

# **vCJD e il problema sangue**



**Gino Tripodi Servizio di  
Immunoematologia e Medicina  
Trasfusionale I.R.C.C.S. G.  
Gaslini, Genova  
31 Ottobre 2007**

## **Sangue e infezioni....cenni storici**

- **Anni 70: HBV**
- **1985: HIV**
- **1989: HCV**
- **1996: BSE (?)**
- **altri: CMV, HTLV I e II, parvovirus B19, HHV-8, West Nile virus ecc.**  
**= percezione soggettiva del rischio trasfusionale superiore alla reale entità oggettiva**

## **Evoluzione dello screening infettivologico emocomponenti labili**

- **HBsAg = 1974**
- **HIV Ab = 1985 (1° generazione lisato virale, 2° e 3° generazione ricombinanti e/o peptidi sintetici)**
- **HCV Ab = 1989 (1° generazione c100, 2° generazione c22, c33 e NS4, 3° generazione c22, c33, NS4 e NS5)**
- **HCV-NAT = obbligatorio per legge dal 18 giugno 2002**
- **TRI-NAT = delibera regionale 2007**

# **Criteria per determinare la rilevanza dei patogeni in Medicina Trasfusionale**

**Fare o non fare il test di screening pretrasfusionale dipende da:**

- ❖ **Patogenicità (deve essere significativa)**
- ❖ **Trasmissibilità mediante emocomponenti e/o emoderivati**
- ❖ **Prevalenza nella popolazione dei donatori di sangue ed emocomponenti e nella popolazione in generale (deve essere ragionevolmente bassa)**
- ❖ **Lunga incubazione o capacità di causare infezioni persistenti (anche asintomatiche)**
- ❖ **Localizzazione del virus nell'ospite (se extracellulare non è eliminabile mediante leucodeplezione)**
- ❖ **Disponibilità di test rapidi ed affidabili**

***Allain. Blood Review 2000; 14, 173-181 (modificato)***

# Trasmissibile Spongiform Encephalopathies (TSE)

- Incubazione in genere lunga durante la quale la malattia è difficilmente dimostrabile
- Lenta e progressiva neurodegenerazione
- Sono tutte letali (assenza di valide terapie)
- Il sistema immunitario non è in grado di rispondere all'agente eziologico
- Somiglianza isto-neuropatologica
- Comune agente eziologico (prione)

# TSE E PRIONI

- Le encefalopatie spongiformi trasmissibile sono un gruppo di patologie che colpiscono l'uomo e gli animali caratterizzate dall'accumulo nel SNC di una particolare proteina denominata

## Proteina prionica (PrP)

(INFEZIONI LENTE DA AGENTI NON  
CONVENZIONALI)

# TSE

umane	animali
• <i>kuru</i>	• <i>scrapie</i>
• <i>M. di Gerstmann-Straussler-Scheinder (GSS)</i>	• <i>TSE dei ruminanti selvatici (CWD del cervo)</i>
• <i>Insonnia fatale familiare (FFI)</i>	• <i>TSE del visone (TME)</i>
• <i>Encefalopatia di Creutzfeldt-Jakob (CJD)</i>	• <i>TSE dello struzzo</i>
<i>forma classica (sporadica o genetica)</i>	• <i>TSE dei felini (FSE)</i>
<i>iatrogena (acquisita)</i>	• <i>TSE dei bovini (BSE)</i>
<i>stipica (variant CJD o CJD tipo 4 secondo Collinge)</i>	

- A somiglianza dei virus gli agenti “non convenzionali” **sono filtrabili e “si replicano”**.
- Differiscono dai virus per la loro resistenza ai trattamenti che inattivano questi ultimi (calore, disinfettanti, luce UV, radiazioni ionizzanti) e per l’incapacità di suscitare una reazione immunitaria efficace.
- Inoltre, la replicazione degli agenti “non convenzionali” non si associa alle modificazioni morfologiche tipiche dei virus

- Il processo replicativo è accompagnato dalla comparsa nelle cellule infettate di una proteina amiloide costituita da 2-4 filamenti lunghi da 4 a 6  $\mu\text{m}$ .
- Questa proteina fu denominata **SAF** (*scrapie-associated fibril*) in quanto identificata per la prima volta nelle pecore e capre affette da scrapie
- Componente principale della SAF è una glicoproteina di 27-30 kD, detta **PrP** (*proteinaceous infectious particle* o *prione*)

