

J. Bertram · M. Mielke · M. Beekes · K. Lemmer · M. Baier · G. Pauli
Robert Koch-Institut, Berlin

Inaktivierung und Entfernung von Prionen bei der Aufbereitung von Medizinprodukten

Ein Beitrag zur Prüfung und Deklaration geeigneter Verfahren

Zu den Aufgaben des Robert Koch-Institutes (RKI) gehört es, gesundheitliche Risiken zu identifizieren, zu analysieren und Maßnahmen bzw. Empfehlungen zu ihrer Minimierung zu erarbeiten und zu kommunizieren. Dementsprechend wurde in Reaktion auf die BSE-Problematik¹ in einer umfangreichen Arbeitsgruppe beim RKI der Bericht der „Task Force vCJK“ zur Minimierung des Risikos einer iatrogenen Übertragung von Prionen durch chirurgische Instrumente erarbeitet und im April 2002 auf der Basis der damaligen Kenntnis veröffentlicht [1]. Danach stellt eine geeignete alkalische Reinigung mit anschließender Dampfsterilisation bei 134°C ein routinetaugliches Verfahren zur Minimierung des Übertragungsrisikos von Prionen durch chirurgische Instrumente dar. Vorliegende Ergebnisse zur inaktivierenden Wirkung anderer Verfahren wurden bisher mit unterschiedlichen Prüfmethode gewonnen und nach individuellen Kriterien bewertet. Wir teilen deshalb die Meinung von Experten, dass eine Vereinheitlichung der Prüfmethode erforderlich ist [2], nicht zuletzt um die Entwicklung weiterer für die Routine und spezielle Anforderungen geeigneter Verfahren zur Dekontamination von Prionen zu fördern. Wir möchten hier Anforderungen an die Prüfung und Deklaration entsprechender Verfahren zur Diskussion stellen. Ausdrücklich wird darauf hingewiesen, dass in allen Fällen eines erkennbaren Risikos für das Vorliegen einer transmissiblen spongiformen Enzephalopathie (TSE) den bestehenden Empfehlungen des RKI [1, 3] zu folgen ist.

Die sichere Aufbereitung von Medizinprodukten stellt einen besonders sensiblen Bereich der Infektionsprävention im Rahmen der Krankenhaushygiene dar. Anforderungen an die Hygiene bei der Aufbereitung von Medizinprodukten sind in der gleich lautenden gemeinsamen Empfehlung von der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim RKI und dem BfArM vom 20. August 2001 formuliert [4].

Ein bisher nicht zufrieden stellend gelöstes Problem stellen potenziell oder unerkannt mit Prionen kontaminierte Medizinprodukte dar: Prionen sind aufgrund ihrer physikalisch-chemischen Eigenschaften schwer von Oberflächen abzulösen und zu inaktivieren. Werden chirurgische Instrumente oder andere Medizinprodukte an Patienten mit erkennbarem Risiko für CJK, vCJK oder sonstige humane TSE angewandt, gelten deshalb besondere Empfehlungen. Im

April 2002 erschien in Reaktion auf die BSE-Problematik die Mitteilung des RKI über die Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (vCJK) unter besonderer Berücksichtigung der Prävention einer iatrogenen Übertragung durch chirurgische Instrumente [1, 5, 6, 7].

In dem Task-Force-Bericht [1] wird das Vorgehen bei erkennbarem Risiko (mögliche oder klinisch wahrscheinliche vCJK) sowie bei nicht erkennbarem Risiko beschrieben. Für den Fall eines erkennbaren Risikos wird auf die RKI-Empfehlungen von 1998 zum Vorgehen bei CJK-Verdacht [3] verwiesen mit der Ergänzung einer ggf. erforderlichen sicheren Asservierung der Instrumente bis zur Klärung der Diagnose im Verdachtsfall. In allen anderen Fällen ohne erkennbares Risiko soll zur Aufbereitung von Medizinprodukten eine Kombination von wenigstens 2 auch für die Entfernung/Inaktivierung von Prionen zumindest partiell geeigneten Verfahren eingesetzt werden.

Nicht zuletzt aufgrund von Erkenntnissen, die die Auslösung von im Phänotyp klassischen CJK-Formen durch BSE möglich erscheinen lassen [8, 9], und dem in der Schweiz beobachte-

¹ BSE ist die bovine, spongiforme Enzephalopathie, deren Erreger, auf den Menschen übertragen, die Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (vCJK) auslösen können. Als Verursacher von transmissiblen spongiformen Enzephalopathien (TSE) gelten Prionen (proteinaceous infectious particles).

