

E.S.G.E. (European Society of
Gastrointestinal Endoscopy) Guidelines
(欧州消化管内視鏡学会ガイドライン)

Variant Creutzfeldt-Jakob Disease
and
Gastrointestinal Endoscopy
(変異型クロイツフェルト・ヤコブ病と消化管内視鏡)

A. T. R. Axon, U. Beilenhoff, S. Ghosh, A. Kruse, G.
E. McDonnell, C. Neumann, J.- F. Rey, K. Spencer

要旨

変異型クロイツフェルト・ヤコブ病（変異型 CJD）は、ウシ海綿状脳症(BSE)に感染している肉製品を摂取することにより発症する伝播性の海綿状脳症と信じられている。これまで 100 人以上がこの不治の病に罹患している。医原性の変異型 CJD の報告はないが、理論的には外科的処置によってこの疾患が伝播される危険性がある。このレビューでは、変異型 CJD の基本的事項と内視鏡検査によって伝播される危険性がどの程度あるかについて解説したい。内視鏡検査によって変異型 CJD が伝播されるリスクは小さく、使用後に適切な処置が成されればそのリスクはまず無視することができる。感染源としてもっとも危険性が高いのは、潜伏期にある健康人である。病原性プリオン (PrP^{Sc}) はリンパ組織（特に扁桃腺）に認められるが、少量の病原性プリオンは虫垂やパイエル板にも確認されている。これらのプリオンには、従来行われてきた滅菌がすべて無効である。理論的には、生検鉗子や内視鏡の鉗子チャンネルがプリオンで汚染されるリスクが存在する。このレビューでは、これらの小さなリスクを如何にして更に小さなものにするかについて、その方策を勧告している。勧告には、回腸末端の生検に用いる鉗子は再使用しないこと、内視鏡やその付属品のメンテナンスに更に注意を払うこと、用手法で厳重に洗浄すること、内視鏡の鉗子チャンネル（鉗子孔）を洗浄するブラシにはディスポーザブルで信頼できるものを使用すること、などが含まれている。

はじめに

変異型 CJD はヒトの致死的な疾患で、BSE の病原体に汚染された肉製品を摂取することによって発症するものと信じられている。感染性の粒子は高次構造が正常とは異なる異常な立体構造をもつプリオン蛋白質で、触媒的に作用して正常プリオンの高次構造を変換し、異常な高次構造に変えてしまう。最終的には、脳に典型的な海綿状変化をもたらす。異常プリオンには、通常に行われている滅菌法は無効で、調理や消化酵素による加水分解にも抵抗性である。これまで 100 人余りの発症者が確認されているが、潜伏期間が長期にわたることから、感染者の数がどれほどのものになるかは不明である。患者の発生はほぼ英国に限られているが、アイルランドやフランスでも少数ながら患者が発生している。患者は増え続けている。

変異型 CJD 以外にもヒトが罹患するプリオン病が数多くあり、脳に同様の病理変化を生じる。これまで医原性の変異型 CJD は報告されていないが、理論的には医原性変異型 CJD が発生するリスクが存在する。ガイドラインを策定する責任がある公衆衛生学の学者、学会、機関はこのリスクに注意を払う必要があり、このリスクについて助言し、如何にしてこのリスクをより小さなものにするか表明しなければならない。

欧州消化管内視鏡学会（ESGE）は 40 カ国の消化管内視鏡学会を代表している。消化管内視鏡検査では軟性の内視鏡が用いられ、口または肛門から消化管に内視鏡が挿入される。内視鏡検査では最初に内表面の観察が行われるが、多くの場合、病理検査のために小さな組織片を採取することが主たる目的となっている。さらに内視鏡の鉗子チャンネルから、種々の器具を挿入することによって様々な手術が行われている。内視鏡の発達は、正確な早期診断を可能にし、患者の福音になっている。また、以前は開腹・開胸下に行われていた手術も、内視鏡的に施行されるようになり、重篤な状態であっても容易、安全かつより安価に治療が行われるようになった。内視鏡は、消化管由来の症状を呈する患者の大多数にとって、最も大切な医学的な処置となっている。

軟性内視鏡は、高温や強い化学的刺激に耐えられないため、本質的に滅菌が難しい。これまで B 型肝炎を含めて、内視鏡検査によって感染が生じ得ることが知られている。このために、使用後の器具類の洗浄と消毒に関して、厳重な勧告がなされている。これらの勧告に従って処理を行えば、内視鏡検査でウイルス、細菌、真菌、寄生虫による感染が生じるリスクは無視できるものになる。しかし、変異型 CJD の原因と考えられているプリオンは、オートクレーブを含めて現行の滅菌法で完全に殺滅することはできない。英国の健康局では、理論的に手術による感染リスク

があることから、扁桃腺摘出を行う際にはディスプレイの手術器具を用いるよう指導している。

内視鏡検査によってプリオンが伝播されるリスクについては、内視鏡医などによって誌上に取り上げられ問題となっている。そこで ESGE では、内視鏡検査によってプリオンが伝播される潜在的リスクを評価することと、そのリスクをより小さなものにするためのガイドラインを策定するための作業部会を召集した。内視鏡検査によってプリオン病が伝播されることを示唆する証拠が存在しないということは、重要な事実である。しかしながら、変異型 CJD は新しく出現した病気で、今後さらに増加することが予想されているのである。

方法論

変異型 CJD の問題は、2001 年 2 月 9 日に ESGE のガイドライン策定委員会で取り上げられ、作業部会は 2001 年 4 月 11 日に召集された。まず素案が作成され、作業部会の全員に配られた。7 月 6 日の委員会を経て最終的なガイドラインが策定され、作業部会とガイドライン策定委員会の全メンバーの承認を得て、ESGE の名で公表されることとなった。この報告書は現時点での知識に基づいて作られたものであり、将来変更されることがあるかもしれない。

プリオンとヒト伝播性海綿状脳症 (TSE)

背景

「TSE とは？」

プリオンという言葉は感染性の蛋白質という意味で使われている(1)。Prusiner が最初にこの言葉を用い、小さな蛋白質性の感染因子によって TSE が発症するというプリオン仮説を提唱した。TSE は致死的な神経変性疾患の一群で、ヒトおよびヒト以外の動物もこれに罹患する。ヒトの TSE を表 1 に示す(2)。最も頻度の高いヒトの TSE はクロイツフェルト・ヤコブ病 (CJD) で、100 万人あたり年間 0.5 人から 1.5 人の新しい患者が発生する(3)。一方、メディアの注目を集めている変異型 CJD (変異型 CJD) は、比較的最近になって知られるようになった疾患である。

表 1 ヒトの伝播性海綿状脳症

Creutzfeldt-Jacob 病 (CJD)
孤発性：85%
家族性：10%
医原性：5%
変異型 CJD (変異型 CJD)
Kuru
Gerstmann-Straussler-Scheinker 病
致死性家族性不眠症 (FFI)

ウシ海綿状脳症 (BSE) は 1986 年に初めて報告され、1988 年には報告が義務づけられた；ウシやヒツジ、ブタ、家禽類等のくず肉、骨、脂身などから製造された肉骨粉を原料とした飼料に、異常プリオンが含まれていたために、BSE が発生したものと考えられている(4)。変異型 CJD の一例目は 1996 年に報告され(5)、BSE の病原体にヒトが感染することによって変異型 CJD が発症することが確実視されるにいたって、深刻な事態となった。BSE に冒されているウシの中枢神経組織がヒトの食物連鎖に侵入した結果、経口的に感染した可能性が最も高い。

