJB do sada nije zabilježena [68].

Opisani varaždinski slučaj oboljenja ubraja se u sporadični oblik CJB koji se pojavio u životnoj dobi od 58 godina karakterističnoj za ovaj oblik pojavnosti. Unutar 3 mjeseca od pojave prvih neuroloških simptoma došlo je do razvoja kliničke slike koja je uključivala kriterije temeljem kojih je dijagnoza sporadične CJB postala vjerojatna. Smrtni ishod nastupio je unutar 4 mjeseca od pojave brzo progresivnog mentalnog propadanja i mioklonusa.

Jatrogen prijenos priona putem kontaminiranih neurokirurških instrumenata opisan je kod tri bolesnika u Velikoj Britaniji, a jedan slučaj je dokumentiran u Francuskoj [27]. U OB Varaždin postojala je opasnost od potencijalnog prijenosa priona na 29 neurokirurški operiranih bolesnika te se iz ovih brojčanih podataka može razabrati veličina problema s kojim je bila suočena naša bolnica.

Case-control studije nisu našle povećan rizik od CJB kod zdravstvenih radnika. Uobičajeni fizički kontakt s oboljelim ne predstavlja nikakav rizik za prijenos bolesti te nisu potrebne posebne mjere zaštite prilikom njege bolesnika. Međutim, posebne mjere su potrebne pri izloženosti cerebrospinalnom likvoru i moždanom tkivu te se svi korišteni materijali i instrumenti moraju dekontaminirati prema utvrđenim protokolima [64, 65].

Kako u Hrvatskoj ne postoje nacionalne smjernice o mjerama za prevenciju širenja CJB, temeljili smo naše odluke na britanskim i kanadskim protokolima za kontrolu CJB [64, 65]. Prema britanskim smjernicama tkiva s kojima neurokirurški instrumenti dolaze u kontakt mogu se podijeliti u tkiva visoke, srednje ili niske infektivnosti za prijenos priona, dok se prema kanadskim smjernicama ista tkiva dijele u tkiva bez dokazane infektivnosti te u tkiva visoke i niske infektivnosti za prijenos priona. Ukoliko će neurokirurški instrumenti doći u kontakt s tkivima visokog ili srednjeg rizika za prijenos priona prema britanskim smjernicama, odnosno s tkivima visoke i niske infektivnosti za prijenos priona prema kanadskim smjernicama, preporuka je da se pri neurokirurškom zahvatu upotrijebe instrumenti za jednokratnu upotrebu. Nakon zahvata in-

strumente je potrebno uništiti ili staviti u karantenu kako bi se upotrijebili kod eventualne ponovne operacije na istom bolesniku. U slučaju kontakta neurokirurških instrumenata s tkivima niskog rizika za prijenos priona prema britanskim smjernicama ili tkivima bez dokazane infektivnosti za prijenos priona prema kanadskim smjernicama, nisu potrebne dodatne mjere tretiranja upotrijebljenih instrumenata osim rutinskih.

Tkiva s kojima su naši neurokirurški instrumenti došli u kontakt kategorizirana su prema britanskim smjernicama u tkiva niske infektivnosti, odnosno tkiva bez dokazane infektivnosti prema kanadskim smjernicama, te je samim time bilo dovoljno rutinsko čišćenje i sterilizacija instrumenata. Temeljem ovih smjernica varaždinski slučaj CJB svrstan je u kategoriju niskog rizika za daljnji prijenos priona neurokirurškim instrumentima te nije bilo potrebno daljnje informiranje pacijenata niti njihovih liječnika, a što je bio i stav Ministarstva zdravlja.

Zaključak

Iako je sporadična CJB rijedak oblik pojavnosti prijenosnih spongiformnih encefalopatija s prosječnom incidencijom od 1/1 000 000 slučajeva godišnje, nužna je izrada hrvatskih nacionalnih smjernica temeljem kojih će jasno biti definirane mjere i način postupanja s opremom i instrumentima u ovisnosti o riziku za prijenos priona. Smjernice bi trebale odgovoriti i na pitanje koji je nivo zdravstvenih ustanova zadužen za provođenje obdukcije i patohistološke analize mozga s obzirom da se radi o bolesti koja je svrstana u kategoriju zaraznih bolesti čije je sprječavanje i suzbijanje od interesa za Republiku Hrvatsku.

