

Variante Creutzfeldt-Jakob-Krankheit – Risiko bei Blut und Blutprodukten



Margarethe Heiden,
Rainer Seitz,
Paul-Ehrlich-Institut

Paul-Ehrlich-Straße 51-59
63225 Langen
GERMANY

Homepage: <http://www.pei.de>

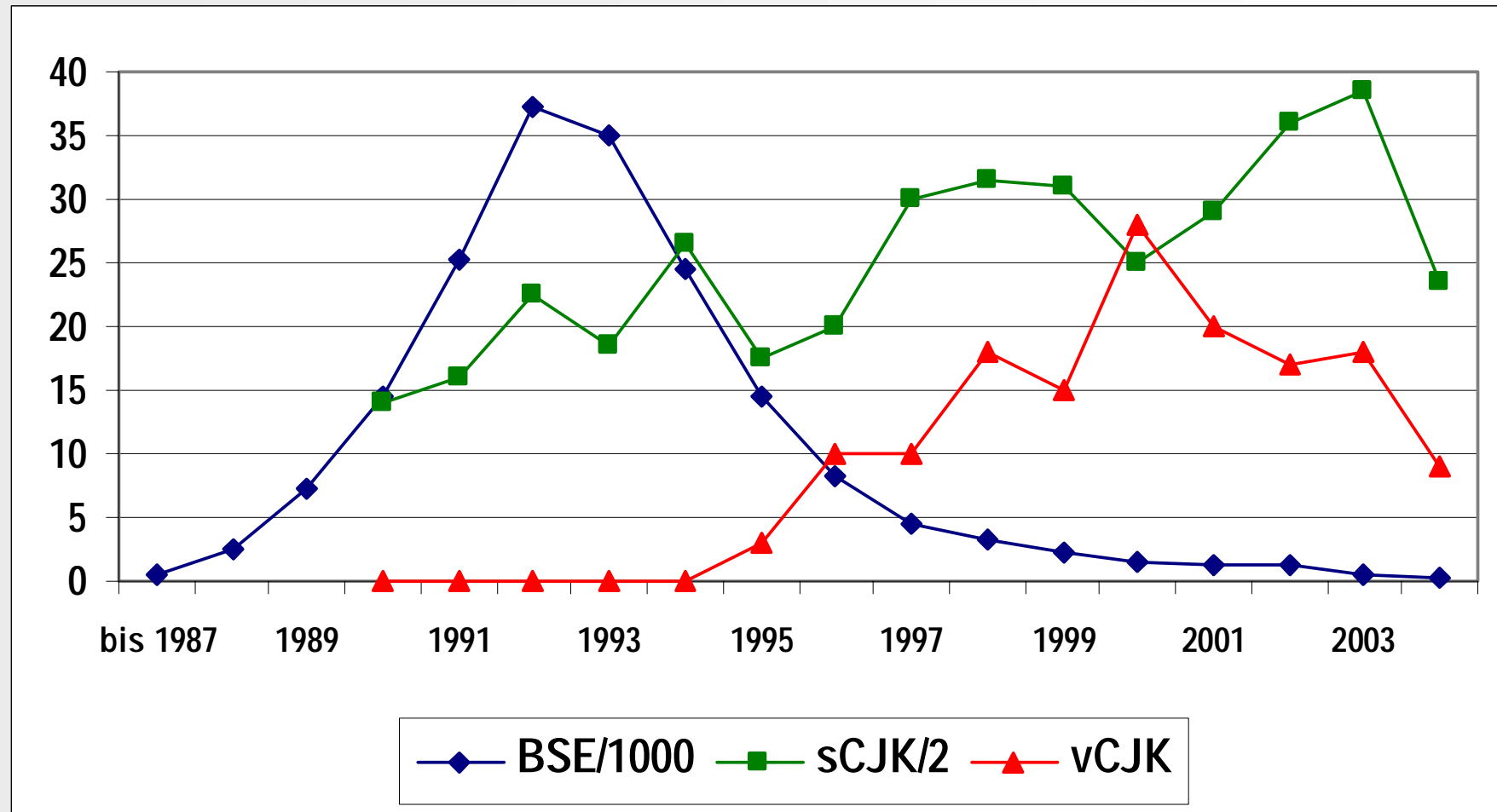


Chronik

- 9. seit ca. 250 Jahren ist Scrapie bekannt (1732)
- 9. 1920 Bericht von Creutzfeldt (kurz darauf von Jakob) über CJK (jetzt: „sporadische CJK“ **sCJK**)
- 9. 40er Jahre: Kuru (Papua-Neuguinea)(1957)
- 9. 1982 Prion-Hypothese von Prusiner
- 9. 1986 Auftreten von boviner spongiformer Enzephalitis (**BSE**), Gipfel in Großbritannien und Nordirland (VK) in den Jahren 1992 und 1993
- 9. 1974 erste iatrogene CJK (Instrumente)
- 9. 1995 erster Fall von „Variante der CJK“ (**vCJK**)
- 9. 1996 bis 1999 experimentelle und epidemiologische Hinweise, dass **vCJK** durch **BSE**-Prionen ausgelöst ist
- 9. 2001 Übertragbarkeit durch Blut (Schafexperiment)
- 9. 2004 **vCJK** bei 2 Transfusionsempfängern (VK)



Epidemiologie der TSEs im VK



Vergleich sporadische (sCJK) und variante (vCJK)

9. sCJK („klassisch“)

- „alt“ (\approx 65 Jahre)
- Demenz, Krämpfe, Lähmungen
- „kurz“ (<6 Monate)
- EEG typisch
- Histologie (Hirn): keine Plaques
- Kein Befall außerhalb ZNS

9. vCJK („neu“)

- „jung“ (\approx 28 Jahre)
- Psychosen, Gefühls-, Gangstörung
- „lang“ (>6 Monate)
- MRT typisch
- Histologie (Hirn): „floride“ Plaques
- **Auch Befall von lymphatischem Gewebe**



Fälle (wahrscheinlich/bestätigt) von vCJK weltweit (Stand März 2005)

Land	Fallzahl
VK	154
Frankreich	9
Irland	2
Italien	1
USA	1
Kanada	1
China (Hongkong)	1
Japan	1
Saudi-Arabien	1?