- La sequenza aminoacidica di una parte della PrP presente nello scrapie (**PrP<sup>Sc</sup>**) ha permesso di dimostrare che le cellule dei mammiferi contengono un gene (Prp) che codifica una proteina analoga alla PrP<sup>Sc</sup> denominata PrP cellulare o **PrP<sup>C</sup>**
- **PrP<sup>Sc</sup>** e **PrP<sup>C</sup>** differiscono solo nella struttura quaternaria (in **PrP<sup>C</sup>** prevalgono i siti ad  $\alpha$ -elica, in **PrP<sup>Sc</sup>** prevalgono aree “*unfolded*” denominate “ *$\beta$ -sheet*”)

➤ la transizione strutturale da  $\alpha$ -elica, a “ $\beta$ -sheet” sembra essere il fondamentale momento patogenetico delle malattie da prioni: la forma  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  è l’unica ad essere “infettante” e sembra determinare la polimerizzazione in materiale amorfo anche dell’isoforma  $\text{PrP}^{\text{C}}$  e/o la sua trasformazione in  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$

=

**Accumulo con danno neuronale  
per tossicità intrinseca o perdita  
della normale funzionalità della  
 $\text{PrP}^{\text{C}}$**

- Non è noto né come si verifichi la trasformazione/polimerizzazione né i fattori che regolano le sedi di accumulo (prevalentemente nel SNC)
- La conseguenza della stretta similitudine tra le due varianti prioniche risulta essere l'incapacità di riconoscere la PrP<sup>Sc</sup> come estranea (= tolleranza immunologica) e l'assenza di risposta infiammatoria, tipiche delle encefalopatie spongiformi

- Una recentissima ipotesi è stata discussa su NEJM nel settembre 2007:
- Alcuni recenti dati sperimentali (*Mol Cell, 2007;26:175*) indicherebbero che la PrPSc, penetrata nella cellula, sia in grado di bloccare la funzione del **proteosoma 26S, responsabile in condizioni normali della degradazione delle proteine all'interno della cellula** (....ma probabilmente non è il solo meccanismo coinvolto.....)

## Anatomia patologica

- **Degenerazione spongiforme del tessuto nervoso con perdita di neuroni ed ipertrofia delle cellule gliali (+ evidente nella corteccia cerebrale nella CJD, a livello cerebellare nel kuru)**
- **L'aspetto spongiforme deriva dalla degenerazione vacuolare di assoni e dendriti, meno dei nuclei, di neuroni e astrociti**

## Anatomia patologica

- In una % variabile di pazienti (100% nella GSS, nel 70% nel kuru e molto meno freq. nella CJD) si osserva la deposizione di amiloide in placche PAS+
- Le placche derivano dalla polimerizzazione della PrP<sup>Sc</sup> in filamenti che si riuniscono a formare depositi via via più consistenti

# TSE nell'uomo

- **Forme sporadiche**
- **Forme genetiche o ereditarie**
- **Forme infettive**

# TSE sporadiche

- La più comune è la **CJD** (1 caso/1 milione per anno)
- **Eziologia sconosciuta: si ipotizza che la mutazione somatica del gene PrP (codon 129 nel cromosoma 20) in omozigosi inneschi la conversione spontanea di  $\text{PrP}^{\text{C}}$  in  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$**

# TSE genetiche

- **CJD familiare**
- **GSS**
- **FFI**
- **Sono note 5 diverse mutazioni a carico del gene PrP (sempre codon 129 nel cromosoma 20).....**

## TSE infettive

- **Kuru** (papua-nuova guinea, cannibalismo rituale)
- **Trasmissione iatrogena** (GH da cadavere, trapianto di cornea e dura madre, autopsie.....  
Incubazione da 1 a oltre 30 anni dall'evento infettante)
- **vCJD**

## vCJD

- **1980** = identificazione della BSE in UK, trasmessa ai bovini da mangimi contenenti farine animali (comprese pecore infettate da scrapie)
- **1995** = 1° caso di adolescente con CJD atipico chiamato vCJD

*età esordio 26 anni vs 65 anni*

*Sopravvivenza 14 mesi vs 4-6 mesi*

*Localizzazione delle aree degenerate differente, con specifiche alterazioni EEC e RM*

# Trasmissibilità dall'animale all'uomo

- **Scrapie degli ovini-caprini:** no evidenza di rischio per l'uomo
- **Chronic Wasting Disease del cervo:** no evidenza di rischio per l'uomo
- **Encefalopatia trasmissibile del visone:** no evidenza di rischio per l'uomo
- **Encefalopatia trasmissibile felina:** appare improbabile la trasmissione (maneggiare con cura i cadaveri se si sospetta la FSE....)