「プリオンとは」

プリオンはタンパク質のみから成り立っている例外的な“感染性”の物質であり、広く分布している正常型のプリオン蛋白が形を変えた悪玉である。ヒトのプリオンは、20番染色体の短腕に位置する単一の遺伝子 (*PrP*) によってコードされている(6)。mRNA から 253 個のアミノ酸からなる銅が結合した糖蛋白が作られる。プリオンには、N 末領域の 8 アミノ酸を 5 回繰り返す構造、2 カ所の糖鎖付加部位と 1 カ所のジスルフィド結合が存在する。プリオン蛋白が形成される過程で N 末端と C 末端の 2 つのシグナル配列が取り除かれ、グリコシル-ホスファチジル-イノシトール (GPI) をアンカーとして細胞膜の外表面に結合する(7)。*PrP* 遺伝子は、健康な動物や人間においては脳などの組織で発現する。正常な個体のプリオン蛋白を細胞型プリオン (PrP^C) と呼び、高次構造の異なる感染性の異常プリオンをスクレイピー型プリオン蛋白 (PrP^{Sc}) と呼んでいる。 PrP^C と PrP^{Sc} は高次構造が異なるだけで、アミノ酸の配列も糖鎖が結合するパターンも同じである(1)。 PrP^C は可溶性、プロテアーゼ感受性であり、消化酵素によって完全に分解される。変異型 CJD など認められる PrP^{Sc} は、プロテアーゼ抵抗性で極めて難溶性である。 PrP^{Sc} が消化管のプロテアーゼの影響を受けないということは、プリオン蛋白が分解されずにそのままの形で回腸粘膜と接触してしまうことを意味しており、プリオンの伝播を考えるうえで重要かもしれない。翻訳後に PrP^C から PrP^{Sc} への高次構造の変換が生じることは、変異型 CJD を含めて全ての TSE において病態の本質である。 PrP^C と PrP^{Sc} の間には、翻訳後の変化を説明できる一次構造の違いは認められていない(8)。生物物理学的な研究により、 PrP^C と PrP^{Sc} の高次構造の違いが明らかにされている。即ち、 PrP^C では 40%が β -ヘリカル構造をとっており、 α -シート構造はほとんど認められない。一方、 PrP^{Sc} では 40%が α -シート構造で、 β -ヘリカル構造は 20%のみである(9)。

トランスジェニックマウスを用いた実験では、*PrP* 遺伝子欠失マウスには PrP^{Sc} が伝播されることはなく、発症することもない(10)。摂取された PrP^{Sc} は、宿主の PrP^C と接触すると触媒的に作用し、 PrP^C の二次構造に変化が生じ、病的な PrP^{Sc} に変換される(11)。この触媒的な作用は試験管内でも確認することが可能で、 PrP^C を PrP^{Sc} と混合して精製すると PrP^{Sc} に似た性質を持つプリオン蛋白が得られる(12)。高次構造に変化が生じる仕組みについて、正確なところは判明していない。蛋白の高次構造に変化を生じさせる機序として、 PrP^{Sc} が鋳型となり変換をアシストするというモデル(11)と、 PrP^{Sc} が核となって重合が生じるというモデル(13)が考えられている。

「変異型 CJD の罹患数はどれくらいになるか」

変異型 CJD の流行がどれほどの規模になるのか、また患者数はどれくらいになるのかについては様々な予測がなされているが、正確なところは分かっていない。現在の死亡統計からは、変異型 CJD に感受性のある遺伝子型を持っている人々の中から 63 人から 13 万 6000 人の患者が発症すると考えられる(14)。約 40%の人が *PrP* 遺伝子のコドン 129 がメチオニンのホモ接合であり、彼らが感受性のあるグループと考えられている。しかし他の遺伝子型のグループも単に潜伏期間が長いだけなのかもしれない。2001 年 6 月までに、英国 CJD サーベイランスユニットは 102 例の CJD を確認しているが、発生率は南部に比べ北部で高いものになっている(15)。変異型 CJD は若年者の病気と考えられているが、高齢者が罹患することもある(16)。BSE の病原体は、英国だけでなくアイルランドやフランスでもヒトに感染している。BSE 発生の有無にかかわらず、世界中で変異型 CJD の発症をみる潜在的なリスクが存在する。

「どのようにしてプリオンは腸から侵入するのか」

これについては最近レビューが出されている(17)。TSE に汚染されたものの経口摂取後、早期に腸管の集合リンパ小節 (パイエル板) は感染性を持つようになり(18)、そこには PrP^{Sc} が確認される(19)。したがって、プリオンはパイエル板から腸管吸収されるものと考えられる。37 キロダルトンのラミニン受容体前駆体 (LRP) が、プリオン蛋白の受容体ではないかと推定されて

いる(20)。 刷子縁の67キログルトンのラミニン受容体(LR)は、ヒトの小腸粘膜の約40%に認められる(21)。最近、神経病理学的に明らかな異常は認められない患者について、腸管神経節や小腸粘膜の神経組織に PrP 遺伝子と PrP^C 蛋白が分布していることが報告されている(22)。PrP 特異的モノクローナル抗体を用いた実験では、小腸粘膜の凍結切片は強く反応した。このことは、PrP^C が腸管神経系(ENS)の異なる部位に存在することを示している。位相差顕微鏡により、PrP^C が神経線維と腸管のグリア細胞に存在していることが明らかになっている。In situ hybridization によって、腸管神経系(ENS)の神経節の神経細胞にも、またグリア細胞にも PrP の mRNA が検出されている。PrP^C 陽性の神経終末と上皮細胞は近接しており、吸収された TSE の病原体と、宿主の腸管神経系(ENS)に含まれる PrP^C を隔てるものは薄い上皮のみである。小腸上皮の刷子縁に 37/67 キログルトンのラミニン受容体(LR)が存在することがリスクファクターとなり、経口摂取された TSE の病原体が腸管の上皮を通過し、近接している PrP^C 陽性の神経終末に伝播されるのであろう。

「プリオンはどのような組織に存在するのか」

変異型 CJD において、プロテアーゼ抵抗性の PrP、即ち PrP^{Sc} が脳や脊髄に認められるのは当然であるが、PrP^{Sc} は扁桃の杯中心にある濾胞様樹状細胞(FDC)にも豊富に存在する。虫垂、脾臓、頸部や縦隔、大動脈周囲、腸間膜のリンパ節にも、数は多くないものの PrP^{Sc} は存在している(23)。回腸のパイエル板の濾胞様樹状細胞(FDC)に相当する細胞も抗プリオン抗体で染色されるが、自己融解が著しいため詳しい解析はなされていない。変異型 CJD において、食道、胃、肝臓、胆嚢、膵臓、腎臓や骨盤内臓器は免疫染色で染色されない。1995年に摘出された発症の8ヶ月前の症例の虫垂で、PrP^{Sc} が検出されている(24)。神経病理学的に変異型 CJD と診断された4症例を、高感度イムノブロットング法によって検討した最近の報告によれば、扁桃、脾臓、そしてリンパ節において PrP^{Sc} が確認されている。これらの組織に存在する PrP^{Sc} の量は、脳に含まれる量の0.1から15%である。扁桃における濃度は一貫して高値である。他の末梢組織では PrP^{Sc} は認められないが、例外的に一例の変異型 CJD 患者において直腸、副腎と胸腺で少量の PrP^{Sc} が検出されている。変異型 CJD の虫垂および血液(白血球層)は、変異型 CJD 脳の10%ホモジネイト 5nL が検出限界のアッセイでは PrP^{Sc} 陰性である。胃、小腸、直腸以外の大腸については検討されていない(25)。

