

Studijní materiál – speciál č. **146**
Srpen 2012

Závěrečné zhodnocení iatrogenního přenosu nemoci Creutzfeldta-Jakoba

(Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob Disease, Final Assessment)

Brown P., Brandel J-Ph., Sato T., Nakanuta Y., MacKenzie J., Will R.G. et al.
Emerging Infectious Diseases, Vol. 18, No. 6., June 2012, pp. 901 – 907
Volně přeložil a zkrátil MUDr. Vladimír Plesník

Éra iatrogenních případů nemoci Creutzfeldta-Jakoba (**CJD**) téměř skončila, dnes se objevují jen ojedinělá onemocnění s výjimečně dlouhou inkubací. Hlavními cestami přenosu CJD jsou kontaminovaný růstový hormon (226 příp.) a štěpy dura mater (228 příp.), získané od zemřelých lidí s nezjištěnou infekcí CJD. U malého počtu dalších případů CJD došlo k přenosu kontaminovanými neurochirurgickými nástroji, štěpy oční rohovky, aplikací gonadotropního hormonu, nebo při podání krve a krevních produktů. Nebyla zjištěna žádná nová cesta přenosu a současná praxe, založená na kombinaci lepšího zjišťování potenciálně infikovaných osob a nových postupů dezinfekce choulostivých chirurgických nástrojů a biologických produktů, stále snižuje riziko iatrogenního přenosu CJD až do ověření spolehlivosti skrínigového krevního testu k odhalení preklinického stadia lidské infekce.

Asi první případ, který mohl zahájit epidemii iatrogenních onemocnění CJD (**iCJD**), byl hlášen roku 1974. Šlo o pacienta, který dostal transplantát rohovky infikované mrtvolou. Později byly zjištěny další cesty přenosu : elektrodami při stereostatickém EEG, neurochirurgickými nástroji, štěpy dura mater a hypofýzou z kadáverů, nejnověji také přenos nové varianty CJD (**vCJD**) krevními produkty. Přehled iCJD byl naposled uveřejněn roku 2006. Dnes, téměř po 40 letech studia, je dokončena chronologie iCJD a jsou definovány jejich hlavní znaky. Cílem této práce je uvedení získaných poznatků spolu se stručným komentářem o faktorech, které určují riziko nákazy. Dále uvedení některých možností předvídání a prevence tohoto rizika.

Daleko nejčastěji došlo k iCJD po aplikaci hormonů hypofýzy a štěpů dura mater, získaných z lidských mrtvol. Jinou větší skupinu případů tvoří nová varianta CJD (**vCJD**) vzniklá po požití masných produktů, kontaminovaných původcem bovinní spongiformní encefalopatie (**BSE**). Křivka incidence iCJD po podání hormonů hypofýzy je téměř stejná jako křivka incidence iCJD po aplikaci dura mater. V Anglii (UK) obě dosahují vrcholu ve druhé polovině 90. let minulého století, krátce před ostřejším vrcholem vCJD na přelomu 20. a 21. století. Incidence CJD v jiných zemích pro pozdější výskyt BSE v nich vrcholila později (2004).

Inkubační doba v délce několika let a desetiletí představuje veliký problém zvláště pro lékaře oboru ochrany veřejného zdraví, jejichž pokyny mohou omezit počet nových případů. Neuplatní se však v prevenci vzniku nemoci u nakažených osob, které jsou v preklinické fázi infekce. Je dobré si uvědomit, že včasné rozpoznání cest přenosu iCJD je především zásluha několika bystrých neurologů, neurochirurgů a překvapivě i dětských endokrinologů, kteří se zabývali málo pravděpodobnou a nepopulární diagnózou CJD u příjemců růstového hormonu. Pravda, tyto souvislosti byly zjištěny díky poměrně krátkým intervalům mezi rizikovým výkonem a začátkem CJD. Velkým štěstím bylo z hlediska včasné dg zjištění souvislosti aplikace štěpu dura mater se začátkem prvních projevů CJD po 19měsíčním intervalu od operace. To je nejkratší inkubace iCJD.

Lidský růstový hormon

V současnosti je ve světě známo 226 případů CJD po podání růstového hormonu. Většina je ve Francii (119 případů na 1880 příjemců, attack rate 6,3 %), v Anglii (65 případů na 1800 příjemců, AR 3,6 %) a v USA (29 případů na 7700 příjemců, AR 0,4 %).

