

Empfehlung des ABAS: Schutzmaßnahmen bei Tätigkeiten mit Transmissibler Spongiformer Enzephalopathie (TSE)-assoziierten Agenzien und proteopathischen Seeds weiterer neurodegenerativer Krankheiten in Laboratorien

Empfehlung des ABAS „Schutzmaßnahmen bei Tätigkeiten mit Transmissibler Spongiformer Enzephalopathie (TSE)-assoziierten Agenzien und proteopathischen Seeds weiterer neurodegenerativer Krankheiten in Laboratorien“

Der Ausschuss für Biologische Arbeitsstoffe (ABAS) hat zur Konkretisierung der Verordnung über Sicherheit und Gesundheitsschutz bei Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen (Biosstoffverordnung – BioStoffV [1]) zum Schutz der Beschäftigten Anforderungen an Laboratorien bei Tätigkeiten mit TSE-assoziierten Agenzien und proteopathischen Seeds ermittelt. Diese Empfehlung ersetzt den vormaligen Beschluss 603 des ABAS.

Inhalt:

1. Anwendungsbereich
2. Begriffsbestimmungen
3. Gefährdungsbeurteilung
4. Schutzmaßnahmen in Laboratorien
5. Inaktivierung und Dekontamination
6. Sofortmaßnahmen nach Kontakt mit TSE-assoziierten Agenzien

1 Anwendungsbereich

(1) Die Empfehlung gilt für gezielte und nicht gezielte Tätigkeiten mit TSE-assoziierten Agenzien. Diese sind gemäß §16 BioStoffV der für den Arbeitsschutz zuständigen Behörde anzuzeigen. Eine Ausnahme von der Anzeigepflicht stellt die nicht gezielte Tätigkeit mit dem Erreger der Scrapie (Risikogruppe 2) dar. Zusätzlich unterliegen die Tätigkeiten den Bestimmungen der Tierseuchenerreger-Verordnung oder dem Infektionsschutz-Gesetz (IfSG, Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen).

(2) Die Empfehlung gilt für Tätigkeiten mit TSE-assoziierten Agenzien in diagnostischen Laboratorien, Forschungslaboratorien, der Biotechnologie und der Versuchstierhaltung.

(3) Dies schließt auch den Umgang mit selbstreplizierenden, d. h. seeding-aktiven Formen von rekombinant hergestellten Prionproteinen ein, sofern gezielte Tätigkeiten durchgeführt werden, auf die in der Stellungnahme der ZKBS zur Risikobewertung von gentechnischen Arbeiten zur Expression von Prionproteinen [2] nicht Bezug genommen wird. Solche Tätigkeiten können z. B. die Aufreinigung von potenziell seeding-aktiven rekombinanten Prionproteinen aus Zell- und Gewebekulturen sowie deren weitere Prozessierung beinhalten. Die Empfehlung gilt in Anlehnung an die Regelung im Vereinigten Königreich [3, 4] auch für potenziell humanpathogene proteopathische Seeds neurodegenerativer Proteinaggregationskrankheiten (z. B. für Amyloid-beta- oder Tau-Seeds der Alzheimer-Krankheit oder alpha-Synuclein-Seeds der Parkinson-Krankheit oder der Demenz mit Lewy-Körperchen), wenn diese in konzentrierter, amplifizierter oder synthetisierter Form für biochemische, strukturelle oder Übertragungsstudien verwendet werden.

(4) Sie konkretisiert und ergänzt die in der TRBA 100 „Schutzmaßnahmen für Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen in Laboratorien“ beschriebenen Regelungen.

Empfehlung des ABAS: Schutzmaßnahmen bei Tätigkeiten mit Transmissibler Spongiformer Enzephalopathie (TSE)-assoziierten Agenzien und proteopathischen Seeds weiterer neurodegenerativer Krankheiten in Laboratorien

(5) Der Bereich der Probennahme und Obduktion in der Human- und Veterinärpathologie sowie bei Schlachttieren bzw. verendeten oder notgeschlachteten Tieren wird nicht durch diese Empfehlung geregelt. Für Obduktionen und Untersuchungen (z.B. Endoskopien) im human- und veterinärmedizinischen Bereich gelten die TRBA 250 „Biologische Arbeitsstoffe im Gesundheitswesen und in der Wohlfahrtspflege“ bzw. die TRBA 260 „Schutzmaßnahmen bei Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen in der Veterinärmedizin und bei vergleichbaren Tätigkeiten“, bei Versuchstieren ggf. die TRBA 120 „Versuchstierhaltung“.

2 Begriffsbestimmungen

(1) **Infektiosität** wird im Rahmen dieser Empfehlung als die Fähigkeit eines biologischen Arbeitsstoffes (im Weiteren Biostoff) definiert, sich nach Übertragung in einen lebenden Organismus in diesem zu vermehren und ein definierbares Krankheitsbild auszulösen.

(2) **Transmissible Spongiforme Enzephalopathie-assoziierte Agenzien** sind infektiöse proteinartige Partikel (sog. „Prionen“, von engl. proteinaceous infectious particles), die bei Tieren und Menschen schwammartige Veränderungen des zentralen Nervensystems (ZNS) verursachen. Diese Veränderungen werden von pathologischen Prionprotein-Ablagerungen begleitet. Die Erkrankungen enden immer tödlich. Im Sinne der Biostoffverordnung sind TSE-assoziierte Agenzien Biostoffe.

(3) TSE-assoziierte Agenzien bestehen im Wesentlichen aus **pathologischen Prionproteinen** (PrP^{Sc}). Dies sind fehlgefaltete und pathologisch aggregierte Formen zellulärer Prionproteine (PrP^C), die eine Konformationsänderung weiterer Prionproteine hin zu pathologischen Prionproteinformen induzieren können. Neben den natürlich vorkommenden PrP^{Sc} – Formen zählen hierzu auch mithilfe gentechnischer Verfahren hergestellte (rekombinante) PrP-Formen mit einer nachweislichen *seeding*-Aktivität für den Menschen.

(4) **Proteopathische Seeds** sind selbstreplizierende, d. h. seeding-aktive Proteinformen, die mit nicht durch Prionen verursachten neurodegenerativen Proteinaggregationskrankheiten in Verbindung stehen. Hierzu zählen beispielsweise Präparationen des Proteins alpha-Synuclein, welches mit der Parkinson-Erkrankung assoziiert wird, und des Tau-Proteins oder des Amyloid-beta-Proteins, die mit der Alzheimer-Erkrankung in Verbindung gebracht werden. Tätigkeiten, die mit der Ausbildung einer Seeding-Aktivität einhergehen können, sind u. a. Verfahren zur Konzentration (z. B. Affinitätschromatografien, Pelletieren) oder Amplifikation (z. B. PMCA- und Amplifikationsassays, s. u.) oder Verfahren zum Einbringen von Modifikationen in die Aminosäuresequenz, welche die Ausbildung seeding-aktiver Proteinformen fördern.

(5) Die **Seeding-Aktivität** beschreibt die Fähigkeit von fehlgefalteten Prionproteinen oder proteopathischen Seeds, weitere Proteine so in ihrer Konformation zu verändern, dass sie Proteinaggregate bilden, die die Fähigkeit zur weiteren autokatalytischen Selbstreplikation besitzen.

(6) **Protein misfolding cyclic amplification (PMCA)** ist ein in vitro Verfahren, bei dem eine geringe Menge von seeding-aktivem Prionprotein oder von proteopathischen Seeds mit einer vergleichsweise größeren Menge des jeweiligen zellulären Vorläuferproteins und weiterer in der Zelle vorkommender Bestandteile (Lipide, RNA etc.) inkubiert wird, um wachsende Aggregate fehlgefalteter selbstreplizierender Proteine zu erhalten. Mithilfe von

Empfehlung des ABAS: Schutzmaßnahmen bei Tätigkeiten mit Transmissibler Spongiformer Enzephalopathie (TSE)-assoziierten Agenzien und proteopathischen Seeds weiterer neurodegenerativer Krankheiten in Laboratorien

Ultraschallbehandlungen kann die Entstehung und Propagation seeding-aktiver Proteinformen gefördert und amplifiziert werden. Das Verfahren dient auch als Nachweis für eine bestehende Seeding-Aktivität des eingesetzten Materials. Mit dem Verfahren kann Infektiosität generiert werden.