レトロスペクティブに3,000例以上の虫垂および95例の扁桃をプロテアーゼKで処理し、免疫組織化学的に検討したものでは、病原性 PrP は検出されなかった(26)。ウエスタンブロットを用いたプロスペクティブスタディーの結果はまだ出ていない。

孤発性 CJD では、リンパ組織も含めて、他の組織が PrP に反応することはない。変異型 CJD の症例においてのみ、中枢神経系以外のリンパ組織で、PrP^{Sc} に相当するプロテアーゼ抵抗性の PrP を検出することができる。

「変異型 CJD 患者の組織の感染性はどれほどか？」

この問いに十分に答えられるデータは、現在のところ揃っていない。動物実験において、リンパ組織の感染性は脳や脊髄の10分の1から100分の1である(27)。変異型 CJD 患者の腸管の感染性がどれ程のものであるかは、未だ明らかになっていない。患者の神経系以外の組織を用いた感染性の実験では、脾臓および扁桃を大脳内に接種した場合、一部のマウスにのみ伝播されている。潜伏期間は比較的長く、すべてのマウスを発症させた脳組織に比べ感染性は低いものと考えられる。変異型 CJD 患者の脳は、脾臓の100倍から1,000倍の感染性があると思われる。血清や白血球層を用いたマウスへの伝播実験は失敗している。しかし、直接に大脳内へ接種した時の伝播と、正常ないしは傷ついた腸管を経由する場合の伝播は比較できない(28)。BSEに罹患したウシの脳を経口摂取させた、外見は正常なヒツジ11頭のうち1頭は、潜伏期間内に当たり、その全血を輸血したヒツジを発症させている(29)。英国血液センターでは、既に提供された血液の

白血球を除去しており、血清製剤は BSE が発生していない国から輸入している。実行可能な最良の方策である。

一人のフランスの変異型 CJD 患者および二人の英国の変異型 CJD 患者の脳ホモジネイトをサルに接種した実験では、BSE 病原体は病原性を増し、短期間でサルを発症させている(30)。 BSE 病原体のサルに対する病原性が、ヒトを経由することによって増強するという事は、医源性伝播を考える上で悩ましい問題である。

「内視鏡検査によって CJD は伝播されるか？」

消化管の内視鏡は孤発性 CJD (sCJD) 患者にとっても、また新しい変異型 CJD (vCJD) 患者にとっても、他に代わるべき手段がない場合には必要な処置となることがある。組織を切り取る操作が含まれる場合、特にリンパ組織の摘出や生検が行われる場合は、内視鏡の汚染は深刻な問題となる。変異型 CJD の潜伏期にあって、臨床症状が出現していない患者が、ヒトからヒトへ伝播が生じる感染源として最も重要である。

「孤発性 CJD」

孤発性 CJD において、異常なプリオンは脊髄を含む中枢神経系に広く分布している。しかし、眼も医源性伝播の原因となる。医源性 CJD の最初の報告は角膜移植であった。消化管の内視鏡検査の場合、内視鏡も生検鉗子のような付属品も、病気を伝播する危険性がある感染性組織に接触することはない。したがって、消化管の内視鏡によってヒトからヒトへプリオンが伝播されることはないと考えられる。sCJD の患者に使用した内視鏡は、通常と同様の洗浄・消毒を行って再使用することが可能である(31)。

「変異型 CJD」

しかし、変異型 CJD の場合は状況が異なる。動物モデルによれば、潜伏期の大部分の期間で、全身のリンパ網内系に病原性のプリオン (PrP^{Sc}) が認められる(19)。扁桃やパイエル板や虫垂壁の胚中心のリンパ系組織では、比較的高レベルの PrP^{Sc} が検出される(24, 32)。動物では、中枢神経系より少量ではあるが(34)、腸管の上皮(33, 34)や腸管の神経系の細胞(17)で PrP^{Sc} が検出される。感染性のある腸管のリンパ系組織と内視鏡の間には、上皮しか存在しない(17)。したがって、内視鏡がリンパ系の組織で汚染され、その汚染が除去されなかった場合には、プリオンがヒトからヒトへ伝播されるリスクが考えられる。消化管の内視鏡検査を行う場合、理論的には上部消化管と下部消化管ではリスクは異なる。絨毛上皮そのものがリスクになりえるということもあるが、リンパ系組織に接触する危険性のある下部消化管の検査の方が、より高リスクである(19, 33)。

上部消化管の内視鏡

「既に診断がなされている場合」

扁桃が傷つけられた場合、理論的には内視鏡の外側を汚染する危険性がある。胃や十二指腸の生検を行った場合、生検鉗子や鉗子チャンネルが汚染されるリスクは否定できない。変異型 CJD であるとの診断がついている症例や強く疑われている症例では、胃の内視鏡を避ける方策をできるだけ探すべきである。胃の内視鏡が必要とされるケースで最も多いのは、経鼻経管栄養が上手く行えず、経皮内視鏡的胃瘻増設術を行う場合であろう。エコーガイド下での胃瘻増設など他に方法がない時は、過去に同様の患者に用いられた内視鏡を手配すべきである。そのような内視鏡がない場合は、公的機関などに内視鏡を提供するよう申し出るのがよい。その内視鏡は同じような事態が生じた時には、他の CJD 患者に使用が可能である。他に代わるべき方法としては、耐用

年数の切れかかった内視鏡を使うやりかたがある。このような内視鏡は使用後に廃棄処分にしても良いし、新たな変異型 CJD 患者に用いるために保管しておいてもよい。変異型 CJD の発生頻度の高い国では、このような目的のための内視鏡を何本か用意しておくことが必要かもしれない。

「潜伏期の変異型 CJD 患者」

診断のついていない潜伏期の変異型 CJD 患者は、内視鏡検査の際に状況が把握されていないため、ヒトからヒトへのプリオン伝播の原因となることが危惧される。私たちはこのようなリスクは小さいものの、ゼロではないと信じている。これまで、正常人から摘出された扁桃または虫垂 3,000 検体について調査されているが、PrP^{Sc} は検出されていない(26)。したがって感染性のある患者の内視鏡検査が行われるリスクは、1/ 3,000 より大きいとは思われない。おそらく、もっと小さなものであろう。しかし、そのたいへん小さなリスクも、内視鏡操作の技術を上げることによって、さらに減少させるのがよい。乱暴に内視鏡を押し進めると、扁桃の表面を覆う粘膜を損傷する危険性があり、リンパ組織と内視鏡の外側が接触することになってしまう。損傷したり、切れ味の悪くなった生検鉗子は組織を採取する際に切断するのではなく、引き裂くかたちとなりやすく、内視鏡の鉗子チャンネルが汚染されるリスクを増加させるかもしれない。もし汚染された生検鉗子が適切に処理されずに再使用されれば、理論上、ヒトからヒトへの伝播が生じる原因となりえる。生検鉗子の外にはみ出した組織も、内視鏡の鉗子チャンネルやバルブを汚染するかもしれない。汚染された内視鏡は、適切に処理されない場合、プリオンの伝播を仲介するかもしれない。これに関連し、一回の挿入で多くの検体を採取することは、鉗子の先に負担をかけ、鉗子チャンネルの汚染につながるかもしれない。