Epidemiologické šetření ve Francii odhalilo, že všech 119 případů vzniklo v kohortě 1170 pacientů, kteří byli léčeni během 20 měsíců, od prosince 1983 do července 1985, kdy pravděpodobně došlo k významné kontaminaci preparátu následkem chyb při výběru a zpracování materiálu. V této francouzské rizikové kohortě stoupl AR na 10,2 %. Po roce 2008 nebyl zjištěn žádný další případ. V Británii nepatří tyto případy iCJD do zřetelné kohorty, objevují se stále v počtu cca 2 případy za rok (v roce 2011 jen 1 případ). V USA se neobjevil žádný případ mezi pacienty, u nichž byla terapie zahájena po roce 1977. V té době byla do purifikačních postupů zařazena vysoce selektivní chromatografie. Po roce 2003 byly zjištěny jen dva případy, jeden roku 2007, druhý roku 2009. Před rokem 1977 dostalo v USA růstový hormon asi 2700 pacientů, čili AR v USA v této rizikové kohortě dosáhl 1,1 %.

V řadě zemí byl studován polymorfismus methioninu/valinu ve 129. kodonu genu *PRNP* u osob majících a nemajících CJD. Výsledky nejsou jednoznačné. Je však zřejmé, že M aléla podstatně ovlivňuje vnímavost ke sporadické i iatrogení CJD. Následkem toho se osoby s homozygotním genotypem MM mnohem častěji nalézají u obou forem CJD. Jedinou výjimkou je situace u příjemců růstového hormonu v Anglii, což vedlo ke spekulaci, že u nich došlo k infekci jiným kmenem patogena. Je také jasné, že u osob s heterozygotním genotypem je delší inkubace než u osob s homozygotním genotypem. To platí hlavně ve Francii. Bez ohledu na tyto statistické výsledky je třeba uvést, že u několika pacientů s MM homozygotním genotypem byla inkubace delší než 30 let, včetně nedávno zjištěné CJD s inkubací 42 let, což je současný světový rekord pro jakoukoliv iatrogení nemoc.

Inkubační doba pro všechny nemocné (nejen ty, u nichž byl zjišťován 129. kodon genotypu) se pohybovala od 5 do 42 let (průměrně 17 let). Byla stanovena podle intervalu od polovičního trvání vždy několikaleté terapie do začátku příznaků CJD. Dobu skutečného začátku infekce není možné určit. Průměrná inkubace u nemocných v USA a na Novém Zélandu, kteří dostali hormon připravovaný v USA, byla 22 a 26 let, v Anglii 20 let a ve Francii 13 let. Na rozdílech inkubace se asi nejvíce podílela odlišná velikost infekční dávky, kterou dostali pacienti v různých státech. Klinický obraz všech pacientů se vyznačoval tím, že při iCJD, na rozdíl od sporadické CJD, nikdy nebyly projevy demence. Pokud se přece jen objevila, byla až na konci nemoci.

Dura mater

Počet případů iCJD po podání štěpu tvrdé pleny mozkové (dále jen dura mater – **DM**) je ve světě 228. Další se stále objevují na různých místech, posledně roku 2011 v Rakousku, Jižní Koreji a v Nizozemí. Zatím co farmaceutický průmysl (na rozdíl od laboratoří sponzorovaných státem) vychází z aféry s růstovým hormonem téměř bez poskvrny – po aplikaci průmyslově připraveného hormonu byl zjištěn jen 1 případ iCJD - nelze totéž říci o privátním sektoru, dodávajícím štěpy DM. Téměř všechny infekce po aplikaci DM vznikly po podání štěpů od německého výrobce B. Braun Melsungen AG. Ten je posílal do celého světa, takže incidence CJD více méně odpovídala počtu štěpů dodaných touto firmou. Odhadem mohlo být v Japonsku každý rok užito až 20.000 štěpů a 142 případů iCJD v tomto státě tvoří 2/3 z celkového počtu případů. Přesto celkový attack rate u ohrožených japonských pacientů je <0,03 %. Inkubační doba iCJD u příjemců DM z celého světa se pohybuje od 1,3 do 30 roků (Ø 12 let). S výjimkou Japonska byly klinické a neuropatologické symptomy podobné jako u případů sporadické CJD. V Japonsku měla asi třetina případů netypický průběh (pomalá progresse, necharakteristické nálezy na EEG, ukládání plaků a atypická molekulární stopa prionového proteinu ve western blotu). Vyvolává to představu o možné existenci dvou odlišných kmenů infekčního agens.