(7) **Real-time quaking-induced conversion (RT-QuIC)** ist ein weiteres Verfahren zum Nachweis proteinöser Seeding-Aktivität im zu untersuchenden Material. Dabei werden geringe Mengen der zu untersuchenden Probe mit einer vergleichsweise größeren Menge von rekombinant hergestelltem Vorläuferprotein inkubiert, um die Seeding-Aktivität feststellen zu können. Die Förderung der Fehlfaltung des Vorläuferproteins erfolgt hier durch Schüttelzyklen. Es ist bislang nicht gezeigt worden, dass die PrP-Amplifikationsprodukte infektiös sind.

(8) Für **gezielte und nicht gezielte Tätigkeiten** gelten die Definitionen nach § 2 der Biostoffverordnung.

(9) **Inaktivierung** ist die irreversible Zerstörung der Vermehrungs- und Infektionsfähigkeit von Biostoffen.

(10) **Dekontamination** ist die Zurückführung der Konzentration an Biostoffen auf die gesundheitlich unbedenkliche Grundbelastung. Im Hinblick auf TSE-assoziierte Agenzien kann eine unbedenkliche Grundbelastung beispielsweise angenommen werden, wenn ein zur Dekontamination angewendetes Verfahren die Erregerlast derart reduziert, dass in Bioassays mit geeigneten Tiermodellen oder in Bioassay-validierten Seeding-Assays keine übertragungsrelevante Infektiosität bzw. Seeding-Aktivität mehr nachweisbar ist.

3 Gefährdungsbeurteilung

3.1 Erkrankungen durch TSE-assoziierte Agenzien

(1) Es sind folgende Arten menschlicher TSE beschrieben:

1. die idiopathischen Erkrankungen, wie die sporadische Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (CJK) und die sporadische tödliche Schlaflosigkeit,
2. die vererbaren Erkrankungen, wie die vererbare CJK, das Gerstmann-Sträussler-Scheinker-Syndrom und die Tödliche Familiäre Schlaflosigkeit,
3. die erworbenen Erkrankungen, wie die iatrogene CJK und Kuru sowie die durch das BSE-Agens verursachte Variante der CJK,
4. nicht klassifizierte TSE-Erkrankungen.

Bei Tieren:

1. die bovine spongiforme Enzephalopathie (BSE) bei Rindern (klassische und atypische Formen),
2. die Scrapie (Traberkrankheit) bei Schafen und Ziegen (klassische und atypische Formen),
3. die transmissible Enzephalopathie der Nerze (TME),
4. die Chronic Wasting Disease der Hirschartigen (CWD),

Empfehlung des ABAS: Schutzmaßnahmen bei Tätigkeiten mit Transmissibler Spongiformer Enzephalopathie (TSE)-assoziierten Agenzien und proteopathischen Seeds weiterer neurodegenerativer Krankheiten in Laboratorien

5. die Feline Spongiforme Enzephalopathie bei Katzen (FSE),
6. TSE bei Zootieren,
7. TSE bei Labortieren, wie z. B. bei Maus, Rötelmaus oder Goldhamster.

(2) Experimentell können u. a. Nagetiere (Maus, Rötelmaus, Goldhamster) und nichthumane Primaten mit TSE-assoziierten Agenzien verschiedener Spezies infiziert werden. Durch den Wirtswechsel entstehen – möglicherweise – TSE mit geänderten Eigenschaften.

(3) Gemäß Biostoffverordnung und EU-Richtlinie sind menschliche und tierische TSE-assoziierte Agenzien in die Risikogruppe 3 eingestuft und mit (**) gekennzeichnet¹. Ausnahme stellen Erreger der Scrapie dar (z. B. klassische und atypische Scrapie im Schaf, 263K Scrapie im Hamster und 22L oder RML Scrapie in der Maus), die in Risikogruppe 2 eingestuft sind.

3.2 Spezifische Eigenschaften von TSE-assoziierten Agenzien

(1) Als Auslöser der o.g. Erkrankungen werden nach heutigem Kenntnisstand Prionen angesehen, die im Vergleich zu den zellulären Prionproteinen (PrP^C) eine fehlgestaltete Proteinstruktur (PrP^{Sc}) enthalten.

(2) Potenzielle Infektionswege bei laborspezifischen Tätigkeiten sind Hautläsionen, Verletzungen, Schleimhautkontakt (auch im Augenbereich), Inhalation von tätigkeitsbedingt erzeugten Bioaerosolen und Verschlucken.

(3) Die Inkubationszeiten betragen i. d. R. Jahre bis Jahrzehnte. Der derzeitige Kenntnisstand lässt noch keine genauen Aussagen über die minimale Infektionsdosis für den Menschen zu; generell gilt aber, dass es eine Abhängigkeit von der Wirtsspezies und deren spezifischem Genotyp, dem Infektionsweg und dem Agensstamm gibt.

(4) Die TSE-assoziierten Agenzien sind außerordentlich tolerant gegenüber herkömmlichen chemischen und physikalischen Inaktivierungsverfahren. Der Einsatz aldehydhaltiger Desinfektionsverfahren (z.B. mit Formaldehyd) ist kontraindiziert, da die Infektiosität des Agens stabilisiert wird. Alkoholhaltige Mittel können einen fixierenden und potenziell einen die Inaktivierung des Agens beeinträchtigenden Effekt haben (zur Inaktivierung und Desinfektion siehe Abschnitt 5).

(5) Gegen TSE-assoziierte Agenzien gibt es bisher keine Impfstoffe. Die Wirkung einer postexpositionellen Prophylaxe ist nur im Tierversuch nachgewiesen worden.

3.3 Proteopathische Seeds

(1) In den vergangenen Jahren wurde in einer zunehmenden Zahl von Veröffentlichungen berichtet, dass Proteine, die mit nicht durch Prionen verursachten neurodegenerativen

¹ Entsprechend der kodifizierten Fassung der EG-Richtlinie (RL) 2000/54/EG in Verbindung mit der Änderungsrichtlinie (EU) 2019/1833 und (EU) 2020/739; TRBA 462 „Einstufung von Viren in Risikogruppen“: Biostoffe der Risikogruppe 3, die nicht über den Luftweg übertragen werden, sind mit (**) gekennzeichnet. Für diese Biostoffe sind bestimmte Sicherheitsmaßnahmen der Schutzstufe 3, wie z. B. Schleuse und Unterdruck, nicht erforderlich. (Siehe auch TRBA 100 „Schutzmaßnahmen für Tätigkeiten mit Biostoffen in Laboratorien“ Abschnitt 5.4.2 und Anhang 2).

Empfehlung des ABAS: Schutzmaßnahmen bei Tätigkeiten mit Transmissibler Spongiformer Enzephalopathie (TSE)-assoziierten Agenzien und proteopathischen Seeds weiterer neurodegenerativer Krankheiten in Laboratorien

Krankheiten in Verbindung stehen, in prionähnlicher Weise pathologische, selbst-replizierende Konformationen annehmen und übertragbare Pathologien oder Krankheiten in Tieren oder Menschen auslösen können.

(2) Die betreffenden Proteine teilen grundlegende pathophysiologische Eigenschaften mit Prionen, unterscheiden sich aber auch in wichtigen Aspekten von diesen, insbesondere dadurch, dass im Zusammenhang mit ihnen bisher weder ein epidemisches Übertragungsgeschehen bei Tieren oder Menschen noch berufliche Expositionsrisiken bekannt sind.

(3) Im Hinblick auf den letztgenannten Aspekt ist allerdings zu berücksichtigen, dass die betreffenden Erkrankungen grundsätzlich sehr lange Latenzzeiten aufweisen, und Übertragungen proteopathischer Seeds möglicherweise gesundheitsbeeinträchtigende Folgen auch unterhalb der Schwelle einer vollen Krankheitsübertragung haben könnten. Insofern sind eventuelle Folgen einer beruflichen Exposition bisher nicht sicher zu beurteilen.

(4) Deswegen erscheint es im Sinne eines vorbeugenden Arbeitsschutzes geboten, mögliche Risiken bei Laborarbeiten mit diesen Stoffen zu berücksichtigen.