U postupku dekontaminacije priona ključno je izbjeći sušenje kirurških instrumenata na zraku obzirom da se proteini, a prema tome i prioni, fiksiraju na površine instrumenata. Kako jednom osušene instrumente nije moguće dekontaminirati, naša je sugestija da se i pri samoj sumnji na prionsku bolest u neurokirurški operiranog bolesnika provede tretiranje instrumenata po protokolu za prione kako bi se spriječio jatrogeni prijenos kontaminiranim instrumentima na druge neurokirurški operirane bolesnike. Naravno, ukoliko se radi o neurokirurškom zahvatu gdje će neurokirurški instrumenti doći u kontakt s tkivima visokog rizika za prijenos priona, nužna je primjena instrumenata za jednokratnu upotrebu.

Literatura

- [1] Prusiner SB. Shattuck lecture-neurodegenerative diseases and prions. *N Engl J Med* 2001; 344: 1516.
- [2] McKintosh E, Tabrizi SJ, Collinge J. Prion diseases. *J Neurovirol* 2003; 9: 183.
- [3] Sy MS, Gambetti P, Wong BS. Human prion diseases. *Med Clin North Am* 2002; 86: 551.
- [4] Glatzel M, Stoeck K, Seeger H, i sur. Human prion diseases: molecular and clinical aspects. *Arch Neur* 2005; 62: 545.
- [5] Gambetti P, Dong Z, Yuan J, i sur. A novel human disease with abnormal prion protein sensitive to protease. *Ann Neurol* 2008; 63: 697.
- [6] WHO Infection Control Guidelines for Transmissible Spongiform Encephalopathies, Report of a WHO consultation, Geneva, Switzerland, 23 – 26 March 1999.
- [7] Prusiner SB. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 1982;216:136–44.
- [8] Prusiner SB. Prions Nobel Lecture 1997. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1998; 95: 13363–83.
- [9] Manuelidis L. A 25 nm virion is the likely cause of transmissible spongiform encephalopathies. *J Cell Biochem* 2007; 100: 897–915.
- [10] Oesch B, Westaway D, Wälchli M, i sur. A cellular gene encodes scrapie PrP 27-30 Protein. *Cell* 1985; 40: 735–46.
- [11] Sparkes RS, Simon M, Cohn VH, i sur. Assignment of the human and mouse prion protein genes to homologous chromosomes. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1986; 83: 7358–62.
- [12] Downing DT, Lazo ND. Molecular modelling indicates that the pathological conformations of prion proteins might be beta-helical. *Biochem J* 1999; 343 Pt 2: 453.
- [13] Harrison PM, Chan HS, Prusiner SB, Cohen FE. Thermodynamics of model prions and its implications for the problem of prion protein folding. *J Mol Biol* 1999; 286; 593.
- [14] Prusiner SB, McKinley MP, Bowman KA, i sur. Scrapie prions aggregate to form amyloid-like birefringent rods. *Cell* 1983; 35: 349.
- [15] Bueler H, Aguzzi A, Sailer A, i sur. Mice devoid of PrP are resistant to scrapie. *Cell* 1993; 73: 1339.
- [16] Bueler H, Fischer M, Lang Y, i sur. Normal development and behaviour of mice lacking the neuronal cell-surface PrP protein. *Nature* 1992; 356: 577.
- [17] Cohen FE, Prusiner SB. Pathologic conformations of prion proteins. *Annu Rev Biochem* 1998; 67: 793.
- [18] Wadsworth JD, Joiner S, Linehan JM, i sur. Phenotypic heterogeneity in inherited prion disease (P102L) is associated with differential propagation of protease-resistant wild-type and mutant prion protein. *Brain* 2006; 129: 1557–69.
- [19] Synofzik M, Bauer P, Schöls L. Prion mutation D178N with highly variable disease onset and phenotype. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2009; 80: 345–6.
- [20] Mancuso M, Siciliano G, Capellari S, i sur. Creutzfeldt-Jakob disease with E200K PRNP mutation: a case report and revision of the literature. *Neurol Sci* 2009; 30: 417–20.
- [21] Moore RA, Herzog C, Errett J, i sur. Octapeptide repeat insertions increase the rate of protease-resistant prion protein formation. *Protein Sci* 2006; 15: 609–19.
- [22] Jung M. Spongiformna encefalopatija (1920.-2010.) *Infektološki glasnik* 2010; 30:4, 177–194.
- [23] Ladogana A, Puopolo M, Croes EA, i sur. Mortality from Creutzfeldt-Jakob disease and related disorders in Europe, Australia, and Canada. *Neurology* 2005; 64: 1586.

