

IV

(Informacje)

INFORMACJE INSTYTUCJI, ORGANÓW I JEDNOSTEK ORGANIZACYJNYCH
UNII EUROPEJSKIEJ

KOMISJA EUROPEJSKA

Wytyczne dotyczące zmniejszania ryzyka przenoszenia czynników encefalopatii gąbczastej zwierząt przez produkty lecznicze stosowane u ludzi oraz weterynaryjne produkty lecznicze (EMA/410/01 rev.3)

(2011/C 73/01)

Niniejsza nota zawiera wytyczne dotyczące zmniejszania ryzyka przenoszenia czynników encefalopatii gąbczastej zwierząt przez produkty lecznicze stosowane u ludzi oraz weterynaryjne produkty lecznicze.

Trzeci przegląd techniczny niniejszych wytycznych dotyczących TSE (pasażowalnej encefalopatii gąbczastej) został dokonany w celu uwzględnienia postępów naukowych w zakresie pasażowalnych encefalopatii gąbczastych, a także ewolucji sytuacji na świecie dotyczącej gąbczastej encefalopatii bydła (BSE).

Odnosnie do klasyfikacji państw lub regionów pod kątem ryzyka występowania BSE poprzednia klasyfikacja geograficznego ryzyka BSE (GBR) została w niniejszych zmienionych wytycznych zastąpiona odniesieniem do zasad ustanowionych przez Światową Organizację Zdrowia Zwierząt (OIE). W przypadku państw, które zostały sklasyfikowane zgodnie z kryteriami GBR, a nie według kryteriów OIE, zastosowanie ma jednak istniejąca klasyfikacja GBR, o ile nie istnieją dowody istotnych zmian odnośnie do ryzyka występowania BSE.

Wprowadzono nowe kryteria dotyczące pochodzenia i przetwarzania żelatyny oraz produktów pochodnych krwi bydła stosowanych do wytwarzania produktów leczniczych stosowanych u ludzi lub weterynaryjnych produktów leczniczych oraz nową podsekcję dotyczącą peptonów.

Niniejsze wytyczne zastępują poprzednią rewizję wytycznych (EMA/410/01 Rev. 2) opublikowaną w (Dzienniku Urzędowym Unii Europejskiej C 24 z 28.1.2004, s. 6). Proponowana data wejścia w życie zmienionych wytycznych to 1 lipca 2011 r.

1. WPROWADZENIE**1.1. Podstawy naukowe**

Pasażowalne encefalopatie gąbczaste (TSE) to przewlekłe zwyrodnieniowe choroby układu nerwowego charakteryzujące się nagromadzeniem nieprawidłowych, izoformicznych postaci glikoproteiny komórkowej, znanej jako PrP (lub białko prionowe). Nieprawidłowa izoformiczna postać PrP (PrP^{TSE}) różni się od prawidłowego PrP (PrP^C) wysoką odpornością na działanie proteaz oraz niewrażliwością na denaturację pod wpływem ogrzewania. PrP^{TSE} uważane jest za czynnik zakaźny odpowiedzialny za przenoszenie TSE.

Pasażowalne encefalopatie gąbczaste u zwierząt obejmują:

- encefalopatię gąbczastą bydła (BSE) u bydła,
- trzęsawkę u owiec i kóz,

- przewlekłą chorobę wyniszczającą (CWD) u jeleniowatych (jeleni i łoś),
- pasażowalną encefalopatię nerek (TME) u nerek hodowlanych,
- encefalopatię gąbczastą kotów (FSE) u kotowatych (w szczególności u kotów domowych i dużych kotów żyjących w niewoli), oraz
- encefalopatię gąbczastą egzotycznych zwierząt kopytnych w ogrodach zoologicznych.

U człowieka encefalopatia gąbczasta przybiera różne formy choroby Creutzfeldta-Jakoba (CJD), Kuru, zespołu Gerstmann-Sträusslera-Scheinkera (GSS) oraz śmiertelnej bezsenności rodzinnej (FFI).

Stwierdzono występowanie jatrogennego przenoszenia encefalopatii gąbczastych. U owiec trzęsawka została przypadkowo przeniesiona w wyniku zastosowania szczepionki przeciwko chorobie skokowej owiec (Louping Ill) sporządzonej z połączonych mózgow i śledzion owiec, poddanych działaniu formaldehydu, do których przedostał się przypadkowo materiał pochodzący od owiec zakażonych trzęsawką. Do przeniesienia trzęsawki na owce i kozy doszło w wyniku zastosowania szczepionki przeciwko zakaźnej bezmleczności u owiec i kóz, inaktywowanej formaldehydem, sporządzonej z homogenatów mózgow i gruczołów mlecznych owiec zarażonych *Mycoplasma agalactiae*. U człowieka odnotowano przypadki przeniesienia CJD, które przypisano pozajelitowemu podaniu hormonu wzrostu i gonadotropiny, otrzymywanych z ludzkich przysadek mózgowych pobieranych ze zwłok. Przypadki CJD wiązano również z użyciem skażonych narzędzi wykorzystywanych w chirurgii mózgu oraz transplantacji ludzkiej rogówki i opony twardej.

Międzygatunkowe przenoszenie TSE ogranicza pewna liczba barier naturalnych, a zaraźliwość zależy od gatunku zwierzęcia, szczerpu prionu, dawki, drogi zakażenia, a w przypadku niektórych gatunków allelu genu PrP gospodarza. W sprzyjających warunkach bariery gatunkowe mogą zostać przerwane.

Gąbczasta encefalopatia bydła (BSE) została po raz pierwszy zdiagnozowana w Zjednoczonym Królestwie w 1986 r., kiedy to duża liczba bydła i pojedynczych stad została dotknięta chorobą. Wiadomo, że BSE jest chorobą nabywaną w wyniku spożycia paszy (np. mączki mięsno-kostnej) pochodzącej od zwierząt chorych na TSE. W innych państwach przypadki BSE wystąpiły bądź to u zwierząt przywożonych ze Zjednoczonego Królestwa, bądź u zwierząt rodzimych. Istnieją przekonujące dowody na to, że wariant choroby CJD (vCJD) wywołany jest przez czynnik odpowiedzialny za BSE u bydła. Uzasadnione jest zatem ostrożne podejście w przypadku gdy do wytwarzania produktów leczniczych wykorzystywane są materiały biologiczne pochodzące od gatunków w sposób naturalny dotkniętych TSE, zwłaszcza od bydła.

W trakcie programów aktywnego nadzoru dwie dotychczas nierozpoznane formy nietypowego BSE (BSE-L, również zwane BASE i BSE-H) zostały zidentyfikowane w rzadkich sporadycznych przypadkach w Europie, Ameryce Północnej i Japonii. „L” i „H” oznaczają pozycję (niższą lub wyższą) izoform PrP^{TSE} opornych na działanie proteaz w rozdziale elektroforetycznym. Należy zauważyć, że nietypowe przypadki zostały wskazane w państwach, w których dotychczas nie występowały klasyczne przypadki BSE, np. w Szwecji, lub w których stwierdzono jedynie niewiele przypadków BSE, np. w Kanadzie czy w USA. Nietypowy czynnik BSE został doświadczalnie przeniesiony do transgenicznej myszy z ekspresją ludzkiego białka prionowego oraz na makaka jawajskiego.

Trzęsawka występuje na całym świecie i została zaobserwowana w większości państw europejskich. Najwyższy wskaźnik występowania notuje się na Cyprze. Chociaż człowiek jest narażony na występującą w naturze trzęsawkę od ponad 250 lat, brak jakichkolwiek dowodów epidemiologicznych, które wskazywałyby na bezpośredni związek między trzęsawką a encefalopatią

gąbczastą u człowieka⁽¹⁾. Jednakże wciąż istnieje teoretyczne i obecnie trudne do oszacowania ryzyko, że pewne zakażone BSE suplementy proteinowe mogły być podawane owcom. Ponadto istnieje prawdopodobieństwo przetworzenia i wzmocnienia czynnika BSE wprowadzonego do populacji małych przeżuwaczy przez zakażoną paszę⁽²⁾.

Istnieje zainteresowanie metodą zakażenia komórek czynnikiem TSE w celu opracowania prób i z podstawowych naukowych powodów. Odniesiono pewne sukcesy, zazwyczaj – ale nie zawsze – w przypadku neuronalnych linii komórkowych. Warunki niezbędne do zakażenia komórki nie są do końca zrozumiane, a sam proces jest trudny i wymaga szczególnych kombinacji czynnika i komórki. Nie uważa się za właściwe wydawanie konkretnych zaleceń w odniesieniu do stosowania substratów komórkowych do produkcji substancji biologicznych lub substancji opartych na wykorzystaniu metod biotechnologicznych. Możliwość zakażenia linii komórkowych czynnikami TSE powinna jednak zostać wzięta pod uwagę w ocenach ryzyka.

1.2. Zgodność z przepisami prawnymi

Ocena ryzyka – Ponieważ nie można uniknąć stosowania materiałów pochodzenia zwierzęcego przy wytwarzaniu niektórych produktów leczniczych, a całkowita eliminacja źródła ryzyka jest mało prawdopodobna, środki podjęte w celu zarządzania ryzykiem przeniesienia zwierzęcej TSE poprzez produkty lecznicze mają na celu raczej zmniejszenie ryzyka niż jego eliminację. W związku z powyższym zgodność z przepisami prawnymi powinna opierać się na ocenie ryzyka, z jednoczesnym uwzględnieniem wszystkich istotnych czynników, o których mowa w niniejszych wytycznych (zob. poniżej).

Podstawa prawna – Niniejsze wytyczne są opublikowane przez Komisję Europejską zgodnie z:

- załącznikiem I część I moduł 3 sekcja 3.2: *Zawartość: podstawowe zasady i wymagania*, pkt 9 zmienionej dyrektywy 2001/83/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 6 listopada 2001 r. w sprawie wspólnotowego kodeksu odnoszącego się do produktów leczniczych stosowanych u ludzi⁽³⁾, oraz
- załącznikiem I tytuł I część 2 sekcja C: *Kontrola materiałów wyjściowych* zmienionej dyrektywy 2001/82/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 6 listopada 2001 r. w sprawie wspólnotowego kodeksu odnoszącego się do weterynaryjnych produktów leczniczych⁽⁴⁾.

⁽¹⁾ Opinia ta poddana jest aktualnie ocenie EFSA i Europejskiego Centrum ds. Zapobiegania i Kontroli Chorób. Aktualizowane informacje znajdują się pod poniższym adresem: <http://registrofquestions.efsa.europa.eu/roqFrontend/questionsListLoader?mandate=M-2009-0221>

⁽²⁾ W styczniu 2005 r., po potwierdzeniu występowania BSE u kóz we Francji, przedsięwzięto dodatkowe środki prawne odnośnie do monitorowania i zwiększonego przeprowadzania testów u małych przeżuwaczy. Zwiększony nadzór nie doprowadził do wykrycia dodatkowych przypadków BSE u owiec i kóz w UE.

⁽³⁾ Dz.U. L 311 z 28.11.2001, s. 67.

⁽⁴⁾ Dz.U. L 311 z 28.11.2001, s. 1.