© Springer-Verlag 2003

Dr. J. Bertram
Robert Koch-Institut,
Nordufer 20, 13353 Berlin
E-Mail: bertramj@rki.de

Tabelle 1

Übersicht über Prüfphasen und daraus ableitbare Deklarationen

Phase 1a	Phase 1b	Phase 2
Vorprüfung von Verfahren in vitro im qualitativen Suspensionstest; Auswertung z. B. mittels Westernblot	Quantitativer Suspensionstest Auswertung im Tierversuch	Quantitativer Carrier-Test Auswertung im Tierversuch
Basistest, keine Deklaration	Deklaration als Prion-inaktivierend	In Verbindung mit bestan- dener Phase 1b Deklaration als Prion-dekontaminierend

Ggf. kann bereits in Phase 1a ein In-vitro-Test an Carriern ausgeführt werden. Eine solche Prüfvariante liegt neueren Arbeiten zu diesem Thema zugrunde [35]. Das Verfahren beruht darauf, dass mit PrP^{Sc}-haltigem Hirnhomogenat beschichtete Stahlstifte der Testlösung unter definierten Bedingungen ausgesetzt werden. Nach der Einwirkungszeit wird sowohl der auf dem Stahlstift verbliebene als auch der abgelöste Anteil des Hirnhomogenates auf mit Proteinase K nicht abbaubares PrP^{Sc} im Westernblot geprüft. Aufgrund des Prüfdesigns lassen sich aus den Ergebnissen Aussagen zur Prionen abbauenden oder destabilisierenden sowie zur Prionen ablösenden Wirkung treffen

ten Anstieg von CJK-Fällen hat die dortige Regierung eine „Verordnung über die Prävention der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit bei chirurgischen und medizinischen Eingriffen“ [10] erlassen.²

Bisher bekannt zuverlässige Verfahren zur Inaktivierung von Prionen, z. B. die Behandlung in 2,5% Natriumhypochlorit- oder in 1 M Natriumhydroxidlösung mit anschließender oder kombinierter Dampfsterilisation [1, 11, 12], sind in der Routine nicht oder nur eingeschränkt anwendbar [2].

Zur Temperaturempfindlichkeit von Prionen ist anzumerken, dass bei Dampfsterilisation selbst unter Anwendung von 18 Minuten Sterilisierzeit bei 134–137°C ein gewisser Anteil der Prionen infektiös bleiben kann [1, 13] und trockene Hitze sogar bei extremen Temperaturen eine Restinfektiosität nicht beseitigt hat [14]. Für verbesserte Reinigungs- und Inaktivierungsverfahren besteht somit ein dringender Bedarf.

² Explizit wird in amtlichen Erläuterungen zu dieser Verordnung angeführt: „Vor diesem Hintergrund (schwer einschätzbare iatrogenes Infektionsrisiko) und in Anbetracht der langen Inkubationszeit von erworbenen menschlichen Prion-Erkrankungen müssen gewisse Präventionsmaßnahmen im Sinne des Vorsorgeprinzips sofort ergriffen werden, ohne im Detail abschätzen zu können, ob das Ausmaß ihres Einsatzes gerechtfertigt ist. Im Interesse ihrer Optimierung müssen sie jedoch auf der Basis von entsprechenden Forschungsarbeiten kontinuierlich neu evaluiert und in angemessener Weise angepasst werden.“

Allgemeine Anforderungen an geeignete Aufbereitungsverfahren

Gemäß den „Anforderungen an die Hygiene bei der Aufbereitung von Medizinprodukten“ [4] erfolgt die Aufbereitung von Medizinprodukten in der Regel in Stufen,

- ▶ beginnend mit einer sachgerechten Vorbereitung,
- ▶ gefolgt von einer gründlichen Reinigung und Spülung,
- ▶ vor abschließender Desinfektion, Spülung und Trocknung bzw. Sterilisation.