Posouzení významu 129. kodonu genotypu je komplikované, protože Japonci, mezi nimiž je většina zjištěných případů CJD po aplikaci DM, mají většinou (>90 %) M alélu, která dominuje jak u sporadické formy CJD, tak u případů po podání DM. U nejaponských případů se distribuce genotypů zhruba podobala distribuci u sporadické CJD. Podobně jako u CJD po aplikaci růstového hormonu byla inkubace u osob heterozygotními genotypy o něco delší než u homozygotů.

Současná preventivní opatření

Nejlepší způsob ochrany před sekundární iatrogenní infekcí je obvykle zabránění primární infekci. Když ale chybí test ke zjištění nakažené osoby s asymptomatickým průběhem nákazy nelze zcela eliminovat riziko přenosu

infekčního agens mezi dárce a příjemcem lidských tkání. Musíme proto užít (1) jen málo spolehlivou identifikaci osob, majících vyšší riziko vzniku CJD než jiní a vyřadit je z dárcovství tkání a (2) začlenit do sterilizace operačních nástrojů i přípravy tkání a tekutin pro transplantaci postupy redukující priony.

Původně patřily do skupiny vysoce rizikových dárců osoby, které byly exponovány materiálům s možným obsahem původce iatrogenní nemoci. Byli to příjemci štěpů DM, nebo lidského růstového hormonu, získávaných od mrtvol. Když se začaly objevovat případy nové varianty CJD (vCJD) byla restrikce odběru těchto materiálů rozšířena na osoby, které pobývaly v oblastech s častým výskytem CJD – ve Spojeném království a částečně i v Evropě. Embargo bylo uvaleno také na dovoz biologických produktů z těchto oblastí. Tato dovozní a vývozní omezení platí dosud. S ohledem na téměř úplné vymizení těchto možností přenosu iCJD je třeba uvážit, zda jsou tyto zákazy ještě potřebné.

Na druhé straně však možnost iatrogenní infekce po transferu tkání nebo tekutin od osob, které získaly prionovou nemoc od zvířat, ještě existuje. Ústup epidemií bovinní spongiformní encefalopatie a vCJD je nepochybný, ale některé osoby mohou mít dlouhou inkubaci vCJD a stále ohrožují Anglii. Nečekané možné riziko představují dvě další zoonózy: scrapie a chronické chátrání (chronic wasting disease – **CWD**) vysoké zvěře. I když produkty z ovčí infikovaných skrejpí jsou konzumovány už dosti dlouho (stovky let) považují se za neškodné pro lidi. Totéž však nelze říci o atypických kmenech skrejpí, které začínají vytlačovat typické kmene s nimiž dosud nemáme dost zkušeností s jejich patogenitou pro lidi. Stejně tak nemůžeme s jistotou tvrdit, že CWD není pro lidi patogenní. Stále se šíří po USA a Kanadě, takže je možné, že se v budoucnosti bude vyskytovat na celém území. Jeden lovec ve státě New York již vystavil skupinu osob nežádoucímu riziku nákazy tím, že jim daroval na hostinu uloveného jelena, u kterého byla pak zjištěna CWD. Pravděpodobně nepůjde o ojedinělou situaci.

Budoucí možnosti prevence

Problematika snižování rizika infekce pomocí inaktivace prionů je stále v popředí. Hledají se nové preparáty a nové inaktivační postupy. Prokazatelně účinná je laboratorní metoda sterilizace prionů (hodinová expozice buď neředěnému roztoku chlornanu vápenatého nebo normálnímu roztoku louhu sodného, následovaná 20minutovým autoklávováním při 3 atmosférách). Není však použitelná u choulostivých nástrojů a zvláště u živých tkání. Překvapující odolnost *dura mater* na působení 0,1 N roztoku sodného louhu a odolnost růstového hormonu vůči působení 6 M urey dříve umožňovaly využít této rezistence před jejich aplikací. Později byla DM nahrazena jinou či syntetickou tkání a naturální růstový hormon rekombinantním hormonem. Ke snížení nakažlivosti krve, krevních produktů a jiných tekutin lze využít nanofiltrace a látek, které se vážou na priony. Tyto postupy mohou být také vhodné pro jiné biologické preparáty, například vakcíny a buněčné linie, které mohou být

infikované. Dekontaminace choulostivých nástrojů, jako jsou endoskopy a elektrody, je stále problematická. Nové, šetrnější postupy využívají alkalické čisticí roztoky, fenol a mlhu peroxidu vodíku. Ukázalo se, že nástroje nepoškozují a vedou k vysoké, i když někdy neúplné inaktivaci prionů.