直視下に非暴力的に挿入し、よくメンテナンスされた器具を用い、不必要な生検を避けることがリスクを軽減させる。入念に器具を洗浄することは更にリスクを軽減させる。しかし消毒剤は有効でない。おそらく内視鏡によるプリオンの伝播を防ぐのに最も有効なのは、機械による汚染除去を行う前に、チャンネルにあったサイズで、状態の良い、洗浄に適したブラシを用いて、繰り返し手法で洗浄することであろう。

下部消化管の内視鏡

胃の内視鏡と同じように、全てにわたって内視鏡が汚染される危険性を出来る限り少なくなるように最善を尽くすのが基本である。生検鉗子は、正常に動作するようにしておかなくてはならない。大腸ファイバーを十分に洗浄することが、内視鏡による変異型 CJD の伝播の危険性を減らす基本である。最終処理の前の洗浄を、摩耗したブラシやサイズが合っていないブラシを用いて行ってはならない。バルブも汚染される危険性があるので、十分に洗浄し再生しなくてはならない。低コストでディスポーザブルの鉗子チャンネルの栓が入手できれば有用であろう。

回腸のパイエル板の生検が、大腸ファイバーで最もリスクがあると考えられる。診断がついていない患者の検査により伝播事故の生じる危険性が高いことを考えると、臨床的に適応がなければ、回腸の生検は避けるべきである。回腸の生検には、ディスポーザブルの鉗子を使用すべきである。

ERCP

ERCP は、上部消化管の内視鏡に比べて、プリオンの伝播が生じるリスクが高いわけではない。標準化された洗浄再生の手順は、常に守らなくてはならない。

吸引された血液による変異型 CJD 伝播の危険性

前に述べたように、血液における変異型 CJD の感染性のレベルは明らかにされていないが、脳

やリンパ組織よりは低レベルであると思われる。手順通りに洗浄した内視鏡に残っている血液の量は、輸血に用いられる量に比べると無視できるものである。内視鏡に吸引された血液によって、変異型 CJD が伝播されるリスクは大きくない。

通常の消毒、滅菌に対する PrP^{Sc} の抵抗性

プリオンは、物理的方法でも化学的方法でも、通常の消毒法や滅菌法に著しい抵抗性を示す。プリオンはプロテアーゼや薬品、温熱を含めて蛋白を不活化する手段に抵抗性を示すという、生化学的にユニークな性質が本来ある(35)。これまでのプリオンの抵抗性や不活化法に関する報告に、かなりばらつきがあることには注意しないとイケない。それは、方法論、用いられたプリオン株、解析法の違いなどに起因する。最近の文献に基づいた滅菌・消毒法の効果を表 2 に示す(35-39)。

表 2 PrP^{Sc} の不活化

有効なもの	無効なもの
焼却 Autoclave 121 、 30 分 (gravity displacement) 134 、 18 分 (prevacuum) 水酸化ナトリウム (1 ないし 2M、 1 時間) 次亜塩素酸ナトリウム (2%、 1 時間) ある種のフェノール類 蟻酸 (96%、 組織固定用) 過酢酸 (使用法による) 塩酸グアニジン グアニジンイソチオシアネート	紫外線、電離線、マイクロ波の照射 塩酸を含む酸 グルタルアルデヒド、OPA エチレンオキシド、アルコール類 過酸化水素、過酸化塩素 乾熱、煮沸、乾燥、凍結 ほとんどのフェノール類 4 級アンモニウム塩、ヨードホルム 酵素 (プロテアーゼ)

プリオンは核酸を持たないので、紫外線の照射など核酸をターゲットにした方法は無効である。アルデヒドやエチレンオキシド、アルコールのように、蛋白のクロスリンキングによって効果を発揮するものは、プリオンを含んだ材料が器具により固着することにより、感染のリスクを増す危険性もある(40)。プリオンには、概して酸よりもアルカリが有効で、1M水酸化ナトリウムによる 1 時間の処理は有効であると報告されている(41)。しかし、1Mないし 2Mの水酸化ナトリウムで処理したものにプリオンが残存していたという報告もある(42,43)。オートクレーブについても同様の危険性がある。次亜塩素酸ナトリウム(ブリーチ)(44)や過酢酸のように、酸化剤の中にも有効なものがある(36)。プリオンに対して単独で 100%有効な方法はないということ念頭に置き、医療器具を再生する時には、十分な洗浄、化学的な消毒、化学的または物理的な滅菌のなかから、いくつかの方法を組み合わせる慎重な対応をとることが大切である(38, 39)。十分に洗浄した後、高濃度の水酸化ナトリウムまたは次亜塩素酸ナトリウムに浸漬し、最後にオートクレーブに長時間かけるとするのが一般的な方法である(37, 45-47)。

軟性の消化管内視鏡による変異型 CJD 伝播を防ぐ具体的方法

一般に行われている滅菌法では、変異型 CJD の病原体である PrP^{Sc} を不活化することは出来ない。内視鏡の器具が感染性組織で汚染されるリスクは小さいが、洗浄を厳重に行なうことによって、そのリスクをさらに小さなものにすることが出来る。経腸的に感染を成立させるのに必要なプリオンの量は不明である。生検鉗子が少量の感染性組織に汚染されていても、その組織が患者の体内に送り込まれるとは限らない。鉗子が引き抜かれる時に付着していた組織も一緒に取り出

され、腸管内に残されない可能性もあるからである。内視鏡を通じて挿入される注射針は、テフロンカバーがされていて、鉗子に比し更に注意を払う必要がある。本学会は、内視鏡に用いられる注射針は全てディスポーザブルにするよう、既に勧告している。

グルタールアルデヒドのようなアルデヒド類には蛋白を固着させる性質があることには留意しなくてはならない。洗浄剤をもちいて入念に洗浄し、さらに水でリンスした後でなければ、アルデヒド類を使用してはいけない。十分な洗浄が行うことにより、内視鏡のチャンネルがプリオンで汚染される危険性は小さくなる。

欧州消化管内視鏡看護学会 (ESGENA) によって作成された詳しい付録が、このレビューには付けられており、とるべき予防策について概説している。

内視鏡を適切に取り扱わないと、プリオンを伝播する危険性があることには注意すべきである。汚染を最小限にするためには、内視鏡室のスタッフ全員の努力が必要である。最善を尽くすことにより、現在まだ推し量ることが出来ていない、非常に小さな感染の危険性をさらに減らすことが可能になる。内視鏡による変異型 CJD の感染は英国でも報告されていないが、楽観視するのは間違いであろう。この絶望的な病の医原性感染から患者を守るには、この予防策を維持、さらに改善することにより、対策に努めることが重要である。

内視鏡器具の今後の動向

「内視鏡」

検査に用いられる消化管内視鏡は、医療スタッフや患者に必要とされる衛生的な要件を満たしてきた。用手法にせよ、機械を用いるにせよ、現行の再生法・消毒法の微生物学的効果は証明されてきた。

つい最近まで軟性の内視鏡がプリオンで汚染される危険性を考慮する必要はなかったのである。

軟性内視鏡は、光学式のものも電子式のものも、本質的に複雑で少々繊細な機械である。したがって、プリオンを不活化するような強い化学薬品はこれらの機械を損傷してしまう。

