

Le nouveau variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob

Dominique Dormont
Service de Neurovirologie, Commissariat à l'Énergie Atomique, Centre de Recherches du Service de Santé des Armées,
Ecole Pratique des Hautes Études, Fontenay-aux-Roses, France

Les travaux de pathologie expérimentale menés depuis plus de 10 ans indiquent que des propriétés biologiques de l'agent de l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB), facteur étiologique du nouveau variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ), sont particulières. Contrairement au tableau classique de la MCJ, l'agent responsable du nouveau variant de MCJ est largement distribué en périphérie chez l'homme, ce qui impose de reconsidérer la sécurité des greffes, des médicaments d'origine humaine et bovine, et de la transfusion.

La maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ) est une maladie neurodégénérative principalement caractérisée par une démence. Elle se présente sous trois formes épidémiologiques : une forme sporadique, majoritaire, touchant les individus des deux sexes de 60 à 65 ans, une forme familiale, dont les cas apparaissent entre 45 et 60 ans et sont tous associés à une mutation dans le gène codant la prion-protéine PrP (*Protease resistant Protein*) (gène *PRNP*) et des formes iatrogéniques. Cette encéphalopathie subaiguë spongiforme transmissible (ESST) est une maladie rare dont l'incidence est de 1 nouveau cas par million d'habitants et par an en moyenne dans tous les pays du monde où elle a été étudiée (1). Comme toutes les ESST, elle se caractérise par la présence d'une spongiose, d'une mort neuronale et d'une gliose majoritairement astrocytaire, ainsi que par l'accumulation d'une protéine de l'hôte, la PrP, sous une forme partiellement résistante aux protéases (PrP-res) (2). Les modifications qui conduisent à l'accumulation de la PrP-res chez le sujet infecté sont de nature post-transcriptionnelle (3). La PrP est une sialoglycoprotéine de 35 kDa comprenant deux sites de N-glycosylation et qui peut donc se présenter sous trois glycoformes différentes (non glycosylée, monoglycosylée, et biglycosylée) (4).

Le nouveau variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (nvMCJ) a été décrit en 1996 en Grande-Bretagne après la constatation de 10 cas atypiques de MCJ chez des sujets de moins de 40 ans, dont neuf étaient âgés de moins de 30 ans (5). Hormis leur jeune âge, tous ces malades se caractérisaient par une clinique particulière à début psychiatrique, une durée d'évolution de la maladie anormalement longue (14 mois en moyenne, contre 6 semaines à 6 mois dans les formes habituelles de la maladie de Creutzfeldt-Jakob) et une neuropathologie pathognomonique. On note, en particulier, la présence de plaques amyloïdes entourées de vacuoles (plaques florides) dont la distribution dans le système nerveux central était étonnamment conservée d'un patient à l'autre ; un fort immunomarquage de la PrP a été identifié dans les zones lésées, et la présence de PrP-res retrouvée en western blot. Par ailleurs, tous ces patients étaient homozygotes Méthionine/Méthionine au codon 129 du gène *PRNP*, et ne présentaient aucun antécédent pouvant faire suspecter une origine iatrogénique ou familiale à leur maladie. De plus, les anomalies électrophysiologiques périodiques fréquemment retrouvées au cours des formes classiques de MCJ ne sont pas observées ; il en est de même pour la détection de la protéine 14-3-3, marqueur non spécifique habituellement retrouvé positif dans les formes sporadiques de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (6). Enfin, des signaux hyperdenses à l'IRM cérébrale ont été décrits dans les zones post-thalamiques et peuvent constituer une aide au diagnostic lorsque la clinique est évocatrice (7,8).