In Anbetracht der besonderen physikalisch-chemischen Eigenschaften von Prionen ist auf eine geeignete Vorbereitung des Reinigungsgutes mit dem Ziel, die Fixierung von infektiösem Material zu vermeiden, besonders zu achten [15, 16, 17, 18]. Desinfektionsmittel, die z. B. aus Gründen des Personenschutzes in dieser Phase der Aufbereitung verwendet werden, sollten mit Blick auf das nachfolgende Reinigungsverfahren so ausgewählt werden, dass eine Fixierung von Proteinrückständen auf oder an den Medizinprodukten vermieden wird [4, 19].

Aus praktischen Gründen ist ein einfaches, wenn möglich maschinelles Reinigungsverfahren anzustreben, an das im Einzelnen folgende Anforderungen zu stellen sind:

- ▶ möglichst universelle Einsetzbarkeit,
- ▶ keine wesentliche Änderung des gewohnten Ablaufes der Aufbereitung,

- ▶ Vermeidung von Kreuzkontaminationen,
- ▶ Dekontamination, bevor Verschmutzungen wie Proteine antrocknen/fixiert werden können,
- ▶ Materialverträglichkeit, z. B. gegenüber Stahl, Aluminium und Kunststoffpolymeren,
- ▶ geringe Schaumbildung bei maschineller Reinigung oder Ultraschallanwendung.

Reinigungsverfahren, bei denen die eingesetzten Reinigungsmittel gleichzeitig mit der Entfernung der Erreger zumindest teilweise deren Inaktivierung bewirken, ist insbesondere wegen der Kreuzkontaminationsproblematik der Vorzug zu geben. Für sehr empfindliche Instrumente/Medizinprodukte (mit Optiken, Klebungen etc.) können produktspezifische mehrstufige Verfahren mit jeweils partiell wirksamen Einzelschritten nötig sein.

Die eingesetzten Verfahren sollen ökologisch und toxikologisch unbedenklich sein. Die Wirksamkeit entsprechender Verfahren zur Inaktivierung und Entfernung von Prionen muss durch geeignete Prüfungen belegt sein [1]. Diesbezüglich wird der folgende Vorschlag zu Wirksamkeitsnachweis und Deklaration unterbreitet.

Wirksamkeitsnachweis und Deklaration

Die Prüfung und Deklaration der Wirksamkeit eines Verfahrens zur Dekontamination³ von Prionen sollte in Anlehnung an die Wirksamkeitsprüfung bakterizider und viruzider Agenzien in Phasen erfolgen. Allerdings gestaltet sich der Nachweis der Inaktivierung des infektiösen Agens bei Prionen schwieriger, da bisher kein einfaches biologisches Testverfahren zur Verfügung steht. Bereits veröffentlichte Verfahren zur Inaktivierung von Prionen [20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28] sind bisher nicht nach einheitli-

³ In der Richtlinie zur Krankenhaushygiene (Urban Fischer Verlag, München/Jena) ist der Begriff Dekontamination definiert als „ein Verfahren zur Abreicherung/Reduktion von organischen Verunreinigungen und gleichzeitiger oder aufeinander folgender Inaktivierung von Infektionserregern im Rahmen einer standardisierten Reinigung/Desinfektion“.

chen Kriterien bewertet worden. Gegenwärtig kann die Inaktivierung von Prionen abschließend nur durch Tierversuche belegt werden [1, 20]. Die Untersuchungen sollten so angelegt sein, dass quantitative Aussagen über die Abreicherung/Titer-Reduktion möglich sind.

Prüfanschmutzungen

Als infektiöses Ausgangsmaterial sollten Materialien verwendet werden, die in einem tierexperimentellen System hinsichtlich beobachtbarer Effekte gut etabliert sind und eine den humanmedizinisch relevanten Prionen ähnliche oder höhere Resistenz haben. Bisher wird häufig der Scrapie-Stamm 263 K im Hamstermodell verwendet [20, 21]. Um Matrixeinflüsse [13] auf die Resistenz zu berücksichtigen, wird für die Prüfungen in der Regel Hirnhomogenat, z. B. 10% Hirnhomogenat mit einem Titer von $\geq 10^7$ LD₅₀/ml verwendet.

Prüfkörper

Als Prüfkörper für Carrier-Teste kommen bevorzugt solche in Frage, die nach Kontamination mit geeignetem Material (s. Kapitel „Prüfanschmutzungen“) sowohl für In-vitro- als auch In-vivo-Untersuchungen geeignet sind [29, 30].

