



www.efbs.admin.ch



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Swiss Confederation

Eidgenössische Fachkommission für biologische Sicherheit EFBS
Commission fédérale d'experts pour la sécurité biologique CFSB
Commissione federale per la sicurezza biologica CFSB
Cumissiun federala per la segirezza biologica CFSB

Swiss Expert Committee for Biosafety SECB

Empfehlung der EFBS

zur Einstufung von Tätigkeiten mit Prion-Genen und Prion-Proteinen

Januar 2013

Eidgenössische Fachkommission für biologische Sicherheit,
c/o Bundesamt für Umwelt BAFU, 3003 Bern
Tel. +41 58 46 303 55
info@efbs.admin.ch
<http://www.efbs.admin.ch>

Inhalt

1. Einführung	3
2. Rechtliche Grundlage	3
3. Sicherheitsmassnahmen für Arbeiten mit TSE-Erregern	3
4. Überlegungen zur Risikobewertung für Arbeiten mit Prion-Proteinen und Prion-Genen.....	4
5. Klassierung von Arbeiten mit TSE-Erregern	5
5.1 Tiere	5
5.2 Gewebe	5
5.3 Übersicht über die Einstufung von Arbeiten mit PrP-Genen.....	5
5.4 Übersicht über die Klassierung von pathologischen Arbeiten mit Prionen.....	6
6. Literatur	7

1. Einführung

Prionen (vom engl. *proteinaceous infectious particle*) sind proteinartige infektiöse Partikel, die neurodegenerative Krankheiten wie Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (CJD) und Kuru beim Menschen und Bovine spongiforme Enzephalopathie (BSE) und Scrapie bei Tieren verursachen. Der Überbegriff für diese Krankheiten ist transmissible (übertragbare) spongiforme Enzephalopathien (TSE) und dieser wird in dieser Empfehlung verwendet. Ein Prion stammt von einem PrP-Gen. Die Transkription und Translation dieses Gens generiert das physiologische, apathogene PrP-Protein (PrP^c; c für zellulär, engl. *cellular*). Der wesentliche, wenn nicht sogar der einzige Bestandteil von Prionen ist eine pathologisch fehlgefaltete Form des PrP-Proteins, das PrP^{sc} (sc für **S**crapie-assoziiert). PrP^{sc} führt wiederum zu einer weiteren Umfaltung von PrP^c zu PrP^{sc}, so dass es zu einer autokatalytischen Kettenreaktion kommt. Damit lagert sich PrP^{sc} in den betroffenen Geweben, vor allem im Gehirn, ab und führt dort zu irreversiblen letalen pathologischen Veränderungen. Prionen sind sowohl oral, als auch iatrogen oder über Verletzungen übertragbar. Damit besteht bei Personen die mit Prionen umgehen die Gefahr einer Infektion mit der Folge einer TSE.

2. Rechtliche Grundlage

- Erreger der TSE sind in Gruppe 3** eingestuft (BAFU Einstufung von Organismen: Viren; Stand Dezember 2011).
- Die Klassierung in Gruppe 3** wird für Organismen verwendet, welche ein begrenztes Infektionsrisiko für Arbeitnehmer beinhalten, weil eine Infizierung über den Luftweg normalerweise nicht erfolgen kann. Eine Übertragung kann lediglich über Kontakt mit infiziertem Gewebe, Körperflüssigkeiten oder kontaminierten medizinischen Instrumente erfolgen.
- Es gilt heute als sicher, dass der Mensch sich durch orale Aufnahme des Erregers mit BSE infizieren kann. Daher müssen diese Arbeiten in Laboratorien der Sicherheitsstufe 3 durchgeführt werden, wobei das Weglassen gewisser Sicherheitsmassnahmen beantragt werden kann (siehe unten).
- Bei anderen tierischen TSEs (Scrapie, Chronic wasting disease (CWD)) konnte ein Zusammenhang mit menschlichen TSEs bisher nicht hergestellt werden. Da genügen die Sicherheitsmassnahmen eines Stufe 2 Labors.