Současné zdokonalování průkazu atypického prionového proteinu dává největší naděje pro objev citlivého a v praxi použitelného testu k detekci prionů. Je však nutné test pečlivě ověřit při vyšetřování neoznačených vzorků plasmy, získaných jak od nemocných CJD, tak od infikovaných osob v předklinické fázi nákazy. Možná, že bude třeba k ověření testu užít i zvířata infikovaná skrejpí, neboť vzorky vhodné k vyšetření lze získat jen od asymptomatických nosičů mutací vyvolávajících CJD. Sehnat a vyšetřit dostatečně velký počet takových vzorků by trvalo velmi dlouho.

Celkový počet dvou hlavních forem iCJD za posledních 40 let je překvapivě malý (226 případů po růstovém hormonu a 228 případů po podání štěpu DM). Pravděpodobně se v několika dalších letech příliš nezmění ani po manifestaci několika případů s velmi dlouhou inkubací. K minimalizaci rizika přenosu potenciálně iatrogenní nemoci do doby, než bude pro lidi k dispozici praktický skríníngový test k průkazu inaparentní fáze infekce, je třeba využívat jak uvedených omezení při volbě dárců krve, tak postupů snižujících kontaminaci tkání, tekutin a nástrojů.

28 citací, časopis je uložen na Klinice infekčních nemocí v Ostravě-Porubě.

Poznámky překladatele :

Je to sice náhodné, ale i příznačné, že jeden z posledních studijních materiálů je věnován dosud stále žhavé novince – prionovým onemocněním. Iatrogennímu přenosu prionů zatím nelze vždy spolehlivě zabránit. V SMS 140 je zpráva o prionové infekciozitě moče experimentálně infikovaných zvířat a o testování přítomnosti prionů v moči pacientů se sporadickým typem CJD. Výsledky naštěstí svědčí o žádném, nebo jen o velmi malém riziku přenosu infekčního proteinu preparáty k jejichž přípravě se užívá lidská moč, nebo při sběru, manipulaci a likvidaci moče těchto pacientů.

Trvají také diskuze o tom, co je prion a jakou má u lidí a zvířat roli. Doc. MUDr. Jiřího Beneš, CSc. zveřejnil v 6. čísle 2005 časopisu Klinická mikrobiologie a infekční lékařství článek „Patří priony mezi infekční agens?“ V něm nesouhlasil se zařazením prionových chorob mezi infekční nemoci i když jsou nakažlivé, mohou se přenést z jednoho člověka (nebo zvířete) na druhého, je možný i mezidruhový přenos. Domnívá se, že infekční agens musí být živé o čemž u prionů pochybuje. Píše: „Viry mají schopnost určitého vlastního metabolismu, byť závislého na metabolismu hostitelské buňky, a také mají nepopíratelně schopnost se za vhodných okolností rozmnožovat. V tomto ohledu tedy živé jsou. Naproti tomu priony nemají žádný metabolismus, který by vyúsťoval v syntézu nových makromolekul. Prionové choroby jsou způsobeny

pouhou změnou konfigurace jednoho glykoproteinu. Patologicky změněná bílkovina se začne v zápětí chovat jako matrice, podle níž se začne měnit prostorové uspořádání molekul tohoto typu v sousedství. Tak vzniká řetězová reakce. Celý tento děj probíhá samovolně... Nejspíše je možné jej přirovnat k autokatalytické chemické reakci“. Mezi dalšími důvody, pro které nepovažuje priony za infekční agens, uvádí, že je tvoří jediná molekula, neobsahující žádnou nukleovou kyselinu, nedochází k žádnému růstu, tvorbě či syntéze, nemají metabolismus, nespotřebovávají energii, mohou vzniknout spontánně, kontinuita jejich existence není nutná, ani nevyvolávají zjistitelnou imunitní reakci.