- [24] Brown P, Cathala F, Raubertas RF, i sur. The epidemiology of Creutzfeldt-Jakob disease: conclusion of a 15-year investigation in France and review of the world literature. *Neurology* 1987; 37: 895.
- [25] Maddox RA, Holman RC, Belay ED, i sur. Creutzfeldt-Jakob disease among American Indians and Alaska Natives in the United States. *Neurology* 2006; 66: 439.
- [26] Gibbons RV, Holman RC, Belay ED, Schonberger LB. Creutzfeldt-Jakob disease in the United States: 1979–1998. *JAMA* 2000; 284: 2322.
- [27] Brown P, Brandel JP, Sato T, i sur. Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease, final assessment. *Emerg Infect Dis* 2012; 18: 901–7.
- [28] Huillard d'Aignaux J, Costagliola D, Maccario J, i sur. Incubation period of Creutzfeldt-Jakob disease in human growth hormone recipients in France. *Neurology* 1999; 53: 1197.
- [29] Heath CA, Barker RA, Esmonde TF, i sur. Dura mater associated Creutzfeldt-Jakob disease: experience from surveillance in the UK. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2006; 77: 880.
- [30] Furtner M, Gelpi E, Kiechl S, i sur. Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease 22 years after human growth hormone therapy: clinical and radiological features. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2008; 79: 229.
- [31] Swerdlow AJ, Higgins CD, Adlard P, i sur. Creutzfeldt-Jakob disease in United Kingdom patients treated with human pituitary growth hormone. *Neurology* 2003; 61: 783.
- [32] Meiner Z, Gabizon R, Prusiner SB. Familial Creutzfeldt-Jakob disease. Codon 200 prion disease in Libyan Jews. *Medicine (Baltimore)* 1997; 76: 227.
- [33] Brown P, Gálvez S, Goldfarb LG, i sur. Familial Creutzfeldt-Jakob disease in Chile is associated with the codon 200 mutation of the PRNP amyloid precursor gene on chromosome 20. *J Neurol Sci* 1992; 112: 65.
- [34] Kovács GG, László L, Bakos A, i sur. Increased incidence of genetic human prion disease in Hungary. *Neurology* 2005; 65: 1666.
- [35] Mitrova E, Belay G. Creutzfeldt-Jakob disease with E200K mutation in Slovakia: characterization and development. *Acta Virol* 2002; 46: 31.
- [36] Ladogana A, Puopolo M, Poleggi A, i sur. High incidence of genetic human transmissible spongiform encephalopathies in Italy. *Neurology* 2005; 64: 1592.
- [37] Will RG, Ironside JW, Zeidler M, i sur. A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet* 1996; 347: 921–25.
- [38] Haywood AM. Transmissible spongiform encephalopathies. *N Engl J Med* 1997; 337: 1821–8.
- [39] Rabinovici GD, Wang PN, Levin J, i sur. First symptom in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* 2006; 66: 286.
- [40] Meissner B, Körtner K, Bartl M, i sur. Sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: magnetic resonance imaging and clinical findings. *Neurology* 2004; 63: 450.
- [41] Landolt HP, Glatzel M, Blattler T, i sur. Sleep-wake disturbances in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* 2006; 66: 1418.
- [42] CDC's Diagnostic Criteria for Creutzfeldt-Jakob Disease (CJD), 2010
http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/cjd/diagnostic_criteria.html
(Accessed on June 07, 2011).
- [43] Safar JG, Geschwind MD, Deering C, i sur. Diagnosis of human prion disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 3501.
- [44] Collie DA, Sellar RJ, Zeidler M, i sur. MRI of Creutzfeldt-Jakob disease: imaging features and recommended MRI protocol. *Clin Radiol* 2001; 56: 726.
- [45] Steinhoff BJ, Racker S, Herrendorf G, i sur. Accuracy and reliability of periodic sharp wave complexes in Creutzfeldt-Jakob disease. *Arch Neurol* 1996; 53: 162.