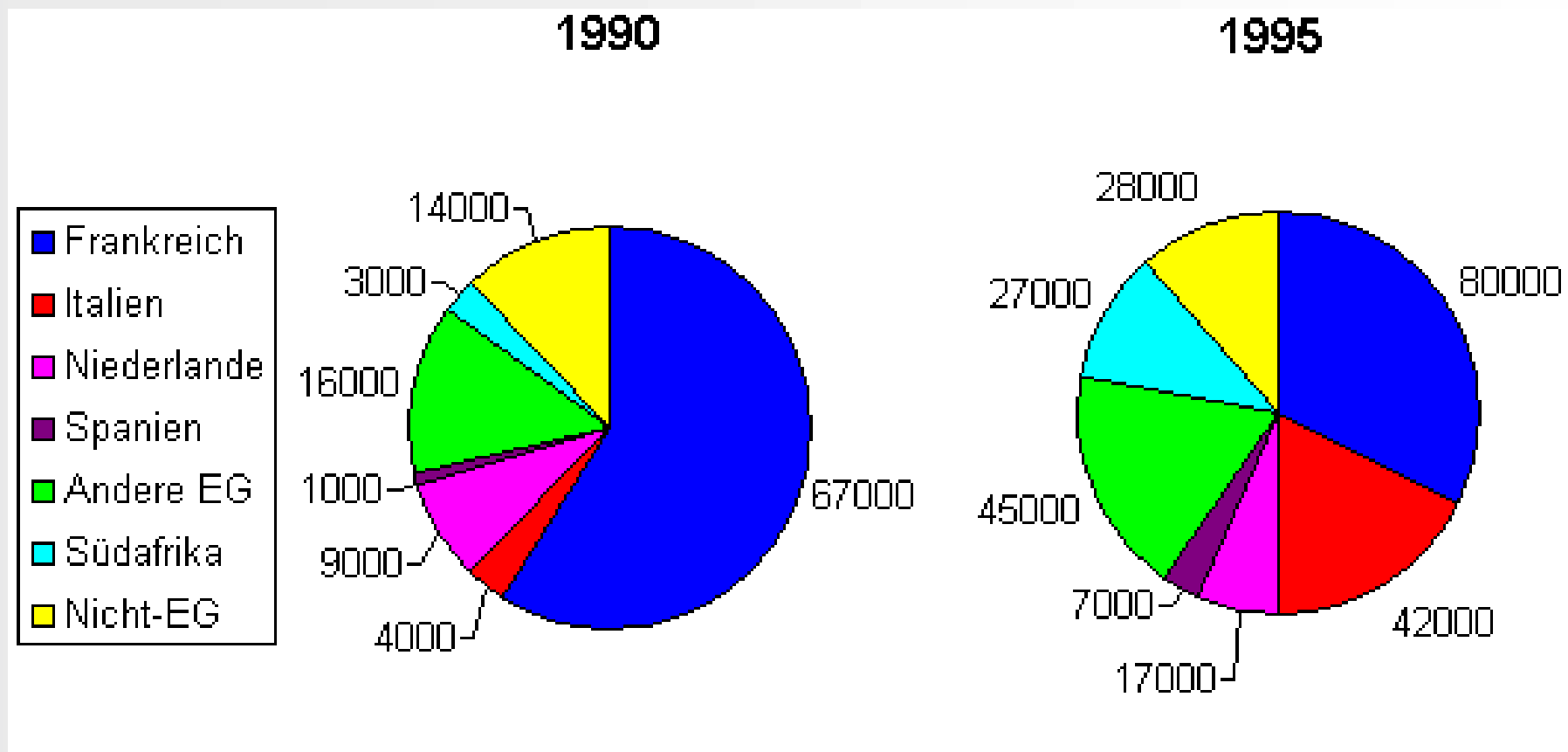


Exposition der Bevölkerung: Anzahl klinischer BSE-Fälle im Jahr des Peaks

Land	Jahr (Höhepunkt der Epidemie)	Anzahl Rinder mit klinischer BSE	Rinderbestand (Alter > 2 Jahre) in 1000 Tiere im angegebenen Jahr	Inzidenz (BSE-Fälle pro 1 Mio. Tiere)	Bevölke- rung in Mio.	Klinische BSE-Fälle pro 1 Mio. Einwohner
VK	1992	36682	6196,1	5920	58,015	632
Irland	1999	91	3853,9	24	3,753	24
Portugal	1999	170	715,8	237	10,030	17
Schweiz	1995	68	810,3	84	7,166	6
Frankreich	2000	101	11033,0	9	59,329	1,7
Belgien	1998	6	1470,2	4	10,202	0,6



Exposition der Bevölkerung: Rindfleischexport aus dem VK in Tonnen



Aktuelle Lage in Deutschland

9. BSE

- Nach SSC geographical **BSE** risk (GBR) Kriterien wurde Deutschland in Klasse III eingestuft
- 6 klinische BSE Fälle 1992-1997, alle importiert
- Systematische Testung von Rindern (>24 Monate) seit 10/2000, bisher 357 positiv (Stand 31.12.04) von insgesamt > 10 Mio. getesteten Rindern (*).

2000	2001	2002	2003	2004
7	125	106	54	65

9. vCJK

- bisher kein Fall von **vCJK** entdeckt
- klinisches Überwachungssystem vorhanden

(*) <http://www.verbraucherministerium.de>



Schaf- Experiment

- 9. Transfusionsexperiment innerhalb der Spezies
- 9. Infektion des "Spenderschafes" oral erworben (**BSE**), or natürlich vorkommende Infektion (**Scrapie**)
- 9. "Empfängerschaft" genetisch empfänglich für Infektion
 - **BSE**: 2 bestätigte Übertragungsfälle (+2 frühe klinische Fälle) von insgesamt 24 Empfängerschaften (17 Vollblut, 7 Buffy Coat)
 - **Scrapie**: 4 klinische Fälle von insgesamt 21 Empfängerschaften

N Hunter et al. Journal of General Virology (2002) 83:2897



Erster Verdachtsfall beim Menschen

Possible transmission of variant Creutzfeldt-Jakob disease by blood transfusion

C A Llewelyn, P E Hewitt, R S G Knight, K Amar, S Cousens, J Mackenzie, R G Will

THE LANCET • Vol 363 • February 7, 2004 • www.thelancet.com

Findings 48 individuals were identified as having received a labile blood component from a total of 15 donors who later became vCJD cases and appeared on the surveillance unit's register. One of these recipients was identified as developing symptoms of vCJD 6.5 years after receiving a transfusion of red cells donated by an individual 3.5 years before the donor developed symptoms of vCJD.

Interpretation Our findings raise the possibility that this infection was transfusion transmitted. Infection in the recipient could have been due to past dietary exposure to the BSE agent. However, the age of the patient was well beyond that of most vCJD cases, and the chance of observing a case of vCJD in a recipient in the absence of transfusion transmitted infection is about 1 in 15 000 to 1 in 30 000.



Zweiter Verdachtsfall beim Menschen

Preclinical vCJD after blood transfusion in a *PRNP* codon 129 heterozygous patient

Alexander H Peden, Mark W Head, Diane L Ritchie, Jeanne E Bell, James W Ironside

We report a case of preclinical variant Creutzfeldt-Jakob disease (vCJD) in a patient who died from a non-neurological disorder 5 years after receiving a blood transfusion from a donor who subsequently developed vCJD. Protease-resistant prion protein (PrP^{res}) was detected by western blot, paraffin-embedded tissue blot, and immunohistochemistry in the spleen, but not in the brain. Immunohistochemistry for prion protein was also positive in a cervical lymph node. The patient was a heterozygote at codon 129 of *PRNP*, suggesting that susceptibility to vCJD infection is not confined to the methionine homozygous *PRNP* genotype. These findings have major implications for future estimates and surveillance of vCJD in the UK.