Przedmiotowe dyrektywy wymagają od osób składających wnioski o pozwolenie na dopuszczenie do obrotu produktów leczniczych stosowanych u ludzi oraz weterynaryjnych produktów leczniczych wykazania, że produkty lecznicze są wytwarzane zgodnie z najnowszą wersją wytycznych opublikowaną w *Dzienniku Urzędowym Unii Europejskiej*. Wymóg ten obowiązuje nieprzerwanie, również po uzyskaniu pozwolenia na dopuszczenie do obrotu.

Zgodnie z definicją zasada dotycząca określonych materiałów szczególnego ryzyka określona w rozporządzeniu (WE) nr 999/2001 Parlamentu Europejskiego i Rady⁽⁵⁾ nie dotyczy produktów leczniczych. Jednakże rozporządzenie (WE) nr 1774/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady⁽⁶⁾, które stosuje się od dnia 1 maja 2003 r., ustanawia przepisy sanitarne dotyczące produktów ubocznych pochodzenia zwierzęcego nieprzeznaczonych do spożycia przez ludzi. Zgodnie z ogólną zasadą i o ile nie jest to należyte uzasadnione, wszystkie produkty uboczne pochodzenia zwierzęcego wykorzystywane jako materiał wyjściowy do wytwarzania produktów leczniczych powinny być „materiałami kategorii 3 (tzn. bezpiecznymi) lub równoważnymi”, jak określono w rozporządzeniu (WE) nr 1774/2002. Stosowanie substancji pochodzących z innych materiałów o wysokiej zakaźności podlega uprzedniej właściwej ocenie korzyści/ryzyka (zob. poniżej).

Niniejsze wytyczne należy odczytywać w połączeniu z różnymi instrumentami prawnymi UE, w tym z decyzjami Komisji wdrażanymi stopniowo od 1991 r. W stosownych przypadkach odniesienia do tych decyzji znajdują się w tekście. Oświadczenia i noty wyjaśniające sporządzone przez Komitet ds. Produktów Leczniczych Stosowanych u Ludzi (CHMP) i Komitet ds. Weterynaryjnych Produktów Leczniczych (CVMP) mają wciąż zastosowanie do celów zgodności z przepisami prawnymi, chyba że wytyczne stanowią inaczej.

Ogólna monografia zatytułowana: „Produkty, w których występuje ryzyko przenoszenia czynników wywołujących zwierzęce encefalopatie gąbczaste” zawarta jest w Farmakopei Europejskiej. Monografia ta odsyła do ogólnego rozdziału Farmakopei Europejskiej i jest identyczna z niniejszymi wytycznymi. Monografia stanowi podstawę do wydania certyfikatów spełnienia wymagań ze względu na TSE, jako procedury służącej wykazaniu zgodności TSE w odniesieniu do substancji i materiałów użytych do wytwarzania produktów leczniczych stosowanych u ludzi i weterynaryjnych produktów leczniczych.

Objaśnienie do wytycznych – Ponieważ wiedza naukowa na temat TSE, zwłaszcza wyjaśnienie patogenezы chorób, stale się rozwija, CHMP i jego Grupa Robocza ds. Biologii i Biotechnologii we współpracy z CVMP i jego Grupą Roboczą ds. Immunologii mogą być poproszone w przyszłości o opracowanie dodatkowych wytycznych w formie oświadczenia lub not wyjaśniających do celów wyjaśnienia niniejszych

⁽⁵⁾ Dz.U. L 147 z 31.5.2001, s. 1.

⁽⁶⁾ Dz.U. L 273 z 10.10.2002, p. 1. Rozporządzenie (WE) 1774/2002 zostało uchylone rozporządzeniem (WE) 1069/2009, które będzie obowiązywało od dnia 4 marca 2011 r. (Dz.U. L 300 z 14.11.2009, s. 1).

wytycznych. Komisja opublikuje dodatkowe wytyczne na stronie internetowej Europejskiej Agencji Leków (EMA), które zostaną uwzględnione przy wydawaniu certyfikatów Europejskiej Dyrekcji ds. Jakości Leków i Opieki Zdrowotnej (EDQM).

2. ZAKRES STOSOWANIA

Gatunki najbardziej narażone na zakażenie TSE – Bydło, owce, kozy i zwierzęta, które są naturalnie podatne na zakażenie czynnikami pasażowalnymi encefalopatii gąbczastych lub wrażliwe na zakażenie drogą doustną, z wyłączeniem człowieka⁽⁷⁾ i pozostałych ssaków z rzędu naczelnych, określa się jako „gatunki najbardziej narażone na zakażenie TSE”⁽⁸⁾.

Materiały – Niniejsze wytyczne dotyczą materiałów pochodzących z „gatunków najbardziej narażonych na zakażenie TSE” i wykorzystywanych do przygotowania:

- substancji czynnych,
- substancji pomocniczych i adiuwantów, oraz
- surowców i materiałów wyjściowych oraz odczynników stosowanych w produkcji (np. albumina surowicy bydłowej, enzymy, pożywki, w tym te, które są wykorzystywane do przygotowania roboczych banków komórek lub nowych macierzystych banków komórek do wytwarzania produktów leczniczych, które wymagają uzyskania nowego pozwolenia na dopuszczenie do obrotu).

Niniejsze wytyczne mają również zastosowanie do materiałów, które pozostają w bezpośrednim kontakcie ze sprzętem używanym do wytwarzania produktu leczniczego lub które pozostają w kontakcie z produktem leczniczym i które z tego powodu mogą ulec potencjalnemu zanieczyszczeniu.

Materiały stosowane do klasyfikacji zakładów i sprzętu, takie jak pożywki stosowane jako roztwory wypełniające podczas walidacji procesu rozlewu aseptycznego, powinny być uważane za zgodne z niniejszymi wytycznymi, pod warunkiem że składnik lub składniki pochodzą z tkanek o niewykrywalnej zakaźności (kategoria komórek IC), w przypadku których stwierdzono ryzyko krzyżowego zanieczyszczenia tkankami potencjalnie zakaźnymi (zob. sekcja 3.3), i jeżeli materiały pochodzą z państwa o niskim lub kontrolowanym ryzyku występowania BSE (odpowiednio, kategorie A i B, zob. sekcja 3.2). Informacje takie należy przekazać we wniosku o pozwolenie na dopuszczenie do obrotu i sprawdzić w trakcie rutynowej inspekcji zgodności z dobrą praktyką wytwarzania (GMP).

⁽⁷⁾ Wytyczne regulacyjne i dokumenty przedstawiające stanowisko zostały przygotowane przez Komitet ds. Produktów Leczniczych Stosowanych u Ludzi i jego Grupę Roboczą ds. Biologii i Biotechnologii i dotyczą produktów leczniczych pochodzących z ludzkich tkanek w związku z CJD i vCJD. Wytyczne można znaleźć na stronie <http://www.ema.europa.eu>

⁽⁸⁾ Świnie i ptaki, które są gatunkami najczęściej wykorzystywanymi do wytwarzania produktów leczniczych, nie są w naturalnych warunkach podatne na zakażenie drogą ustną. Dlatego w rozumieniu niniejszych wytycznych nie należą one do gatunków zwierząt narażonych na TSE. W rozumieniu niniejszych wytycznych również psy, króliki i ryby nie są gatunkami narażonymi na TSE.

Inne materiały, takie jak środki czyszczące, substancje zmiękczające i nawilżające, które pozostają w kontakcie z produktami leczniczymi podczas ich rutynowego wytwarzania, na etapie końcowym lub wstępnego pakowania, uważane są za zgodne z niniejszymi wytycznymi, jeżeli są produktami pochodnymi łożu przygotowanymi w trakcie rygorystycznych procesów fizykochemicznych opisanych w sekcji 6.

Serie posiewowe, banki komórek i rutynowa fermentacja/produkcja ⁽⁹⁾ – Do celów zgodności z przepisami wytyczne obejmują regulacje odnośnie do szczepów macierzystych lub macierzystych banków komórek objęte wnioskami o pozwolenia na dopuszczenie do obrotu, złożonymi po dniu 1 lipca 2000 r. (dla produktów leczniczych stosowanych u ludzi) lub po dniu 1 października 2000 r. (dla weterynaryjnych produktów leczniczych).

Szczepy macierzyste i macierzyste banki komórek

- do przygotowania antygenów szczepionkowych,
- dla produktów leczniczych wyprodukowanych przez zastosowanie procesów biotechnologicznych, jak opisano w załączniku do rozporządzenia (WE) nr 726/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady ⁽¹⁰⁾, oraz
- dla innych produktów leczniczych, przy których wytwarzaniu wykorzystano serie posiewowe lub systemy banków komórek,

które zostały już zatwierdzone do produkcji składnika zatwierdzonego produktu leczniczego, należy sprawdzić pod względem zgodności z niniejszymi wytycznymi, nawet jeśli są one włączone do wniosków o pozwolenie na dopuszczenie do obrotu złożonych po dniu 1 lipca 2000 r. (dla produktów leczniczych stosowanych u ludzi) lub po dniu 1 października 2000 r. (dla weterynaryjnych produktów leczniczych).

W odniesieniu do szczepów macierzystych i macierzystych banków komórek założonych przed dniem 1 lipca 2000 r. (dla produktów leczniczych stosowanych u ludzi) lub dniem 1 października 2000 r. (dla weterynaryjnych produktów leczniczych), ale jeszcze niezatwierdzonych jako składnik dopuszczalnego do obrotu produktu leczniczego, należy udowodnić, że spełniają one wymogi niniejszych wytycznych. Jeżeli w przypadku niektórych surowców, materiałów wyjściowych lub odczynników wykorzystywanych do zakładania banków komórek lub szczepów pełne dowody w formie dokumentacji nie są już dostępne, wnioskodawca powinien przedstawić ocenę ryzyka jak opisano w sekcji 4 niniejszych wytycznych.

Należy również uznać za zgodne założone posiewowe serie robocze lub banki komórek wykorzystane do wytwarzania produktów leczniczych dopuszczonych przed dniem 1 lipca 2000 r. (produkty lecznicze stosowane u ludzi) lub dniem 1 października 2000 r. (weterynaryjne produkty lecznicze), które podlegają należytej ocenie ryzyka przez właściwy organ państwa członkowskiego lub EMA i które zostały uznane za dopuszczalne.

⁽⁹⁾ Zob. również: Dokument wyrażający stanowisko w sprawie oceny ryzyka przenoszenia czynników zwierzęcej encefalopatii gąbczastej poprzez macierzyste materiały nasienne wykorzystywane do produkcji szczepionek stosowanych w weterynarii (EMEA/CVMP/019/01 – luty 2001 r.) przyjęty przez Komitet ds. Weterynaryjnych Produktów Leczniczych (CVMP) w lipcu 2001 r. (Dz.U. C 286 z 12.10.2001, s. 12).

⁽¹⁰⁾ Dz.U. L 136 z 30.4.2004, s. 1.

Jednakże w przypadku gdy materiały pochodzące od „gatunków najbardziej narażonych na zakażenie TSE” są wykorzystywane w procesach fermentacji/rutynowej produkcji lub do zakładania posiewowych serii roboczych i roboczych banków komórek, wnioskodawca musi udowodnić, że spełniają one wymogi niniejszych wytycznych.