- [46] Chohan G, Pennington C, Mackenzie JM, i sur. The role of cerebrospinal fluid 14-3-3 and other proteins in the diagnosis of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease in the UK: a 10-year review. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2010; 81: 1243.
- [47] Muayqil T, Gronseth G, Camicioli R. Evidence based guideline: Diagnostic accuracy of CSF 14-3-3 protein in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: report of the guideline development subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 2012; 79: 1499.
- [48] Krasnianski A, Meissner B, Schulz-Schaeffer W, i sur. Clinical features and diagnosis of the MM2 cortical subtype of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Arch Neurol* 2006; 63: 876.
- [49] Le Pera M, Urso E, Sprovieri T, i sur. Contribution of cerebrospinal fluid thymosin β 4 levels to the clinical differentiation of Creutzfeldt-Jakob disease. *Arch Neurol* 2012; 69: 868.
- [50] Hamlin C, Puoti G, Berri S, i sur. A comparison of tau and 14-3-3 protein in the diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* 2012; 79: 547.
- [51] Tanaka M, Iizuka O, Yuasa T. Hepatic dysfunction in Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* 1992; 42: 1249.
- [52] Zeidler M, Green A. Advances in diagnosing Creutzfeldt-Jakob disease with MRI and CSF 14-3-3 protein analysis. *Neurology* 2004; 63: 410.
- [53] Budka H, Aguzzi A, Brown P, i sur. Neuropathological Diagnostic Criteria for Creutzfeldt-Jakob Disease (CJD) and Other Human Spongiform Encephalopathies (Prion Diseases). *Brain pathology Volume 5, Issue 4, pages 459–466, October 1995.*
- [54] Sanders WL. Creutzfeldt-Jakob disease treated with amantadine. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1979; 42: 960–1.
- [55] Furlow TW, Whitley RJ, Wilmes FJ. Repeated suppression of Creutzfeldt-Jakob disease with vidarabine. *Lancet* 1982; 320: 564–5.
- [56] Villa G, Caltagirone C, Macchi G. Unusual clinical course in a case of Creutzfeldt-Jakob disease. *The Italian Journal of Neurological Sciences* 1982; 3: 155–8.
- [57] David AS, Grant R, Ballantyne JP. Unsuccessful treatment of Creutzfeldt-Jakob disease with acyclovir. *Lancet* 1984; 323: 512–3.
- [58] Kovanen J, Haltia M, Cantell K. Failure of interferon to modify Creutzfeldt-Jakob disease. *Br Med J* 1980; 280: 902.
- [59] Valerie LS. Prion Disease: Chemotherapeutic Strategies, Infectious disorders- Drug targets 2012; 12: 144–60.
- [60] Masullo C, Macchi G, Xi YG, Pocchiari M. Failure to ameliorate Creutzfeldt-Jakob disease with amphotericin B therapy. *J Infect Dis* 1992; 165: 784–5.
- [61] WHO infection control guidelines for transmissible spongiform encephalopathies. Report of a WHO consultation, Geneva, Switzerland, 23–26 March 1999.
- [62] Jung MJ, Pistolesi D, Pana A. Prions, prion diseases and decontamination. *Ig. Sanita Pubbl* 2003; LIX(5): 331–4.

- [63] Jung MJ, Pistolesi D, Pana A. Prion diseases and iatrogenic infections II. Decontamination. *Ig. Sanita Pubbl.* 2005.
- [64] Minimise transmission risk of CJD and vCJD in healthcare settings – Guidance on prevention of CJD and vCJD by Advisory Committee on Dangerous Pathogens' Transmissible Spongiform Encephalopathy (ACDP TSE) Risk Management Subgroup; Department of Health United Kingdom.
<https://www.gov.uk/government/publications/guidance-from-the-acdp-tse-risk-management-subgroup-formerly-tse-working-group>
- [65] Infection Control Guidelines, Classic Creutzfeldt-Jakob Disease in Canada; *Canada Communicable Disease Report (CCDR)* ISSN 1188–4169, Vol. 28S5, November 2002.
- [66] Zakonu o zaštiti pučanstva od zaraznih bolesti; *Narodne novine*, broj 79/2007, 113/2008, 43/2009.
- [67] Lista zaraznih bolesti čije je sprečavanje i suzbijanje od interesa za Republiku Hrvatsku; NN 79/2009.
- [68] Izvor podataka: Služba za epidemiologiju, Hrvatski zavod za javno zdravstvo