Lancet 2004; 264: 527-29



Neue Risikokalkulation

- 9. Studie im VK: In 3 von 12,674 untersuchten Appendices wurde Prionprotein PrP^{sc} nachgewiesen (MoAb KG9 or 3F4).
Hilton et al., J Pathol 2004
- 9. Hochrechnungen von diesem Ergebnis lassen auf ca. 1300 to 3800 **vCJK** infizierte Personen schließen, wesentlich mehr, als bisher vermutet.
- 9. Ist demnach eine zweite „Erkrankungswelle“ an **vCJK** zu erwarten?
- 9. Ausgehend vom 2. Übertragungsfall ist zu vermuten, dass diese Personen **vCJK** durch Blutspenden übertragen können.



Ist vCJK durch Plasmaderivate übertragbar ?

- 9. Bisher keine Übertragung von sCJK und vCJK durch Plasmaderivate beobachtet
- 9. Autopsie von 33 Hämophiliepatienten im VK (zwischen 1962 und 1995 mit Konzentraten aus VK-Plasma behandelt): kein Hinweis für vCJK
- 9. Plasmaderivate unterliegen einer Reihe von Reinigungsschritten (Fraktionierung durch Proteinfällungen, verschiedene Endreinigungsverfahren)



Validierung der Abreicherung von infektiösem Prionprotein

9. *Baron et al. Int. Sympos. „Advances in Blood Transfusion Safety - 2001“, PEI, 7 - 8 June 2001*

- 4 Reinigungsschritte: Kryopräzipitation, Fr I, Fr II+III, Fr IV
- 4 unterschiedliche Spikes: Hirnhomogenate (BH), mikrosomale Fraktion (MF), Caveolae-like Domänen (CLD), gereinigtes PrP^{sc}
- Conformation-dependent Immunoassay
- Ergebnisse: Mit BH, MF, CLD vergleichbare Abreicherung; mit gereinigtem PrP^{sc} bessere Abreicherung für Kryopräzipitation (2.4 vs. < 1 log-Stufe) und Fr. I (3.1 vs. < 1 log-Stufe)



Gefahr der vCJK-Verbreitung in Deutschland

- 9. Verbreitung von BSE unter Rindern durch kontaminiertes Futter ist unterbunden (1994 Verbot Tiermehlverfütterung).
- 9. Die primäre Infektion von Menschen über die Nahrungskette ist unterbunden (2000 Entfernung Risikomaterial, Testung).
- 9. Trotzdem muss damit gerechnet werden, dass auch in Deutschland vCJK auftreten wird, allerdings in einem (auch im Vergleich zu sCJK) sehr begrenzten Umfang.
- 9. Abschätzung der Zahl der primär über die Nahrung Infizierten schwierig; Import von Risikomaterial und BSE-Belastung im Inland nicht genau erfasst
- 9. Sekundäre Infektion durch Blut möglich, bevor die vCJK-Erkrankung eines Spenders klinisch manifestiert ist.



Größtes Risiko für Erwerb vCJK

Primär durch Aufnahme von kontaminiertem Rindermaterial

- 9. während des Aufenthalts im Vereinigtem Königreich Großbritannien und Nordirland in den Jahren 1980 bis 1996 (neue Schlachtmethode mit Entfernung Risikomaterial)
- 9. durch Verzehr von in den Jahren 1980 bis 1996 aus dem VK exportiertem Rindermaterial.

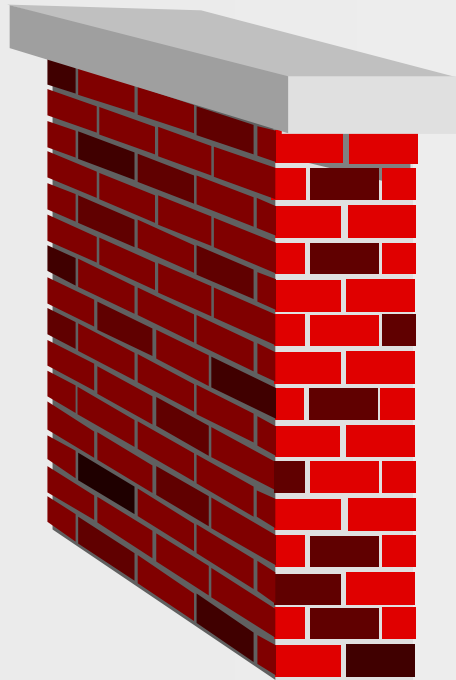
Sekundär

- 9. durch Bluttransfusion während eines Aufenthalts im VK mit dem Blut eines Spenders, der mit vCJK infiziert ist und noch keine klinischen Krankheitssymptome zeigt,
- 9. möglicherweise auch durch kontaminierte chirurgische Instrumente während einer Operation im VK.

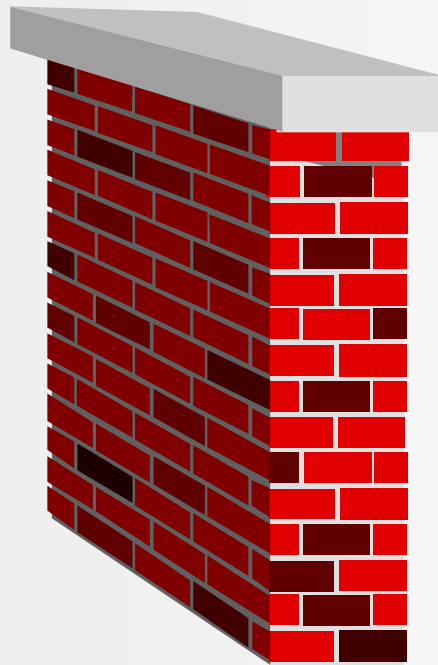


Die drei klassischen Schutzwälle

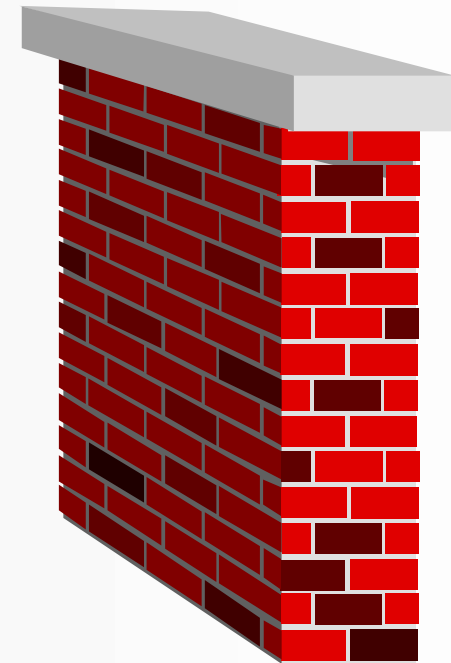
Schützen sie vor Übertragung von vCJK durch Blut ?