薬液消毒、化学的な滅菌、高温と薬品を組み合わせた再生法、オートクレーブなどの従来の方法にも不活化されないというプリオンの性質を考慮すると、内視鏡の内表面と外表面から組織片を完全に除去する必要性が増してくる。言い換えると、消毒や滅菌の前に、洗浄行程に十分に配慮しなくてはならないということである。

このことは新しい問題を提起している。再生処理の全行程だけではなく、洗浄の効果のみを確認する必要性が生じているのである。

今後、内視鏡を設計する際には、洗浄について配慮しなくてはならない。例えば鉗子チャンネルのように、腸管から採取された組織片に直接曝されるチャンネルは、ブラシによる機械的洗浄が行いやすいように設計されることが望ましい。また、腸管の組織片が付着しにくい素材の開発もなされる必要がある。精密な医療機器に大きな設計の変更を加えるのは短期間では難しく、これらは将来の課題である。

内視鏡の洗浄効果の確認の問題は別にして、痛んだり、損傷して、効果の落ちた洗浄ブラシは直ちに廃棄すること、鉗子チャンネルを入念にブラッシングすることがまず重要である。実際、洗浄ブラシは定期的に、おそらく毎日、新しいものに交換する必要がある。一回ごとの使い捨て

にするのが理想的である。

推奨されている洗浄を行うことによって、内視鏡から蛋白を確実に取り除くことが出来るということは、現在のところ推論の域を出ていない。しかし、プリオンを不活化するのに推奨されている化学薬品のいくつかは、軟性内視鏡はある程度耐えることができるかもしれない。これを行うと、修理やメンテナンスのためのコストがかさむことになるかも知れないが、高価な医療器具を廃棄するよりは経済的であろう(これ以上の技術的な情報は個々の製造業者によって提供されるべきである)。

定期的なチャンネルの交換(損傷したり、疲弊したチャンネルの表面は洗浄が難しい)は、製造業者に依頼することが出来る。少なくとも1年に1回程度のオーバーホールを行うべきである。(これ以上の技術的な情報は個々の製造業者によって提供されるべきである)

他でも触れたように、生検方法を工夫するのも有用かも知れない。チャンネルの汚染の危険性を、減少ないしは排除するような生検器具が必要かも知れない。

「内視鏡的治療の器具および付属品」

他の付属品のなかにも検討を必要とするものがあり、最終的には使い捨ての製品を採用する必要があるかも知れない。

一般的には、内視鏡治療に用いる器具に関し、広くシングルユースの製品を使用しなければならないという証拠は現在のところないように思われる。しかし、粘膜を引きちぎるのではなく、切断するように生検鉗子を操作する技術を向上させる必要がある。そのように操作すれば、生検材料全体が鉗子の中に収まるのである。吸引ラインを内蔵した生検鉗子は、製造可能かも知れない。そうなれば、生検材料は直に内視鏡の鉗子チャンネルを通るのではなく、鉗子内を通じて取り出すことが出来るようになる。

シングルユース製品の経済性に関しては、様々な見解、試算がなされている。安全と利便性のためには常にコストが必要だ、と言ってもさしつかえない。科学的根拠や採算性に関する裏付けなしにシングルユース製品の問題に対応することで、診断や治療のために内視鏡を必要としている患者に適切な医療を提供できなくなるとしたら、遺憾なことである。

付録：欧州消化管内視鏡看護学会 (E S G E N A)

内視鏡によるプリオン伝播のリスクを軽減するための勧告

これは既に出版された内視鏡の再生（洗浄・消毒・滅菌）に関する ESGE および ESGENA のガイドラインを補遺するものである。

はじめに

プリオンに汚染された内視鏡を効果的に消毒・滅菌する方法は知られていない。内視鏡に付着したプリオンの伝播を防ぐのには器具から洗浄によって有機物を取り除くことと、環境の汚染を防ぐことが重要である。

1. 医療スタッフの防御

- # 内視鏡とその付属品は感染の原因になり得る。したがって製造業者が勧める保証され、標準化された方法によって、再生を行うことが基本である。そのためには特別な知識と訓練が必要であるスタッフは以下の点について訓練されていなければならない。
 - ・ 器具の手入れとメンテナンス。
 - ・ 検査における器具の取り扱い。
 - ・ 器具の洗浄、消毒および滅菌を含めた器具の再生。
 - ・ 健康被害のことも含めた感染管理。
- # 内視鏡に用いる器具の再生は訓練されたスタッフのみが担当するべきである。
- # 内視鏡類の再生は専用の部屋で行い、他のスタッフや周囲を汚染しないように配慮すべきである。
- # 内視鏡類の再生にあたるスタッフはしぶきやエアロゾル、蒸気から身を守るため、手袋、裾の長い防水性のガウン、マスクまたはフェイスシールドなどを身につけるべきである。
- # 小さなピペット、ピンセットまたはつまようじを用いて鉗子から組織片を取り出すべきである（針を用いると針刺し事故のリスクが生じる）。生理食塩水の中で鉗子を振って組織を取り出してもよい。
- # 有機物が内視鏡のバルブや鉗子チャンネルに再度持ち込まれるのを防ぐために、次の生検を行う前に鉗子の先端を生理食塩水または水でリンスする。

2. 付属品の選択

生検鉗子

- # 回腸の生検にはディスポーザブル（シングルユース）の生検鉗子を用いるべきである。
- # ディスポーザブルの生検鉗子はリスクを減らすのに有効である。
 - ・ スタッフは再生作業をする必要がない。
 - ・ 患者には過去に検査の際にも、再生中にも感染性の組織に触れたことがない鉗子が使用される。

内視鏡用注射針

- # ディスポーザブルとすべき理由は以下の通りである。
 - ・ 針刺し事故によるスタッフのリスクを減らす。
 - ・ 針の内腔は狭いために洗浄がしにくく、再生するのに問題がある。

細胞診用ブラシ

- # 細胞診用ブラシは洗浄が難しいのでディスポーザブルとすべきである。ブラシに組織が残る以下
下のことが生じえる。
 - ・ 次の患者に感染が生じる（外因性感染・交差感染）
 - ・ 細胞診を誤る。

侵襲的処置に用いる付属品

- # 侵襲的な処置に用いるものは可能であればディスポーザブルにするのがよい。理由は以下に述べる。
 - ・ スタッフの感染リスクを減らす。
 - ・ 再生における問題を避けることが出来る。

洗浄ブラシ

- # 洗浄ブラシは十分な洗浄が困難なのでディスポーザブルにすべきである。組織片がブラシに残る可能性があり、次に洗浄を行う際、器具に付着してしまうことも考えられる。

3. 内視鏡検査中の付属品の取り扱い

- # 内視鏡のチャンネルからから付属品（特に生検鉗子や侵襲的処置に用いる器具）を引き抜く時にはディスポーザブルのガーゼまたはスポンジを用いるべきである。目的を以下に挙げる。
 - ・ 分泌物を取り除く。
 - ・ 器具の外表面の目で見える汚染を取り除く。
 - ・ 付属品を内視鏡から引き抜く際、周囲の環境やスタッフが汚染されるのを最小限にするために、しぶきが生じるのを防ぐ。
- # 検査中に付属品を置くため、また、付属品から検体を取り除くための独立したテーブルまたはレイを用意すべきである。理由は以下のとおりである。
 - ・ 周囲の環境が汚染されるのを防ぐ。
 - ・ 安全に操作するためのスペースを生み出す。
- # 検査終了後、器具を置くトレイはディスポーザブルの防水性シートで覆っておくべきである。

