

## Guide relatif au panel d'analyse du liquide céphalorachidien (LCR) pour le diagnostic de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ)

### Préambule

Le présent guide fournit une courte description des épreuves du panel d'analyse et des recommandations pour l'interprétation des résultats. Pour de plus amples renseignements, veuillez communiquer avec la Section des maladies à prions au 204-789-6078 ou à l'adresse [cjd@phac-aspc.gc.ca](mailto:cjd@phac-aspc.gc.ca).

### Contexte

Les encéphalopathies subaiguës, dont fait partie la maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ), constituent un vaste groupe hétérogène de maladies rares inévitablement mortelles, également connues sous le nom de maladies à prions. Elles se manifestent le plus souvent chez l'être humain sous forme sporadique, mais elles peuvent également avoir une origine génétique ou infectieuse. Comme la plupart des maladies neurodégénératives, les maladies à prions sont causées par des protéines pathogènes mal repliées. Dans les maladies à prions, l'isoforme mal repliée (PrPd) de la protéine prion (PrPc)<sup>1</sup> de l'hôte est l'agent causal. Cette particularité biologique rend inefficaces les technologies traditionnelles comme la PCR et la sérologie, qui sont couramment utilisées pour la détection directe et spécifique des agents infectieux. Par conséquent, le diagnostic ante mortem de la MCJ repose sur la présentation clinique, l'examen neurologique et des examens complémentaires, tels que l'IRM du cerveau et l'analyse du liquide céphalorachidien (LCR) à la recherche d'une élévation des marqueurs protéiques indirects. Les marqueurs les plus couramment utilisés sont la protéine 14-3-3 $\gamma$ <sup>2</sup> et la protéine tau totale associée aux microtubules (t-tau)<sup>3</sup>.

Une nouvelle épreuve, appelée conversion provoquée par tremblement en temps réel (RT-QuIC), a démontré comment la protéine pathogène (PrPd) pourrait être détectée plus directement<sup>4</sup>. Afin de permettre la tenue d'essais cliniques rigoureux, la Section des maladies à prions a adapté l'épreuve RT-QuIC à une utilisation diagnostique. La version adaptée de l'épreuve s'appelle conversion provoquée par tremblement « au point final » (EP-QuIC)<sup>5,6</sup>. L'épreuve QuIC est fondée sur la capacité naturelle de l'isoforme pathogène mal repliée (PrPd) d'induire la conversion de la forme cellulaire normale de la protéine prion (PrPc) en une forme mal repliée *in vitro*. Récemment, la Section des maladies à prions a publié les résultats d'une étude prospective visant à évaluer la performance du panel d'analyse du LCR<sup>7</sup>. La valeur prédictive positive de l'épreuve EP-QuIC, du test de détection de la protéine 14-3-3 $\gamma$  et du test de détection de la protéine t-tau réalisés dans le cadre de l'étude portant sur 623 échantillons était de 96 %\*, de 68 % et de 66 %, respectivement.

Les analyses EP-QuIC des 15 échantillons de la cohorte qui portaient des mutations du gène PRNP ont produit un résultat faussement négatif. La mutation responsable de la MCJ

dans cet échantillon mal identifié était la mutation D178N associée à une méthionine homozygote au codon polymorphe 129. Le patient présentait une perte de poids et des troubles du sommeil caractéristiques de la maladie causée par un tel profil génétique, à savoir l'insomnie fatale familiale (IFF). Même si l'épreuve EP-QuIC une méthode efficace pour détecter les formes courantes de MCJ génétique, des tests biochimiques et génétiques menés en parallèle permettraient de détecter les cas de MCJ génétique qui génèrent un résultat faussement négatif à l'épreuve EP-QuIC.

Il est fortement recommandé de signaler les cas soupçonnés de MCJ à l'équipe du système de surveillance de la MCJ (1-888-489-2999) et aux autorités de santé publique locales ou provinciales.

#### Disponibilité des tests

La Section des maladies à prions de l'Agence de la santé publique du Canada propose un panel d'analyse du LCR, qui consiste en des dosages immunologiques des protéines 14-3-3 $\gamma$  et tau, ainsi qu'en un test de détection, au moyen de l'EP-QuIC, de la forme pathogène de la protéine prion. Les trois tests sont homologués selon la norme Can-P4E (ISO/CEI 17025).

#### Principes des tests

Des essais immunoenzymatiques en phase solide (ELISA) commerciaux sont utilisés pour la détection de la protéine 14-3-3 $\gamma$  (CycLex Co.) et de la protéine t-tau (Fujirebio). L'antigène protéique à mesurer est fixé entre un anticorps de capture (lié à la plaque) et une forme d'anticorps de détection (conjugué à une enzyme [la peroxydase de raifort, ou HRP] ou directement marqué à la biotine). La combinaison de la peroxydase de raifort et de la biotine provoque une réaction colorimétrique qui, lorsqu'elle est comparée aux normes et aux références, permet de déterminer la concentration d'une protéine cible dans l'échantillon de départ.

L'épreuve EP-QuIC est fondée sur la capacité naturelle de l'isoforme pathogène mal repliée (PrPd) d'induire la conversion de la forme cellulaire normale de la protéine prion (PrPc) en une forme mal repliée *in vivo*. Dans la méthode EP-QuIC, les échantillons sont versés dans des puits contenant une protéine prion recombinante (PrPr) fabriquée à l'interne. On chauffe le mélange à 42 °C avec une agitation périodique durant 66 heures. La présence de PrPd dans l'échantillon induira la conversion de la PrPr en de volumineux agrégats insolubles. Les agrégats insolubles de la PrPr issus du processus se lieront ensuite à un colorant fluorescent (la thioflavine T), entraînant la modification du spectre d'émission de fluorescence du colorant, mesurable au moyen d'un spectrofluorimètre.