Spenderauswahl



Testung



Eliminierung

*nach: N Dhingra, WHO Conference on
SARS, Kuala Lumpur, 17-18 June 2003*



Vorsorgliche Maßnahmen: 1. Spenderauswahl

- 9. Keine Nutzung von Plasma aus VK zur Fraktionierung ^{*1999}
- 9. Ausschluss von Spendern mit potentielltem Risiko
 - **sCJK** oder **vCJK** beim Spender oder seiner Familie**
 - Behandlung mit humanem Hypophysenhormon, Dura Mater oder Cornea-Transplantation**
 - Nach kumulativem Aufenthalt für ≥ 6 Monate in VK zwischen 1980 und 1996 ^{*2001}
 - Nach Operationen und Transfusionen im VK nach 1980 ^{*2004/5}
 - **Alle Empfänger von Bluttransfusionen ?** ^{*2004/5}
 - Psychologische und ethische Probleme
 - Hoher Verlust an Spendern bei minimalem Sicherheitsgewinn

^{*}Stufenplanmaßnahme des PEI/BfArM, ^{**} Richtlinien Hämotherapie



Vorsorgliche Maßnahmen: 2. Testung

9. Als „Erreger“ der TSE werden nach der Theorie von Prusiner in der Aminosäuresequenz den zellulären Prionproteinen (PrP^c) gleiche, aber durch eine pathologische Fehlfaltung in den physikochemischen Eigenschaften alterierte und vermutlich Aggregate bildende Proteine (PrP^{sc}) angesehen
9. Es gibt biochemische und tierexperimentelle Nachweismethoden
9. Das Problem bei der Entwicklung von **Screening Assays** ist,
 - eine extrem hohe Sensitivität für PrP^{sc} (die ggf. im Blut vorliegende Konzentration ist bisher nicht bekannt und dürfte extrem niedrig sein)
 - bei gleichzeitig extremer Spezifität (relativ hoher Background an PrP^c) zu erreichen.



Vorsorgliche Maßnahmen: 3. Eliminierung

- 9. Leukozytendepletion von zellulären Blutkomponenten zur Transfusion *2001
- 9. Neue „prionendichte“ Filter für Blutkomponenten?
- 9. **Validierung** der Herstellung von Plasmaderivaten bzgl. PrP^{sc}-Abreicherung
- 9. Rückruf von Blutprodukten (außer Albumin), wenn festgestellt wird, dass ein Spender **vCJK** entwickelt *1999

*Stufenplanmaßnahme des PEI/BfArM



4. Schutzwall: Optimal Use

Technical Meeting of Blood Experts related to **vCJD** transmission
Luxembourg, 20 January 2004, Auszug Summary Statement

9. "There was agreement that **optimal use of blood** may further reduce the risk of transmission of **vCJD** by avoiding unnecessary exposure to allogeneic blood transfusion. In addition avoiding unnecessary transfusion may improve the availability of blood for transfusion; this in turn may facilitate the introduction by Member States of additional donor deferrals if required."
9. "Participants requested the Commission to build on earlier initiatives at the EU level to promote the optimal use of blood and blood components throughout the EU."



Initiative für "optimal Use"

- 9. A Blood product cannot transmit any disease, if it is not administered to a patient
- 9. Under the German EU-Presidency, 20 - 22 May 1999, Expert Meeting in Wildbad Kreuth: „Blood Safety in the European Community: An Initiative for Optimal Use“



Zukunft ?

- 9. Rigorose Fortführung der Maßnahmen zum Schutz der Nahrungskette von Tieren und Menschen, sowie von Arzneimitteln vor **BSE** Risikomaterial
- 9. Weitere Überprüfung und Optimierung der Effektivität von Reinigungsschritten zur Entfernung von Prionen und zur Säuberung der Anlagen
- 9. Als **Priorität**, Entwicklung von ausreichend sensitiven Testmethoden zur Erfassung von Infektivität in Blut (als **Screeningtest**)
- 9. Vermeidung unnötiger Exposition durch optimale Anwendung von Blutprodukten; als generelle Maxime wirkt dies für alle durch Blut übertragbaren Krankheiten risikomindernd.



Diagnostische Kriterien für vCJK

Aus:
Kretzschmar HA:
BSE und die neue
Variante der
Creutzfeldt-Jakob-
Krankheit.
Deutsches Ärzteblatt 5.
Okt. 2001

Textkasten 1

Diagnostische Kriterien für die neue Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit

- I. A. Progressive neuropsychiatrische Störung
B. Krankheitsdauer über 6 Monate
C. Routineuntersuchungen legen keine alternative Diagnose nahe
D. Kein Hinweis auf potenzielle iatrogene Exposition
- II. A. Frühe psychiatrische Symptome
B. Persistierende sensorische Symptome
C. Ataxie
D. Myklonie oder Chorea oder Dystonie
E. Demenz
- III. A. Das EEG zeigt nicht die für die sporadische CJD typischen Veränderungen
B. Das MRI zeigt bilateral hohe Signale im Pulvinar

Definitiv: IA (progressive neuropsychiatrische Störung) und neuropathologische Bestätigung einer vCJD

Wahrscheinlich: I und D/E von II und IIA und IIIB

Möglich: I und D/E von II und IIIA

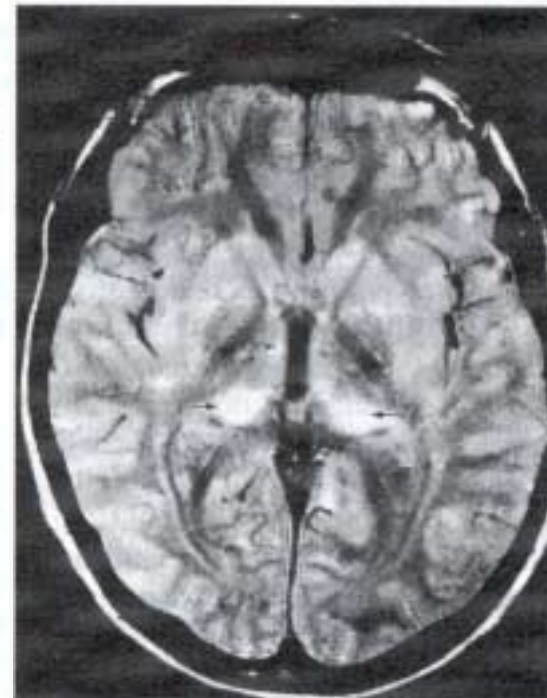


Abbildung 1. In Kernspinuntersuchungen zeigen sich im Pulvinar bilateral und symmetrisch hohe Signale in axialen T2- und/oder protonengewichteten Aufnahmen (Pfeile). Diese Veränderungen fanden sich bei 20 von 26 untersuchten vCJD-Fällen (77 Prozent) in Großbritannien (aus [2] mit Genehmigung des Verlags).



Histologie vCJK

Aus:

Kretzschmar HA:

**BSE und die neue Variante
der Creutzfeldt-Jakob-
Krankheit.**

**Deutsches Ärzteblatt 5. Okt.
2001**

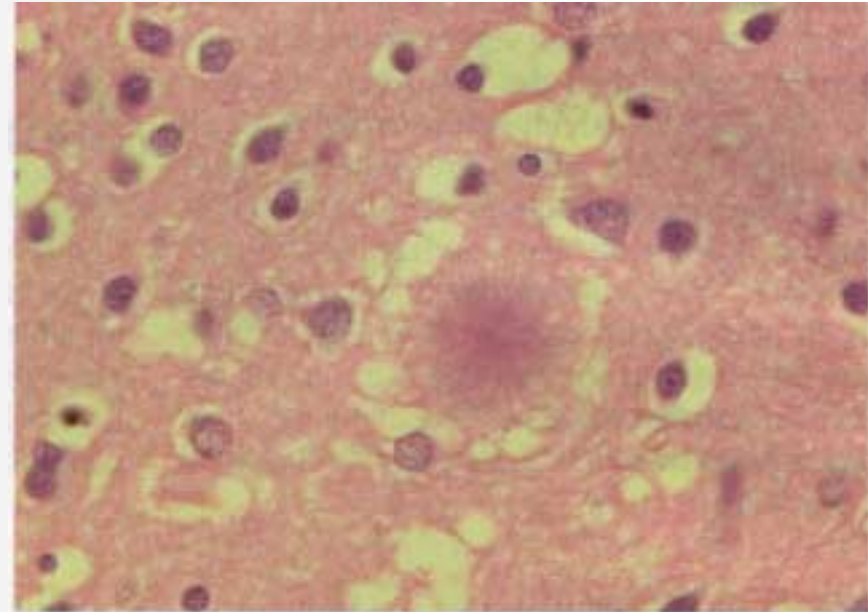
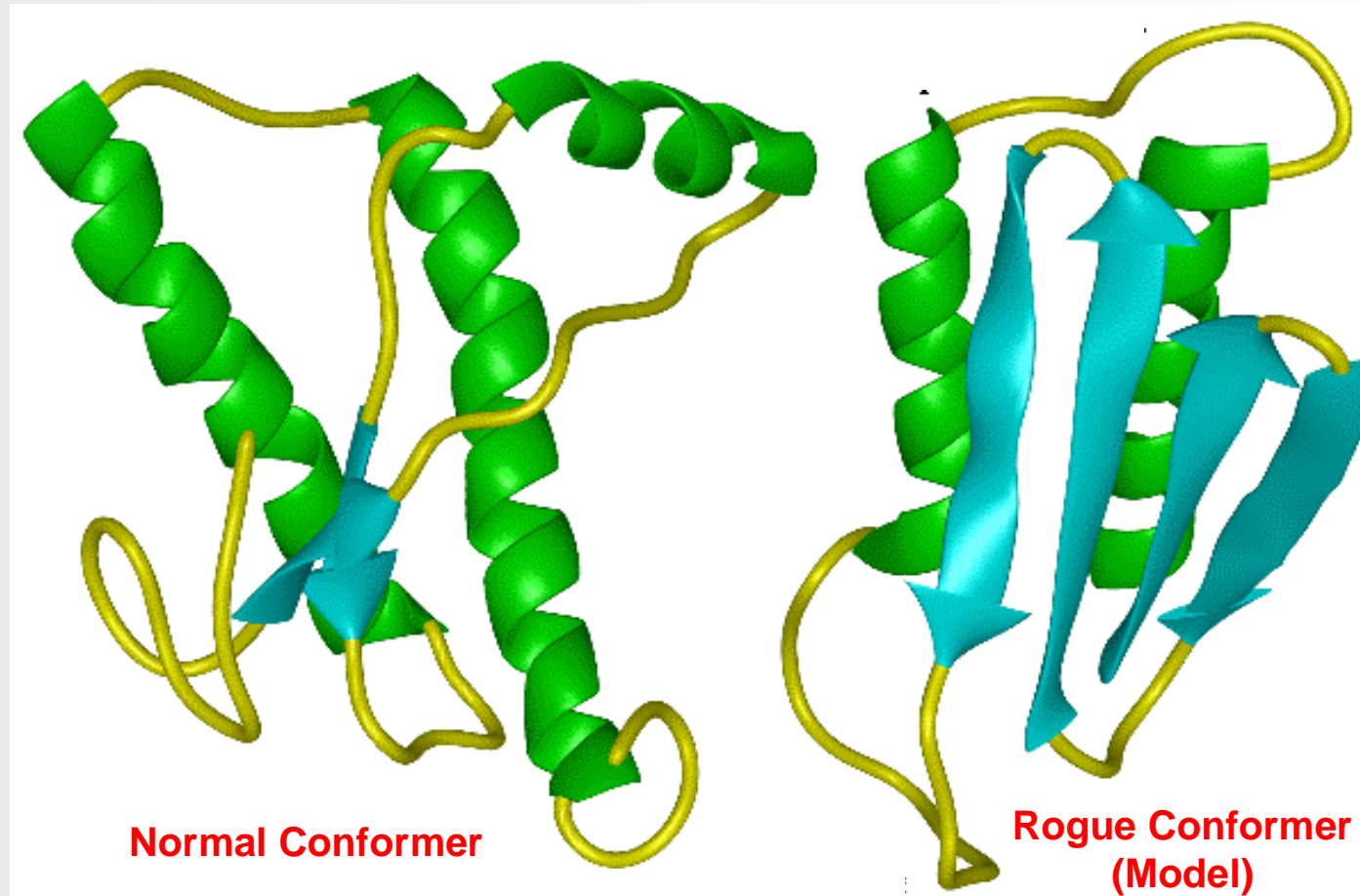


Abbildung 2. Globuläre Prionproteinablagerung mit umgebenden spongiformen Veränderungen, so genannte „florider Plaque“ bei einem Fall der neuen Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (vCJD). Diese floriden Plaques wurden bei allen untersuchten vCJD-Fällen gefunden. Sie werden beim Menschen nur bei der vCJD beobachtet und gelten als pathognomonisch (Präparat von J. Ironside, Edinburgh).