4. 器具の再生

内視鏡検査に用いる器具を再生する際に注意すべきキーポイントを以下に述べる。

- # アルデヒド類を含んだ洗浄剤を使用してはならない。アルデヒド類は蛋白を変性固着させ、洗浄効果を阻害してしまう。
- # アルカリ性の洗浄剤、酵素タイプの洗浄剤、血液凝固を生じない洗浄効果のある消毒薬が内視鏡の付属品を洗浄するものとして推奨される。
- # 内視鏡およびその付属品は使用後直ちに再生処理を開始し、有機物が乾燥固着するのを防ぐべきである。
- # 用手法で十分に洗浄することが汚染を除去するための必要条件である。消毒や滅菌の前に必ず用手法で洗浄を行わなければならない。
- # 洗浄剤やリンス液は再使用してはならない。

付属品

- # 用手法で洗浄することが付属品から有機物を取り除くのに最も大切である。十分に洗浄するには以下のことを守る必要がある。
 - ・ 製造業者の指示に従い、付属品は可能な限り分解する。
 - ・ 外表面の洗浄には、柔らかいディスポーザブルの布、スポンジおよびブラシを使用する。
 - ・ 生検鉗子の先は入念にブラッシングする。

- ・ 全てのチャンネルの内腔をフラッシングする。
- # 超音波洗浄機は螺旋型生検鉗子のように複雑で直接洗浄することが難しいスペースがある付属品から組織片を取り除くのに必要である。以下の点に注意が必要である。
 - ・ 陰をつくりデッドスペースを生じないために、超音波洗浄機のトレイにたくさんのもを載せない（一度に多くのものを洗浄しない）。
 - ・ 超音波洗浄機用の低刺激性の洗浄剤を使用する（アルデヒド類を含んだ洗浄剤は使用しない）。
 - ・ 超音波による洗浄は 40-60 、 35-47 H z で 30 分間行う。
- # 十分にすすぎを行い、乾燥させた後に製造業者が指示する方法で滅菌する（134 、 5 分間、pre-vacuum）

内視鏡

- # 洗浄剤を用い用手法で十分に洗うことが、内視鏡を再生する過程で最も大切である。以下の点に注意する必要がある。
 - ・ 外表面の洗浄には柔らかい、ディスポーザブルの布、スポンジ、およびブラシを使用す
 - ・ バルブポート、サクションポートは適切なブラシおよび綿棒を用いて洗浄する。
 - ・ 全てのチャンネルはフレキシブルで目的にあったブラシを用いて洗浄する。チャンネルの内壁に具合よく接するように、それぞれのチャンネルにあったサイズのブラシを用いる必要がある。
 - ・ 全てのチャンネルをフラッシュする。
- # 内視鏡のチャンネルサイズとタイプに従って、適切なブラシを選択する
- # 洗浄ブラシの効果を最大限に引き出すために、ブラシはシングルユースにするか、1日1回、新しいものに交換することを推奨する。
- # 洗浄ブラシを再生する時は、1回の使用毎に、用手法で入念に洗浄した後に超音波洗浄機にかけ、さらに消毒（滅菌が望ましい）を行う必要がある。

5 . 自動洗浄消毒装置（ウォッシャーディスインフェクター）

- # 自動洗浄消毒装置を採用する場合でも、用手法で洗浄することが、特にチャンネルなど小さな部分にとっては、効果的な消毒を行う上で必要不可欠である。
- # 用手法で洗浄した後は、自動洗浄消毒装置を用いるべきである。その理由は以下の通りである。
 - ・ 閉鎖環境の中で標準化され、保証された再生が行われる。
 - ・ スタッフが化学物質や汚染された器具に接触するリスクが小さくなる。
 - ・ 環境の汚染を少なくすることが出来る。
- # 自動洗浄消毒装置によって新たな感染のリスクが生じることもあり、以下の注意が必要である。
 - ・ 製造業者のマニュアルに従って、毎日、洗浄とメンテナンスを行う。
 - ・ 定期的に業者の点検を受ける
 - ・ 定期的に微生物学的なサーベイランスを行う。
 - ・ 機械自身を消毒する必要があり、滅菌水でリンスしなくてはならない。
 - ・ 洗浄水やリンス水を再利用してはならない。

参考文献

- ¹ Prusiner SB. Prions. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 13363–13383
- ² Sono C, Saborio GP. Prions: disease propagation and disease therapy by conformational transmission. *Trends in Molecular Medicine* 2001; 7: 109–114
- ³ Johnson RT, Gibbs CJ. Creutzfeldt-Jakob disease and related transmissible spongiform encephalopathies. *N Engl J Med* 1998; 339: 1994–2004
- ⁴ Collee JG, Bradley R. BSE: a decade on—part I. *Lancet* 1997; 349: 636–641
- ⁵ Will RG, Ironside JW, Zeidler M, et al. A new-variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet* 1996; 347: 921–925
- ⁶ Prusiner SB. Molecular biology of prion diseases. *Science* 1991; 252: 1515–1522
- ⁷ Harris DA. Cellular biology of prion diseases. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12: 429–444
- ⁸ Stahl N, Baldwin MA, Teplov DB, Hood L, Gibson BW, Burlingame AL, Prusiner SB. Structural studies of the scrapie prion protein using mass spectrometry and amino acid sequencing. *Biochemistry* 1993; 32: 1991–2002