Cette forme de MCJ a rapidement été suspectée d'être la conséquence de l'infection de l'homme par l'agent de l'ESB, compte tenu du fait qu'aucune autre hypothèse étiologique ne pouvait être raisonnablement retenue. À ce jour, 63 cas ont été répertoriés, dont 60 en Grande-Bretagne, 2 en France et 1 en République d'Irlande ((5,9) et R. Will communication ➤

New variant of Creutzfeldt-Jakob disease

Dominique Dormont
Service de Neurovirologie, Commissariat à l'Énergie Atomique, Centre de Recherches du Service de Santé des Armées, Ecole Pratique des Hautes Études, Fontenay-aux-Roses, France

Work on experimental pathology carried out for over 10 years indicates that the biological properties of the BSE agent, responsible for the new variant of Creutzfeldt-Jakob disease (vCJD), are particular. In contrast to the situation observed in the other form of CJD, the distribution of the agent responsible for vCJD is largely peripheral in humans. This requires the safety of transplants, drugs of human or bovine origin, and transfusion to be reconsidered.

Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) is a neurodegenerative disease whose main characteristic is dementia. It has three epidemiological forms: the main one, sporadic, which affects men and women aged 60 to 65 years, the familial form whose cases appear between 45 and 60 years of age and are associated with mutation of the gene encoding the prion protein PrP (*Protease resistant Protein*) (*PRNP* gene), and iatrogenic forms. This transmissible spongiform subacute encephalopathy (TSSE) is a rare disease with an average incidence of one new case per million inhabitants per year in all the countries of the world where it has been studied (1). As with all TSSEs, the disease's neuropathological characteristics are the presence of spongiosis, neuronal death, and gliosis (mainly astrocytosis), and the accumulation of the host-encoded protein, PrP, partly resistant to proteases (PrP-res) (2). Changes that lead to the accumulation of PrP-res in the infected patient are post-transcriptional (3). PrP is a sialoglycoprotein of 35 kDa with two sites of N-glycosylation, which can appear under three different glycoforms (non glycosylated, monoglycosylated, and biglycosylated) (4).

The new variant of Creutzfeldt-Jakob disease (vCJD) was described in Great Britain in 1996 after the occurrence of 10 atypical cases of CJD in patients under 40 year of age, nine of them under 30 (5). All these patients had common points : young age, a special clinical presentation with psychiatric features at onset, an abnormal length in the evolution of the disease (14 months on average compared with 6 weeks to 6 months in classical cases of CJD), and a pathognomonic neuropathology. Particular neuropathological features were amyloid plaques surrounded by vacuoles (florid plaques) whose distribution in the central nervous system was remarkably similar from one patient to another ; a potent PrP immunostaining was identified in the injured areas, and the presence of PrP-res was found by western blot. Moreover, all these patients were homozygous methionine/methionine to codon 129 of *PRNP* gene, and had no medical history to suggest an iatrogenic or familial origin of disease. In addition, no periodical electrophysiological abnormalities were observed, as they are frequently found in the classical forms of CJD. The same observation applies to the detection of protein 14-3-3, a non-specific marker usually found positive in the sporadic forms of CJD (6). Finally, hyperdense signals to cerebral MRI have been described in post-thalamic areas and can be a helpful diagnostic feature in cases with a suggestive clinical picture (7,8).

This form of CJD was quickly suspected to be the consequence of infection in man with the bovine spongiform encephalopathy agent (BSE) as no other aetiological hypothesis could reasonably be considered. To date, 63 cases have been recorded, 60 in Great Britain, two in France, and one in Ireland ((5,9) and R Will, personal communication). All these patients, including non British patients, presented similar clinical pictures to those described initially, and identical ➤

► personnelle). Tous ces patients, y compris les patients non britanniques, présentaient une clinique similaire à celle décrite initialement et des lésions histopathologiques strictement identiques. Il faut noter que les plaques florides n'ont jamais été identifiées dans d'autres ESST humaines, ni même dans d'autres maladies neurodégénératives n'appartenant pas au groupe des maladies à prions.