3. ZAGADNIENIA OGÓLNE

3.1. Naukowe zasady zmniejszania ryzyka

Jeżeli producenci mają wybór, zalecane jest stosowanie materiałów pochodzących od „gatunków nienarażonych na zakażenie TSE” lub materiałów pochodzenia niezwierzęcego. Należy podać powód użycia materiałów pochodzących od „gatunków najbardziej narażonych na zakażenie TSE” zamiast materiałów od „gatunków nienarażonych na zakażenie TSE” lub materiałów pochodzenia niezwierzęcego. Jeżeli wykorzystane zostały materiały pochodzące od „gatunków najbardziej narażonych na zakażenie TSE”, należy podjąć wszystkie konieczne środki ostrożności w celu zmniejszenia ryzyka przeniesienia TSE.

Obecnie nie są jeszcze dostępne szybkie testy diagnostyczne *in vivo* pozwalające ocenić zakaźność czynnika TSE. Diagnoza opiera się na poubojowym stwierdzeniu charakterystycznych uszkodzeń mózgu w badaniu histopatologicznym lub wykryciu PrP^{TSE} metodą Western Blot lub metodą testu immunologicznego. W celu potwierdzenia zakaźności przeprowadza się również inokulację podejrzanym o zakaźność materiałem tkankowym gatunków docelowych lub zwierząt laboratoryjnych. Jednakże ze względu na długie okresy inkubacji wszystkich TSE wyniki testów *in vivo* są dostępne dopiero po upływie miesięcy lub lat.

Opracowano pewne testy immunochemiczne na wykrycie PrP^{TSE} w badaniach próbek pobranych po uboju i niektóre z nich uważane są za bardzo czułe. Ich zdolność do wykrycia zarażonego zwierzęcia zależy jednak od czasu pobrania próbki w zależności do czasu, kiedy zwierzę było narażone na zakażenie, rodzaju pobranego materiału tkankowego i przyswojonej dawki zakażającej, wraz z późniejszym momentem klinicznego początku choroby. Nie istnieją obecnie wystarczające dane na temat tego, w jaki sposób mogłyby na to wpłynąć rodzaje szczepów.

Pomimo że badania przesiewowe zwierząt, od których pobrano materiał metodą testów *in vitro*, zapobiegają wykorzystywaniu zwierząt w późnym okresie wylęgania choroby i mogą dostarczyć danych epidemiologicznych dotyczących danego państwa lub regionu, żaden z tych testów nie jest uznany za odpowiedni, aby jednoznacznie potwierdzić negatywny status zwierzęcia.

Zmniejszanie ryzyka przenoszenia TSE opiera się na trzech uzupełniających się parametrach:

- zwierzęta, od których pobrano materiał i ich pochodzenie geograficzne,
- właściwości materiału zwierzęcego zastosowanego do wytwarzania oraz zastosowanie takich
- procedur, które będą zapobiegały skażeniu krzyżowemu materiałami o wyższym ryzyku,
- procesy produkcyjne, w tym obowiązujący system zapewnienia jakości służący zagwarantowaniu spójności i identyfikowalności produktu.

3.2. Zwierzęta będące źródłem choroby

Materiały źródłowe zastosowane do wytwarzania materiałów do produkcji produktów leczniczych powinny pochodzić od zwierząt nadających się do spożycia przez ludzi po inspekcji przed- i poubojowej zgodnie z unijnymi lub równoważnymi (państwa trzecie) wymogami, z wyjątkiem materiałów pochodzących od żywych zwierząt, które powinny być uznane za zdrowe w wyniku przeprowadzonych badań klinicznych.

3.2.1. Geograficzne pochodzenie zwierząt

3.2.1.1. Materiał pochodzenia bydłowego

Światowa Organizacja Zdrowia Zwierząt (OIE) ⁽¹¹⁾ ustanawia kryteria oceny sytuacji państw w rozdziale Kodeksu zdrowia zwierząt lądowych dotyczącym encefalopatii gąbczastych bydła. Państwa i regiony zostały następująco sklasyfikowane:

- A. Państwa lub regiony o nieznacznym ryzyku występowania BSE.
- B. Państwa lub regiony o kontrolowanym ryzyku występowania BSE.
- C. Państwa lub regiony o niestalonym ryzyku występowania BSE.

Jak określono w zmienionym rozporządzeniu Komisji (WE) nr 999/2001 ⁽¹²⁾, klasyfikacja państw lub regionów ze względu na ryzyko występowania BSE, w oparciu o zasady ustanowione przez OIE, jest prawnie wiążąca w UE od dnia 1 lipca 2007 r. W zmienionej decyzji Komisji 2007/453/WE ⁽¹³⁾ ustanawia się klasyfikację państw i regionów ze względu na ryzyko występowania BSE.

Naukowy Komitet Sterujący Komisji Europejskiej (SSC) ⁽¹⁴⁾ ustanowił poprzednio obowiązujący tymczasowy system klasyfikacji państw ze względu na geograficzne ryzyko występowania w nich BSE (GBR) ⁽¹⁵⁾.

⁽¹¹⁾ http://www.oie.int/eng/Status/BSE/en_BSE_free.htm

⁽¹²⁾ Rozporządzenie (WE) nr 722/2007 z dnia 25 czerwca 2007 r. (Dz.U. L 164 z 26.6.2007, s. 7).

⁽¹³⁾ Dz.U. L 172 z 30.6.2007, s. 84.

⁽¹⁴⁾ Naukowy Komitet Sterujący ustanowiony na mocy decyzji Komisji 97/404/WE (Dz.U. L 169 z 27.6.1997, s. 85) wspiera Komisję w gromadzeniu możliwie najlepszych ekspertów naukowych dotyczących spraw odnoszących się do zdrowia konsumenta. W maju 2003 r. jego zadania powierzono Europejskiemu Urzędowi ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA): <http://www.efsa.europa.eu>

⁽¹⁵⁾ Klasyfikacja Naukowego Komitetu Sterującego Komisji Europejskiej dotycząca ryzyka BSE związanego z położeniem geograficznym (geographical BSE risk, GBR) określa wskaźnik poziomu prawdopodobieństwa występowania jednej lub więcej sztuk bydła klinicznie lub przedklinicznie zakażonych BSE w danym państwie lub regionie. Definicję czterech kategorii zawiera poniższa tabela:

Poziom GBR	Obecność jednej lub większej liczby sztuk bydła, klinicznie lub bezobjawowo zakażonych BSE w danym regionie geograficznym/państwie
I	Bardzo mało prawdopodobna
II	Mało prawdopodobna, ale niewykluczona
III	Możliwa, ale nie potwierdzona lub potwierdzona na niższym poziomie
IV	Potwierdzona na wyższym poziomie (≥ 100 przypadków/1 mln dorosłych sztuk bydła rocznie)

Sprawozdania dotyczące oceny GBR w poszczególnych państwach są dostępne na stronie internetowej SSC (http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/outcome_en.html).

Dla celów niniejszych wytycznych należy używać klasyfikacji BSE na podstawie zasad OIE. W przypadku państw, które zostały uprzednio sklasyfikowane zgodnie z kryteriami SSC GBR i wciąż jeszcze nie zgodnie z zasadami OIE, może zostać zastosowana klasyfikacja GBR, dopóki nie zostanie ustanowiona klasyfikacja zgodnie z zasadami OIE, pod warunkiem że nie istnieją dowody istotnych zmian odnośnie do ryzyka występowania BSE ⁽¹⁶⁾.

Jeżeli istnieje możliwość wyboru, zwierzęta powinny pochodzić z państw o najniższym możliwym poziomie ryzyka występowania BSE (państwa o nieznacznym ryzyku występowania BSE – kategoria A), chyba że użycie materiału z państw o wyższym ryzyku występowania BSE jest uzasadnione. Niektóre z materiałów określonych w sekcji 6 „Uwagi szczegółowe” mogą pochodzić z państw o kontrolowanym ryzyku występowania BSE (kategoria B), a w niektórych przypadkach z państw o niestalonym ryzyku występowania BSE (kategoria C), pod warunkiem że mają zastosowanie kontrole i wymogi określone w odnośnych sekcjach poniżej. Oprócz tych wyjątków zwierzęta nie mogą pochodzić z państw o niestalonym ryzyku występowania BSE (kategoria C), a użycie zwierząt z państw tej kategorii musi być zawsze uzasadnione.

3.2.1.2. Owce i kozy (małe przeżuwacze)

Naturalnie występujące przypadki trzęsawki z objawami klinicznymi zostały zaobserwowane w wielu państwach na świecie. W celu uniknięcia mylenia BSE u owiec z trzęsawką, w przypadku otrzymywania materiałów pochodzących od małych przeżuwaczy należy uwzględnić jako środek ostrożności rozpowszechnienie BSE i trzęsawki w danym państwie oraz tkanki, z których pochodzą materiały.

Zasady dotyczące „stad bydła (odseparowanych) o nieznacznym ryzyku wystąpienia BSE” (zob. sekcja 3.2.2) mogą być równocześnie stosowane w odniesieniu do małych przeżuwaczy w celu opracowania ram umożliwiających zdefiniowania sytuacji dotyczącej TSE w stadach małych przeżuwaczy. W przypadku owiec, z powodu obaw związanych z możliwością wystąpienia BSE u owiec, przy ustalaniu stad wolnych od TSE należy wziąć pod uwagę te zwierzęta, które posiadają genotyp(-y) odporny (odporne) na zakażenie BSE/trzęsawką ⁽¹⁷⁾. Możliwość, że genotypy z odpornością na trzęsawkę mogą być narażone na BSE (doświadczalne zakażenia drogą doustną) lub na nietypową trzęsawkę (przypadki naturalnie występujące), również powinna zostać wzięta pod uwagę. Swoista wrażliwość genotypu nie została zbadana w wystarczającym stopniu u kóz.

⁽¹⁶⁾ Zgodnie z opinią ekspertów system klasyfikacji GBR jest wystarczająco stabilny i może być nadal używany w okresie przejściowym dla wykazania zgodności z niniejszymi wytycznymi.

⁽¹⁷⁾ Opinia Panelu naukowego ds. zagrożeń biologicznych w sprawie programu hodowlanego mającego na celu uzyskanie odporności na TSE u owiec: http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178620775678.htm.

Materiał pochodzący od małych przeżuwaczy powinien najlepiej pochodzić z państw, w których od dawna nie odnotowano przypadków występowania trzęsawki. Uzasadnienie jest wymagane, jeżeli materiał pochodzi z innego źródła.

3.2.2. Stada bydła (odseparowane) o nieznacznym ryzyku wystąpienia BSE

Najbezpieczniej jest, aby materiał pochodził z państw lub regionów o nieznacznym ryzyku występowania BSE (państwa należące do kategorii A). W innych państwach mogą występować lub wystąpiły w pewnym okresie przypadki BSE; praktyczna koncepcja „stad bydła (odseparowanych) o nieznacznym ryzyku wystąpienia BSE” została opracowana przez SSC i zatwierdzona przez CHMP i CVMP. Kryteria ustalania i utrzymywania „stad bydła (odseparowanych) o nieznacznym ryzyku wystąpienia BSE” można znaleźć w opinii SSC z dnia 22–23 lipca 1999 r. ⁽¹⁸⁾.

Obecnie nie jest możliwe określenie ograniczenia ryzyka BSE związanego z położeniem geograficznym dla bydła ze „stad (odseparowanych) o nieznacznym ryzyku wystąpienia BSE”. Jednakże można spodziewać się zasadniczego ograniczenia tego ryzyka. Dlatego też pochodzenie takich odseparowanych stad bydła należy brać pod uwagę w ocenie ryzyka w powiązaniu z klasyfikacją OIE danego państwa.