Svůj článek doc. Beneš ukončil takto: „Domnívám se, že prionové choroby nejsou infekce, protože se nejedná o nemoc makroorganismu vyvolanou mikroorganismem, a neměly by tak být nazývány. Podobně priony by neměly být označovány jako infekční nebo patogenní agens (agens je živý původce nemoci), a také by neměly být začleňovány do biologické taxonomie. Je ovšem pravda, že potenciální nakažlivost prionových chorob má velký praktický význam. Z tohoto hlediska je jejich **přirazení** k infekčním nemocím (spíše než mezi ně) pochopitelné. Kdybychom chtěli být důsledně logičtí, museli bychom odlišovat nemoci infekční od nemocí přenosných (nakažlivých, sdělných, transmisivních). Infekční nemoci jsou definovány svou patogenezi, přenosné nemoci svou schopností šíření. Jak je vidět, není to totéž“.

Dovolil jsem si připodotknout, že ještě důsledně logičtější by bylo rozlišovat nemoci infekční, čili nakažlivé, od nemocí přenosných, sdělných či transmisivních. Přídavné jméno „nakažlivý“ je přece odvozeno od substantiva „nákaza“. Definice říká, že nákaza je proces, při němž původce-agens vniká do tkání, udržuje a replikuje se v nich a vyvolává imunitní reakce napadeného hostitele. Doc. Beneš dokumentuje, že prionové nemoci nepatří mezi nakažlivé, ale jsou přenosné, sdělné či transmisivní. Nejde o slovní hříčky, dosah jeho úvah je mnohem hlubší.

Přemýšlím, proč se „patologicky změněná bílkovina se začne v zápětí chovat jako matrice, podle níž se začne měnit prostorové uspořádání molekul tohoto typu v sousedství“ ? Změny struktury molekuly bílkovin přece nejsou vzácností. Proč se některá jiná patologicky změněná bílkovina nechová obdobně, ne-li stejně ?

Nedávno Schonberger Lawrence B. a Schonberger Robert B., pracovníci CDC v Atlantě , nebo Lékařské fakulty univerzity v Yale, upozornili na nepřesnost, když se priony popisují jako neinfekční agens. Nositel Nobelovy ceny, Stanley Prusiner, užil roku 1982 názvu „prion“ k popisu nového infekčního agens, vyvolávajícího scrapie, transmisivní neurodegenerativní nemoc ovcí a koz. Navrhl tento název aby zdůraznil, že agens je „malá proteinová infekční částice“, rezistentní vůči postupům, které poškozují nukleové kyseliny. Ve své hlavní publikaci shrnul výsledky pokusných prací, které dokazovaly, že molekulární vlastnosti tohoto infekčního agens se liší od vlastností jiných infekčních agens, včetně virů, viroidů a plastidů. Navrhl název

„prion“ aby nahradil jiné používané termíny, jako „nekonvenční virus“, nebo „zvláštní, pomalé, virům podobné agens“.

Ačkoli Prusiner uznával, že nelze vyloučit přítomnost malé nukleové kyseliny v prionu, ani po třech letech nebylo toto prokázáno. Odborníci nyní stále častěji zastávají názor, že priony jsou třídou odlišně uspořádaných, bílkovinných infekčních agens, vyvolávajících některé formy přenosných spongiformních encefalopatií lidí a zvířat. Postupně jsou definovány jejich typické vlastnosti. Mezi ně patří aspoň částečná rezistence vůči proteáze, nerozpustnost a přenosnost. Pojem prion obvykle označuje přirozeně vzniklé, kompletní transmisivní částice bílkoviny, nebo jejich transmisivní, proteáze odolné oligomerní jádro, skládající se z fragmentů proteinu o molekulární váze okolo 27-30 kDa.

Aby terminologie byla ještě zmatenější začali výzkumníci prionů označovat normální, nepatogenní uspořádání prionů jako „buněčné prionové proteiny“. Při změně tohoto normálního buněčného prionu na proteiny patogenního prionu, má transmisivní isoforma proteinu spíše podobu na sobě poskládaných vrstev, než normální helikální strukturu a nevyvolává imunitní reakci. (Emerging Infectious Diseases, Vol. 18, No. 6, June 2012, s. 1030-1).

Na závěrečné hodnocení iatrogenních i ostatních prionových nemocí je asi ještě brzo.