3.4 Zuordnung der Schutzstufe

(1) Gezielte und nicht gezielte Tätigkeiten mit TSE-assoziierten Agenzien – wie eingangs definiert – sind der Schutzstufe 3 zuzuordnen. Es gelten die in der TRBA 100 für Tätigkeiten mit Biostoffen der Risikogruppe 3(**) aufgeführten Schutzmaßnahmen in Verbindung mit den Regelungen dieser Empfehlung.

(2) Tätigkeiten mit einem identifizierten Agens der Scrapie werden gemäß EG-RL 2000/54/EG in Verbindung mit den RL (EU) 2019/1833 und (EU) 2020/739 der Schutzstufe 2 zugeordnet. Ein Wirtswechsel ist bei der Gefährdungsbeurteilung besonders zu berücksichtigen und kann zu Maßnahmen der Schutzstufe 3 führen.

(3) Das Arbeiten mit gereinigtem, das heißt von einem in vitro exprimierenden Organismus isolierten, rekombinantem Prionprotein in löslicher oder aggregierter Form gilt als nicht infektiös, weil trotz intensiver Anstrengungen bisher keine Infektiosität von in vitro produziertem rekombinantem Prionprotein für Säugetiere oder Menschen mit physiologischer Prionproteinexpression nachgewiesen werden konnte.

(4) Laborarbeiten mit tierischem, menschlichem oder rekombinantem Prionprotein, die auf die Amplifikation von Infektiosität abzielen, diese ermöglichen oder den Umgang mit infektiösen Präparationen beinhalten, werden in ihrer Schutzstufe dem betreffenden infektiösen TSE-Agens, mindestens aber der Schutzstufe 2 zugeordnet.

(5) Für die Zuordnung der Schutzstufe bei gezielten Tätigkeiten mit proteopathischen Seeds ist im Rahmen der Gefährdungsbeurteilung u. a. zu berücksichtigen, ob in vivo oder in vitro gearbeitet wird, ob die Seeds aus einem Gewebe gewonnen worden sind, in dem sie sich amplifizieren können, oder ob nur mit rekombinantem Protein bzw. mit rekombinanten Proteinaggregaten gearbeitet wird, sowie ob in vitro Amplifikationsmethoden eingesetzt werden, die Infektiosität amplifizieren können (wie z. B. die PMCA), oder lediglich Aggregationsassays ohne nachgewiesene Fähigkeit zur Amplifikation von Infektiosität (wie z.B. die RT-QuIC).

(6) Das Arbeiten mit proteopathischen Seeds in vivo, oder mit Seeds aus einem Gewebe, in dem sie sich amplifizieren können, oder das Arbeiten mit einer Methode, mit der

Empfehlung des ABAS: Schutzmaßnahmen bei Tätigkeiten mit Transmissibler Spongiformer Enzephalopathie (TSE)-assoziierten Agenzien und proteopathischen Seeds weiterer neurodegenerativer Krankheiten in Laboratorien

Infektiosität amplifiziert werden kann, wird in aller Regel der Schutzstufe 2 zugeordnet. Andere Arbeiten, z. B. keine Infektiosität generierenden Arbeiten in vitro, Arbeiten mit rekombinantem Protein bzw. rekombinanten Proteinaggregaten oder mit Aggregationsassays ohne nachgewiesene Fähigkeit zur Amplifikation von Infektiosität können in der Regel in Schutzstufe 1 erfolgen.

(7) Für die Herstellung und den Umgang mit gentechnisch veränderten Organismen, die für rekombinante Proteine transmissibler spongiformer Enzephalopathien oder proteopathischer neurodegenerativer Proteinaggregationskrankheiten kodieren, ist ferner die Einstufung nach Gentechnikgesetz maßgebend. Es wird auf die Stellungnahmen der ZKBS verwiesen.

3.5 Probenversand

Bei dem Transport von Proben auf dem Wasser-, Luft- oder Schienenweg oder der Straße sind die einschlägigen Rechtsvorschriften zu beachten. Der Versand positiv bestätigter Proben oder von Verdachtsproben (z. B. bei klinischem Verdacht auf eine TSE-Erkrankung oder nach positivem Ergebnis der Erstuntersuchung) sowie von TSE-haltigem Material aus dem Forschungsbereich erfolgt entsprechend der Klasse 6.2 „Biologischer Stoff, Kategorie B (UN-Nummer 3373)“.

Hinweis: Der Transport von Routineproben von Schlachttieren unterliegt nicht dem Europäischen Übereinkommen über die internationale Beförderung gefährlicher Güter auf der Straße (ADR).

4 Schutzmaßnahmen

4.1 Schutzmaßnahmen in TSE-Forschungslaboratorien und bei Tierversuchen, Sektionen, Gewebepräparationen oder histologischen Arbeiten mit TSE-Erregern

4.1.1 TSE-Forschungslaboratorien allgemein

(1) Für die Probenverarbeitung und standardisierte Laborabläufe sind gem. Biostoffverordnung, konkretisiert durch die TRBA 100, Arbeitsanweisungen zu erstellen.

(2) Werden in TSE-Laboratorien über die Empfehlung hinausgehende oder davon abweichende Tätigkeiten durchgeführt, sind auf der Grundlage der Gefährdungsbeurteilung auch die zusätzlich bzw. abweichend erforderlichen Schutzmaßnahmen festzulegen.

(3) Grundsätzlich ist das TSE-Laboratorium räumlich von anderen Laboratorien zu trennen. Ist dies in begründeten Ausnahmefällen nicht möglich (Gründe sind in der Gefährdungsbeurteilung zu dokumentieren), sind strikt getrennte Arbeitsbereiche innerhalb des Laboratoriums einzurichten. Eine solche Ausnahme ist bei BSE nicht möglich.

(4) Das TSE-Laboratorium ist mit der Schutzstufe und dem Symbol „Biogefährdung“ zu kennzeichnen.

(5) Der Zugang ist auf autorisierte Personen zu beschränken, die entsprechend unterwiesen sein müssen.

(6) Vor dem Betreten des Laboratoriums ist geeignete persönliche Schutzausrüstung (PSA) anzulegen: hinten geschlossener Laborkittel (autoklavierbar oder Einwegartikel), und Überschuhe. Eine Schutzbrille ist bei allen Tätigkeiten mit konkreter Augengefährdung, wie

Empfehlung des ABAS: Schutzmaßnahmen bei Tätigkeiten mit Transmissibler Spongiformer Enzephalopathie (TSE)-assoziierten Agenzien und proteopathischen Seeds weiterer neurodegenerativer Krankheiten in Laboratorien

z.B. bei der Herstellung von Paraffinschnitten (Abschnitt 4.1.2³), dem Ansetzen von Natronlauge und bei der Dekontamination von Instrumenten (5.2.4) zu tragen. Es kann auf Überschuhe verzichtet werden, wenn ein gesondertes Schuhpaar (geschlossen), das stets im TSE-Laboratorium verbleibt, vorhanden ist. Bei allen Arbeiten im Labor, bei denen die Möglichkeit eines Kontaktes mit infektiösem Material besteht, sind doppelte Einmal-Schutzhandschuhe zu tragen. Auf die erforderliche Beständigkeit gegenüber den zur Inaktivierung von TSE-assoziierten Agenzien eingesetzten Chemikalien ist zu achten. Bei der Bearbeitung von Proben an der mikrobiologischen Sicherheitswerkbank sind stets zwei Paar Einmal-Schutzhandschuhe übereinander zu tragen und der Übergang vom unteren Handschuh zum Kittelärmel ist mit Einmal-Ärmelschonern abzudecken. Das obere Handschuhpaar wird nach Beendigung eines Arbeitsprozesses gewechselt, spätestens aber beim Verlassen der mikrobiologischen Sicherheitswerkbank. Beim Verlassen des Laborbereichs ist die Schutzkleidung abzulegen.

(7) Bei allen Arbeiten mit der Gefahr von Schnittverletzungen sind grundsätzlich Schnittschutzhandschuhe sowie darüber und darunter puderfreie Latex- oder Nitrilhandschuhe zu tragen.

(8) Bei Arbeiten mit spitzen Gegenständen sind grundsätzlich durchstichsichere Handschuhe, die vor Nadelstichverletzungen schützen, mindestens jedoch Schnittschutzhandschuhe, sowie darüber und darunter puderfreie medizinische Handschuhe zu tragen (z.B. EN 374-5 Typ A mit AQL<0,65).