3.3. Części ciała zwierząt, płyny ustrojowe i wydzieliny jako materiał wyjściowy

U zwierząt zakażonych TSE różne narządy i wydzieliny mają różny poziom zakaźności. W przypadku stosowania materiałów pochodzących z „gatunków najbardziej narażonych na zakażenie TSE” należy zwrócić uwagę na użycie materiałów o najniższej kategorii ryzyka. Tabele znajdujące się w załączniku do niniejszych wytycznych ⁽¹⁹⁾ podsumowują aktualne dane dotyczące rozmieszczenia zakaźności i PrP^{TSE} u bydła z BSE oraz u owiec i kóz chorych na trzęsawkę ⁽²⁰⁾.

Informacje zawarte w tabelach opierają się wyłącznie na obserwacjach naturalnie występującej choroby lub wstępnych doświadczalnych zakażeniach drogą doustną (u bydła), ale nie obejmują danych związanych z modelami, w których stosowano szczepy TSE, które zostały zaadoptowane do zwierząt doświadczalnych, ponieważ fenotypy szczepów pasażowanych mogą różnić się znacząco i nieprzewidywalnie od tych, które wywołują chorobę w warunkach naturalnych. Ponieważ udowodniono, że detekcja metodą immunohistochemiczną lub metodą Western blot niepofałdowanych białek gospodarza (PrP^{TSE}) jest zastępczym markerem zakaźności, wyniki badania

⁽¹⁸⁾ Opinia naukowa SSC w sprawie warunków związanych ze „stadami bydła (zamkniętymi) o nieznacznym ryzyku wystąpienia BSE” przyjęta na posiedzeniu, które odbyło się w dniach 22–23 lipca 1999 r. http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out56_en.html

⁽¹⁹⁾ Tabele klasyfikacji tkanek oparte są na najnowszych wytycznych WHO dotyczących rozmieszczenia zakaźności w tkankach w pasażowalnych encefalopatiach gąbczastych (2010 r.) (WHO Guidelines on Tissue Infectivity Distribution in Transmissible Spongiform Encephalopathies); <http://www.who.int/bloodproducts/tablestissueinfectivity.pdf>

⁽²⁰⁾ Opinia naukowa dotycząca zakaźności BSE/TSE w tkankach małych przeżuwaczy podlega obecnie przeglądowi przez EFSA (pytanie nr EFSA-Q-2010-052). Aktualne informacje znajdują się na stronie: <http://registerofquestions.efsa.europa.eu/roqFrontend/questionsListLoader?mandate=M-2010-0041>

na PrP^{TSE} zostały przedstawione z wynikami równoległych badań biologicznych. Tkanki zostały zakwalifikowane do trzech głównych kategorii zakaźności, niezależnie od stadium choroby:

Kategoria IA: Tkanki o wysokiej zakaźności: tkanki ośrodkowego układu nerwowego (OUN), które osiągają wysokie miano zakaźności w późniejszych okresach w przypadku wszystkich TSE i niektóre tkanki anatomicznie związane z OUN.

Kategoria IB: Tkanki o niższej zakaźności: tkanki obwodowe, w których w czasie badań wykryto zakaźność lub PrP^{TSE} w przypadku chociaż jednej postaci TSE.

Kategoria IC: Tkanki o niewykrywalnej zakaźności: tkanki, w przypadku których w czasie badań nie wykryto jakiegokolwiek zakaźności lub wyniki badań w kierunku PrP^{TSE} były ujemne.

Tkanki kategorii IA i substancje z nich pochodzące nie powinny być stosowane do wytwarzania produktów leczniczych, z wyjątkiem uzasadnionych sytuacji (zob. sekcja 5).

Chociaż jest prawie pewne, że kategoria tkanek o niższej zakaźności (kategoria tkanek IB) obejmuje niektóre tkanki (np. krew) o niższym ryzyku niż inne (np. tkanki limforetykularne), dane o poziomach infekcyjności w tych tkankach są zbyt ograniczone, by dodatkowo podzielić kategorię na różne poziomy ryzyka. Oczywiście jest również, że umieszczenie danej tkanki w takiej lub innej kategorii może zależeć od choroby i gatunku oraz podlegać przeglądowi w przypadku pojawienia się nowych danych.

Przy ocenie ryzyka (zob. sekcja 4) producenci lub posiadacze pozwoleń na dopuszczenie do obrotu lub osoby wnioskujące o takie pozwolenia muszą uwzględniać tabele klasyfikacji tkanek znajdujące się w załączniku do niniejszych wytycznych.

Kategorie zawarte w tabelach są wyłącznie orientacyjne i należy zwrócić uwagę na następujące punkty:

- w niektórych sytuacjach może dojść do **zanieczyszczenia krzyżowego** tkanek o różnej kategorii zakaźności. Na potencjalne ryzyko wpływ będą mieć warunki, w jakich tkanki były pobierane, szczególnie w przypadku kontaktu tkanek o niższej zakaźności lub z niewykrywalną zakaźnością (kategorie tkanek IB i IC) z tkankami o wysokiej zakaźności (kategoria tkanek IA). Dlatego zanieczyszczenia krzyżowe pewnych tkanek mogą występować częściej w przypadku uboju zakażonych zwierząt przez ogłuszenie (penetrujące lub niepenetrujące) lub w przypadku przepiłowania mózgu lub rdzenia kręgowego. Ryzyko zanieczyszczenia krzyżowego maleje, jeżeli płyny ustrojowe zbierane są z minimalnym uszkodzeniem tkanek, składniki komórkowe są usuwane, a krew płodowa jest zbierana bez zanieczyszczenia innymi tkankami matki lub płodu, w tym z łożyska, płynów owodniowych i omocznionych. W przypadku niektórych tkanek ochrona przed zanieczyszczeniem krzyżowym tkankami kategorii IA (np. czaszka) jest bardzo trudna lub niemożliwa. Należy to uwzględnić w ocenie ryzyka,

- w odniesieniu do pewnych grup substancji stosowane **techniki ogłuszania/uboju** mogą mieć znaczenie dla określenia potencjalnego ryzyka ⁽²¹⁾ ze względu na prawdopodobieństwo przedostania się cząsteczek mózgu do organów obwodowych, w szczególności do płuc. Techniki ogłuszania/uboju, a także procedury usuwania tkanek o wysokiej zakaźności należy opisać. Szczegółowo należy również opisać procedury pobierania tkanek/organów zwierzęcych do wykorzystania oraz środki mające na celu zapobieganie zanieczyszczeniu krzyżowemu materiałem wysokiego ryzyka,
- ryzyko zanieczyszczenia tkanek i narządów materiałem potencjalnie BSE-zakaźnym, pochodzącym z ośrodkowego układu nerwowego, w następstwie zastosowania metody ogłuszania stosowanej przy uboju bydła zależy od następujących czynników:
 - ilości zakażonego czynnikiem BSE materiału w mózgu zwierząt poddanych ubojowi,
 - stopnia uszkodzenia mózgu,
 - rozsiania cząsteczek mózgu w ciele zwierzęcia.

Czynniki te należy uwzględniać w powiązaniu z klasyfikacją OIE/GBR zwierząt, z których pobrano materiał, z wiekiem zwierząt w przypadku bydła i z badaniami poubojowymi bydła przy zastosowaniu zwalidowanych metod.

Wskazane powyżej podstawowe zasady powinny być również stosowane w odniesieniu do owiec i kóz.

Ryzyko związane z zanieczyszczeniem krzyżowym będzie zależęć od kilku dodatkowych czynników, w tym:

- środków przyjętych w celu uniknięcia zanieczyszczenia podczas pobierania tkanek (zob. powyżej),
- poziomu zanieczyszczenia (ilość tkanki zanieczyszczonej),
- ilości i typu materiałów zebranych w tym samym czasie.

Producenci lub posiadacze pozwoleń na dopuszczenie do obrotu lub osoby wnioskujące o takie pozwolenia powinni wziąć pod uwagę ryzyko związane z zanieczyszczeniem krzyżowym.

3.4. Wiek zwierząt

Ponieważ zakaźność TSE narasta u bydła w okresie inkubacji trwającym kilka lat, bezpieczniejsze jest pobieranie materiału od młodych zwierząt.

Obecność zakażonego materiału odnotowano głównie w ośrodkowym układzie nerwowym i powiązanych tkankach

⁽²¹⁾ Opinia SSC w sprawie metod ogłuszania i ryzyka BSE (Ryzyko przedostania się cząsteczek mózgu do krwi i tuszy zwierzęcej przy zastosowaniu niektórych metod ogłuszania – *The risk of dissemination of brain particles into the blood and carcass when applying certain stunning methods*), przyjęta na posiedzeniu, które odbyło się w dniach 10–11 stycznia 2002 r., http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out245_en.pdf

Sprawozdanie grupy roboczej EFSA w sprawie ryzyka BSE wynikającego z przedostania się cząsteczek mózgu do krwi i tuszy zwierzęcych.

Pytanie nr EFSA-Q-2003-122, przyjęte w dniu 21 października 2004 r., http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178620777397.htm

oraz w układzie limforetykularnym, w zależności od czynnika TSE (BSE u bydła lub trzęsawka u owiec i kóz). Nie jest znany dokładny przebieg zakaźności w czasie, od momentu zakażenia, w odpowiednich częściach ciała i tkankach obu gatunków i w związku z tym trudno jest określić jasno wiek, powyżej którego poszczególne tkanki mogą zostać zakażone i nie powinny być pobierane. Początkowe zalecenie pobierania tkanek w jak najmłodszym wieku jest nadal ważne. Ponadto należy zauważyć, że kryteria wieku zależą również od pochodzenia geograficznego. Wiek jest ważniejszym parametrem odnośnie do materiałów z państw, w których ryzyko jest wyższe (państwa kategorii B i C), niż z państw o nieznacznym ryzyku wystąpienia BSE (państwa należące do kategorii A).

3.5. Proces wytwarzania

Ocena ogólnej redukcji ryzyka TSE w produktach leczniczych musi uwzględniać środki kontroli ustanowione w związku z:

- pochodzeniem surowców/materiałów wyjściowych, oraz
- procesem wytwarzania.

Kontrolowanie pochodzenia materiałów jest bardzo ważnym kryterium osiągnięcia dostatecznego bezpieczeństwa produktu w związku z udowodnioną odpornością czynników TSE na większość procedur inaktywacji.

System zapewnienia jakości, taki jak certyfikaty ISO 9000, HACCP ⁽²²⁾ lub GMP, musi zostać włączony w monitorowanie procesu wytwarzania i w opis serii (tzn. określenie serii, oddzielenie poszczególnych serii, czyszczenie między seriami). Należy wprowadzić procedury dla zapewnienia identyfikowalności oraz kontroli wewnętrznej oraz kontrolowania dostawców surowców/materiałów wyjściowych.