Nachweis der Inaktivierung und Entfernung von Prionen

International standardisierte Methoden liegen für die Prüfung der Prion-dekontaminierenden Wirksamkeit bisher nicht vor. Nach gegenwärtigem Wissensstand schlagen wir deshalb ein mehrstufiges Vorgehen vor:

- ▶ in Phase 1 einen qualitativen (Phase 1a) und quantitativen (Phase 1b) Suspensionstest und
- ▶ in Phase 2 einen für den Tierversuch geeigneten Carrier-Test.

Im Einzelnen (s. Tabelle 1) bedeutet dies

- ▶ in Phase 1a die Vorprüfung geeigneter Substanzen bzw. Verfahren durch den In-vitro-Nachweis, dass durch diese Substanzen oder Verfahren PrP^{Sc} 4 abgebaut oder zumindest dessen Struktur destabilisiert wird (Basistest),

- ▶ in Phase 1b den Nachweis und die Quantifizierung der inaktivierenden Wirkung ausgewählter Substanzen bzw. Verfahren im Tierversuch durch intrazerebrale Verimpfung [31, 32, 33] behandelten, infektiösen Materials (s. Abschnitt Prüfanschmutzungen) (Suspensionstest),
- ▶ in Phase 2 den Nachweis der dekontaminierenden Wirkung ausgewählter Substanzen bzw. Verfahren, geprüft auf relevanten Oberflächen von Prüfkörpern, die für die intrazerebrale Applikation im Tierversuch geeignet sind (wie z. B. Stahlstifte [29, 30]).

Bewertung der Ergebnisse und Deklaration

Die Phase 1a ist bestanden, wenn nach Einwirkung des zu prüfenden Mittels im Suspensionstest durch geeignete Analyseverfahren, z. B. im Westernblot, kein PrP^{Sc} mehr nachweisbar ist [34].

Die Phase 1b ist bestanden, wenn im Tierversuch nach intrazerebraler Verimpfung behandelten infektiösen Materials eine statistisch gesicherte Abreicherung um mindestens 4 log-Stufen nachweisbar ist, die Tiere der Testgruppe nach Ablauf der doppelten Inkubationszeit einer gleichzeitig mitgeführten Kontrollgruppe (in der unbehandeltes infektiöses Material verimpft wurde) keine Anzeichen einer Erkrankung durch Prionen erkennen lassen und zu diesem Zeitpunkt kein PrP^{Sc} im Gehirn dieser Tiere nachweisbar ist (z. B. histochemisch oder im Westernblot). Verfahren bzw. Mittel, welche die Prüfungen in Phase 1b bestanden haben, können als Prion-inaktivierend bezeichnet werden.

Die Phase 2 ist bestanden, wenn nach intrazerebraler Implantation von kontaminierten und behandelten Prüfkörpern die Tiere der Testgruppe nach

⁴ Zur Erläuterung häufig verwendeter Abkürzungen: PrP: Prion-Protein; PrP^C: zelluläres PrP, nicht mit Infektiosität assoziiert und sensitiv gegenüber Proteinase K; PrP^{Sc}: pathologische Isoform des PrP, mit Infektiosität assoziiert und partiell resistent gegen Proteinase K; PrP 27–30: mit Infektiosität assoziierter Proteinase-K-resistenter Kern des PrP^{Sc}; PrP^{RES}: fehlgefaltete Form des Prion-Proteins, biochemisch partiell resistent gegen Proteinase K, aber nicht notwendigerweise mit Infektiosität assoziiert. Weitere Begriffe und Abkürzungen zur Prionen- bzw. PrP-Nomenklatur s. Literatur [28], S. 526 f.

Ablauf der doppelten Inkubationszeit einer gleichzeitig mitgeführten Kontrollgruppe (in der unbehandelte kontaminierte Prüfkörper implantiert wurden) keine Anzeichen einer Erkrankung durch Prionen erkennen lassen und zu diesem Zeitpunkt kein PrP^{Sc} im Gehirn dieser Tiere nachweisbar ist (z. B. histochemisch oder im Westernblot). Verfahren, die zusätzlich zur Phase 1b auch Phase 2 bestanden haben, können als Prion-dekontaminierend bezeichnet werden (s. Tabelle 1).