(9) Die zur TSE-Untersuchung benutzten Geräte dürfen nicht mit kontaminierten Handschuhen angefasst werden. Dies gilt z. B. auch für Schalter, Taster, Folientastaturen.

(10) Bei allen Tätigkeiten ist darauf zu achten, dass Aerosol-Bildung, soweit möglich, vermieden wird. Alle Arbeiten mit belasteten (und potenziell belasteten) Proben und Agenzien sind unter einer mikrobiologischen Sicherheitswerkbank durchzuführen. Dies gilt insbesondere für Arbeiten mit potenziell hochtitrigem Material.

(11) Erfolgen Arbeiten in einem geschlossenen System, kann dieser Arbeitsschritt auch außerhalb der Sicherheitswerkbank durchgeführt werden; im Havariefall ist das geschlossene System unter der Sicherheitswerkbank zu öffnen.

(12) Bei Anwendung biochemischer Nachweismethoden sind folgende Schritte unter der Sicherheitswerkbank durchzuführen:

1. Bei Anwendung der ELISA-Methode: alle Arbeiten vor dem ersten Waschen der ELISA-Platte mittels automatischem Plattenwaschgerät. Ausnahme: Homogenisieren der Proben im geschlossenen System.

2. Bei Anwendung des Western Blot-Verfahrens: alle Arbeiten vor Beladung der Gele. Ausnahme: Homogenisieren der Proben im geschlossenen System.

(13) Bei allen Arbeiten sollte so weit wie möglich Einwegmaterial aus Kunststoff verwendet werden.

(14) Das TSE-Laboratorium soll eine eigene Ausrüstung haben, die nur hier verwendet wird.

Hinweis: Werden Geräte aus dem TSE-Laborbereich entfernt, müssen sie zuvor entsprechend Abschnitt 5 mit einem geeigneten Verfahren dekontaminiert werden. Im Einzelfall ist festzulegen, wie die Dekontamination zu erfolgen hat (z. B. alle Flächen/Bereiche, die potenziell kontaminiert sein können). Es muss sichergestellt sein, dass künftige Nutzer nicht

Empfehlung des ABAS: Schutzmaßnahmen bei Tätigkeiten mit Transmissibler Spongiformer Enzephalopathie (TSE)-assoziierten Agenzien und proteopathischen Seeds weiterer neurodegenerativer Krankheiten in Laboratorien

einer Infektionsgefährdung ausgesetzt sein können. Ist dies nicht gewährleistet, sind die entsprechenden Geräte aus dem Verkehr zu ziehen.

(15) Es sind möglichst Einmalunterlagen für Arbeitsflächen zu verwenden, wie z.B. PE-Folien, oder saugfähige, dekontaminierbare Unterlagen, die nach Ende der Tätigkeit desinfiziert werden, falls sie nicht über Hochtemperaturverbrennung entsorgt werden.

(16) Erregerhaltige Flüssig- und Festabfälle sind entsprechend Abschnitt 5 vor der Entsorgung zu inaktivieren, falls sie nicht über Hochtemperaturverbrennung entsorgt werden.

(17) Benutzte autoklavierbare Schutzkleidung ist vor der Reinigung bei 134 °C (1 h, 3 bar) zu autoklavieren. Dies gilt auch für benutzte Einwegkleidung vor der Entsorgung, falls sie nicht über Hochtemperaturverbrennung entsorgt wird.

(18) Alle benutzten Arbeitsflächen der mikrobiologischen Sicherheitswerkbank sind spätestens am Ende eines jeden Arbeitstages, an dem in der betreffenden Werkbank gearbeitet wurde, mit einem geeigneten Desinfektionsmittel nach Abschnitt 5 gründlich auszuwischen und anschließend mit Wasser nachzureinigen. Sonstige potenziell kontaminierte Oberflächen des Innenbereiches der Werkbank sind nach 5-10 Tagen, an denen in der Werkbank gearbeitet wurde, gleichermaßen zu behandeln.

(19) Eine Reinigung der Arbeitsflächen mit Wasser hat arbeitstäglich zu erfolgen. Mindestens nach 5-10 Arbeitstagen sind die Arbeitsflächen zu desinfizieren. Die Dekontamination der Fußböden erfolgt gemäß Hygieneplan.

(20) Die Oberflächendekontamination und anschließende Reinigung des Laboratoriums gemäß Abschnitt 5 darf nur nach Absprache mit der verantwortlichen Person und nach entsprechender Vorbereitung erfolgen. Kommt es während der Laborarbeiten zu einer Kontamination des Bodens, wird die betroffene Stelle durch das Laborpersonal sofort mit saugfähigem Einmalmaterial vorgereinigt und dekontaminiert.

(21) Vor Wartungs- und Reparaturarbeiten an der Sicherheitswerkbank hat eine Dekontamination des Innenbereiches entsprechend Abschnitt 5 zu erfolgen. Vor Beginn der Wartungs- und Reparaturarbeiten hat die verantwortliche Person eine schriftliche Arbeitsfreigabe mit den erforderlichen Schutzmaßnahmen zu erteilen.

(22) Die für die Dekontamination und Reinigung verwendeten Gerätschaften verbleiben im Bereich des TSE-Laboratoriums.

4.1.2 Tierversuche

(1) Für Tierversuche gilt Abschnitt 4.4.2 der TRBA 120 „Versuchstierhaltung“. Darüber hinausgehende Maßnahmen sind von den betroffenen Forschungseinrichtungen nach Maßgabe der Gefährdungsbeurteilung festzulegen.

(2) Lebende Labortiere, die mit Prionen infiziert sind, stellen nach derzeitigem Kenntnisstand kein signifikantes Risiko bezüglich einer Prionexposition dar. Es fehlen allerdings verlässliche Daten zum Einfluss verschiedener Prionen-Stämme bzw. der bei den Untersuchungen verwendeten konventionellen oder transgenen Linien auf eine mögliche Ausscheidung des Erregers. Dies betrifft insbesondere Linien, die das humane Prionprotein überexprimieren oder auch Stämme mit hoher Übertragungsfähigkeit wie ovine BSE. Eine Gefährdungsbeurteilung muss dies berücksichtigen. Auch der gewählte Inokulationsweg (z.B. oral versus intrazerebral) hat vermutlich einen Einfluss auf die Ausscheidung. Darüber hinaus beinhalten experimentelle Arbeiten mit infizierten Tieren immer auch Verfahren, die

Empfehlung des ABAS: Schutzmaßnahmen bei Tätigkeiten mit Transmissibler Spongiformer Enzephalopathie (TSE)-assoziierten Agenzien und proteopathischen Seeds weiterer neurodegenerativer Krankheiten in Laboratorien

das Risiko einer Exposition deutlich erhöhen (z.B. Inokulationen, Sektionen). Vorsichtsmaßnahmen müssen daher getroffen werden, die im Wesentlichen den Schutzmaßnahmen im Labor entsprechen.