Niektóre procedury dotyczące procesu wytwarzania mogą w sposób znaczący przyczynić się do redukcji ryzyka zanieczyszczenia TSE, np. procedury stosowane przy wytwarzaniu pochodnych łożu (zob. sekcja 6). Ponieważ tak rygorystyczne procedury przetwarzania nie mogą być zastosowane w przypadku wielu produktów, procesy fizyczne, takie jak wytrącanie i sączenie, opierające się na usuwaniu materiału zawierającego duże ilości prionów, wydają się być bardziej odpowiednie niż metody chemiczne. Należy przedstawić opis procesu wytwarzania, w tym kontroli stosowanych podczas tego procesu, oraz omówić działania, które mogłyby przyczynić się do redukcji lub eliminacji zanieczyszczenia TSE. W przypadku gdy w proces produkcji włączone są różne zakłady, należy dokładnie określić działania podejmowane w każdym zakładzie. Należy opisać środki wprowadzone w celu zapewnienia identyfikowalności każdej serii produkcyjnej, z materiałem wyjściowym włącznie.

⁽²²⁾ Analiza Zagrożeń i Krytycznych Punktów Kontroli (ang. *Hazard Analysis Critical Control Point*).

Proces czyszczenia – Czyszczenie sprzętu do przetwarzania, mające na celu usunięcie czynników TSE, może być trudne do zwalidowania. Zgłoszono, że po kontakcie z preparatami zawierającymi wysokie miano TSE, nadal wykrywalne mogą być czynniki zakaźne związane z powierzchnią wykonaną ze stali nierdzewnej. Usunięcie wszystkich zaadsorbowanych białek poprzez zastosowanie 1 M wodorotlenku sodu lub środków dezynfekcyjnych wydzielających chlor (np. chlor 20 000 µg/g w czasie 1 h) zostało uznane za podejście do zaakceptowania w przypadku sprzętu, który nie może być zastąpiony i który został wystawiony na potencjalnie zanieczyszczony materiał. Poddanie łagodniejszej obróbce środkami zasadowymi o ograniczonym stężeniu lub stabilizowanym wybielaczem, jeśli zawierają odpowiednie detergenty i są stosowane w odpowiedniej temperaturze, wykazało podobną skuteczność w eliminacji prionów jak użycie klasycznego NaOH lub chloru. Równie skuteczny przy inaktywacji czynników TSE okazał się system oparty na nadtlenku wodoru w postaci gazowej. Te nowe sposoby obróbki są bardziej zgodne z delikatnymi materiałami i mogą być odpowiednie do praktycznych zastosowań⁽²³⁾.

Jeżeli podczas wytwarzania danego produktu stosowany jest materiał niosący ze sobą ryzyko zanieczyszczenia, muszą być wprowadzone procedury czyszczenia, w tym środki kontroli, w celu minimalizacji ryzyka zanieczyszczenia krzyżowego między seriami produkcyjnymi. Jest to szczególnie ważne w przypadku stosowania do produkcji, w tym samym zakładzie produkcyjnym i na tych samych urządzeniach, materiałów zaliczanych do różnych kategorii ryzyka. W przypadku użycia do wytwarzania produktu materiałów kategorii IA należy zastosować sprzęt przeznaczony do tego celu, z wyjątkiem uzasadnionych sytuacji.

Należy wykonać dodatkowe badania, aby opracować i walidować nowe procedury unieszkodliwiania w celu zmniejszenia ryzyka skażenia krzyżowego materiału i urządzeń, które nie są zgodne z procedurami zalecanymi przez WHO.

Walidacja procesu usuwania/inaktywacji – Badania walidacyjne procedur usuwania/inaktywacji czynników TSE mogą być trudne do interpretacji. Niezbędne jest uwzględnianie właściwości celowo wprowadzanego materiału i jego zastosowania w rzeczywistej sytuacji, modelu badania (z uwzględnieniem procesów o mniejszej skali) oraz metody wykrywania czynnika (badania *in vitro* lub *in vivo*). Konieczne są dalsze badania, aby zrozumieć, jakie metody wprowadzania materiału zakaźnego są najbardziej odpowiednie dla badań walidacyjnych. Dlatego badania walidacyjne na ogół nie są obecnie wymagane. Jednak w przypadku gdy skargi związane z bezpieczeństwem produktu pod względem TSE opierają się na zdolności usuwania lub inaktywacji czynników TSE podczas procesu wytwarzania, muszą być one potwierdzone w drodze właściwych badań⁽²⁴⁾. Oprócz wyboru właściwego źródła pochodzenia materiałów producentów zachęca się do kontynuacji prac nad metodami usuwania i inaktywacji w celu ustalenia etapów/procesów, które sprzyjałyby zapewnieniu usuwania lub inaktywacji czynników TSE. W każdym razie proces wytwarzania, jeżeli to możliwe, powinien być przygotowany z uwzględnieniem

dostępnych informacji o metodach uznawanych za skuteczne w inaktywacji lub usuwaniu czynników TSE.

W przypadku niektórych rodzajów produktów (zob. sekcja 6.3 „Produkty pochodne krwi bydłowej”), jeśli walidowane metody usuwania lub inaktywacji nie są łatwe do zastosowania, może być wymagana ocena procesu. Powinna ona powstać na podstawie materiału wyjściowego i wszelkich opublikowanych danych dotyczących ryzyka TSE.

4. OCENA RYZYKA MATERIAŁÓW LUB SUBSTANCJI STOSOWANYCH DO WYTWARZANIA I PRZYGOTOWYWANIA PRODUKTÓW LECZNICZYCH W KONTEKŚCIE ZGODNOŚCI PRAWNEJ

Ocena ryzyka związana z TSE wymaga dokładnego uwzględnienia wszystkich parametrów wskazanych w sekcji 3.1 (Naukowe zasady zmniejszania ryzyka).

Jak wskazano we wprowadzeniu do niniejszych wytycznych, zgodność z przepisami prawnymi opiera się na korzystnym wyniku oceny ryzyka. Prowadzone przez producentów lub posiadaczy pozwoleń na dopuszczenie do obrotu lub osoby wnioskujące o takie pozwolenia oceny ryzyka różnych materiałów lub substancji pochodzących z „gatunków najbardziej narażonych na zakażenie TSE” wykorzystywanych do produkcji produktów leczniczych powinny potwierdzać, że wszystkie czynniki ryzyka związane z TSE zostały uwzględnione oraz że, tam gdzie to możliwe, ryzyko zostało zminimalizowane dzięki zastosowaniu zasad opisanych w niniejszych wytycznych. Certyfikaty spełnienia wymagań ze względu na TSE wydane przez EDQM mogą być stosowane przez posiadaczy pozwoleń na dopuszczenie do obrotu lub osób wnioskujących o takie pozwolenia jako podstawa ocen ryzyka.

Ogólna ocena ryzyka w odniesieniu do produktów leczniczych, prowadzona przez posiadaczy pozwoleń na dopuszczenie do obrotu lub osób wnioskujących o takie pozwolenia musi uwzględniać ocenę ryzyka w odniesieniu do wszelkich materiałów pochodzących od „gatunków najbardziej narażonych na zakażenie TSE” i, tam gdzie to właściwe, redukcję lub inaktywację na kolejnych etapach produkcji substancji czynnej lub produktu końcowego.

Ostateczne określenie zgodności z przepisami prawnymi pozostaje w gestii właściwego organu.

Obowiązek wyboru i uzasadnienia środków kontroli zastosowanych w odniesieniu do materiałów pochodzących od „gatunków najbardziej narażonych na zakażenie TSE” spoczywa na wytwórcach lub posiadaczach pozwoleń na dopuszczenie do obrotu/wnioskodawcach zarówno dla produktów leczniczych stosowanych u ludzi, jak i weterynaryjnych produktów leczniczych, z uwzględnieniem najnowszych osiągnięć naukowych i technicznych.

5. OCENA KORZYŚCI DO RYZYKA

Oprócz parametrów określonych w sekcji 3 (które mogą być ujęte w certyfikatach spełnienia wymagań ze względu na TSE wydanych przez EDQM) i 4 akceptacja danego produktu leczniczego, zawierającego materiał pochodzący od „gatunków najbardziej narażonych na zakażenie TSE” lub mogącego zawierać taki materiał w wyniku produkcji, powinna zależeć od następujących czynników:

- drogi podania produktu leczniczego,
- ilości materiału zwierzęcego zastosowanego w produkcji leczniczym,

⁽²³⁾ Wytyczne WHO dotyczące rozmieszczenia zakaźności w tkankach w pasażowalnych encefalopatiach gąbczastych (WHO Guidelines on Tissue Infectivity Distribution in Transmissible Spongiform Encephalopathies) (2006), <http://www.who.int/bloodproducts/tse/WHO%20TSE%20Guidelines%20FINAL-22%20JuneupdatedNL.pdf>

⁽²⁴⁾ Wytyczna dotycząca badań nad procesem produkcji produktów leczniczych pochodzących z osocza odnośnie do ryzyka vCJD (Guideline on the investigation of manufacturing process for plasma-derived medicinal products with regard to vCJD risk) CPMP/BWP/5136/03.

- maksymalnej wielkości dawki leczniczej (dzienna dawka i czas trwania leczenia),
- zamierzonego zastosowania produktu leczniczego i jego korzyści klinicznych,
- obecności bariery między gatunkami.

Tkanki o wysokiej zakaźności (tkanki kategorii IA) i substancje z nich pochodzące nie powinny być stosowane do wytwarzania produktów leczniczych, ich materiałów wyjściowych i produktów pośrednich (w tym substancji czynnych, substancji pomocniczych i odczynników), z wyjątkiem uzasadnionych sytuacji. Należy przedstawić uzasadnienie, dlaczego nie mogą zostać zastosowane żadne inne materiały. W tych wyjątkowych i uzasadnionych okolicznościach zastosowanie tkanek o wysokiej zakaźności mogłoby zostać wzięte pod uwagę do produkcji substancji czynnych, jeżeli po przeprowadzeniu oceny ryzyka określonej w sekcji 4 niniejszych wytycznych i po uwzględnieniu zamierzonego zastosowania klinicznego, wnioskujący o pozwolenie na dopuszczenie do obrotu może przedstawić pozytywną ocenę korzyści do ryzyka. Substancje pochodzące z materiałów kategorii IA, jeżeli ich zastosowanie jest uzasadnione, muszą być wyprodukowane ze zwierząt pochodzących z państw o nieznacznym ryzyku występowania BSE (kategoria A).

6. UWAGI SZCZEGÓLWE

Następujące materiały pozyskane od „gatunków najbardziej narażonych na zakażenie TSE” są uznawane za zgodne z niniejszymi wytycznymi, o ile spełniają przynajmniej warunki określone poniżej. Istotne informacje lub certyfikaty spełnienia wymagań wydane przez EDQM powinny być dostarczone przez wnioskującego o pozwolenie na dopuszczenie do obrotu lub posiadacza takiego pozwolenia.

6.1. Kolagen

Kolagen jest włóknistym białkiem, składnikiem tkanki łącznej ssaków.

W przypadku kolagenu należy dostarczyć dokumentację służącą do wykazania zgodności z niniejszymi wytycznymi z uwzględnieniem przepisów wymienionych w sekcjach 3–5. Ponadto należy zwrócić uwagę na następujące kwestie:

- w przypadku kolagenu produkowanego z kości zastosowanie mają warunki określone dla żelatyny (zob. poniżej). Proces produkcji kolagenu daje niższą zdolność inaktywacji niż proces produkcji żelatyny. Pochodzenie jest zatem krytycznym aspektem, który tym bardziej należy wziąć pod uwagę,
- kolagen wyprodukowany z takich tkanek jak skóry, skórki i ścięgna zazwyczaj nie stanowi wymiernego ryzyka TSE, pod warunkiem że podczas ich pobierania unika się zanieczyszczenia potencjalnie zakaźnym materiałem, np. rozlaną krwią lub tkankami ośrodkowego układu nerwowego. Dlatego też skóry stanowią bezpieczniejszy surowiec na potrzeby ludzkich implantów produkowanych z kolagenu. Jednakże zanieczyszczenie krzyżowe materiałem mózgowym powstałym podczas procesu uboju, który mógłby zaschnąć na powierzchni skór, byłoby trudne do

wyeliminowania. To kolejny aspekt, który należy wziąć pod uwagę przy ocenie bezpieczeństwa tego materiału źródłowego.