Les études menées depuis la description du nvMCJ ont permis de conforter l'hypothèse d'une transmission à l'homme de l'agent bovin. Quatre séries de résultats sont à prendre en considération :

1) L'infection expérimentale de macaques par l'agent de l'ESB conduit à l'apparition d'une maladie qui a été mortelle en 36 mois en moyenne, soit plus rapidement que les souches de tremblante inoculées à ce jour. La neuropathologie des animaux malades se caractérise par la présence des mêmes plaques florides typiques du nvMCJ (10) : il existe donc une similitude neuropathologique des conséquences de l'infection du primate par l'agent bovin et de l'infection par l'agent du nvMCJ.

2) Le laboratoire de J. Collinge a montré, après d'autres, que les MCJ pouvaient être différenciées par le profil électrophorétique et le ratio des glycoformes de la PrP-res (11). Trois types sont identifiables, qui correspondraient à des cliniques et à des neuropathologies différentes : ces types 1, 2 et 3 se distinguent par le poids moléculaire apparent de la PrP-res déglycosylée (les types 1, 2 et 3 ont des PrP-res déglycosylées de poids moléculaire de plus en plus faible). Dans ces trois cas, la forme monoglycosylée de la PrP est la forme la plus importante. Le nouveau variant se caractérise quant à lui par une prédominance de la PrP biglycosylée, la PrP-res déglycosylée migrant au niveau de celle du type 3 : ce profil de « type 4 » est caractéristique du nvMCJ et est retrouvé chez les animaux infectés expérimentalement par l'agent de l'ESB, et particulièrement chez le primate (11). Il existe donc, chez les primates, une similitude d'au moins deux des caractéristiques biochimiques de la PrP-res, marqueur spécifique des ESST et peut-être l'agent infectieux lui-même, entre l'ESB et le nvMCJ.

3) Plusieurs souches de prions ont été identifiées dans la tremblante naturelle et dans la MCJ. Cependant, à ce jour, seule une souche d'ESB est caractérisable à partir des encéphales des bovins atteints. D'une façon générale, il est possible de caractériser les souches en réalisant des passages successifs in vivo chez la souris dans des fonds génétiques variés ; à l'issue du 3ème passage, la maladie est « fixée », c'est-à-dire que la durée d'incubation, la durée de la phase clinique, les signes cliniques, les signes neuropathologiques et les zones du SNC où s'accumule la PrP-res ne varieront plus et seront hautement reproductibles d'un animal à l'autre dès lors que la même dose d'agent aura été injectée par la même voie à des animaux de même fond génétique. Cette méthode de typage des propriétés biologiques des souches de prions a été mise au point par les scientifiques britanniques qui l'ont appliquée au nvMCJ, à des formes sporadiques de la MCJ et à l'ESB. Ils ont ainsi montré que les propriétés biologiques de l'agent à l'origine du nouveau variant étaient très distinctes de celles des agents retrouvés dans les autres formes de MCJ, mais quasi superposables à celles de l'agent bovin (12). Il existe donc une similitude des propriétés biologiques de l'agent de l'ESB et de l'agent du nvMCJ.

4) L'introduction du gène de la PrP d'une espèce donnée dans le patrimoine génétique de la souris rend l'animal transgénique hautement susceptible aux souches de prions infectant habituellement l'espèce dont provient le transgène. Ainsi, des souris transgéniques portant le gène de la PrP bovine ont été construites ; ces souris sont hautement sensibles à l'infection par l'agent bovin, l'introduction du gène de la PrP bovine ayant pratiquement « annulé » la barrière d'espèce. Ces animaux transgéniques exprimant la PrP bovine sont aussi extrêmement sensibles à l'agent du nvMCJ, alors qu'elles sont quasi insensibles à l'infection par les agents à l'origine des formes classiques de MCJ (13).

► histopathological injuries. We should stress that florid plaques have never been identified in other human TSEs, nor in other neurodegenerative diseases that do not belong to the prion diseases group.