Prion Pathogenesis = Conformational Change



PrP^C

42%

3%

-

Secondary Structure

α -helix

β -sheet

Infectivity

PrP^{Sc}

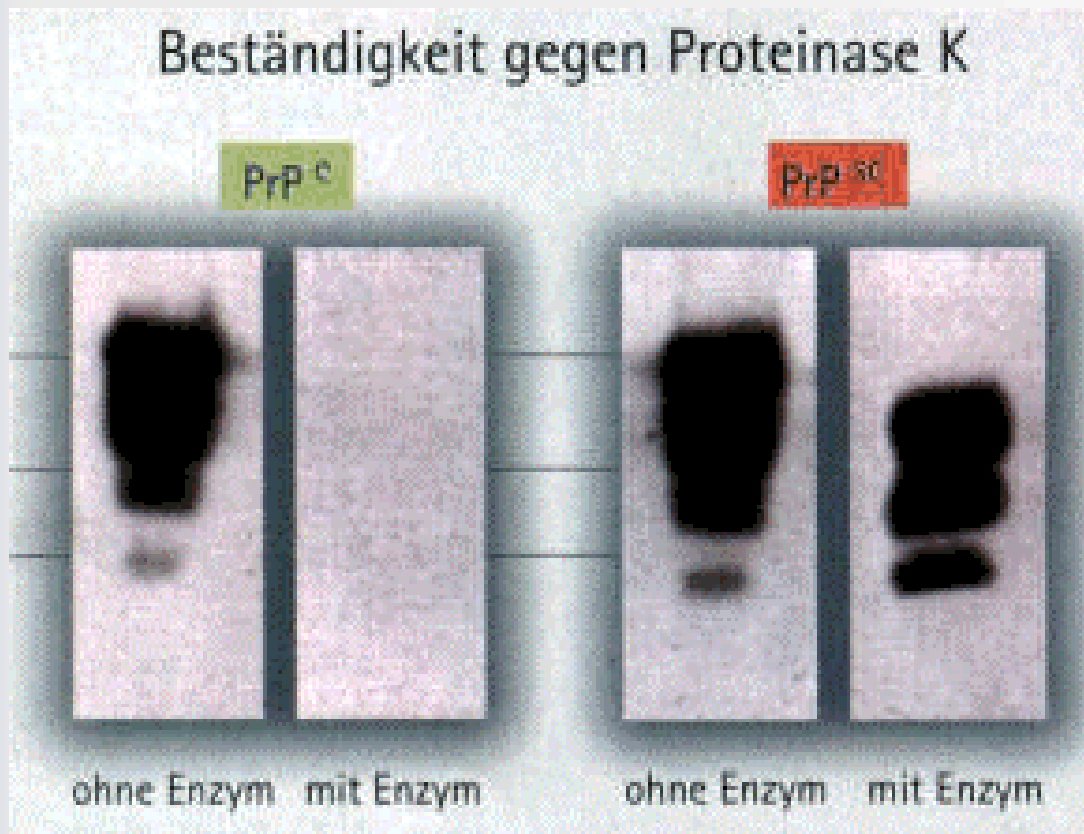
30%

43%

+



Proteinase K



M. Eigen: BSE und das Prionen-Problem.
Spektrum der Wissenschaft 4/2001

Es gibt zwei mögliche Stellen für eine Glykosylierung: Es können **0, 1, oder 2 Stellen glykosyliert** sein.

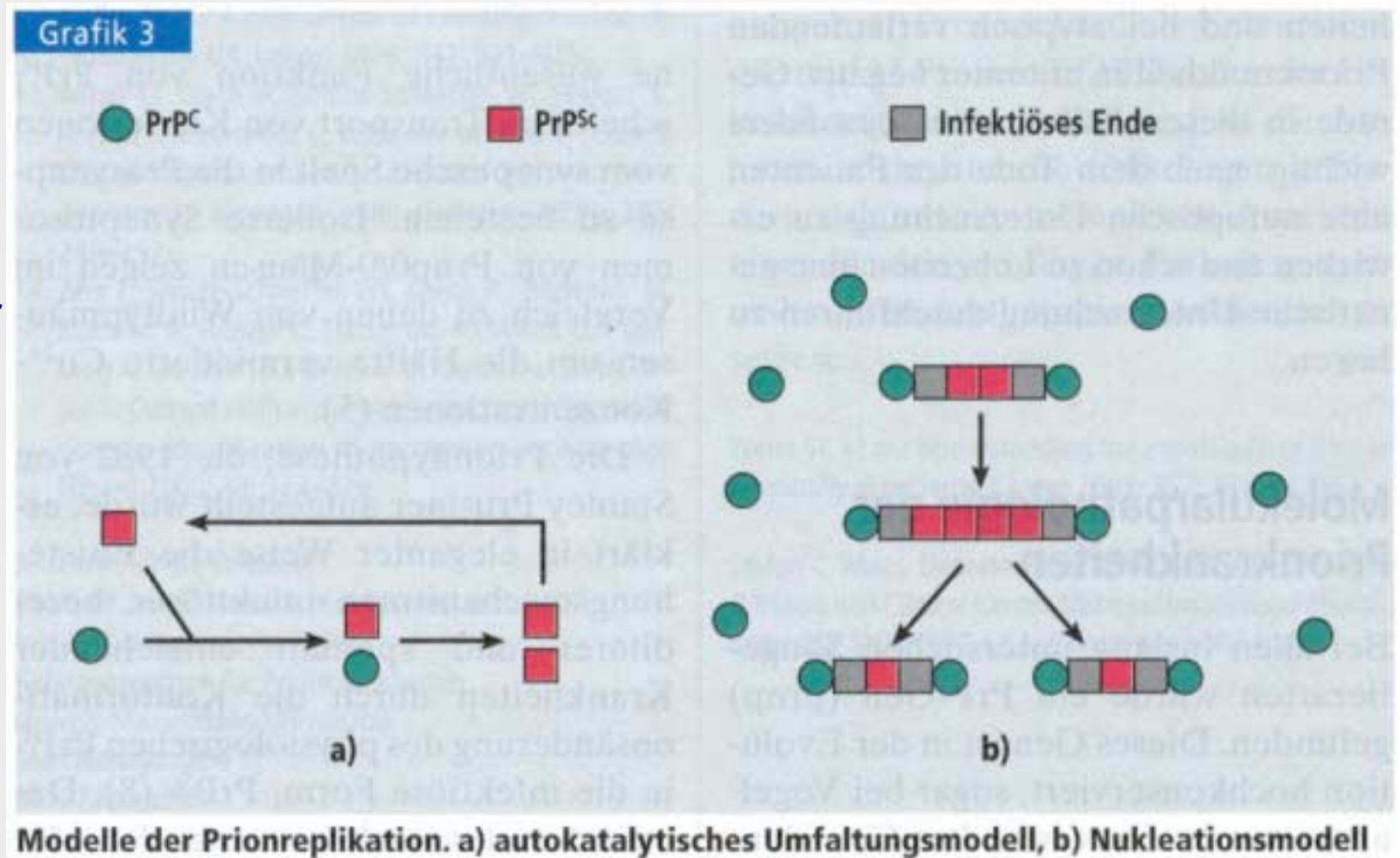
Es gibt **zwei verschiedene Schnittstellen** der Proteinase K

Daraus resultieren Muster mit drei Banden, die verschieden hoch liegen können, die zur Einteilung in „Typen“ verwendet werden