Niektóre etapy mogą być wspólne dla produkcji kolagenu i dla produkcji żelatyny, np. obróbka zasadami i siarczanem sodu, wodorotlenkiem wapnia i wodorotlenkiem sodu lub poddawanie działaniu enzymów. Nawet te wspólne etapy mogą jednak różnić się czasem trwania i warunkami pH, co może doprowadzić do znacznych różnic w ich zdolności inaktywacji. Producenci powinni przeprowadzić przynajmniej ocenę procesu na podstawie podobieństwa etapów produkcji kolagenu w porównaniu do znanych etapów inaktywacji w produkcji żelatyny, aby uzyskać dowody na bezpieczeństwo produktu. Oprócz różnic w przetwarzaniu istnieją również różnice w ostatecznym wykorzystaniu materiału i, w związku z tym, w ocenie ich ryzyka; podczas gdy żelatyna ma szerokie zastosowanie w podawaniu doustnym, kolagen stosuje się w formie implantów chirurgicznych. Również ten aspekt należy wziąć pod uwagę przy ostatecznej ocenie ryzyka.

6.2. Żelatyna

Żelatyna jest naturalnym białkiem, rozpuszczalnym, żelującym lub nieżelującym, otrzymanym w wyniku częściowej hydrolizy kolagenu wyprodukowanego z kości, skór i skórek zwierząt.

W przypadku żelatyny dokumentację wykazującą zgodność z niniejszymi wytycznymi należy dostarczyć z uwzględnieniem przepisów wymienionych w sekcjach 3–5. Ponadto należy zwrócić uwagę na następujące kwestie ⁽²⁵⁾:

(i) Zastosowane materiały źródłowe

Żelatyna zastosowana w produktach leczniczych może być wytwarzana z kości lub skór.

- *Skóry jako materiał wyjściowy* – w świetle obecnej wiedzy skóry użyte do produkcji żelatyny stanowią bezpieczniejszy materiał źródłowy niż kości. Jednakże zdecydowanie zaleca się wprowadzanie odpowiednich środków w celu uniknięcia zanieczyszczenia krzyżowego potencjalnie zakaźnymi materiałami podczas pobierania.
- *Kości jako materiał wyjściowy* – w przypadku wykorzystywania kości do produkcji żelatyny jakość materiałów wyjściowych jest dodatkowym parametrem, który należy poddać kontroli, aby zapewnić bezpieczeństwo produktu końcowego. Dlatego należy zastosować następujące zasady:
 1. Niezależnie od wieku bydła i państw pochodzenia z zebranych kości (surowce/materiał wyjściowy) należy usunąć czaszkę i rdzeń kręgowy z kości.
 2. Należy usunąć kręgi z surowców/materiałów wyjściowych pobranych z bydła w wieku ponad 30 miesięcy pochodzącego z państw o kontrolowanym lub nieustalonym ryzyku występowania BSE (kategorie B lub C).

⁽²⁵⁾ Na podstawie opinii Panelu naukowego ds. zagrożeń biologicznych EFSA w sprawie „Ilościowej oceny ryzyka BSE u ludzi spowodowanego żelatyną odnośnie do ryzyka rezydualnego BSE” (*Quantitative assessment of the human BSE risk posed by gelatine with respect to residual BSE risk*), *The EFSA Journal*, 312, (1-28), http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178620776107.htm

Wymogi odnośnie do wyboru materiałów źródłowych i produkcji są odpowiednie dla doustnej lub pozajelitowej żelatyny do stosowania u ludzi oraz w produktach leczniczych do celów weterynaryjnych.

3. Żelatyna do stosowania pozajelitowego może być produkowana jedynie z kości pochodzących z państw o niskim lub kontrolowanym ryzyku występowania BSE (odpowiednio, kategorie A i B). Żelatyna do stosowania doustnego może być produkowana jedynie z kości pochodzących z państw o niskim, kontrolowanym lub nieustalonym ryzyku występowania BSE (odpowiednio, kategorie A, B i C).
4. Żelatyna powinna być produkowana przy zastosowaniu jednej z metod produkcji opisanych poniżej.

(ii) Metody produkcji

- Skóry – nie wymaga się żadnych szczególnych środków w odniesieniu do warunków wytwarzania dla żelatyny produkowanej ze skór, pod warunkiem wprowadzenia środków kontroli w celu uniknięcia zanieczyszczenia krzyżowego, zarówno podczas pobierania skór, jak i procesu produkcji.
- Kości – jeżeli kości stosowane są jako materiał wyjściowy, metoda produkcji będzie drugim parametrem, który zapewni bezpieczeństwo żelatyny.
 - Żelatyna może być produkowana z kości pochodzących z państw o niskim, kontrolowanym lub nieustalonym ryzyku występowania BSE (kategorie A, B lub C), pobieranych zgodnie z warunkami opisanymi w sekcji 6.2 ppkt (i), przy zastosowaniu procesu produkcji z użyciem kwasów, zasad lub metody cieplnej/ciśnieniowej.
 - Proces produkcji powinien zostać wzięty pod uwagę podczas przeprowadzania oceny ryzyka zgodnie z opisem w sekcji 4 niniejszych wytycznych. Zarówno metody produkcji z użyciem kwasów, jak i zasad, dały porównywalne wyniki w ogólnej inaktywacji/usuwaniu zakaźności TSE podczas doświadczeń walidacyjnych dla żelatyny. Badania wykazały, że dodatkowa obróbka zasadowa (pH = 13, 2-godzinna) kości/oseiny dodatkowo zwiększa zdolność inaktywacji/usuwania zakaźności TSE w procesie produkcji. Pozostałe etapy produkcji, takie jak filtrowanie, chromatografia jonowymienna i sterylizacja UHT, również przyczyniają się do zapewnienia bezpieczeństwa żelatyny.
 - Typowy proces hydrolizy zasadowej polega na drobnym rozgniataniu kości, ich odtłuszczeniu przy użyciu gorącej wody i demineralizowaniu rozcieńczonym kwasem solnym (minimum 4 % i pH < 1,5) przez okres przynajmniej dwóch dni w celu uzyskania oseiny. Następnie następuje obróbka zasadowa nasyconym roztworem wapna gaszonego (pH przynajmniej 12,5) przez okres przynajmniej 20 dni.
 - Kości bydła mogą być również poddawane obróbce z użyciem kwasów. Etap wapnowania jest wówczas zastępowany wstępną obróbką kwasową oseiny przez min. 10 godzin w pH < 3,5.
 - Zarówno podczas obróbki kwasowej, jak i zasadowej następuje bardzo krótki etap obróbki cieplnej (sterylizacja)

zacja) w temperaturze min. 138 °C przez okres 4 sekund.

- Podczas obróbki cieplnej/ciśnieniowej osuszone, odtłuszczone i rozgniecione kości są poddane sterylizacji w autoklawie nasyconą parą wodną pod ciśnieniem powyżej 3 barów i w temperaturze co najmniej 133 °C, przynajmniej przez 20 minut, po czym następuje ekstrakcja białek gorącą wodą.

Końcowe etapy są podobne dla obróbki zasadowej, kwasowej i cieplnej/ciśnieniowej i obejmują ekstrakcję żelatyny, przemywanie, filtrowanie i zagęszczanie.

6.3. Krew bydłęca i produkty pochodne krwi bydłeczej

Płodowa surowica bydłęca jest powszechnie stosowana do prowadzenia hodowli komórek. Płodowa surowica bydłęca powinna być otrzymywana od płodów pobranych w rzeźniach od zdrowych krów cielnych nadających się do spożycia przez ludzi; macica powinna być całkowicie usunięta, a krew płodu zbierana w przeznaczonym do tego miejscu poprzez punkcję serca do zamkniętego systemu zbierania z zachowaniem zasad jałowości.

Surowicę nowonarodzonych cieląt otrzymuje się z cieląt w wieku poniżej 20 dni, a surowicę cielęcą od zwierząt w wieku poniżej 12 miesięcy. W przypadku surowicy bydłeczej, biorąc pod uwagę, że może ona pochodzić od zwierząt w wieku poniżej 36 miesięcy, negatywny status TSE stada dawcy powinien być dobrze określony i udokumentowany. We wszystkich przypadkach surowica powinna być pobierana zgodnie ze szczegółowymi protokołami przez przeszkolony w tych procedurach personel w celu uniknięcia zanieczyszczenia krzyżowego tkankami o wysokim ryzyku.

W przypadku krwi bydłeczej i produktów pochodnych krwi bydłeczej należy dostarczyć dokumentację potwierdzającą zgodność z niniejszymi wytycznymi, uwzględniającą przepisy wymienione w sekcjach 3–5. Ponadto należy zwrócić uwagę na następujące kwestie:

(i) Identyfikowalność

W odniesieniu do każdej partii surowicy lub osocza należy zapewnić możliwość identyfikowalności rzeźni. Rzeźnie muszą dysponować wykazami gospodarstw, z których pochodzą zwierzęta. Jeżeli surowica otrzymywana jest od żywych zwierząt, dla każdej partii surowicy powinny być dostępne dane umożliwiające identyfikowalność gospodarstwa.

(ii) Pochodzenie geograficzne

Chociaż zakaźność tkanek czynnikiem BSE bydła jest bardziej ograniczona niż zakaźność trzęsawką, ze względów bezpieczeństwa krew bydłęca musi pochodzić z państw należących do kategorii A. Krew bydłęca pochodząca z państw należących do kategorii B jest również dopuszczalna, pod warunkiem że nie ma ryzyka zanieczyszczenia krzyżowego krwi z materiałem mózgowym z uboju zwierząt w wieku powyżej 21 miesięcy ⁽²⁶⁾.

⁽²⁶⁾ Opinia Panelu naukowego ds. zagrożeń biologicznych w sprawie oceny granicy wieku bydła w przypadku pobierania materiałów szczególnego ryzyka (Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on the assessment of the age limit in cattle for the removal of certain Specified Risk Materials (SRM)). Pytanie nr EFSA-Q-2004-146, przyjęte w dniu 28 kwietnia 2005 r.

(iii) Metody ogłuszania

Jeżeli materiał jest pobierany od zwierząt poddanych ubojowi, metoda uboju ma znaczenie dla zapewnienia bezpieczeństwa materiału. Wykazano, że ogłuszanie za pomocą pistoletu bolcowego, z miażdżeniem ośrodkowego układu nerwowego lub nie, a także za pomocą ogłuszacza pneumatycznego, w szczególności jeżeli wstrzykuje on powietrze, może zniszczyć mózg i spowodować przedostanie się materiału mózgowego do krwi. Ogłuszanie niepenetrujące nie jest już uważane za alternatywę w stosunku do ogłuszania penetrującego, gdyż wykazano, że może prowadzić do zanieczyszczenia krwi materiałem mózgowym⁽²⁷⁾. Niewielkie ryzyko może wystąpić w przypadku zastosowania elektronarkozy⁽²⁸⁾, ale nawet ta metoda nie zapewnia całkowitego bezpieczeństwa, gdyż, w przypadku niepowodzenia, zwierzęta muszą zostać poddane dodatkowemu ogłuszeniu. W związku z powyższym w odniesieniu do procesu pobierania krwi bydlęcej metody ogłuszania muszą zostać opisane.