Studies carried out since the description of vCJD have enabled to reinforce the hypothesis of transmission to man of the bovine agent. Four types of results should be considered :

1) experimental infection of macaques by the BSE agent leads to the onset of a disease that kills within 36 months on average, which is faster than strains of scrapie inoculated to date. The neuropathology of sick animals presents the same florid plaques typical of vCJD (10) : therefore, there is a neuropathological similarity in the consequences of the infection of the primate by the bovine agent and the infection by vCJD agent.

2) John Collinge's laboratory, along with others, has shown that CJD could be differentiated by the electrophoretic profile and by the glycoforms ratio of PrP-res (11). Three types are identifiable, which would represent different clinical pictures and neuropathologies : these types 1, 2, and 3 are distinguished by the apparent molecular weight of unglycosylated PrP-res (types 1, 2, and 3 have PrP-res whose molecular weight is weaker and weaker). In these three cases, the most important form is the monoglycosylated PrP. As for the new variant, it is characterised, firstly, by a predominance of biglycosylated PrP, and secondly, by migration of PrP-res unglycosylated to the level of the type 3: this 'type 4' profile is characteristic of vCJD and is found in animals experimentally infected by the BSE agent, especially primates (11). Consequently, in primates, there is a similarity of at least two of the biochemical characteristics of PrP-res, specific marker of TSE and maybe the infectious agent itself, between BSE and vCJD.

3) Several strains of prions have been identified in natural scrapie and CJD. To date, however, only one BSE strain is identifiable from brains of affected cattle. Generally, it is possible to characterise strains in carrying out successive in vivo passages in mice of various genetic backgrounds ; at the end of the third passage, the strain is 'fixed,' which means that the incubation period, the clinical phase length, clinical signs, neuropathological signs, and areas of CNS where PrP-res accumulates will vary no longer and will be highly reproducible from one animal to another if the same dose of agent is in the same way into animals with the same genetic background. This method for typing biological properties of prion strains was set up by British scientists who applied it to vCJD, to sporadic forms of CJD, and to BSE. In this way, they have shown that biological properties of the agent responsible for the new variant were very distinct from those of agents found in the other forms of CJD but almost identical with those of the bovine agent (12). Therefore, the biological properties of the BSE agent and the vCJD agent are similar.

4) The introduction of PrP gene of a given species in the genetic inheritance of the mouse makes the transgenic animal highly susceptible to strains of prions usually infecting the species providing the transgene. In this way, transgenic mice carrying PrP bovine gene have been created ; these mice are highly sensitive to the infection by the bovine agent, as the introduction of the PrP bovine gene almost 'cancels' the species barrier. Although these transgenic animals are also extremely sensitive to the vCJD agent, they are insensitive to infection by agents responsible for classical forms of CJD (13).

It must be stressed that all the attempts to attribute another aetiological factor to the new variant did not withstand the analysis. Consequently, the medical community now admits that the BSE agent can infect humans.

Il faut noter que toutes les tentatives d'assigner un autre facteur étiologique au nouveau variant n'ont pas résisté à l'analyse. En conséquence, la communauté médicale admet aujourd'hui que l'agent de l'encéphalopathie bovine spongiforme est capable d'infecter l'homme.

Les travaux de pathologie expérimentale menés depuis plus de 10 ans, majoritairement au Royaume-Uni, indiquent que des propriétés biologiques de l'agent de l'ESB sont particulières. Or, l'une des caractéristiques principales des ESST est que la distribution de l'infectiosité dépend de l'espèce du receveur et de la souche d'ATNC (agent transmissible non conventionnel) considérée ; on ne peut donc pas « prédire » la distribution de l'infectiosité de l'agent bovin chez l'homme avec les données obtenues chez la souris ou chez les bovins. L'hypothèse d'une distribution de l'infectiosité différente dans le cas du nouveau variant de celle habituellement rencontrée dans la MCJ devait donc être faite. À ce jour, certains éléments indiquent qu'effectivement la distribution de l'infectiosité est différente dans le nouveau variant de la MCJ de ce qu'elle est dans les autres formes de la maladie : ainsi, alors que la protéine pathologique PrP^{res} est identifiable quasi-exclusivement dans le SNC lors de la phase clinique des formes habituelles de la MCJ, elle est aussi toujours identifiable dans les formations lymphoïdes (ganglions, rate, amygdales) chez les 15 patients atteints de nvMCJ évalués à ce jour ((13) et J. Ironside, communication personnelle). L'agent bovin chez l'homme est donc largement distribué en périphérie, ce qui impose de reconsidérer la sécurité des greffes, des médicaments d'origine humaine et bovine, de la transfusion et de réévaluer les règles de la sécurité hospitalière ; à ce titre, les résultats des expériences en cours aux États-Unis, au Royaume-Uni et en France visant à identifier la présence ou l'absence d'infectiosité associée au sang seront critiques. ■