(3) Der Zugang

- ist auf autorisierte Personen zu beschränken, die entsprechend unterwiesen sein müssen,
- zum Schutz vor der Aufnahme von groben Partikeln (z.B. Einstreu) und vor Berührung von Mund und Nase mit kontaminierten Händen ist mindestens ein Mund-Nasen-Schutz nach DIN14283 zu tragen,
- vor dem Betreten der TSE-Tieranlage ist geeignete persönliche Schutzausrüstung (PSA) anzulegen.
- Die PSA ist entsprechend des Ergebnisses der Gefährdungsbeurteilung individuell und tätigkeitsbezogen auszuwählen. Dies könnte beispielsweise wie folgt geschehen:
 - Bestimmungsgemäßer Einsatz von undurchlässigen Overalls oder Rückenschlusskitteln,
 - Tragen doppelter medizinischer Schutz-Handschuhe, wobei der untere mit dem Schutzanzug verbunden sein sollte,
 - Tragen von Überschuhen bzw. eines gesonderten vorne geschlossenen Schuhpaars, das im TSE-Bereich verbleibt,
 - Sofern nach Gefährdungsbeurteilung erforderlich, anstelle eines Mund-Nasen-Schutzes (EN 14283) Tragen adäquater Atemschutzmasken (z. B: FFP2 oder FFP3, EN 149),
 - Tragen einer Einmal-Vlieshaube.
- Alle Arbeiten, die mit einer vermutlich infektiösen Prionexposition verbunden sind (z.B. Sektionen, Inokulationen) sind unter einer mikrobiologischen Sicherheitswerkbank durchzuführen. Der Einsatz von Vorfiltern wird dabei empfohlen. Des Weiteren sollte bei solchen Arbeiten ein zweiter medizinischer Schutzhandschuh verwendet werden, der nach Beendigung des infektiösen Arbeitsprozesses gewechselt werden kann.
- Bei Arbeiten, die mit scharfen Gegenständen (z.B. Skalpelle, Scheren) durchgeführt werden, sind Schnittschutzhandschuhe zu tragen, bei Arbeiten mit spitzen Werkzeugen (Pinzetten, Kanülen) sind dem Personal entsprechende Schutzhandschuhe gegen Stichverletzungen anzubieten. Pausenzeiten sind zu beachten, um ein konzentriertes Arbeiten zu gewährleisten.
- Lange (ca. 20-30 cm) Hilfsmittel wie z. B. Pinzetten mit Schutzgummierung können bei Inokulation kleiner Labortiere verwendet werden, um das Risiko einer Stichverletzung des Experimentators zu reduzieren.
- Wiederverwendbares Besteck muss angemessen dekontaminiert werden, bevor es wiederverwendet werden kann (thermisch oder chemisch, siehe Punkt 5).

Empfehlung des ABAS: Schutzmaßnahmen bei Tätigkeiten mit Transmissibler Spongiformer Enzephalopathie (TSE)-assoziierten Agenzien und proteopathischen Seeds weiterer neurodegenerativer Krankheiten in Laboratorien

- Direkt nach den Inokulationen sind die Tiere für mindestens 2 Wochen in Käfigen mit Plastikeinsätzen (Einwegartikel) zu halten, um mögliche Kontaminationen der Standardausrüstung zu vermeiden.
- Käfige/Käfigteile sind nach Abschluss der Versuche mit geeigneten Verfahren (siehe Punkt 5) thermisch oder chemisch zu dekontaminieren.
- Die Bodenreinigung kann routinemäßig durch Wischen mit 0,2% (w/v) Natriumdodecylsulfat (SDS)/0,3% (w/v) NaOH bei Raumtemperatur erfolgen (s. 5.2.3, [11]).
- Tierkadaver und Müll (auch Einstreu) sind entsprechend Abschnitt 5 zu entsorgen.

(4) Bei Tierversuchen mit Großtieren sind die Schutzmaßnahmen entsprechend des Ergebnisses der Gefährdungsbeurteilung tätigkeitsbezogen anzupassen.

4.1.3 Sektion, Gewebepräparation (Zuschnitt) und histologische Aufbereitung bei TSE

(1) Sektionen

1. Sektionen von kleinen Labortieren sollten unter einer mikrobiologischen Sicherheitswerkbank durchgeführt werden, die nach Möglichkeit über ein Vorfiltersystem verfügen. Die empfohlene PSA entspricht den Angaben in Abschnitt 4.1.1.
2. Bei allen anderen Sektionen (größere Labortiere, Großtiere) sind die Schutzmaßnahmen entsprechend des Ergebnisses der Gefährdungsbeurteilung tätigkeitsbezogen anzupassen. Die PSA sollte jedoch mindestens folgenden Vorgaben entsprechen:
 - Wasserdichte Überkleidung, z.B. Overall oder Rückenschlusskittel mit Schürze, der entweder nach einmaligem Gebrauch sachgerecht entsorgt werden kann oder dekontaminierbar ist (siehe Abschnitt 5),
 - Schnittschutzhandschuhe sowie darüber und darunter puderfreie medizinische Schutzhandschuhe (z.B. EN 374-5 Typ A mit AQL < 0,65),
 - Dekontaminierbare (siehe Abschnitt 5) Gummi-Stiefel,
 - Einmal-Vlieshaube,
 - Atem- und Spritzschutz gemäß Gefährdungsbeurteilung (Atemschutz in der Regel mindestens FFP2-Maske (EN 149), Spritzschutz z. B. durch Schutzbrille oder Gesichtsschild (EN 166), kombinierter Atem- und Spritzschutz durch eine Haube mit Gebläse).
3. Bei der Sektion/Gewebepräparation (Zuschnitt) ist darauf zu achten, dass keine Aerosole entstehen. Der Einsatz oszillierender Sägen stellt ein besonderes Infektionsrisiko dar und ist bei der Gefährdungsbeurteilung separat zu bewerten. Derartige Sägen sollten jedoch nur zum Einsatz kommen, wenn gleichzeitig ein angemessener Atemschutz eingesetzt werden kann (s.o.).

(2) Gewebepräparationen (Zuschnitt) und histologische Aufarbeitung

Empfehlung des ABAS: Schutzmaßnahmen bei Tätigkeiten mit Transmissibler Spongiformer Enzephalopathie (TSE)-assoziierten Agenzien und proteopathischen Seeds weiterer neurodegenerativer Krankheiten in Laboratorien

1. Bei der gezielten histologischen Aufarbeitung sind folgende Arbeitsschritte in einem Laboratorium der Schutzstufe 2 bzw. nach Maßgabe der Regelungen für Erreger der Risikogruppe 3** (je nach TSE-Agens) der TRBA 100 durchzuführen: Sektionen (bei kleinen Labortieren), Zuschneiden der Gewebe, deren Fixierung in Formalinlösung oder anderen Fixantien, Zuschneiden der Gewebeblöcke (maximal 5 mm dick).
2. Nach einer Behandlung von maximal 5 mm dicken Gewebepreparaten (Standard-Einbettkassette) mit Ameisensäure (mindestens 98%) für eine Stunde ist keine Gefährdung des Personals bei allen weiteren Arbeitsschritten (z.B. Wässerungsschritte und Färbungen) durch Prioninfektiosität anzunehmen. Die nachfolgenden Schritte können dann im Hinblick auf die Prioninfektiosität in einem Laboratorium der Schutzstufe 1 nach TRBA 100 durchgeführt werden.
3. Bei nicht Ameisensäure-dekontaminierten Gewebeproben: Aus arbeitstechnischen Gründen ist die Herstellung der Paraffinschnitte unter einer Absaugvorrichtung nicht möglich. Deshalb ist bei der Herstellung der Paraffinschnitte neben dem Tragen mindestens eines Mund-Nasen-Schutzes nach DIN14283 als Kontaktschutz das Tragen folgender persönlicher Schutzausrüstung erforderlich:
 - autoklavierbare oder Einmal-Schutzkleidung,
 - Labor-beschlagsfreie Schutzbrille (mit Seitenschutz und möglichst oberer Augenraumabdeckung, z.B. EN 166),
 - Einmal-Vlieshaube,
 - nach Maßgabe der Gefährdungsbeurteilung anstelle eines Mund-Nasen-Schutzes ggf. adäquater Atemschutz (z. B. FFP2-Maske, EN 149),
 - zwei Paar übereinander getragene medizinische Schutzhandschuhe (z. B. EN 374-5 Typ A mit AQL < 0,65).
4. Das Mikrotom sollte nur für Tätigkeiten im Rahmen der TSE-Diagnostik bzw. von TSE-Forschungsarbeiten und nicht für sonstige Probenzuschnitte verwendet werden und über einen Schnittschutz verfügen. Mikrotome, die anderweitig verwendet werden sollen, sind zuvor zu dekontaminieren.
5. Schnittreste sind zu sammeln und entsprechend Abschnitt 5 zu inaktivieren. Zur Säuberung verwendete Staubsauger müssen mit HEPA-Filtern (Kategorie H13) ausgestattet sein.

Hinweis: Ist mit einer Kontamination des Staubsaugerfilters zu rechnen, so muss dieser sicher gewechselt und anschließend entsprechend Abschnitt 5 inaktiviert und entsorgt werden.
6. Eine 15minütige Vorbehandlung von ungefärbten, aber bereits rehydrierten Paraffinschnitten (1 – 10 µm) mit 98%iger Ameisensäure dient nicht nur der Vorbehandlung einer immunhistologischen Färbung, sondern kann auch als Dekontamination verwendet werden. Entsprechend behandelte Schnitte können daher in einem Labor der Schutzstufe 1 weiterbearbeitet werden.
7. Bei nicht vorab dekontaminierten Blöcken/Schnitten müssen alle Fixantien, Färbelösungen, Waschpuffer etc., die mit den Schnitten in Berührung kommen, als

Empfehlung des ABAS: Schutzmaßnahmen bei Tätigkeiten mit Transmissibler Spongiformer Enzephalopathie (TSE)-assoziierten Agenzien und proteopathischen Seeds weiterer neurodegenerativer Krankheiten in Laboratorien

potenziell infektiös angesehen und entsprechend der Vorgaben in Abschnitt 5 behandelt bzw. entsorgt werden.