# Trasmissibilità dall'animale all'uomo

## ➤ **Encefalopatia spongiforme bovina**

- il prione isolato nella vCJD è analogo a quello della BSE (1997-2000)
- Nei pazienti deceduti per vCJD è ragionevole ipotizzare anche la trasmissione alimentare (rilievo del prione a livello enterico, MALT linfonodi e milza....)
- Alcuni casi di sCJD sembrano correlabili con l'ingestione di carne contaminata dalla BSE (2002)
- Negli ultimi 10 anni si è verificato un incremento dei casi di sCJD nel Regno Unito ma anche in altri paesi europei (es. Svizzera) (2002)

# Trasmissibilità dall'animale all'uomo

La trasmissione dai bovini  
infetti della BSE è oggi  
ritenuta quasi certa

# Valutazione infettività dei tessuti bovini

<b>categoria</b>	<b>Tessuto</b>	<b>Unità infettanti/g</b>
<b>I</b>	<b>TESS. NERVOSO</b>	<b>10.000.000</b>
<b>II</b>	<b>MILZA, LINFONODI ,COLON</b>	<b>&lt; 25.000</b>
<b>III</b>	<b>FEGATO, POLMONE, PANCREAS</b>	<b>&lt; 100</b>
<b>IV</b>	<b>MUSCOLO, OSSO, CUORE</b>	<b>&lt; 0,1</b>

# Valutazione infettività in base alla via di penetrazione

- **Inoculo intracerebrale**
- **Via parenterale**
- **Via intraperitoneale**
- **Via sottocutanea**
- **Via orale**

# Resistenza dei prioni

<b>RAGGI UV</b>	<b>ALTA</b>
<b>RADIAZIONI IONIZZANTI</b>	<b>ALTA</b>
<b>FORMALINA</b>	<b>MOLTO ALTA</b>
<b>CALORE</b>	<b>MOLTO ALTA</b>
<b>IPOCLORITO</b>	<b>SCARSA</b>

# BSE e vCJD

- Summary of vCJD cases (UK)