Jeśli nie można uniknąć ryzyka zanieczyszczenia krzyżowego krwi cząsteczkami mózgu przy rutynowym uboju w państwach o kontrolowanym ryzyku występowania BSE (kategoria B), należy zastosować środki bezpieczeństwa, takie jak ograniczenie wieku bydła lub zmniejszenie czynników zakaźnych podczas produkcji.

(iv) Wiek

W państwach o kontrolowanym ryzyku występowania BSE (kategoria B) w odniesieniu do krwi bydlęcej lub produktów pochodnych krwi bydlęcej należy stosować zapobiegawczą granicę wieku w wysokości 21 miesięcy, w przypadku gdy wytwórca nie może zapewnić znacznego zmniejszenia czynników TSE. Granica wieku w wysokości 30 miesięcy jest uznawana za wystarczającą dla produktów pochodnych krwi, jeśli można wykazać znaczne zmniejszenie czynników TSE, jak opisano poniżej.

(v) Zmniejszenie czynników TSE podczas wytwarzania

W przypadku pochodnych krwi zdolność procesu wytwarzania do zmniejszenia lub eliminacji czynników TSE powinna zostać oceniona na podstawie badań. Ocena może powstać na podstawie opublikowanych danych lub wewnętrznych posiadanych danych, o ile można wykazać, że takie dane są istotne do danego procesu wytwarzania. Jeśli nie można stwierdzić, że zdolność zmniejszania jest porównywalna, zaleca się, aby producenci przeprowadzili badania pod kątem konkretnego produktu. Badania wykorzystujące próby biochemiczne mogą okazać się wystarczające, jeśli istnieją dowody naukowe, że takie próby korelują z danymi dotyczącymi zakaźności. Sporządzono ogólne wytyczne dla prowadzenia badań nad zmniejszaniem czynników TSE⁽²⁹⁾. Preparaty zanieczyszczone materiałem mózgowym są odpowiednie do badań sprawdzających ryzyko ze strony krwi zanieczyszczonej cząstkami mózgu.

Tabela 1

Koncepcja zatwierdzania krwi/surowicy bydlęcej i ich produktów pochodnych

Produkt	Płodowa surowica bydlęca	Surowica cielęcina dawcy	Surowica bydlęca od dorosłego dawcy	Surowica cielęcina	Surowica /osocze dorosłego dawcy	Surowica/osocze/ produkt pochodny surowicy dorosłego dawcy	Produkt pochodny surowicy dorosłego dawcy	Produkt pochodny surowicy dorosłego dawcy	
Pochodzenie geograficzne bydła	Kat. A i B	Kat. A i B	Kat. A i B ⁽¹⁾	Kat. A i B	Kat. A	Kat. B	Kat. A	Kat. B	
Wiek bydła	nienarodzone	< 1 rok	< 36 miesięcy	< 1 rok	bez ograniczeń	< 21 miesięcy ⁽²⁾	bez ograniczeń	< 30 miesięcy	
Zanieczyszczenie przy uboju/ zanieczyszczenie krzyżowe krwi materiałem OUN	Brak ryzyka zanieczyszczenia krzyżowego			Ryzyko zanieczyszczenia krzyżowego					
Wykazanie zmniejszenia ilości prionów podczas wytwarzania	Nie			Nie					Tak ⁽³⁾

⁽¹⁾ W przypadku pochodzenia z państw kategorii B bydło powinno pochodzić z dobrze określonych i udokumentowanych stad.

⁽²⁾ Można zezwolić na wyższy wiek, jeśli można wyraźnie wykluczyć zanieczyszczenie krzyżowe krwi materiałem OUN (np. ubój halal).

⁽³⁾ Wykazanie zmniejszenia ilości prionów może nie być wymagane, jeśli można wyraźnie wykluczyć zanieczyszczenie krzyżowe krwi materiałem OUN (np. ubój halal).

6.4. Produkty pochodne łoju

Łój jest tłuszczem otrzymany z tkanek, w tym z obszarów podskórnych i śródmięśniowych, z jamy brzusznej oraz z kości. Łój używany jako materiał wyjściowy do wytwarzania

produktów pochodnych łoju musi należeć do „kategorii 3 lub kategorii równoważnej”, jak określono w rozporządzeniu (WE) nr 1774/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 3 października 2002 r. ustanawiającego przepisy sanitarne dotyczące produktów ubocznych pochodzenia zwierzęcego nieprzeznaczonych do spożycia przez ludzi.

Produkty pochodne łoju, takie jak glicerol i kwasy tłuszczowe, wytwarzane z łoju w trakcie rygorystycznych procesów, są

⁽²⁷⁾ Wytyczne WHO dotyczące rozmieszczenia zakaźności w tkankach w pasażalnych encefalopatiach gąbczastych (*WHO Guidelines on Tissue Infectivity Distribution in Transmissible Spongiform Encephalopathies*) (2006), <http://www.who.int/bloodproducts/tse/WHO%20TSE%20Guidelines%20FINAL-22%20JuneupdatedNL.pdf>

⁽²⁸⁾ Sprawozdanie grupy roboczej EFSA w sprawie ryzyka BSE wynikającego z przedostania się cząsteczek mózgu do krwi i tusz zwierzęcych. Pytanie nr EFSA-Q-2003-122, przyjęte w dniu 21 października 2004 r., http://www.efsa.europa.eu/en/science/biohaz/biohaz_opinions/opinion_annexes/733.html

⁽²⁹⁾ Wytyczne dotyczące badań nad procesem wytwarzania produktów leczniczych pochodzących z osocza odnośnie do ryzyka vCDJ (*Guideline on the investigation of manufacturing process for plasma-derived medicinal products with regard to vCDJ risk*) CPMP/BWP/5136/03.

przedmiotem szczególnej uwagi CPMP i CVMP, a ich zakaźność jest mało prawdopodobna. Z tego względu materiały takie, wytwarzane w warunkach przynajmniej tak rygorystycznych jak podane poniżej, powinny być uważane za zgodne z niniejszymi wytycznymi, niezależnie od pochodzenia geograficznego i charakteru tkanek, z których pochodzą produkty pochodne łożu. Przykładami takich rygorystycznych procesów są:

- transestryfikacja lub hydroliza pod ciśnieniem w temperaturze co najmniej 200 °C przez przynajmniej 20 minut (produkcja glicerolu, kwasów tłuszczowych i estrów kwasów tłuszczowych),
- zmydlanie NaOH 12 M (produkcja glicerolu i mydła):
 - proces wsadowy: w temperaturze co najmniej 95 °C przez przynajmniej 3 godziny,
 - proces ciągły: w temperaturze co najmniej 140 °C, pod ciśnieniem przez co najmniej 8 minut, lub w podobnych warunkach,
- destylacja w temperaturze 200 °C.

Jest mało prawdopodobne, by produkty pochodne łożu wytworzone zgodnie z tymi warunkami obarczone były ryzykiem TSE, w związku z tym powinny być uważane za zgodne z niniejszymi wytycznymi.

Produkty pochodne łożu wytwarzane w innych warunkach muszą być zgodne z niniejszymi wytycznymi.

6.5. Zwierzęcy węgiel aktywny

Zwierzęcy węgiel aktywny otrzymywany jest przez zwęglanie tkanek zwierzęcych, takich jak kości, przy zastosowaniu temperatury powyżej 800 °C. O ile nie uzasadniono inaczej, materiał wyjściowy do produkcji zwierzęcego węgla aktywnego musi należeć do „kategorii 3 lub kategorii równoważnej”, jak określono w rozporządzeniu (WE) nr 1774/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 3 października 2002 r. ustanawiającego przepisy sanitarne dotyczące produktów ubocznych pochodzenia zwierzęcego nieprzeznaczonych do spożycia przez ludzi. Niezależnie od pochodzenia geograficznego i charakteru tkanek, do celów zgodności z przepisami prawnymi, zwierzęcy węgiel aktywny powinien być uważany za zgodny z niniejszymi wytycznymi.

Jest mało prawdopodobne, by zwierzęcy węgiel aktywny wytwarzany zgodnie z tymi warunkami obarczony był ryzykiem TSE, w związku z tym powinien być uważany za zgodny z niniejszymi wytycznymi. Zwierzęcy węgiel aktywny wytwarzany w innych warunkach musi być zgodny z niniejszymi wytycznymi.

6.6. Mleko i produkty pochodne mleka

W świetle obecnej wiedzy naukowej i niezależnie od pochodzenia geograficznego prawdopodobieństwo, że mleko krowie jest obarczone ryzykiem TSE, jest niewielkie ⁽³⁰⁾.

Niektóre materiały, w tym laktoza, są ekstrahowane z serwatki, płynu pozostałego po koagulacji w czasie produkcji sera. Koagulacja może być przeprowadzana z użyciem podpuszczki cielęcej, wyciągu z trawieńca lub podpuszczki pochodzącej od innych przeżuwaczy. CHMP/CVMP przeprowadziły ocenę ryzyka w odniesieniu do laktozy i innych produktów pochodnych serwatki otrzymanych przy użyciu podpuszczki cielęcej i stwierdziły, że ryzyko TSE jest bardzo małe, jeżeli podpuszczka cielęca jest wytwarzana zgodnie z procesem opisanym w sprawozdaniu z oceny ryzyka ⁽³¹⁾. Wnioski zostały przyjęte przez SSC ⁽³²⁾, który również dokonał ogólnej oceny ryzyka TSE w odniesieniu do podpuszczki ⁽³³⁾.

W przypadku produktów pochodnych mleka krowiego, wytwarzanych zgodnie z warunkami określonymi poniżej, ryzyko TSE jest bardzo małe i dlatego będą one uważane za zgodne z niniejszymi wytycznymi:

- mleko pozyskiwane jest od zdrowych zwierząt w tych samych warunkach, co mleko zebrane do spożycia przez ludzi, oraz
- żadne inne materiały pochodzące od przeżuwaczy, z wyjątkiem podpuszczki cielęcej, nie są używane do wytwarzania takich produktów pochodnych (np. trzustkowy enzym trawienny kazeiny).

Produkty pochodne mleka wytworzone przy zastosowaniu innych procesów lub podpuszczki pochodzącej od innych gatunków przeżuwaczy muszą być zgodne z niniejszymi wytycznymi.

6.7. Produkty pochodne wełny

Produkty pochodne wełny i sierści przeżuwaczy, takie jak lanolina i alkohole lanolinowe pochodzące z sierści, powinny być uważane za zgodne z niniejszymi wytycznymi, pod warunkiem że wełna i sierść pochodzą od żywych zwierząt.