8. Im TSE-Labor gefärbte und eingedeckelte infektiöse Schnitte können nach einer Dekontamination mit NaOH in einem Labor der Schutzstufe 1 ausgewertet werden. Dazu werden die Schnitte in mindestens 1M NaOH für 5 Minuten oder in andere geeignete Dekontaminationsmittel (siehe Abschnitt 5) ausreichend lange eingetaucht und für eine Stunde getrocknet. Anschließend werden die Reste der NaOH oder anderer geeigneter Dekontaminationsmittel mit Wasser abgespült. Das Eindeckelmedium muss bereits getrocknet sein, d.h. eine Ausschleusung kann erst am nächsten Tag erfolgen, um ein Eindringen der NaOH oder anderer Dekontaminationsmittel zwischen Schnitt und Deckglas zu vermeiden. (ACHTUNG: nicht vorbehandelte Gewebe/Schnitte gelten trotzdem noch als infektiös und müssen bei Bruch im TSE-Labor entsorgt werden).

4.2 Schutzmaßnahmen in diagnostischen Laboratorien

Um beim Umgang mit TSE-erregerehaltigem Material und speziell bei den jährlichen TSE-Ringversuchen adäquaten Schutz zu gewährleisten, sollen folgende Anforderungen mindestens erfüllt werden:

- (1) Die unter 4.1.1 aufgeführten Absätze (2) bis (12) sowie (16) und (17) gelten auch für diagnostische Laboratorien.
- (2) Im **Routinebetrieb (keine positiven Befunde)** erfolgt die Inaktivierung von Flüssig- und Festabfällen durch Autoklavieren bei 121 °C, 20 Minuten. Die Fußböden sind durch das eingewiesene Reinigungspersonal mit aldehydfreien, alkalischen (pH > 10) Reinigungsmitteln zu säubern.
- (3) Bei einem **positiven Schnelltestergebnis** sowie nach **Durchführung von Ringversuchen** sind nach Abschluss der Tests die mikrobiologische Sicherheitswerkbank (Arbeitsfläche und sonstige potenziell kontaminierte Flächen) sowie die Arbeitsflächen und Fußböden mit einem Desinfektionsmittel entsprechend Abschnitt 5 zu dekontaminieren. Benutzte autoklavierbare Schutzkleidung ist vor der Reinigung bei 134 °C (1 h, 3 bar) zu autoklavieren. Dies gilt auch für ggf. benutzte Einwegkleidung, bevor sie entsorgt wird.

4.3 Schutzmaßnahmen in nationalen Referenzlaboratorien

- (1) Werden in Nationalen Referenzlaboratorien über die Empfehlung hinausgehende oder davon abweichende Tätigkeiten durchgeführt, sind auf der Grundlage der Gefährdungsbeurteilung die erforderlichen Schutzmaßnahmen festzulegen.
- (2) Die unter 4.1.1 aufgeführten Absätze (1) bis (17) gelten grundsätzlich auch für Nationale Referenzlaboratorien.
- (3) Werden in Nationalen Referenzlaboratorien überwiegend medizinisch-laboranalytische Tätigkeiten durchgeführt, die dem Arbeitsprofil eines medizinischen Laboratoriums entsprechen, dann kann im Rahmen der Gefährdungsbeurteilung geprüft werden, ob bei ungezielten Tätigkeiten die Schutzmaßnahmen der Schutzstufe 2, ggf. mit einzelnen, zusätzlich festzulegenden Schutzmaßnahmen, ausreichend sind.

Empfehlung des ABAS: Schutzmaßnahmen bei Tätigkeiten mit Transmissibler Spongiformer Enzephalopathie (TSE)-assoziierten Agenzien und proteopathischen Seeds weiterer neurodegenerativer Krankheiten in Laboratorien

5 Inaktivierung und Dekontamination

5.1 Allgemeines

(1) TSE-assoziierte Agenzien sind gegen eine Vielzahl von bakteriziden, viruziden und fungiziden Desinfektionsmitteln und gegen übliche Hitze- (z.B. trockene Hitze bei 180-200 °C) oder Dampfsterilisationsverfahren (z.B. gespannter, gesättigter Wasserdampf bei 121 °C) weitgehend tolerant [5, 6] (s. Abschnitt 3.2 Punkt (4)).

(2) Art und Form der Abfälle sind von erheblicher Bedeutung für die Wirksamkeit der Inaktivierungsverfahren. Eine Trennung fester und flüssiger Abfälle vereinfacht die spätere Entsorgung und ist bei Dampfsterilisationsverfahren unerlässlich für einen sicheren Betrieb und eine ordnungsgemäße Inaktivierung. Flüssige Abfälle sind chemischer Behandlung zugänglicher als Feststoffe. Bei letzteren ist die Materialstärke zu beachten. Bei Materialien, die Hohlräume aufweisen, d. h. „porösen Gütern“ wie beispielsweise Probengefäßen, Spritzen etc., muss sichergestellt werden, dass der Wasserdampf diese ausreichend erreicht.

(3) Die Dehydrierung und Trocknung erregerhaltiger Abfälle ist z. B. durch Feuchthalten zu vermeiden.

(4) Zur Inaktivierung/Dekontamination von proteopathischen Seeds liegen in der wissenschaftlichen Literatur bisher nur relativ wenige Studien vor. Danach sind gegen Prionen wirksame Formulierungen wie z. B. 1M NaOH (Einwirkzeit 1h bei Raumtemperatur) oder eine Mischung aus 0,2% Natriumdodecylsulfat (SDS) und 0,3% NaOH (Einwirkzeit 10 Minuten bei Raumtemperatur) zumindest partiell auch gegen Amyloid-beta, tau- oder alpha-Synuclein Seeds wirksam. Die Dekontaminationswirkung konnte dabei teilweise noch durch eine nachfolgende Dampfsterilisation bei 134 °C mit 5minütiger Haltezeit erhöht werden [7]. Eine partielle Wirksamkeit gegen Parkinson-assoziierte alpha-Synuclein Seeds wurde ebenfalls beispielsweise für eine alleinige Dampfsterilisation bei 134 °C und einer Haltezeit von 5 Minuten gezeigt (eine Verlängerung der Haltezeit auf 90 Minuten erzielte dabei keine zusätzliche Inaktivierung) [8]. Vorbehaltlich des Nachweises zweckmäßiger(er) alternativer Verfahren erscheinen zur Inaktivierung/Dekontamination proteopathischer Seeds daher am ehesten Inaktivierungs-/Dekontaminationsbehandlungen geeignet, wie sie für Prionen empfohlen werden (s. beispielsweise unten). Sofern gewünscht, lässt sich dabei ggf. eine erhöhte Wirksamkeit gegen proteopathische Seeds erzielen, wenn zwei oder mehr auch für die Inaktivierung/Dekontamination von Prionen zumindest partiell geeignete Verfahren kombiniert werden, z. B. eine chemische Vorbehandlung mit einer nachfolgenden Dampfsterilisation.

5.2 Verfahren

Die folgenden Verfahren gewährleisten – bei sachgerechter Anwendung – eine Inaktivierung von TSE-assoziierten Agenzien und sind deshalb für die Behandlung von kontaminiertem Material geeignet.

5.2.1 Thermische Verfahren

(1) Hierzu gehört die Verbrennung bei genügend hohen Temperaturen (≥ 850 °C für ≥ 2 Sekunden oder ≥ 1000 °C für ≥ 1 Sekunde bei < 7 % Kohlenstoffanteil in der Asche).