3. Sicherheitsmassnahmen für Arbeiten mit TSE-Erregern

- Das Labor muss den Sicherheitsmassnahmen der Stufe 3 genügen, es kann aber das Weglassen gewisser Sicherheitsmassnahmen beantragen (siehe unten).
- Eine Schleuse mit Wasch- und Desinfektionsmöglichkeit muss vorhanden sein, auf die Dusche kann jedoch verzichtet werden.
- Alle Arbeiten, bei denen Aerosole entstehen können, müssen in einer mikrobiologischen Sicherheitswerkbank der Klasse II durchgeführt werden.
- Ein Autoklav muss die Temperatur von 134°C erreichen können und validiert sein. Zudem muss er, wenn möglich im gleichen Labor, sicher aber im gleichen Gebäude vorhanden sein.
- Abfälle und Abwasser müssen dekontaminiert werden.
- Eine Auflistung des Laborpersonals, welches mit Prionen in Kontakt war, muss mindestens für die in der ESV und SAMV vorgeschriebene Dauer aufbewahrt werden.

Massnahmen, auf welche bei Arbeiten mit Prionen verzichtet werden können, da die Gefahr für die Umwelt relativ gering ist:

- Filtrierung der austretenden Luft aus dem Labor mittels HEPA Filter;
- Unterdruck im Labor;
- Abdichtbarkeit zum Zweck der Begasung, da Prionen durch Begasung (z. B. Formaldehyd) nicht zerstört werden können.

4. Überlegungen zur Risikobewertung für Arbeiten mit Prion-Proteinen und Prion-Genen

Folgende Erkenntnisse aus wissenschaftlichen Studien müssen beachtet werden, wenn Risiken im Umgang mit Prionen bewertet werden. Dabei sollen auch Arbeiten mit nativen und mutierten, rekombinanten Prion-Proteinen in die Überlegungen einbezogen werden.

- Experimentelle Studien über Scrapie in Mäusen und Hamstern werden schon seit mehreren Jahrzehnten durchgeführt. Es gibt keine Hinweise, dass das Scrapie-Agens für beruflich exponierte Personen sowie für Mensch und Umwelt ein erhöhtes Risiko darstellt. Bis jetzt wurde nie nachgewiesen, dass Scrapie für den Menschen ansteckend ist. Daher können Nagetiere, welche mit Scrapie-Erregern infiziert sind, unter den gleichen Sicherheitsvorkehrungen gehandhabt werden wie Nagetiere, die mit natürlichen, ausschliesslich mauspathogenen Organismen (in Gruppe 2 eingestuft) infiziert sind.
- Es wurde gezeigt, dass die Primärstruktur des Prion-Proteins bei der Übertragung der Prionen von einer Spezies auf eine andere eine wichtige Rolle spielt (Prusiner et al., 1990; Colby et al., 2011). Die Sequenz des bovinen PrP-Genes zeigt eine höhere Homologie zur Sequenz des menschlichen Gens als die Sequenz des Maus- oder Hamster-Gens (Gabriel et al., 1992). Obwohl eine Übertragung von bovinen TSE-Erregern auf den Menschen möglich ist, scheint es unwahrscheinlich, dass Maus- oder Hamster-spezifische TSE-Erreger auf den Menschen überspringen können.
- Inzwischen ist es möglich, natives rekombinantes PrP^c oder auch PrP^c aus Gewebeextrakten in infektiöse Prionen (PrP^{Sc}) umzuwandeln. Vor allem bei der Verwendung der sog. PMCA Technik (Protein Misfolding Cyclic Amplification), können infektiöse Prionen effizient im Labor vermehrt werden (Castilla et al., 2005 ; Wang et al., 2010). Dies muss bei der Risikobewertung unbedingt berücksichtigt werden.
- Gewisse Tätigkeiten mit PrP-Genen sollten mit Vorsicht angegangen werden. Aufgrund der derzeitigen Wissenslücken stellen folgende Arbeiten ein Risiko für Mensch und Umwelt dar: (1) Klonierung von nativen PrP-Genen in Empfängerorganismen, die sich im/auf Menschen replizieren können und (2) Expression von PrP-Genen in prokaryontischen und eukaryontischen Expressionssystemen, bei denen die Möglichkeit besteht, infektiöses PrP^{Sc} zu produzieren.
- Mutationen in der DNA-Sequenz des PrP-Gens, ohne Empfängerorganismus, stellt nach dem jetzigen Stand der Wissenschaft ein vernachlässigbares Risiko dar. Daher kann diese Tätigkeit in die Klasse 1 eingestuft werden.