Aspekte zur Verfahrensentwicklung

Anhaltspunkte für die Entwicklung geeigneter Verfahren können neben speziell mit der Prion-Inaktivierung befassenden Veröffentlichungen z. B. Arbeiten zu folgenden Fragestellungen liefern:

- ▶ Proteinadsorption bzw. -desorption an verschiedenen Oberflächen [36, 37, 38],
- ▶ Löslichkeit von Proteinen [39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50],
- ▶ Struktur und physikalisch-(bio-)chemische Eigenschaften von Prionprotein [51, 52, 53, 54, 55, 56, 57],
- ▶ Verteilungsverhalten von PrP^{Sc} [58].

In Ergänzung zur Behandlung mit feuchter Hitze (Dampfsterilisation) sind folgende Ansätze zur Inaktivierung von Prionen denkbar:

- ▶ basische Agenzien wie NaOH und KOH [11, 12, 34, 35],
- ▶ stark oxidierende Mittel,
- ▶ oberflächenaktive Substanzen (Tenside), zwitterionische Amphotenside oder andere waschaktive Substanzen wie Phosphate bzw. Phosphonate,
- ▶ chaotrope Substanzen wie Guanidiniumthiocyanat (GdnSCN),
- ▶ Disulfid spaltende Reduktionsmittel wie Thiole (DTT),
- ▶ hitzebeständige, proteolytisch oder anderweitig inaktivierende Enzyme [59, 60],
- ▶ mit PrP^{Sc} unter Einschluss oder Anlagerung reagierende Substanzen, wie z. B. tricyclische Verbindungen oder Farbstoffe [61, 62, 63],
- ▶ “ β -sheet-breaker“ [64].

Ein Teil dieser Stoffe oder Wirkprinzipien ist bereits als unwirksam oder nur

partiell wirksam beurteilt worden, allerdings auf der Basis von Ergebnissen, die unter unterschiedlichen experimentellen Bedingungen gewonnen wurden. Einige dieser Stoffe könnten jedoch in Kombination mit wirksamen Stoffen additiv nützlich sein. Generell wäre es für Reiniger aus mehreren Bestandteilen wichtig, in Phase 1a eine sorgfältige Kompatibilitätsprüfung der Einzelkomponenten vorzunehmen, da deren Wirkung sich aufheben, aber auch ergänzen oder verstärken kann.