Età di esordio (mediana): 26 anni

Età del decesso (mediana): 28,5 anni

Durata della malattia (mediana): 14 mesi

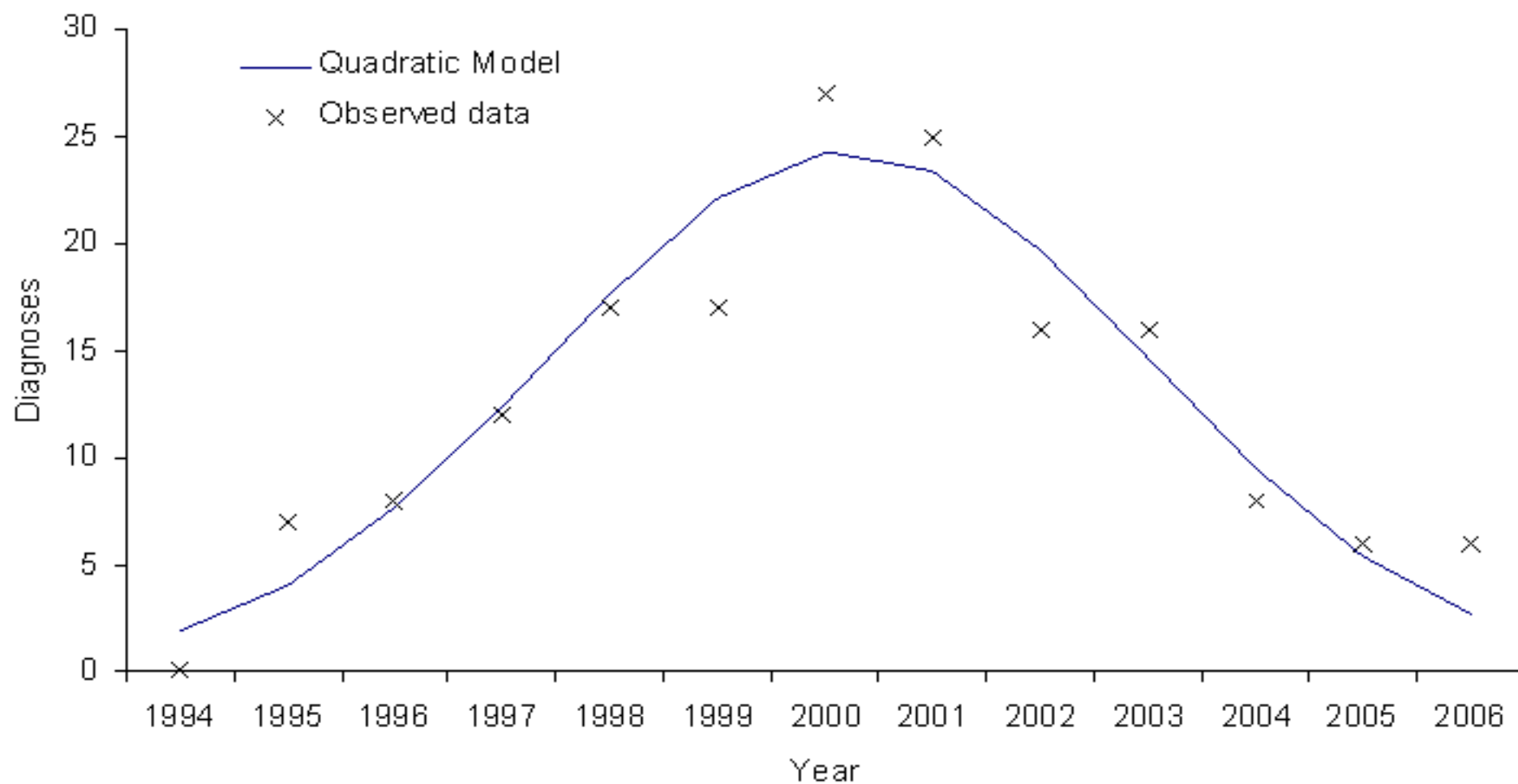
NB: le indagini genetiche dimostrano che tutti i casi indagati (123) mostrano omozigosi per metionina al codon 129 del gene codificante il prione.

• Deaths from definite vCJD (confirmed):	119
• Deaths from probable vCJD (without neuropathological confirmation):	44
• Deaths from probable vCJD (neuropathological confirmation pending):	2
• Number of deaths from definite or probable vCJD:	158
• Number of definite/probable vCJD cases still alive:	7
• Total number of definite or probable vCJD cases (dead and alive):	165