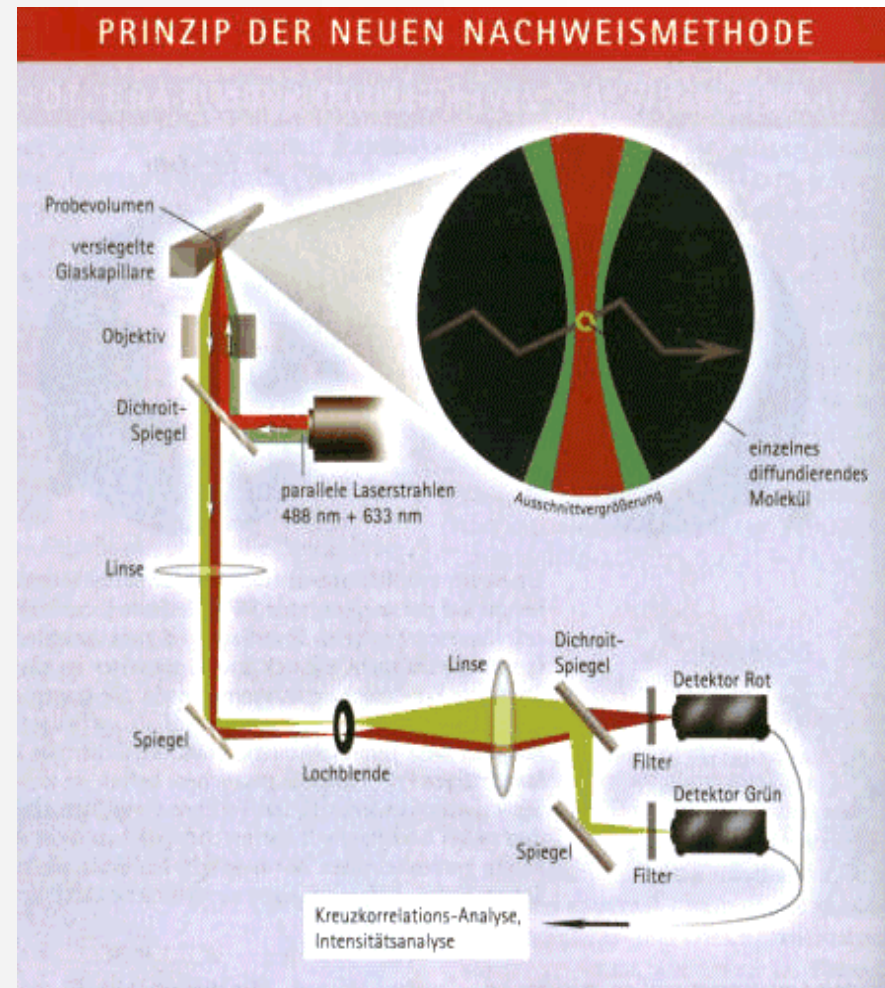
Modell der Prionentstehung

Aus:
Kretzschmar HA:
BSE und die
neue Variante der
Creutzfeldt-
Jakob-Krankheit.
Deutsches
Ärzteblatt 5. Okt.
2001



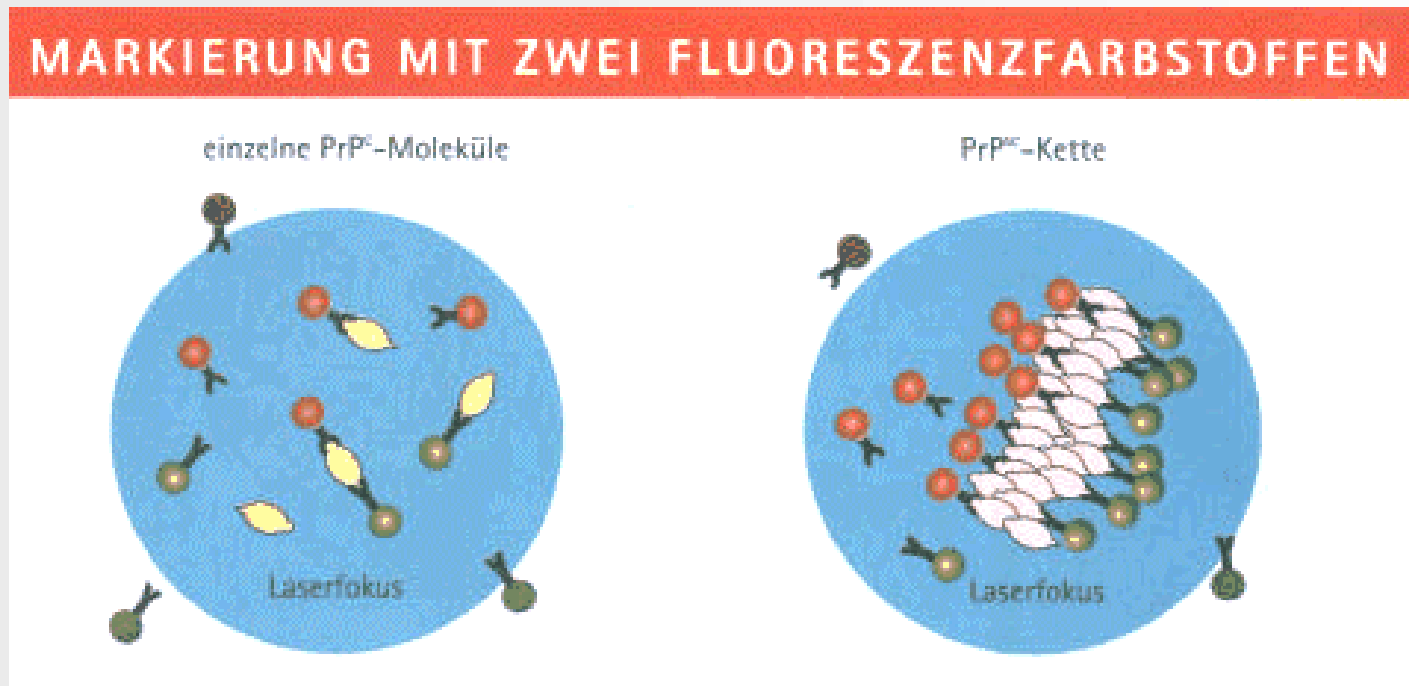
SIFT (Prinzip)

- 9. Kein Proteinase K-Abbau erforderlich
- 9. Nachweis von einzelnen Prionen-Aggregaten und Abschätzung ihrer Größe möglich



SIFT (Prinzip)

9. SIFT (scanning for intensely fluorescent targets), Zweifarben-Kreuzkorrelations-Analyse (Eigen und Kretzschmar)

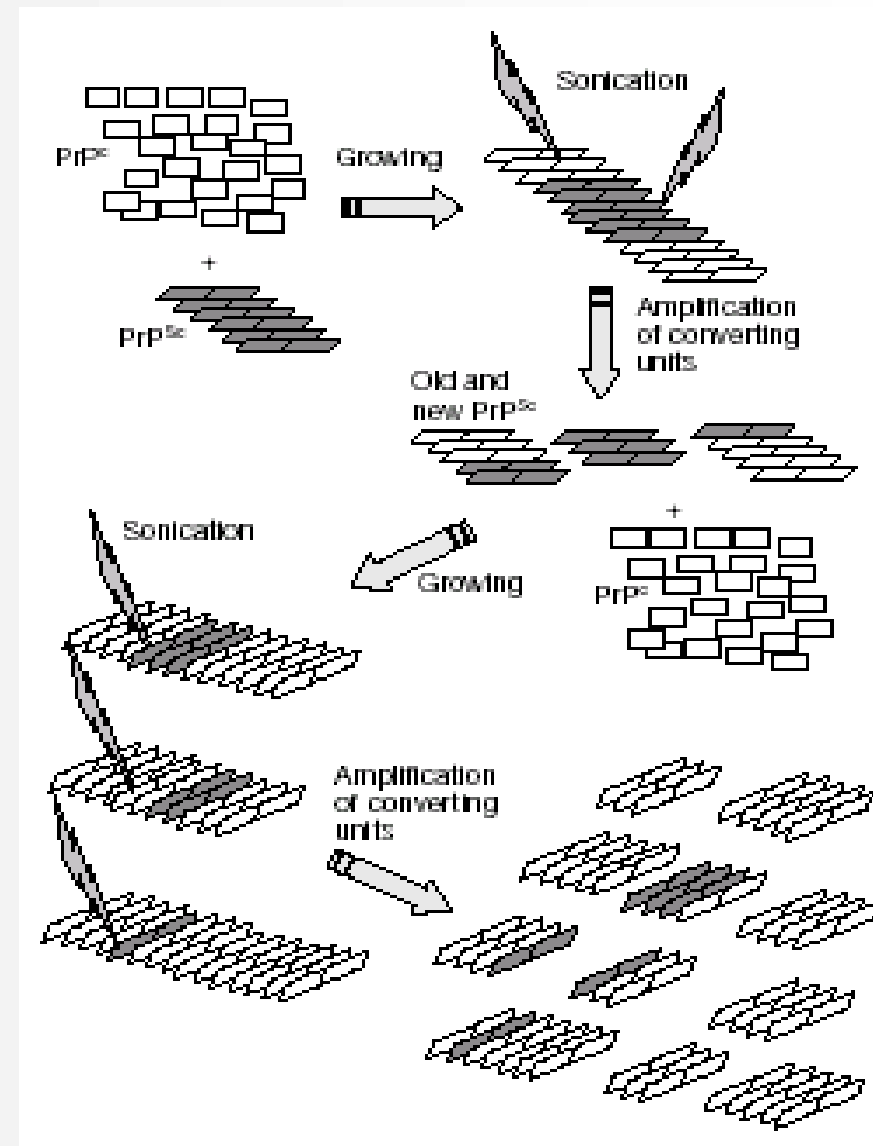


Protein-Misfolding Cyclic Amplification (PMCA)