#### Performance des tests

L'examen pathologique post mortem des tissus cérébraux est nécessaire au diagnostic formel de la MCJ.

Des échantillons de LCR prélevés de manière prospective sur des sujets canadiens ont servi à évaluer les caractéristiques de performance des trois tests ante mortem effectués à l'appui du diagnostic de MCJ. Parmi les 623 échantillons recueillis, il y avait 98 cas de MCJ confirmés par autopsie, 24 cas de MCJ probables, 222 cas présentant un autre diagnostic et 279 cas présentant un diagnostic inconnu, mais non soupçonnés de MCJ.

Test de détection de la protéine 14-3-3 $\gamma$  : En utilisant 20 000 unités arbitraires par millilitre<sup>8</sup> (20 000 UA/ml; 1 UA  $\approx$  1 pg/ml) comme seuil de positivité du test, on a obtenu une valeur prédictive positive de 68 % et une valeur prédictive négative de 96 %<sup>7</sup>.

Test de détection de la protéine tau totale : En utilisant une valeur intermédiaire de 976 pg/ml comme seuil optimal, on a obtenu une valeur prédictive positive de 66 % et une valeur prédictive négative de 98 % dans la cohorte de patients<sup>7</sup>.

Épreuve EP-QuIC du LNM : Avec comme seuil une augmentation relative du signal par un facteur de quatre dans chacun des trois réplicats, on considérait qu'un échantillon était positif lorsque le signal d'au moins deux des trois réplicats était équivalent ou supérieur au seuil établi. Dans les cas où le signal d'un seul des trois réplicats était supérieur au seuil, on analysait l'échantillon de nouveau en utilisant trois dilutions différentes du LCR dans le mélange réactionnel. Les échantillons qui présentaient encore une fois un puits répliqué positif sur trois pour l'une des trois dilutions étaient classés comme indéterminés. En moyenne, on compte un résultat indéterminé par 100 échantillons. Les échantillons dont les trois réplicats présentaient un signal inférieur au seuil établi étaient considérés comme négatifs pour la PrPd.

Dans la cohorte d'échantillons définie ci-dessus, les valeurs prédictives positive et négative obtenues à l'aide du substrat produit à l'interne étaient de 97,5 % et de 99,4 %, respectivement\*\*.

	MCJ		Sans MCJ		Sensibilité	Spécificité	Valeur prédictive positive	Valeur prédictive négative
	VP (a)	FN (b)	FP (c)	VN (d)				
EP-QuIC	119	3	3	498	97,5 %	99,4 %	97,5 %	99,4 %
					93,0 à 99,5 %	98,3 à 99,9 %	92,8 à 99,2 %	98,2 à 99,8 %
14-3-3	103	19	49	452	84 %	90 %	68 %	96 %
					76,8 à 90,4 %	87,3 à 92,7 %	61,5 à 73,5 %	94,0 à 97,3 %
t-tau	112	10	59	442	92 %	88 %	66 %	98 %

				85,4 à 96,0 %	85,1 à 90,9 %	59,8 à 70,8 %	96,1 à 98,8 %
--	--	--	--	------------------	------------------	---------------	---------------

\* En utilisant des composantes commerciales et des composantes fabriquées à l'interne<sup>7</sup>.

\*\* En utilisant uniquement des composantes fabriquées à l'interne.

### Références

1. Murray K. Creutzfeldt-Jacob disease mimics, or how to sort out the subacute encephalopathy patient. *Pract Neurol* 2011;11(1):19-28.
2. Hsich G, Kenney K, Gibbs CJ *et al.* The 14-3-3 brain protein in cerebrospinal fluid as a marker for transmissible spongiform encephalopathies. *N Engl J Med* 1996;335(13):924-930.
3. Otto M, Wiltfang J, Tumani H *et al.* Elevated levels of tau-protein in cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurosci Lett* 1997;225(3):210-212.
4. McGuire LI, Peden AH, Orru CD, *et al.* Real time quaking-induced conversion analysis of cerebrospinal fluid in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Ann Neurol*. 2012;72(2):278-285. doi: 10.1002/ana.23589 [doi].
5. Cheng K, Vendramelli R, Sloan A, Waitt B, Podhorodecki L, Godal D, Knox JD. End-point quaking-induced conversion (EP-QuIC): a sensitive, specific, and high-throughput method for the ante-mortem diagnosis of Creutzfeldt-Jacob Disease. *J Clin Microbiol, JCM* 54(7):1751-1754, 2016.
6. Godal D, Simon SLR, Cheng K, et Knox JD. Nouveau test diagnostique de la maladie de Creutzfeldt-Jakob : la conversion provoquée par tremblement en temps réel (RT-QuIC). *RMTC* 41-8:221-225, 2015.
7. Simon SLR, Peterson A, Phillipson C, Walker, J.M, Richmond M, Jansen GH and Knox JD. Prospective Study Demonstrates Utility of EP-QuIC in Creutzfeldt-Jakob Disease Diagnoses. *Cdn J Neuro Sci* DOI: 10.1017/cjn.2020.139, 2020.
8. Schmitz M, Ebert E, Stoeck K *et al.* Validation of 14-3-3 Protein as a Marker in Sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease Diagnostic. *Mol Neurobiol* DOI 10.1007/s12035-015-9167-5, 2015.

-FIN-