- ⁹ Pan KM, Baldwin M, Nguyen J, Gasset M, Serhan A, Groth D, Mehlhorn I, Huang Z, Fletterick RJ, Cohen PE. Conversion of alpha-helices into beta-sheets features in the formation of scrapie prion proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 10962–10966
- ¹⁰ Raebler AJ, Brandner S, Klein MA, Benninger Y, Musahl C, Frigg R, Roeckl C, Fischer MB, Weissmann C, Aguzzi A. Transgenic and knockout mice in research on prion diseases. *Brain Pathol* 1998; 8: 715–733
- ¹¹ Cohen FE, Prusiner SB. Pathologic conformations of prion proteins. *Annu Rev Biochem* 1998; 67: 793–819
- ¹² Kocisko DA. Cell-free formation of protease-resistant prion protein. *Nature* 1994; 370: 471–474
- ¹³ Harper JD, Lansbury PT. Models of amyloid seeding in Alzheimer's disease and scrapie: mechanistic truths and physiological consequences of the time dependent solubility of amyloid proteins. *Annu Rev Biochem* 1997; 66: 385–407
- ¹⁴ Ghani AC, Ferguson NM, Donnelly CA, Anderson RM. Predicted vCJD mortality in Great Britain. *Nature* 2000; 406: 583–584
- ¹⁵ Cousens S, Smith PG, Ward H, Everington D, Knight RS, Zeidler M, Smith-Barthogae EA, Macleod MA, Mackenzie J, Will RG. Geographical distribution of variant Creutzfeldt-Jakob disease in Great Britain, 1994–2000. *Lancet* 2001; 357: 1002–1007
- ¹⁶ Lomains JW, Henry C, Aghamu DA, Rossi M, Bishop M, Will RG, Ironside JW. Variant Creutzfeldt-Jakob disease in an elderly patient. *Lancet* 2001; 357: 1339–1340
- ¹⁷ Shmakov AN, Ghosh S. Prion proteins and the gut: une liaison dangereuse? *Gut* 2001; 48: 443–447
- ¹⁸ Kimberlin RH, Walker CA. Pathogenesis of scrapie in mice after intragastric infection. *Virus Res* 1989; 12: 213–220
- ¹⁹ Beekes M, McBride PA. Early accumulation of pathological PrP in the enteric nervous system and gut-associated lymphoid tissue of hamsters orally infected with scrapie. *Neurosci Lett* 2000; 278: 181–184
- ²⁰ Rieger R, Edenhofer F, Lasmezas CI, Weiss S. The human 37-kDa laminin receptor precursor interacts with the prion protein in eukaryotic cells. *Nat Med* 1997; 3: 1383–1388
- ²¹ Shmakov AN, Bode J, Kilshaw PJ, Ghosh S. Diverse patterns of expression of the 67-kD laminin receptor in human small intestinal mucosa: potential binding sites for prion proteins. *J Pathol* 2000; 191: 318–322
- ²² Shmakov AN, McLennan NE, McBride P, Farquhar CF, Bode J, Remison KA, Ghosh S. Cellular prion protein is expressed in the human enteric nervous system. *Nat Med* 2000; 6: 840–841
- ²³ Ironside JW, Head MW, Bell JE, McCordle L, Will RG. Laboratory diagnosis of variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Histopathology* 2000; 37: 1–9
- ²⁴ Hilton DA, Fathers E, Edwards P, Ironside JW, Zajicek J. Prion immunoreactivity in appendix before clinical onset of variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet* 1998; 352: 703–704
- ²⁵ Wadsworth JD, Joiner S, Hill AF, Campbell TA, Desbruslais M, Luthert PJ, Collinge J. Tissue distribution of protease resistant prion protein in variant Creutzfeldt-Jakob disease using a highly sensitive immunoblotting assay. *Lancet* 2001; 358: 171–180
- ²⁶ Ironside JW, Hilton DA, Ghani A, Johnston NJ, Conyers L, McCordle LM, Best D. Retrospective study of prion-protein accumulation in tonsil and appendix tissues. *Lancet* 2000; 355: 1693
- ²⁷ Kimberlin RH, Walker CA. Pathogenesis of experimental scrapie. In: Bock G, Marsh J (eds). *Novel infectious agents and central nervous system*. Chichester: Wiley 1988; 37–62
- ²⁸ Bruce ME, McConnell I, Will RG, Ironside JW. Detection of variant Creutzfeldt-Jakob disease infectivity in extraneural tissues. *Lancet* 2001; 358: 208–209
- ²⁹ Houston F, Foster JD, Chong A, Hunter N, Bostock CI. Transmission of BSE by blood transfusion in sheep. *Lancet* 2000; 356: 999
- ³⁰ Lasmezas CI, Fournier J-G, Nouvel V, Boe H, Marce D, Lamoury F, Kopp N, Hazew J-J, Ironside J, Bruce M, Dormont D, Deslys J-P. Adaptation of the bovine spongiform encephalopathy agent to primates and comparison with Creutzfeldt-Jakob disease: Implications for human health. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 4142–4147
- ³¹ Guidelines on cleaning and disinfection in GI endoscopy. Report of the European Society of Gastrointestinal Endoscopy and the European Society of Gastroenterology and Endoscopy Nurses and Associates. *Endoscopy* 2000; 32: 77–83
- ³² Hill AF, Butterworth RJ, Joiner S, et al. Investigation of variant Creutzfeldt-Jacob disease and other human prion diseases with tonsil biopsy samples. *Lancet* 1999; 353: 183–189
- ³³ Bons N, Mestre-Frances N, Bell P, et al. Natural and experimental oral infection of nonhuman primates by bovine spongiform encephalopathy agents. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 4046–4051
- ³⁴ Heggebo R, Press CM, Gunnes G, et al. Distribution of prion protein in the ileal Peyer's patches of scrapie-free lambs and lambs naturally and experimentally exposed to the scrapie agent. *J Gen Virol* 2000; 81: 2327–2337
- ³⁵ Baron H, Safar J, Groth D, DeArmond SJ, Prusiner SB. Prions. In: Block SS (ed). *Disinfection, sterilization and preservation*. New York, Lippincott: Williams & Williams 2001; 5th edition: 659–674
- ³⁶ Antloga K, Meszaros J, Malchesky PM, McDonnell GE. Prion disease and medical devices. *ASAIO J* 2000; 46: S69–S72
- ³⁷ Rutala WA, Weber DJ. Creutzfeldt-Jakob disease: recommendation for disinfection and sterilization. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 1348–1356
- ³⁸ Taylor DM. Inactivation of prions by physical and chemical means. *J Hosp Infect* 1999; 43: S69–S76
- ³⁹ Taylor DM. Inactivation of transmissible degenerative encephalopathy agents: a review. *Veterinary Journal* 2000; 159: 10–17
- ⁴⁰ Zobeley E, Flechsig E, Cozzio A, Enari M, Weissmann C. Infectivity of scrapie prions bound to a stainless steel surface. *Mol Med* 1999; 5: 240–243
- ⁴¹ Brown P, Rohwer RG, Gajdusek DC. Newer data on the inactivation of scrapie virus or Creutzfeldt-Jakob disease virus in brain tissue. *J Infect Dis* 1986; 153: 1145–1148
- ⁴² Diringier H, Braig HR. Infectivity of unconventional viruses in dura mater. *Lancet* 1989; 1: 439–440
- ⁴³ Prusiner SB, McKinlay MP, Bolton DC, et al. Prions: methods for assay, purification, and characterization. In: Maramorosch K, Koprowski H (eds). *Methods in Virology*. New York: Academic Press, 1984; VIII: 293–345
- ⁴⁴ Taylor DM, Fraser H, McConnell I, et al. Decontamination studies with the agents of bovine spongiform encephalopathy and scrapie. *Arch Virol* 1994; 139: 313–326
- ⁴⁵ World Health Organization. *Infection Control Guidelines for Transmissible Spongiform Encephalopathies*. 1999