Literatur

- Abschlussbericht der Task Force vCJK (2002) Die Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (vCJK). Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitschutz 45:376–394
- McDonnell G, Burke P (2003) The challenge of prion decontamination. CID 36:1152–1154
- RKI-Mitteilung (1998) Krankenversorgung und Instrumentensterilisation bei CJK-Patienten und CJK-Verdachtsfällen. Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitschutz 41:279–285
- Empfehlungen der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (2001) Anforderungen an die Hygiene bei der Aufbereitung von Medizinprodukten. Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitschutz 44:1115–1126
- Informationen zu CJK/vCJK, <http://www.rki.de>, dort Link zu Gesundheit und Krankheiten, weiterer Link zur Krankenhaushygiene
- Beekes M, Mielke M, Kurth R (2002) Aspekte zur Risikoabschätzung und Prävention nosokomialer Übertragungen der klassischen und varianten Creutzfeldt-Jakob-Krankheit. Internist 43:738, 741–748
- Beekes M, Mielke M, Pauli G et al. (in press) Aspects of risk assessment and risk management of nosocomial transmission of classical and variant Creutzfeldt-Jakob disease with special attention to German regulations. In: Rabenau HF, Cinatl J, Doerr HW (eds) Prions. A Challenge for science, medicine and public health system. 2nd, revised edition. Contrib Microb, vol 11. Basel, Karger, pp 117–135
- Asante EA et al. (2002) BSE prions propagate as either variant CJD-like or sporadic CJD-like prion strains in transgenic mice expressing human prion protein. EMBO J 21:6358–6366
- Butler D (2002) Prion data suggest BSE link to sporadic CJD. Nature 420:450
- <http://www.bag.admin.ch/prionen/d/verordn.d.pdf>
- Taguchi F et al. (1991) Proposal for a procedure for complete inactivation of the Creutzfeldt-Jakob disease agent. Arch Virol 119:297–301
- Ernst DR, Race RE (1993) Comparative analysis of scrapie agent inactivation methods. J Virol Methods 41:193–202
- Appel TR et al. (2001) Heat stability of prion rods and recombinant prion protein in water, lipid and lipid-water mixtures. J Gen Virol 82:465–473
- Taylor DM, McConnell I, Fernie K (1996) The effect of dry heat on the ME7 strain of mouse-passaged scrapie agent. J Gen Virol 77:3161–3164
- Taylor DM (1999) Inactivation of prions by physical and chemical means. J Hosp Infect 43 [Suppl]:S69–S76
- WHO (1999) Infection control guidelines for transmissible spongiform encephalopathies. Report of a WHO Consultation, Geneva, Switzerland, 23–26 March 1999 (WHO/CDS/CSR/APH/2000.3); <http://www.who.int/emc-documents/tse/whocdscs-raph2003c.html>, link PDF/english
- Iffenecker A, Ruef C (2002) Übertragungsrisiko von Prionen: Stellungnahme zur Aufbereitung thermostabiler chirurgischer Instrumente vor der Sterilisation. Swiss NOSO 9:25–28
- Rutala WA, Weber DJ (2001) Creutzfeldt-Jakob disease: recommendations for disinfection and sterilisation. Clin Infect Dis 32:1348–1356
- Bloß R (2002) Einfluss der Desinfektionswirkstoffe auf die Instrumentenreinigung. <http://www.bode-chemie.com>, Link zu Service/Publikationen/Instrumentenaufbereitung
- Taylor DM (2000) Inactivation of transmissible degenerative encephalopathy agents: a review. Vet J 159:10–17
- Taylor DM et al. (1994) Decontamination studies with the agents of bovine spongiform encephalopathy and scrapie. Arch Virol 139:313–326
- Shenoy VN, Revak TT (1998) Prion inactivation in connective tissue materials. Off Gaz US Patent Trademark off pat 1210:3648
- Reichl H (1997) Methods of inactivating prions (slow viruses) conventional viruses and other infectious agents in biological material. Off Gaz US Patent Trademark off pat 1198:2591
- Prusiner SB et al. (1993) Attempts to restore scrapie prion infectivity after exposure to protein denaturants. Proc Nat Acad Sci 90:2793–2797
- Chartier V et al. (2001) Experimental results of detergent and pre-disinfection treatments before sterilisation of medical devices. Zentralsterilisation 9:100–107
- Antloga K et al. (2000) Prion disease and medical devices. ASAIO 46:69–72
- Yamamoto M et al. (2001) Glycidol degrades scrapie mouse prion protein. J Vet Med Sci 63:983–990
- Hörnlimann B, Leutwiler A, Oberthür RC, Widmer HR (2001) Die chemische Desinfektion und Inaktivierung von Prionen. In: Hörnlimann B, Riesner D, Kretzschmar H (Hrsg) Prionen und Prionkrankheiten. de Gruyter, Berlin-New York, S 381–388, 389
- Zobeley E et al. (1999) Infectivity of scrapie prions bound to a stainless steel surface. Mol Med 5:240–243
- Flechsig E et al. (2001) Transmission of scrapie by steel-surface-bound prions. Mol Med 7:679–684
- Kimberlin RH, Walker CA (1986) Pathogenesis of scrapie (strain 263 K) in hamsters infected intracerebrally, intraperitoneally or intracocularly. J Gen Virol 67:255–263
- Kimberlin RH, Walker CA (1977) Characteristics of a short incubation model of scrapie in the golden hamster. J Gen Virol 34:295–304
- Prusiner SB et al. (1982) Measurement of the scrapie agent using an incubation time interval assay. Ann Neurol 11:353–358
- Käsermann F, Kempf C (2003) Sodium hydroxide renders the prion protein PrP^{Sc} sensitive to proteinase K. J Gen Virol 84:3173–3176
- Lemmer K, Mielke M, Pauli G, Beekes M (2003) Prion decontamination of surgical instruments: in vitro studies on the destabilization, degradation and removal of surface-bound PrP^{Sc}. In: International Prion Conference „Prion Diseases: from basic research to intervention concepts“, München, 8.10.–10.10.2003: Abstract IV-02
- Sharma CP, Chandy T (1987) Influence of L-ascorbic acid, blood cells and components on protein adsorption/desorption on polycarbonate. Haemostasis 17:70–78
- Williams DF, Askill IN, Smith R (1985) Protein absorption and desorption phenomena on clean metal surfaces. J Biomed Mat Res 19:313–320
- Biswas SC, Chatteraj DK (2002) Kinetics of desorption of preadsorbed proteins from the surface of silica and charcoal by various desorbing reagents. <http://preprint.chemweb.com/chemeng/0206003>
- Narhi LO et al. (1997) Fractionating and characterization of polyclonal antibodies using three progressively more chaotropic solvents. Anal Biochem 253:246–252
- Washabaugh MW, Collins KD (1986) The systematic characterization by aqueous column chromatography of solutes which affect protein stability. J Biol Chem 261:12477–12485
- Stöckel J, Hartl FU (2001) Chaperonin-mediated de novo generation of prion protein aggregates. J Mol Biol 313:861–872
- DeBurman SK, Lindquist S (2000) Chaperone-promoted solubilization of protease-resistant prion protein. FASEB J 14:425
- Hjelmeland LM (1990) Solubilization of native membrane proteins. Meth Enzym 182:253–264
- Xiong LW et al. (2001) Conformational change, aggregation and fibril formation induced by detergent treatments of cellular prion protein. J Neurochem 79:669–679
- Herbert B (1999) Advances in protein solubilization for two-dimensional electrophoresis. Electrophoresis 20:660–663
- Fountoulakis M, Takacs B (2001) Effect of strong detergents and chaotropes on the detection of proteins in two-dimensional gels. Electrophoresis 22:1593–1602
- König S, Schmidt O, Rose K et al. (2003) Sodium dodecyl sulfate versus acid-labile surfactant gel electrophoresis: comparative proteomic studies on rat retina and mouse brain. Electrophoresis 24:751–756
- Ross ARS et al. (2002) Identification of proteins from two-dimensional polyacrylamide gels using a novel acid-labile surfactant. Proteomics 2:928–936