5. Klassierung von Arbeiten mit TSE-Erregern

Basierend auf obiger Risikobewertung können folgende Empfehlungen für Arbeiten mit Prionen und Prion-Proteinen gemacht werden (siehe auch untenstehende Tabelle):

5.1 Tiere

- Autopsien von erkrankten Rindern sollen gemäss Tierseuchenverordnung unter Massnahmen der Sicherheitsstufe 2 durchgeführt werden (siehe Grafik auf S. 6).
- Infizierte Rinder können zu Forschungszwecken in der Sicherheitsstufe 1 gehalten werden, da eine Übertragung via Aerosol praktisch auszuschliessen ist.
- Tätigkeiten mit Tieren, die mit Nagetier-adaptierten Scrapie-Prionen infiziert sind, d.h. Tierhaltung / -pflege, invasive Eingriffe (z.B. Inokulation mit Prionen) sowie *post mortem* Untersuchungen und Gewebeentnahmen von Tieren, werden der Klasse 2 zugeordnet.
- Tätigkeiten mit Mäusen und Hamstern, die mit BSE-Prionen, BSE-verwandten Prionen oder menschlichen TSE-Erregern infiziert sind (d.h. Tierhaltung / -pflege), werden der Klasse 2 zugeteilt. Eine Verminderung des Risikos von Biss- und Kratzverletzungen wird erreicht, indem die Tiere mit einer langen, stumpfen Pinzette gehandhabt werden. Invasive Eingriffe (z.B. Inokulation mit TSE-Erregern) sowie *post mortem* Untersuchungen von infizierten Tieren und Gewebeentnahmen werden der Klasse 3 zugeordnet.