- ⁹ Pan KM, Baldwin M, Nguyen J, Gasset M, Serhan A, Groth D, Mehlhorn I, Huang Z, Fletterick RJ, Cohen PE. Conversion of alpha-helices into beta-sheets features in the formation of scrapie prion proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 10962–10966
- ¹⁰ Raebler AJ, Brandner S, Klein MA, Benninger Y, Musahl C, Frigg R, Roeckl C, Fischer MB, Weissmann C, Aguzzi A. Transgenic and knockout mice in research on prion diseases. *Brain Pathol* 1998; 8: 715–733
- ¹¹ Cohen FE, Prusiner SB. Pathologic conformations of prion proteins. *Annu Rev Biochem* 1998; 67: 793–819
- ¹² Kocisko DA. Cell-free formation of protease-resistant prion protein. *Nature* 1994; 370: 471–474
- ¹³ Harper JD, Lansbury PT. Models of amyloid seeding in Alzheimer's disease and scrapie: mechanistic truths and physiological consequences of the time dependent solubility of amyloid proteins. *Annu Rev Biochem* 1997; 66: 385–407
- ¹⁴ Ghani AC, Ferguson NM, Donnelly CA, Anderson RM. Predicted vCJD mortality in Great Britain. *Nature* 2000; 406: 583–584
- ¹⁵ Cousens S, Smith PG, Ward H, Everington D, Knight RS, Zeidler M, Smith-Barthgate EA, Macleod MA, Mackenzie J, Will RG. Geographical distribution of variant Creutzfeldt-Jakob disease in Great Britain, 1994–2000. *Lancet* 2001; 357: 1002–1007
- ¹⁶ Lormans JW, Henry C, Agham DA, Rossi M, Bishop M, Will RG, Ironside JW. Variant Creutzfeldt-Jakob disease in an elderly patient. *Lancet* 2001; 357: 1339–1340
- ¹⁷ Shmakov AN, Ghosh S. Prion proteins and the gut: une liaison dangereuse? *Gut* 2001; 48: 443–447
- ¹⁸ Kimberlin RH, Walker CA. Pathogenesis of scrapie in mice after intragastric infection. *Virus Res* 1989; 12: 213–220
- ¹⁹ Beekes M, McBride PA. Early accumulation of pathological PrP in the enteric nervous system and gut-associated lymphoid tissue of hamsters orally infected with scrapie. *Neurosci Lett* 2000; 278: 181–184
- ²⁰ Rieger R, Edenhofer F, Lasmezas CI, Weiss S. The human 37-kDa laminin receptor precursor interacts with the prion protein in eukaryotic cells. *Nat Med* 1997; 3: 1383–1388
- ²¹ Shmakov AN, Bode J, Kilshaw PJ, Ghosh S. Diverse patterns of expression of the 67-kDa laminin receptor in human small intestinal mucosa: potential binding sites for prion proteins. *J Pathol* 2000; 191: 318–322
- ²² Shmakov AN, McLennan NE, McBride P, Farquhar CF, Bode J, Remison KA, Ghosh S. Cellular prion protein is expressed in the human enteric nervous system. *Nat Med* 2000; 6: 840–841
- ²³ Ironside JW, Head MW, Bell JE, McCardle L, Will RG. Laboratory diagnosis of variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Histopathology* 2000; 37: 1–9
- ²⁴ Hilton DA, Fathers E, Edwards P, Ironside JW, Zajicek J. Prion immunoreactivity in appendix before clinical onset of variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet* 1998; 352: 703–704
- ²⁵ Wadsworth JD, Joiner S, Hill AF, Campbell TA, Desbruslais M, Luthert PJ, Collinge J. Tissue distribution of protease resistant prion protein in variant Creutzfeldt-Jakob disease using a highly sensitive immunoblotting assay. *Lancet* 2001; 358: 171–180
- ²⁶ Ironside JW, Hilton DA, Ghani A, Johnston NI, Conyers L, McCardle LM, Best D. Retrospective study of prion-protein accumulation in tonsil and appendix tissues. *Lancet* 2000; 355: 1693
- ²⁷ Kimberlin RH, Walker CA. Pathogenesis of experimental scrapie. In: Bock G, Marsh J (eds). *Novel infectious agents and central nervous system*. Chichester: Wiley 1988; 37–62
- ²⁸ Bruce ME, McConnell I, Will RG, Ironside JW. Detection of variant Creutzfeldt-Jakob disease infectivity in extraneural tissues. *Lancet* 2001; 358: 208–209
- ²⁹ Houston F, Foster JD, Chong A, Hunter N, Bostock CJ. Transmission of BSE by blood transfusion in sheep. *Lancet* 2000; 356: 999
- ³⁰ Lasmezas CI, Fournier J-G, Nouvel V, Boe H, Marce D, Lamoury F, Kopp N, Haaww J-J, Ironside J, Bruce M, Dormont D, Deslys J-P. Adaptation of the bovine spongiform encephalopathy agent to primates and comparison with Creutzfeldt-Jakob disease: Implications for human health. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 4142–4147
- ³¹ Guidelines on cleaning and disinfection in GI endoscopy. Report of the European Society of Gastrointestinal Endoscopy and the European Society of Gastroenterology and Endoscopy Nurses and Associates. *Endoscopy* 2000; 32: 77–83
- ³² Hill AF, Butterworth RJ, Joiner S, et al. Investigation of variant Creutzfeldt-Jacob disease and other human prion diseases with tonsil biopsy samples. *Lancet* 1999; 353: 183–189
- ³³ Bons N, Mestre-Frances N, Beli P, et al. Natural and experimental oral infection of nonhuman primates by bovine spongiform encephalopathy agents. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 4046–4051
- ³⁴ Heggebo R, Press CM, Gunnes G, et al. Distribution of prion protein in the ileal Peyer's patches of scrapie-free lambs and lambs naturally and experimentally exposed to the scrapie agent. *J Gen Virol* 2000; 81: 2327–2337
- ³⁵ Baron H, Safar J, Groth D, DeArmond SJ, Prusiner SB. Prions. In: Block SS (ed). *Disinfection, sterilization and preservation*. New York, Lippincott: Williams & Williams 2001; 5th edition: 659–674
- ³⁶ Antlaga K, Meszaros J, Malchesky PM, McDonnell GE. Prion disease and medical devices. *ASAIO J* 2000; 46: S69–S72
- ³⁷ Rutala WA, Weber DJ. Creutzfeldt-Jakob disease: recommendation for disinfection and sterilization. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 1348–1356
- ³⁸ Taylor DM. Inactivation of prions by physical and chemical means. *J Hosp Infect* 1999; 43: S69–S76
- ³⁹ Taylor DM. Inactivation of transmissible degenerative encephalopathy agents: a review. *Veterinary Journal* 2000; 159: 10–17
- ⁴⁰ Zobeley E, Flechsig E, Cozzio A, Enari M, Weissmann C. Infectivity of scrapie prions bound to a stainless steel surface. *Mol Med* 1999; 5: 240–243
- ⁴¹ Brown P, Rohwer RG, Gajdusek DC. Newer data on the inactivation of scrapie virus or Creutzfeldt-Jakob disease virus in brain tissue. *J Infect Dis* 1986; 153: 1145–1148
- ⁴² Diringier H, Braig HR. Infectivity of unconventional viruses in dura mater. *Lancet* 1989; 1: 439–440
- ⁴³ Prusiner SB, McKinlay MP, Bolton DC, et al. Prions: methods for assay, purification, and characterization. In: Maramorosch K, Koprowski H (eds). *Methods in Virology*. New York: Academic Press, 1984; VIII: 293–345
- ⁴⁴ Taylor DM, Fraser H, McConnell I, et al. Decontamination studies with the agents of bovine spongiform encephalopathy and scrapie. *Arch Virol* 1994; 139: 313–326
- ⁴⁵ World Health Organization. *Infection Control Guidelines for Transmissible Spongiform Encephalopathies*. 1999
- ⁴⁶ Systchenko R, Marchetti B, Canard JN, Palazzo L, Ponchon T, Rey JF, Sautereau D and the Council of the French Society of Gastrointestinal Endoscopy. Guidelines of the French Society of Digestive Endoscopy: Recommendations for setting up cleaning and disinfection procedures in gastrointestinal endoscopy. *Endoscopy* 2000; 32: 807–818
- ⁴⁷ Department of Health, UK (1999). Variant Creutzfeldt-Jakob disease (vCJD) minimizing the risk of transmission. London: HSC 1999/178, 13/08/99