Empfehlung des ABAS: Schutzmaßnahmen bei Tätigkeiten mit Transmissibler Spongiformer Enzephalopathie (TSE)-assoziierten Agenzien und proteopathischen Seeds weiterer neurodegenerativer Krankheiten in Laboratorien

(2) Alternativ kann im Dampfsterilisator (mit Aerosolfiltern ausgestattet, möglichst im Vakuumverfahren) bei 134 °C, 3 bar absolut, ≥ 1 h autoklaviert werden (bei Schichtdicken < 5 cm).

(3) Formalinfixiertes Material ist durch Autoklavieren nicht sicher zu inaktivieren. Für derartiges Material sind andere Inaktivierungs-/Dekontaminationsmethoden mit nachgewiesener Wirksamkeit zu verwenden (s. beispielsweise 5.2.3 (4)).

(4) Das Autoklaviergut ist feucht zu halten, um eine trocknungsbedingte Fixierung oder Stabilisierung erregerhaltigen Materials, durch die der infektiösitätsreduzierende Effekt einer Dampfsterilisation herabgesetzt werden kann, zu vermeiden.

5.2.2 Kombiniertes chemisch-thermisches Verfahren

Bei diesem kombinierten Verfahren wird bei > 121 °C, ≥ 30 Minuten bei einer Endkonzentration von 1 M NaOH autoklaviert.

5.2.3 Chemische Verfahren

(1) Eine Inaktivierung erfolgt bei einer Endkonzentration von mindestens 1 M NaOH oder 2,5 % Natriumhypochlorit² für ≥ 1 Stunde (Bei der Inaktivierung von Flüssigkeiten wird dies durch Zugabe eines gleichen Volumens 2 M NaOH bzw. 5 % Natriumhypochlorit erreicht). Die Dauer ist je nach Abfallbeschaffenheit und Erregerlast auf bis zu 24 Stunden zu erhöhen.

(2) Ein in Bioassays oder in Bioassay-validierten Seeding-Assays als gegen nagetieradaptierte 263K Scrapie- und menschliche vCJK-Prionen wirksam nachgewiesenes Verfahren ist die Behandlung mit 0,2% (w/v) Natriumdodecylsulfat (SDS) / 0,3% (w/v) NaOH für 10 Minuten bei Raumtemperatur [9-12]³.

² Durch 1:5 Verdünnung einer 13%igen Natriumhypochlorit-Stammlösung wird ein Gehalt an aktivem Chlor von 2,6% erreicht. Zur Gewährleistung der Wirksamkeit darf ein Gehalt von mindestens 2% aktiven Chlors nicht unterschritten werden. Daher ist es sehr wichtig, dass die Lösung möglichst frisch, höchstens jedoch vier Wochen alt ist.

³ vCJK-Prionen gelten als diejenigen menschlichen Prionen mit der höchsten Thermostabilität (referenziert in Pinder et al. [8]) und zeigten auch bei der Behandlung mit unterschiedlichen Desinfektionsmitteln, die an anderen Prionisolaten validiert worden waren, eine besonders ausgeprägte Resistenz [13]. Danach sollten Behandlungen, die eine zuverlässige vCJK-Dekontamination gewährleisten, grundsätzlich auch für andere menschliche Prionen wirksam sein. Gleiches gilt im Hinblick auf Scrapie-assoziierte Agenzien neben 263K Scrapie-Prionen, da diese hinsichtlich ihrer Resistenz sowohl gegen Dampfsterilisation als auch unterschiedliche Desinfektionsmittel unterhalb von vCJK einzuordnen sind. Nach dieser Maßgabe erscheint eine Nutzung der Formulierung von 0,2% SDS / 0,3% NaOH als Dekontaminationsmittel sowohl generell für Scrapie-assoziierte Agenzien als auch für Prionen sporadischer, erblicher oder erworbener Formen menschlicher transmissibler spongiformer Enzephalopathien sachgerecht. Dies schließt die Anwendung zur Dekontamination von Arbeitsflächen und Böden ein. Eine routinemäßige Reinigung von Böden und Arbeitsflächen durch Wischen mit 0,2% (w/v) SDS / 0,3% (w/v) NaOH bei Raumtemperatur kann auch in Labor- und Tierhaltungsräumen erfolgen, in denen mit anderen TSE-Agenzien gearbeitet wird, sofern dort keine erkennbare Kontamination mit den betreffenden anderen TSE-Agenzien vorliegt.

Empfehlung des ABAS: Schutzmaßnahmen bei Tätigkeiten mit Transmissibler Spongiformer Enzephalopathie (TSE)-assoziierten Agenzien und proteopathischen Seeds weiterer neurodegenerativer Krankheiten in Laboratorien

Weitere, für Prionen im Bioassay validierte Verfahren sind:

- Behandlung mit 6 M, 4 M oder 3 M Guanidiniumthiocyanat für 15 Minuten, eine Stunde bzw. 24 Stunden,
- Behandlung mit zunächst 4% (w/v) SDS (Natriumdodecylsulfat) für 30 Minuten bei 65 °C und anschließend mit 4% (w/v) SDS/1 % (v/v) Essigsäure für 18 Stunden bei 65 °C (Sc237 Scrapie-Agens),
- Autoklavieren bei 121 °C in 3 % (w/v) SDS für 40 Minuten (263K Scrapie-Agens).

(3) Dekontamination von Formalin-fixierten Gewebeproben: Gewebeproben von ≤ 5 mm Dicke können mittels konzentrierter Ameisensäure (≥ 98%) mit einer Abreicherung von 7 Log-Stufen dekontaminiert werden.

(4) Folgende Punkte sind beim Einsatz von chemischen Inaktivierungsverfahren zu berücksichtigen:

- Beim Einsatz von Natriumhypochlorit-Lösung ist zu beachten, dass bei der Erhitzung (z.B. Autoklavierung) ätzende Dämpfe entstehen. Außerdem wirken diese Lösungen korrosiv für alle Arten von Edelstahl. Durch die ätzende Wirkung sind die Augen stark gefährdet. Arbeitslösungen müssen frisch angesetzt werden.
- NaOH wirkt auf Aluminium- und Zinkoberflächen korrosiv: Hochmolare Lösungen können Edelstahl angreifen; niedermolare NaOH reagiert mit dem Kohlendioxid der Luft unter Bildung von Karbonaten, was die alkalischen Eigenschaften der NaOH aufhebt; 10 M NaOH reagiert nicht mehr mit dem Kohlendioxid der Luft und eignet sich als Vorratslösung.

(5) Chemische Inaktivierungsmaßnahmen dürfen nur durch entsprechend eingewiesenes Personal und nur nach Anlegen der persönlichen Schutzausrüstung gegen die Erreger- und Chemikalienexposition durchgeführt werden (Atem- und Spritzschutz gemäß Gefährdungsbeurteilung; Spritzschutz z. B. durch Schutzbrille mit Mund-Nasen-Schutz nach DIN14283 oder durch Gesichtsschild, Atemschutz ggf. durch FFP2- oder andere geeignete Maske, sonstiger Kontaktschutz durch geeignete chemikalienbeständige Handschuhe, Schutzkittel oder Schürzen). Bei Verwendung von Natriumhypochlorit-Lösungen ist auf ausreichenden Luftwechsel zu achten. Das Personal muss regelmäßige Sicherheitsunterweisungen in der sachgerechten Anwendung erhalten. Auf die Anforderungen an die Gefährdungsbeurteilung bei Tätigkeiten mit Gefahrstoffen wie z. B. Natriumhydroxid-, Natriumhypochlorit- und Guanidiniumthiocyanat-Lösungen oder Ameisensäure (≥ 98%) entsprechend der TRGS 526 sowie ergänzende Hinweise aus der DGUV-Information 213-850 wird verwiesen.

5.2.4 Dekontamination wieder verwendbarer Instrumente

(1) Wiederverwendbare Instrumente, die (potenziell) mit TSE-assoziierten Agenzien kontaminiert sein können, sind getrennt von anderen Instrumenten mechanisch zu reinigen und zu autoklavieren. Das manuelle mechanische Reinigen von (potenziell) mit TSE-assoziierten Agenzien kontaminierten Instrumenten ist unter strikter Vermeidung von Aerosolbildung durchzuführen und auf ein absolutes Minimum zu beschränken; automatisierte Verfahren zur mechanischen Reinigung sind zu bevorzugen.

Hinweis: Erfolgt die Instrumentenaufbereitung zentral oder durch externe Dienstleister, muss auf die mögliche TSE-Gefährdung hingewiesen werden.