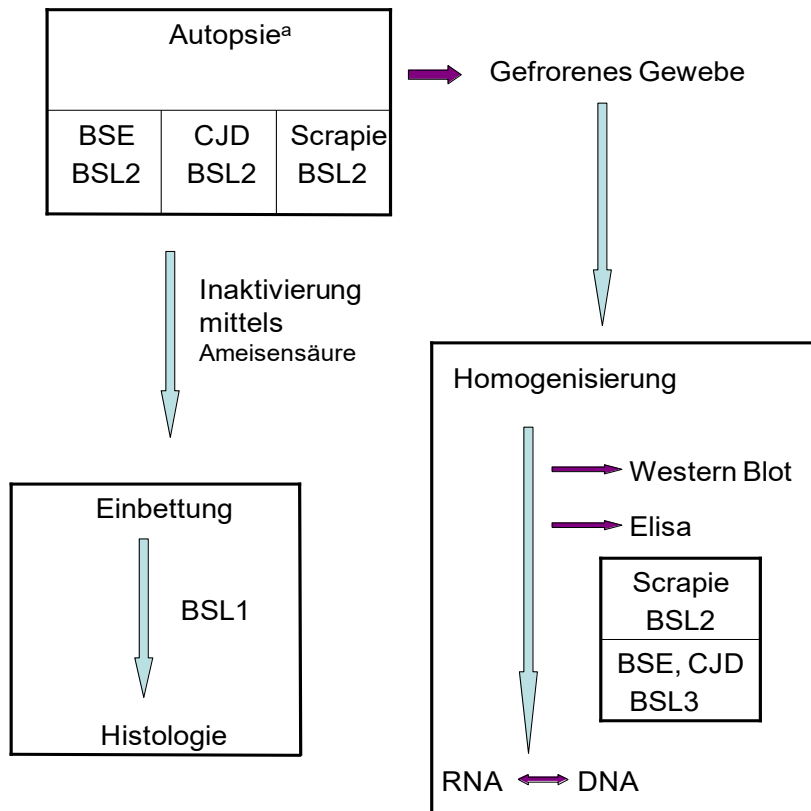
5.2 Gewebe

Alle experimentellen Arbeiten mit lymphoiden und neuralen Geweben von Tieren, welche Nagetier-adaptierte Scrapie-Prionen enthalten, werden der Klasse 2 zugeordnet. Experimentelle Tätigkeiten mit Geweben von Menschen und Tieren, die menschliche oder bovine TSE-Erreger enthalten, werden als Klasse 3 eingestuft.

5.3 Übersicht über die Einstufung von Arbeiten mit PrP-Genen in Klassen

	Herkunft der PrP-Gene			
	Schaf, Nager		Rind, Mensch	
Klonierung der DNA in Plasmid mit nicht aktivem Promotor	1		1	
	Zustand des Proteins			
	PrP ^c	PrP ^{Sc}	PrP ^c	PrP ^{Sc}
Expression in prokaryontischen und eukaryontischen Expressionssystemen, die im/auf Menschen nicht replizieren	1	2	1	2
Expression in Empfängern, die im/auf Menschen replizieren	1	2	2	3

5.4 Übersicht über die Klassierung von pathologischen Arbeiten mit Prionen



a) Bei Autopsien von Menschen und Grossvieh müssen spezifische Klinische Massnahmen angewendet werden

6. Literatur

- Advisory Committee on Dangerous Pathogens, Spongiform Encephalopathy Advisory Committee. Transmissible spongiform encephalopathy agents: safe working and the prevention of infection. London (1998). HSE Books, PO Box 1999, Sudbury, Suffolk CO10 6FS.
- Prusiner SB, Scott M, Foster D, Pan KM, Groth D, Miranda C, Torchia M, Yang SL, Serban D, Carlson GA, et al. Transgenic studies implicate interactions between homologous PrP isoforms in scrapie prion replication. *Cell* **63**, 673-86 (1990).
- Colby DW and Prusiner B. *De novo* generation of prions. *Nature* **9**, 771-777 (2011).
- Gabriel JM, Oesch B, Kretzschmar H, Scott M, Prusiner SB. Molecular cloning of a candidate chicken prion protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* **89**, 9097-101 (1992).
- Richtlinie des Rates vom 26. November 1990 über den Schutz der Arbeitnehmer gegen Gefährdung durch biologische Arbeitsstoffe bei der Arbeit (90/679/EEC). Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften Nr. L 374/1 vom 31.12.1990, und Anpassungen bis und mit 6.12.1997 (97/65/EC).
- Risk assessment of laboratories involving the manipulation of unconventional agents causing TSE. (2009) isp/wiv.
- Guidance from the ACDP TSE Risk Management Subgroup: Minimise transmission risk of CJD and vCJD in healthcare settings
<https://www.gov.uk/government/publications/guidance-from-the-acdp-tse-risk-management-subgroup-formerly-tse-working-group>
- Castilla et al. In vitro generation of infectious scrapie prions (2005) *Cell* **121**, 195-206
- Deleault et al. Formation of native prions from minimal components in vitro (2007) *PNAS* **104**, 9741-9746
- Wang et al. Generating a prion with bacterially expressed recombinant prion protein (2012), *Science* **327**, 1132-1135