*(Table updated 2 february 2007)*

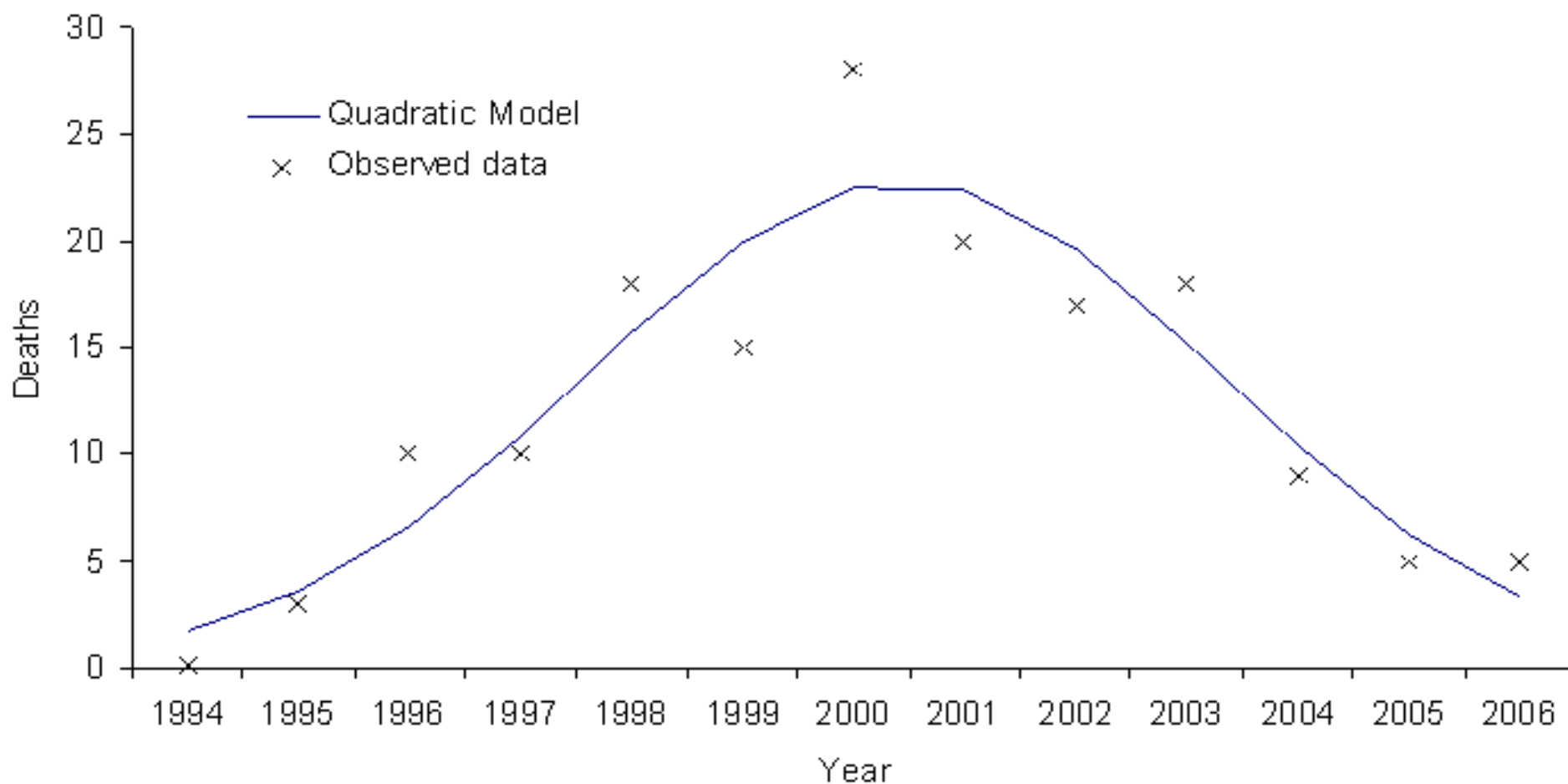
# Diagnosi di vCJD (\*) dati aggiornati al 2-2-2007

Figure 1: Quadratic-exponential model for vCJD diagnoses incidence trend



# Decessi da vCJD (\*) dati aggiornati al 2-2-2007

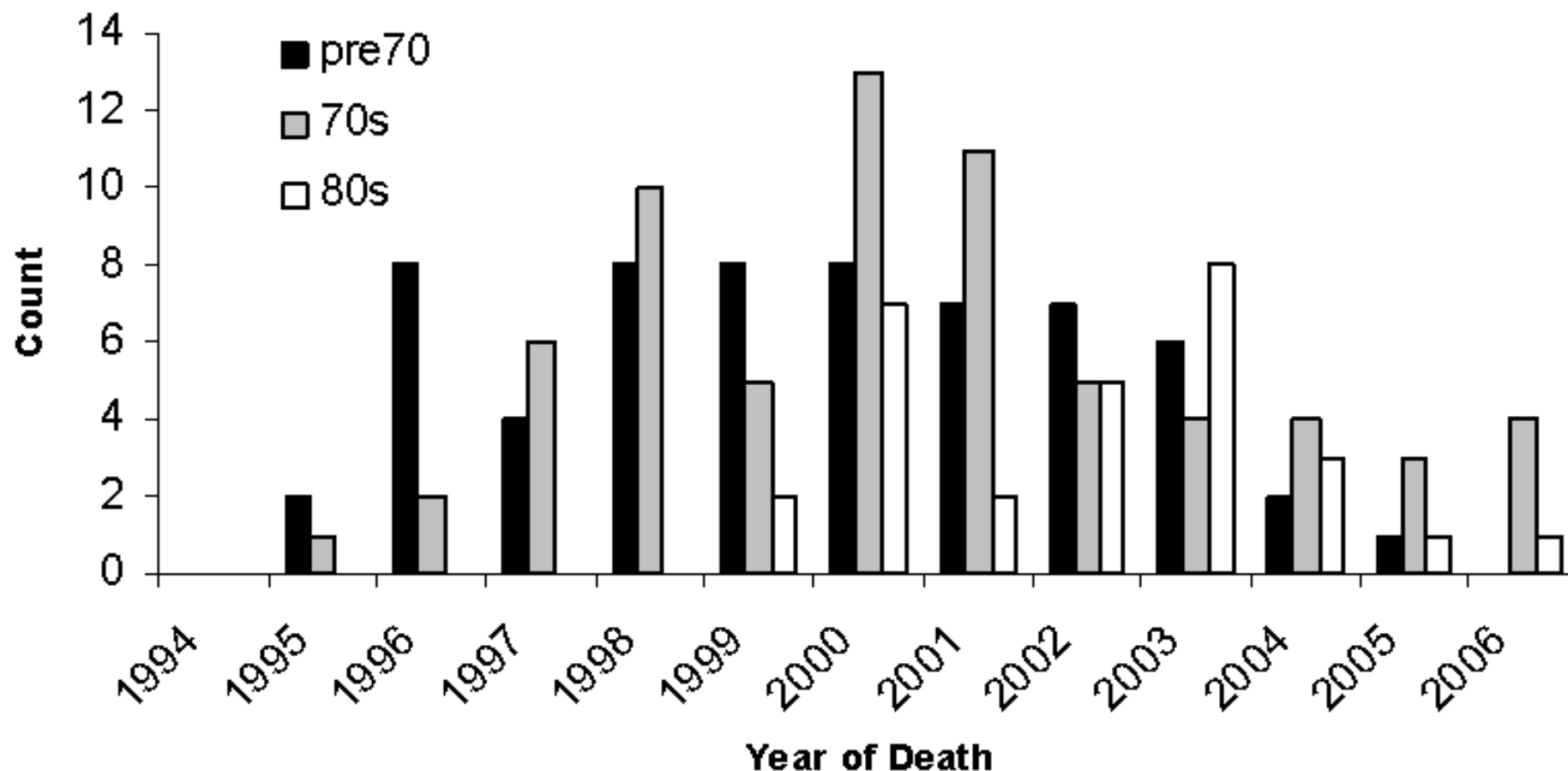
Figure 2: Quadratic-exponential model for vCJD deaths incidence trend