Empfehlung des ABAS: Schutzmaßnahmen bei Tätigkeiten mit Transmissibler Spongiformer Enzephalopathie (TSE)-assoziierten Agenzien und proteopathischen Seeds weiterer neurodegenerativer Krankheiten in Laboratorien

(2) Zur sicheren Dekontamination von wiederverwendbaren Instrumenten sollten zwei verschiedene Verfahren miteinander kombiniert werden: z. B. eine kombinierte chemisch mechanische Reinigung und Inaktivierung, gefolgt von einem Spülvorgang und einer abschließenden Dampfsterilisation (134 °C, 3 bar absolut, ≥ 1 im Vakuumverfahren) [6, 14, 15].

5.2.5 Dekontamination von Käfigestreue, Ausscheidungen und Gülle

(1) Käfigestreue, Ausscheidungen und Gülle etc. sind durch geeignete Verfahren nach 5.2.1 – 5.2.3 zu dekontaminieren. Sie können dann mit dem normalen Hausmüll entsorgt werden. Chemisch inaktivierte Flüssigabfälle können nach sachgerechter Neutralisation über das Abwasser entsorgt werden.

(2) Tierkadaver sind als Sonderabfall zu behandeln und durch Verbrennung zu entsorgen.

6 Sofortmaßnahmen nach Kontakt mit TSE-assoziierten Agenzien

6.1 Medizinische Sofortmaßnahmen

(1) Nach Kontakt mit TSE-positivem Material sind folgende Sofortmaßnahmen durchzuführen:

- Bei Schnitt- oder Stichverletzungen mit Kontakt zu erregerehaltigem Material fördert man die Wundblutung ggf. durch Spreizen der Wundränder und vermeidet durch Ausdrücken und Quetschen, eingebrachtes Material in die Wundtiefe zu drücken, spült den Wundbereich unter fließendem Wasser ab, und behandelt den Wundbereich schließlich für 5–10 Minuten mit 1M NaOH (ggf. mit einem getränkten Mull- oder Wattebausch, um nicht-kontaminierte Hautbereiche zu schonen). Anschließend sollte wiederum gründlich mit fließendem Wasser gespült werden.
- Bei Schleimhautkontamination (z.B. Auge) wird die betroffene Stelle gründlich (10–15 Minuten) mit fließendem Wasser gespült.
- Bei Hautkontamination (keine sichtbaren Wunden) wird die betroffene Stelle zuerst gründlich unter fließendem Wasser abgespült, dann wie oben beschrieben mit 1M NaOH behandelt (alternativ kann bei Scrapie-assoziierten Agenzien oder menschlichen Prionen eine Lösung von 0,2% (w/v) SDS/ 0,3% (w/v) NaOH eingesetzt werden), und anschließend wiederum gründlich mit Wasser abgespült.
- Mechanische Reizungen verletzter oder kontaminierter Hautstellen (z.B. durch Scheuern mit einer Bürste) sind zu vermeiden.

(2) Zur weiteren Versorgung ist nach Durchführung der Sofortmaßnahmen ggf. ein Arzt aufzusuchen. Die zur Wundbehandlung erforderlichen Lösungen sind gesondert bereitzuhalten und alle drei Monate (Stabilität von NaOH) zu erneuern.

6.2 Unfallrechtliche Dokumentations-, Melde- und Aufbewahrungsfristen

(1) Jede Verletzung mit Kontakt zu oder unfallbedingte Aufnahme von TSE-assoziierten Agenzien ist zu dokumentieren und der nach BioStoffV § 10 Absatz 2 für die Sicherheit und den Gesundheitsschutz am Arbeitsplatz verantwortlichen Person zu melden. Eine Unfallanzeige ist der zuständigen Behörde (BioStoffV §17) und dem Träger der gesetzlichen Unfallversicherung zu übermitteln.

Empfehlung des ABAS: Schutzmaßnahmen bei Tätigkeiten mit Transmissibler Spongiformer Enzephalopathie (TSE)-assoziierten Agenzien und proteopathischen Seeds weiterer neurodegenerativer Krankheiten in Laboratorien

(2) Alle Angaben, einschließlich der Nachweise über aufgetretene Unfälle und Betriebsstörungen, die im Verzeichnis über die Beschäftigten enthalten sind, müssen über einen Zeitraum von mindestens vierzig Jahren nach Beendigung der Tätigkeit in geeigneter Weise vom Arbeitgeber personenbezogen aufbewahrt werden (BioStoffV § 7 Absatz 3)⁴.

(3) Der Arbeitgeber hat bei Beendigung des Beschäftigungsverhältnisses dem Beschäftigten einen Auszug über die ihn betreffenden Angaben des Verzeichnisses auszuhändigen. Der Nachweis über die Aushändigung ist vom Arbeitgeber wie Personalunterlagen aufzubewahren.

(4) Wichtige Anschriften und Notfall-Rufnummern sind im Laborbereich deutlich sichtbar auszuhängen. Die Notfallmaßnahmen sind mit den Betriebs- und Durchgangsnotärzten vorab abzustimmen.

7 Arbeitsmedizinische Vorsorge

Die arbeitsmedizinische Vorsorge ist entsprechend den Vorgaben der Verordnung zur Arbeitsmedizinischen Vorsorge (ArbMedVV [16]) festzulegen (Angebotsvorsorge gemäß ArbMedVV Anhang Teil 2 (2) Nr. 2).

⁴ Bei menschlichen TSE wurden teilweise jahrzehntelange Inkubationszeiten, die bei erworbenen TSE-Formen wie etwa Kuru in Einzelfällen mutmaßlich über 50 Jahre betragen, beobachtet. Vor diesem Hintergrund liegt die o. g. Dauer der Aufbewahrungspflicht der Dokumentation von Unfällen mit Kontakt zu TSE-assoziierten Agenzien im wesentlichen Interesse von Labormitarbeitern und Labormitarbeiterinnen (sowie ggf. ihren Angehörigen).

Empfehlung des ABAS: Schutzmaßnahmen bei Tätigkeiten mit Transmissibler Spongiformer Enzephalopathie (TSE)-assoziierten Agenzien und proteopathischen Seeds weiterer neurodegenerativer Krankheiten in Laboratorien

Literaturverzeichnis

- [1] Verordnung über Sicherheit und Gesundheitsschutz bei Tätigkeiten mit Biologischen Arbeitsstoffen (Biostoffverordnung – BioStoffV)
- [2] Zentrale Kommission für die Biologische Sicherheit (ZKBS), 2023. https://www.zkbs-online.de/ZKBS/SharedDocs/Downloads/01_Allgemeine%20Stellungnahmen/11_Zellbiologie/Prion-Proteine_Expression_akt.%202023.html (Zugriffsdatum: 10.06.2024)
- [3] S. Mead & T. Evans, 2021. Lancet Neurol. 20:981
- [4] Department of Health and Social Care (DHSC), 2021. <https://assets.publishing.service.gov.uk/media/629751ad8fa8f50390d44ffd/laboratory-containment-and-control-measures-updated-nov2021.pdf> (Zugriffsdatum: 10.6.2024)
- [5] D.M. Taylor, 2000. Vet. J. 159:10-17
- [6] D. Simon & G. Pauli, 1998. Bundesgesundheitsblatt 41:279-285
- [7] A. Thomzig et al., 2014. Acta Neuropathol. Commun. 2:151
- [8] P. Pinder et al., 2021 J. Hosp. Infect. 108: 25-32
- [9] K. Lemmer et al., 2008. J. Gen. Virol. 89:348-358
- [10] S. Pritzkow et al., 2011. PLoS One 6:e20384;
- [11] M. Bélondrade et al., 2016. PLoS One 11:e0146833;
- [12] M. Bélondrade et al., 2020. mSphere 5:e00649-19
- [13] M. Moudjou et al., 2020. Front. Bioeng. Biotechnol. 8:591024.
- [14] N.N., 1996. Bundesgesundheitsblatt 39:282-283
- [15] Task Force vCJK, 2002. Bundesgesundheitsbl. - Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz 45:376-394.
- [16] Verordnung zur arbeitsmedizinischen Vorsorge. <https://www.gesetze-im-internet.de/arbmedvv/> (Zugriffsdatum: 28.06.2024)