Saborio GP, Permanne B, Soto C:

Nature 411:810;2001

- 9. Hirnhomogenate von Scrapie-Hamstern (Prionen) und normalen Hamstern (Quelle von PrP^c) in Zyklen inkubiert und mit Ultraschall behandelt
- 9. Vermehrung von Prionen, ähnlich wie PCR

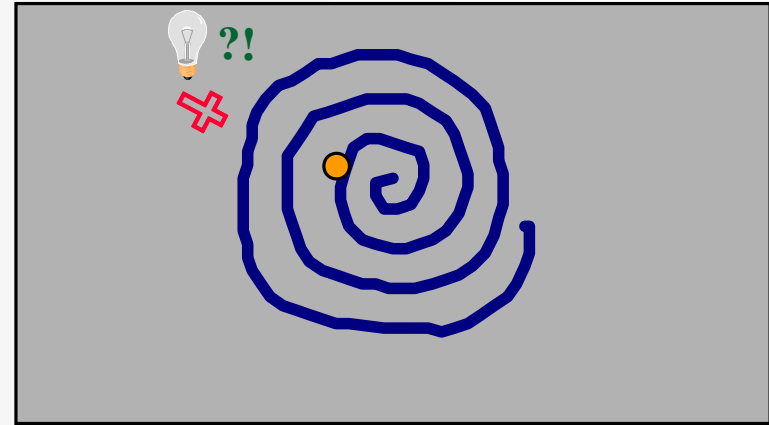
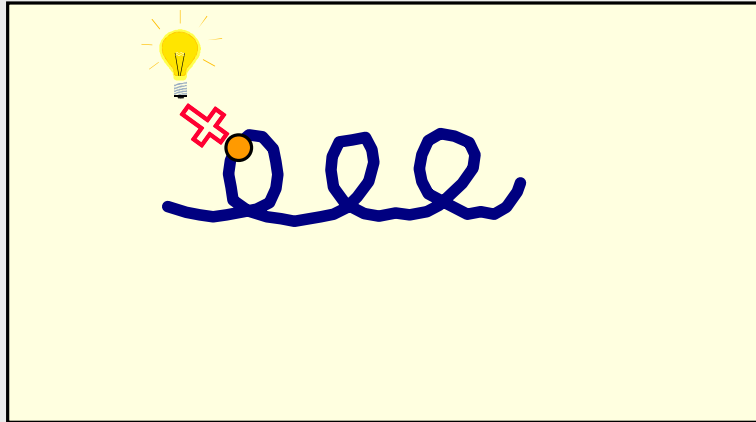


Conformation-Dependent
Immunoassay (CDI)

PrP^C

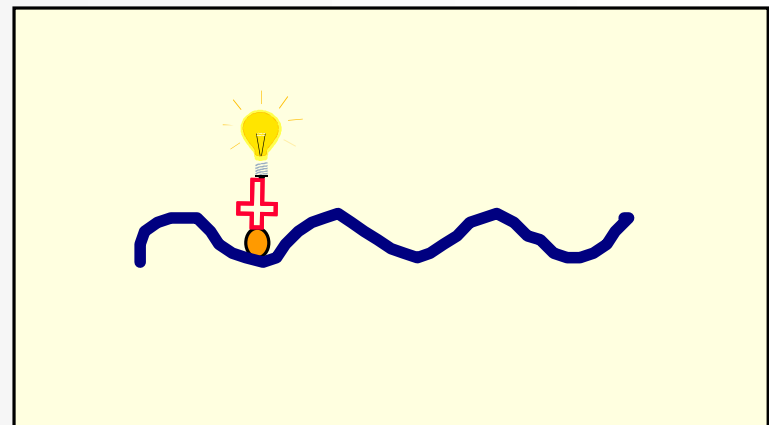
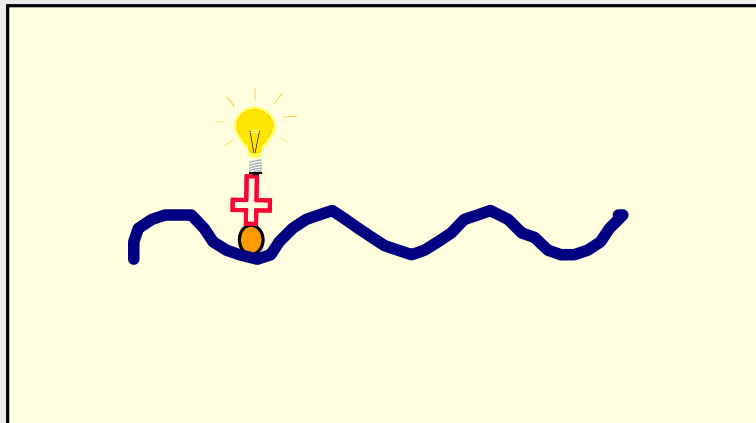
PrP^{Sc}

Before



Denaturation

After



Vergleich HIV / Prionen

	<i>HIV</i>	<i>Prionen</i>
Infektiosität	hoch	bei Verzehr oder Anwendung von kontaminiertem Hirngewebe; experimentelle Systeme
Kontagiosität	hoch	nicht bei normalen Kontakten
Übertragbarkeit durch Blut	hoch; frühzeitig dokumentierte Fälle	2 Verdachtsfälle Transfusionen; Plasmaprodukte weniger wahrsch.

Farben:

ungünstig



ambivalent



günstig



Vergleich HIV / Prionen

	<i>HIV</i>	<i>Prionen</i>
Infektiosität	hoch	bei Verzehr oder Anwendung von kontaminiertem Hirngewebe; experimentelle Systeme
Kontagiosität	hoch	nicht bei normalen Kontakten
Übertragbarkeit durch Blut	hoch; frühzeitig dokumentierte Fälle	2 Verdachtsfälle Transfusionen; Plasmaprodukte weniger wahrsch.
Risikoverhalten von potentiellen Spendern	definierbar	Aufenthalt in UK; Transfusion?
Testsysteme	Antikörper, NAT, sehr zuverlässig	in Entwicklung; noch kein Screeningtest verfügbar
Inaktivierbarkeit	sensibel; wirksame Methoden für Blutprodukte	resistent; keine Inaktivierung, aber wahrsch. Abreicherung

Farben:

ungünstig



ambivalent



günstig