# Decessi da vCJD per anno di nascita

(\*) dati aggiornati al 2-2-2007

Figure3: Deaths by year and birth cohort



## VARIANT CREUTZFELDT-JAKOB DISEASE CURRENT DATA (OCTOBER 2007)

COUNTRY	TOTAL NUMBER OF PRIMARY CASES (NUMBER ALIVE)	TOTAL NUMBER OF SECONDARY CASES: BLOOD TRANSFUSION (NUMBER ALIVE)	CUMULATIVE RESIDENCE IN UK > 6 MONTHS DURING PERIOD 1980-1996
UK	163 (5)	3 (0)	166
France	22 (2)	-	1
Republic of Ireland	4 (1)	-	2
Italy	1 (0)	-	0
USA	3 <sup>†</sup> (0)	-	2
Canada	1 (0)	-	1
Saudi Arabia	1 (1)	-	0
Japan	1* (0)	-	0
Netherlands	2 (0)	-	0
Portugal	2 (1)	-	0
Spain	1 (0)	-	0

<sup>†</sup> the third US patient with vCJD was born and raised in Saudi Arabia and has lived permanently in the United States since late 2005. According to the US case-report, the patient was most likely infected as a child when living in Saudi Arabia.

\*the case from Japan had resided in the UK for 24 days in the period 1980-1996.

# BSE e vCJD

- “There is now statistically significant evidence that following a period of increasing incidence the epidemic has recently declined. The best estimates for when the peak in the underlying incidence occurred are **March 1999** for disease onset (95% CI July 1998 to July 2001) and **December 2000** for deaths (95% CI Jan 2000 to May 2003). **The fact that the epidemic has reached a peak does not exclude the possibility of further peaks in the future.**”

*The UK Creutzfeldt-Jakob Disease Surveillance Unit (11 July 2003)*

- susceptible genotype:

**MM-homozygous at codon 129 of the prion protein gene**

# BSE e vCJD

- **Recenti evidenze:**
- **Analisi su appendici di soggetti sani ha permesso di rilevare la presenza di prioni patologici in un piccolo numero di casi.....**
- **una recente stima ritiene che esistano almeno 4-5migliaia di potenziali futuri pazienti affetti da vCJD in UK.....**

??????????