References

1. Alperovitch A, Brown P, Weber T, Pocchiari M, Hofman A, Will R. Incidence of Creutzfeldt-Jakob disease in Europe in 1993. *Lancet* 1994; **343**: 918.
2. Hauw JJ, Naccache PY, Seilhean D, Camilleri S, Mokhtari K, Duyckaerts C. Neuropathologie des agents infectieux non conventionnels ou prions. *Pathol Biol (Paris)* 1995; **43**: 43-52.
3. Bolton DC, Bendheim PE. A modified host protein model of scrapie. In: Ciba Foundation Symposium. *Novel infectious agents and the central nervous system*. Chichester: John Wiley, 1988: 135, 164-77.
4. Laplanche JL, Beaudry P, Ripoll L, Launay JM. Protéine Prion: structure, fonctions, et polymorphismes associés aux encéphalopathies spongiformes humaines. *Pathol Biol (Paris)* 1995; **43**: 104-13.
5. Will RG, Ironside JW, Zeidler M, Cousens SN, Estibeiro K, Alperovitch A, et al. A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet* 1996; **347**: 921-5.
6. Hsich G, Kennedy K, Gibbs CJ, Lee KH, Harrington MG. The 14-3-3 brain protein in cerebrospinal fluid as a marker for transmissible spongiform encephalopathies. *N Engl J Med* 1996; **335**: 924-30.
7. Zeidler M, Johnstone EC, Bamber RWK, Dickens CM, Fisher CJ, Francis AF, et al. New variant Creutzfeldt-Jakob disease: psychiatric features. *Lancet* 1997; **350**: 908-10.
8. Zeidler M, Stewart GE, Barraclough CR, Batema, DE, Bates D, Burn DJ, et al. New variant Creutzfeldt-Jakob disease: neurological features and diagnostic tests. *Lancet* 1997; **350**: 903-7.
9. Chazot G, Broussole E, Blattier T, Aguzzi A, Kopp N. New variant of Creutzfeldt-Jakob disease in a 26-year old French man. *Lancet* 1996; **347**: 1181.
10. Lasmézas CI, Deslys JP, Robain O, Demalmay R, Adjou KT, Lamoury F, et al. BSE transmission to macaques. *Nature* 1996; **381**: 743-4.
11. Collinge J, Sidle KCL, Meads J, Ironside J, Hill AF. Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of 'new variant' CJD. *Nature* 1996; **383**: 685-90.
12. Bruce ME, Will RG, Ironside JW, McConnell I, Drummond D, Suttie A, et al. Transmissions to mice indicate that 'new variant' CJD is caused by the BSE agent. *Nature* 1997; **389**: 498-501.
13. Scott M, Will R, Ironside J, Nguyen HOB, Tremblay P, DeArmond S, et al. Compelling transgenic evidence for transmission of bovine spongiform encephalopathy prions to humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; **96**: 15137-42.