49. Chevallet M et al. (1998) New zwitterionic detergents improve the analysis of membrane proteins by two-dimensional electrophoresis. *Electrophoresis* 19:1901–1909
50. Arbab ME, Tinay AH (1997) Effect of cooking and treatment with sodium bisulphite or ascorbic acid on the in vitro protein digestibility of two sorghum cultivars. *Food Chem* 59:339–343
51. Madec JY et al. (1997) Biochemical properties of protease resistant prion protein PrP^{Sc} in natural sheep scrapie. *Arch Virol* 142:1603–1612
52. Warwicker J, Cole C (2001) The structural and spectroscopic basis for modelling prion protein interactions. *Spectroscopy* 15:151–159
53. Herrmann LM, Caughey B (1998) The importance of the disulfide bond in prion protein conversion. *Neuroreport* 9:2457–2461
54. Brown DR, Clive C, Haswell SJ (2001) Antioxidant activity related to copper binding of native prion protein. *J Neurochem* 76:69
55. Feughelman M, Willis B (2002) Potential involvement of copper and thiol-disulphide interchange in prion proteins' conformational conversion. *Medical Hypotheses* 59:321
56. Martins V, Brentani R (2002) The biology of the cellular prion protein. *Neurochem Int* 41:353
57. Callahan MA, Xiong L, Caughey B (2001) Reversibility of scrapie-associated prion protein aggregation. *J Biol Chem* 276:28022–28028
58. Lee DC et al. (2001) A direct relationship between the partitioning of the pathogenic prion protein and transmissible spongiform encephalopathy infectivity during the purification of plasma proteins. *Transfusion* 41:449–455
59. PL976065: Inactivation of the causative agents of transmissible spongiform encephalopathies by thermophilic and hyperthermophilic proteases. <http://tse-ip.org/eu-projects/pl976065-eu-tse-project.shtml>
60. <http://www.newscientist.com/news/news.jsp?id=ns9993999> 29 July 03
61. Prusiner BS, Safar JG (2001) Removal of prions from blood, plasma and other liquids contacting with a solid substrate comprising a complexing agent such as sodium phosphotungstate to bind Prions in the sample, separating sample from the substrate. US Patent 6221614
62. Forloni G et al. (2002) Tetracyclines affect prion infectivity. *PNAS* 99:10849
63. Demaimy R, Chesebro B, Caughey B (2000) Inhibition of formation of protease-resistant prion protein by Trypan Blue, Sirius Red and other Congo Red analogs. *Arch Virol Suppl* 16:277
64. Soto C et al. (2000) Reversion of prion protein conformational changes by synthetic beta-sheet breaker peptides. *Lancet* 355:192–197