# BSE e vCJD

## Provocazione del 2003

- Il tasso di crescita dei casi di vCJD è molto inferiore alle previsioni iniziali e non mostra l'andamento esponenziale atteso per una così massiccia esposizione a carne infetta (**mentre la curva osservata nei bovini mostrava una crescita esponenziale tra il 1983 e il 1988 con 350.000 casi nel 1988, picco dell'epidemia-Nature, 1996**)
- Il tasso di crescita sembra meglio rappresentare una patologia rara precedentemente misconosciuta e messa in evidenza dalla maggiore accuratezza nel classificare casi precedentemente non classificati nell'ambito del CJD (N.B. nella prima descrizione della vCJD - *Lancet 1996* - **è degno di nota che i primi 10 casi descritti non sarebbero entrati nei criteri fissati dall'UK Creutzfeldt-Jakob Disease Surveillance Unit! Ovvero non sarebbero stati registrati.....**)

# BSE e vCJD

- **Provvedimenti di prevenzione in ambito trasfusionale:**
- **Esclusione dalla donazione per soggiorni complessivi superiori a 6 mesi nel Regno Unito tra il 1980 e il 1996**
- **Controllo sui casi sospetti di CJD nei donatori (ad oggi 5 segnalazioni)**
- **Leucodeplezione totale (?)**

# BSE e vCJD

- **Provvedimenti di prevenzione in studio**
- Test di screening.....
- Inattivazione dei plasmaderivati (nanofiltrazione, rimozione dei prioni mediante precipitazione in etanolo ecc.ecc.)
- ??????

# BSE e vCJD

- **2004:** 1° segnalazione di possibile trasmissione attraverso le trasfusioni:
- Unità di GRC donata da un paziente deceduto per vCJD 3,5 anni prima dell'esordio clinico della malattia
- Il ricevente si è ammalato di vCJD 6,5 anni dopo aver ricevuto la trasfusione

*(Llewlyn et al. LANCET 2004, 363:417-421)*

# BSE e vCJD

**Ad oggi:** altre **3 segnalazione** di trasmissione attraverso le trasfusioni:

- **2° caso**

- **2004: paziente deceduto 5 anni dopo la trasfusione di CE da donatore che ha sviluppato vCJD 18 mesi dopo la donazione (per altre cause), che a livello autoptico dimostrava il prione nella milza e in un linfonodo cervicale. No prioni nel SNC e assenza di clinica per vCJD. Eterozigote per M al codon 129**

# BSE e vCJD

- **3° caso**

- **paziente con diagnosi di vCJD 6 anni dopo la trasfusione di CE da donatore che ha sviluppato vCJD 20 mesi dopo la donazione.**

- **4° caso**

- **paziente con diagnosi di vCJD 8,5 anni dopo la trasfusione di CE da donatore che ha sviluppato vCJD 17 mesi dopo la donazione.**

- **N.B. nei casi 3 e 4 il donatore era il medesimo**
- **N.B.2 tutti (salvo il 3°, eterozigote) erano omozigoti per metionina al codon 129.....**

# BSE e vCJD

## Aspetti comuni delle infezioni da trasfusione

1. Trasfusioni di CE non leucodepleti tra 1996 e 1999 (ma sull'efficacia della leucodeplezione introdotta in Uk nel 1999 ci sono grandi dubbi....)
2. Non sono note infezioni associate alla trasfusione de altri prodotti labili
3. Non sono note infezioni associate alla trasfusione de plasmaderivati

# BSE e vCJD

**Esistono stime di rischio per la trasmissione della vCJD tramite sangue?**

*Transf Clin Biol 2006;13:320*

*Modello matematico: 900 casi da oggi al 2080*

*Modello "realistico": 250 casi da oggi al 2080*

## **Conclusioni:**

*scenari in cui si è di fronte a una diffusione epidemica sostenuta sono ritenuti altamente improbabili*

## ...e se fosse tutto sbagliato?

- **A 25 nm virion is the likely cause of transmissible spongiform encephalopathies.** (*Proc Natl Acad Sci U S A. 2007*)

The transmissible spongiform encephalopathies (TSEs) such as endemic sheep scrapie, sporadic human Creutzfeldt-Jakob disease (CJD), and epidemic bovine spongiform encephalopathy (BSE) may all be caused by a unique class of "slow" viruses. This concept remains the most parsimonious explanation of the evidence to date, and correctly predicted the spread of the BSE agent to vastly divergent species. **We had repeatedly found approximately 25-nm-diameter virus-like particles in highly infectious brain fractions with little prion protein (PrP), and therefore we searched for similar virus-like particles in situ in infected cell lines with high titers.**

*L. Manuelidis Yale Medical School, New Haven*

Grazie per l'attenzione.....