Work on experimental pathology carried out for over 10 years, mainly in the UK, indicates that the BSE agent has particular biological properties. One of the main characteristics of TSSE is that the distribution of the infectivity depends on the recipient's species and on the TSSE agent strain considered ; therefore we cannot 'foresee' distribution of infectivity of the bovine agent in man with the data obtained in mice or in cattle. The hypothesis of a different infectivity distribution in the case of the new variant from the one usually observed in CJD should be raised. To date, some elements actually indicate that the infectivity distribution is different in the vCJD from the one seen in the other forms of the disease: although the pathological protein PrP^{res} is identifiable almost exclusively in the CNS in the course of the clinical phase of the usual forms of CJD, it is still identifiable in lymphoid formations (lymph nodes, spleen, tonsils) in the 15 patients affected by vCJD assessed to date ((13) and J Ironside, personal communication). Thus, the bovine agent distribution in humans is largely peripheral. The safety of transplants, drugs of human or bovine origin, transfusion, and regulations on the safety of hospitals need to be reassessed. On this issue, the results of continuing experiments in the United States, the UK, and France that aim to identify the presence or absence of infectivity associated with blood will be crucial. ■

RAPPORT DE SURVEILLANCE

Situation épidémiologique de l'ESB en France – point sur les cas NAIF

- C. Ducrot¹, D. Calavas², T. Baron², A.E. Agrech³, M. Coudert², M. Savey⁴
1. Institut national de la recherche agronomique (INRA), Saint Genès Champanelle, France
 2. Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA), Lyon, France
 3. Brigade nationale d'enquêtes vétérinaires et sanitaires (BNEVS), Castanet-Tolosan, France
 4. Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA), Maisons-Alfort, France

En dépit des mesures de contrôle de la diffusion de l'Encéphalopathie Spongiforme Bovine (ESB) prises depuis 1990, le taux d'incidence des cas d'ESB notifiés en France par le Réseau d'épidémiosurveillance de l'ESB a augmenté au cours des dernières années. Au 1^{er} juillet 2000, 103 cas d'ESB avaient été dépistés en France dont 74 NAIF (Nés Après l'Interdiction des Farines). Cette augmentation traduit non seulement l'évolution de l'incidence réelle de la maladie, mais également l'évolution de la surveillance de la maladie.

En 1988, était mis en évidence le rôle des farines de viande et d'os (FVO) dans la transmission de l'Encéphalopathie Spongiforme Bovine (ESB) (1). Ces aliments pour animaux sont préparés à partir de sous-produits animaux recueillis dans les abattoirs et les équarrissages, et une modification dans leur procédé de fabrication (abaissement de la température et changement du procédé d'extraction des graisses), entraînant un défaut d'inactivation de l'agent pathogène, a été associée à l'apparition de l'ESB. ➤

SURVEILLANCE REPORT

Epidemiological status of BSE in France – update on 'born after the ban' cases

- C. Ducrot¹, D. Calavas², T. Baron², A.E. Agrech³, M. Coudert², M. Savey⁴
1. National Institute of Agronomic Research (INRA), Saint Genès Champanelle, France
 2. French Agency for the Food Sanitary Safety (AFSSA), Lyons, France
 3. National Brigade for Veterinary and Health Inquiries (BNEVS), Castanet-Tolosan, France
 4. French Agency for the Food Sanitary Safety (AFSSA), Maisons-Alfort, France

Despite measures taken in France since 1990 to control the spread of bovine spongiform encephalopathy (BSE), the incidence of BSE cases notified in France by the BSE Epidemiological Surveillance Network has been rising in recent years. By 1 July 2000, 103 cases of BSE had been detected, including 74 'born after the ban' (BAB) cases. This increase expresses the changes over time in both the real incidence of the disease and in disease surveillance.

In 1988, the role of meat and bone meal (MBM) in the transmission of bovine spongiform encephalopathy (BSE) was shown (1). These animal foodstuffs are prepared with animal by-products from the slaughterhouse and rendering plants. Changes to the rendering process (lowering of the temperature and change of the fat extraction process) of MBM led to a failure of an infectious agent inactivation and had been therefore associated with BSE. The European Union (EU) had become aware of the risk that the British epidemic might spread ➤