⁽³⁰⁾ Dla mleka i produktów pochodnych mleka małych przeżuwaczy zob. opinię EFSA w sprawie pytania nr EFSA-Q-2008-310, przyjętą 22 października 2008 r., <http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/scdoc/849.htm>

⁽³¹⁾ Komitet ds. Produktów Leczniczych Stosowanych u Ludzi i jego Grupa Robocza ds. Biologii i Biotechnologii przeprowadziły ocenę ryzyka i ocenę zgodności z przepisami w odniesieniu do laktozy przygotowanej z zastosowaniem podpuszczki cielęcej. Ocena ryzyka objęła źródło pochodzenia zwierząt, wycięcie trawieńców i dostępność dobrze określonych procedur zapewnienia jakości. Jakość preparatów mlekozastępczych stosowanych jako pasza dla zwierząt, z których otrzymuje się trawieńce, jest szczególnie ważna. Sprawozdanie znajduje się na stronie <http://www.ema.europa.eu/pdfs/human/press/pus/057102.pdf>

⁽³²⁾ Tymczasowe oświadczenie w sprawie bezpieczeństwa podpuszczki cielęcej do produkcji laktozy, przyjęte przez SSC na spotkaniu dnia 4–5 kwietnia 2002 r. (http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out255_en.pdf).

⁽³³⁾ SSC wydał opinię w sprawie bezpieczeństwa podpuszczki zwierząt w związku z ryzykiem TSE i BSE u zwierząt w szczególności, przyjętą na posiedzeniu w dniu 16 maja 2002 r. (http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out265_en.pdf).

Jest mało prawdopodobne, aby produkty pochodne wełny wytworzone z wełny pochodzącej od zwierząt poddanych ubojowi uznanych za „nadające się do spożycia przez ludzi”, których proces wytwarzania (pH, temperatura i czas trwania obróbki) spełnia przynajmniej jeden z ustalonych warunków obróbki wymienionych poniżej, obarczone były ryzykiem TSE. Powinny być zatem uważane za zgodne z niniejszymi wytycznymi.

- Obróbka przy pH ≥ 13 (początkowe; odpowiada stężeniu NaOH przynajmniej 0,1 M) przy ≥ 60 °C przez przynajmniej 1 godzinę. Dzieje się to zazwyczaj podczas zwrotnego etapu obróbki zasadami organicznymi.
- Destylacja cząsteczkowa przy ≥ 220 °C przy zmniejszonym ciśnieniu.

Produkty pochodne wełny wytworzone w innych warunkach muszą być zgodne z niniejszymi wytycznymi.

6.8. Aminokwasy

Aminokwasy mogą być otrzymane przez hydrolizę materiałów pochodzących z różnych źródeł.

O ile nie uzasadniono inaczej, materiał wyjściowy do wytwarzania aminokwasów musi należeć do „kategorii 3 lub kategorii równoważnej”, jak określono w rozporządzeniu (WE) nr 1774/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 3 października 2002 r. ustanawiającego przepisy sanitarne dotyczące produktów ubocznych pochodzenia zwierzęcego nieprzeznaczonych do spożycia przez ludzi.

Istnieje małe prawdopodobieństwo, aby aminokwasy wytwarzane zgodnie z następującymi warunkami obarczone były ryzykiem TSE, w związku z tym powinny być uważane za zgodne z niniejszymi wytycznymi.

- Aminokwasy produkowane ze skór i skórek w procesie, który polega na poddaniu materiału działaniu pH 1–2, a następnie pH > 11 , po czym następuje obróbka cieplna w temperaturze 140 °C przez 30 minut pod ciśnieniem 3 barów,

— powstałe aminokwasy lub peptydy po wyprodukowaniu muszą zostać poddane filtracji, oraz

- przeprowadzana jest analiza za pomocą zwalidowanej i czulej metody, która służy sprawdzeniu, czy pozostałe nienaruszone makrocząsteczki nie przekraczają wyznaczonego limitu.

Aminokwasy wytworzone w innych warunkach muszą być zgodne z niniejszymi wytycznymi.

6.9. Peptony

Peptony są częściowymi hydrolizatami białek, powstałymi w wyniku wytrawiania enzymami lub kwasami. Są stosowane w mikrobiologicznych pożywkach hodowlanych dostarczając składniki odżywcze mikroorganizmom, które mogą być używane jako materiał posiewowy lub w fermentacjach na skalę przemysłową w procesie wytwarzania produktów leczniczych stosowanych u ludzi i weterynaryjnych produktów leczniczych, w tym szczepionek. Istnieje duże zainteresowanie zastosowaniem białka roślinnego jako alternatywy dla białek pochodzenia zwierzęcego. Jednak:

- w przypadku użycia żelatyny jako białkowego materiału wyjściowego odsyła się do sekcji 6.2 niniejszych wytycznych „Żelatyna”,
- w przypadku użycia kazeiny jako białkowego materiału wyjściowego odsyła się do sekcji 6.6 niniejszych wytycznych „Mleko i produkty pochodne mleka”,
- w przypadku gdy jako białkowego materiału wyjściowego używa się tkanki „gatunków najbardziej narażonych na zakażenie TSE”, tkanka musi pochodzić od zwierząt nadających się do spożycia (zob. sekcja 3.2 niniejszych wytycznych „Zwierzęta będące źródłem choroby”), których wiek nie przekracza 30 miesięcy dla bydła pochodzącego z państw o kontrolowanym ryzyku występowania BSE (kategoria B). Wiek zwierząt odgrywa niewielką rolę w przypadku zwierząt pochodzących z państw o nieznacznym ryzyku wystąpienia BSE (kategoria A).

ZAŁĄCZNIK

Główne kategorie zakaźności

Poniższe tabele pochodzą z Wytycznych WHO dotyczących rozmieszczenia zakaźności w tkankach w pasażowalnych encefalopatiach gąbczastych (*WHO Guidelines on Tissue Infectivity Distribution in Transmissible Spongiform Encephalopathies*) (2010).

Dane zostały przedstawione w następujący sposób:

- + Obecność zakaźności lub PrP^{TSE}
- Brak wykrywalnej zakaźności lub PrP^{TSE}

NB Nie badano

? Wyniki sporne lub niepewne

Kategoria IA: Tkanki o wysokiej zakaźności

Tkanka	Bydło		Owce i kozy		Łosie i jelenie	
	BSE		Trzęsawka owiec		Przewlekła choroba wyniszczająca	
	Zakaźność (1)	PrP ^{TSE}	Zakaźność (1)	PrP ^{TSE}	Zakaźność (1)	PrP ^{TSE}
Mózg	+	+	+	+	+	+
Rdzeń kręgowy	+	+	+	+	NB	+
Siatkówka	+	NB	NB	+	NB	+
Nerw wzrokowy (2)	+	NB	NB	+	NB	+
Zwoje rdzeniowe	+	+	+	+	NB	+
Zwoje trójdzielne	+	+	NB	+	NB	-
Przysadka mózgowa (3)	-	NB	+	+	NB	+
Opona twarda (3)	NB	NB	NB	NB	NB	NB

Kategoria IB: Tkanki o niższej zakaźności

Tkanka	Bydło		Owce i kozy		Łosie i jelenie	
	BSE		Trzęsawka owiec		Przewlekła choroba wyniszczająca	
	Zakaźność (1)	PrP ^{TSE}	Zakaźność (1)	PrP ^{TSE}	Zakaźność (1)	PrP ^{TSE}
<i>Obwodowy układ nerwowy</i>						
Nerwy obwodowe	+	+	+	+	NB	+
Zwoje autonomiczne (4)	NB	+	NB	+	NB	+
<i>Tkanki limforetikularne</i>						
Śledziona	-	-	+	+	NB	+
Węzły chłonne	-	-	+	+	NB	+

Tkanka	Bydło		Owce i kozy		Łosie i jelenie	
	BSE		Trzęsawka owiec		Przewlekła choroba wyniszczająca	
	Zakaźność (1)	PrP ^{TSE}	Zakaźność (1)	PrP ^{TSE}	Zakaźność (1)	PrP ^{TSE}
Migdałek	+	–	+	+	NB	+
Migotka (trzecia powieka)	+	–	[+]	+	NB	+
Grasica	–	NB	+	+	NB	–
<i>Układ pokarmowy (5)</i>						
Przełyk	–	NB	[+]	+	NB	+
Przedżołądek (6) (tylko przeżuwacze)	–	NB	[+]	+	NB	+
Żołądek/trawieniec	–	NB	[+]	+	NB	+
Dwunastnica	–	–	[+]	+	NB	+
Jelito czcze (7)	–	+	[+]	+	NB	NB
Jelito kręte (7)	+	+	+	+	NB	+
Wyrostek robaczkowy	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Jelito grube/jelito ślepe (7)	–	–	+	+	NB	+
Odbytnica	NB	NB	NB	+	NB	+
<i>Tkanki rozrodcze</i>						
Łożysko (8)	–	NB	+	+	NB	–
Jajnik (3)	–	NB	–	–	NB	–
Macica (3)	–	NB	–	–	NB	–
<i>Inne tkanki</i>						
Gruzoł mleczny/ wymię (9)	–	NB	–	+	NB	NB
Skóra (3), (10)	–	NB	–	+	[+]	[+]
Tkanka tłuszczowa	–	NB	NB	NB	[+]	NB
Serce/osierdzie	–	NB	–	NB	NB	+
Płuco	–	NB	–	–	NB	+
Wątroba (3)	–	NB	+	–	NB	–
Nerka (3), (11)	–	–	[+]	+	NB	+
Nadnercza	[+]	+	+	–	NB	+
Trzustka (3)	–	NB	+	NB	NB	+

Tkanka	Bydło		Owce i kozy		Łosie i jelenie	
	BSE		Trzęsawka owiec		Przewlekła choroba wyniszczająca	
	Zakaźność (1)	PrP ^{TSE}	Zakaźność (1)	PrP ^{TSE}	Zakaźność (1)	PrP ^{TSE}
Szpik kostny (12)	(+)	NB	+	NB	NB	–
Mięsień szkieletowy (13)	[+]	NB	[+]	+	[+]	–
Język (14)	–	NB	[+]	+	NB	–
Naczynia krwionośne	–	NB	NB	+	NB	–
Błona śluzowa nosa (15)	–	NB	+	+	NB	+
Ślinianka	–	NB	+	NB	–	–
Rogówka (16)	NB	NB	NB	NB	NB	NB

Płyny ustrojowe, wydzieliny i odchody

Płyn mózgowo-rdzeniowy	–	NB	+	–	NB	NB
Krew (17)	–	?	+	?	+	?
Ślina	NB	NB	–	NB	+	[–]
Mleko (18)	–	–	+	[+]	NB	NB
Mocz (19)	–	NB	–	–	–[+]	[+]
Kał (19)	–	NB	–	NB	–[+]	NB

Kategoria IB: Tkanki o niższej zakaźności

Tkanka	Bydło		Owce i kozy		Łosie i jelenie	
	BSE		Trzęsawka owiec		Przewlekła choroba wyniszczająca	
	Zakaźność (1)	PrP ^{TSE}	Zakaźność (1)	PrP ^{TSE}	Zakaźność (1)	PrP ^{TSE}

Tkanki rozrodcze

Jądra	–	NB	–	–	NB	–
Prostata/najądrze/pęcherzyk nasienny	–	NB	–	–	NB	–
Nasienie	–	NB	–	–	NB	NB
Płyny łożyskowe	–	NB	NB	NB	NB	NB
Płód (20)	–	NB	–	–	NB	(–)
Zarodki (20)	–	NB	?	NB	NB	NB

Tkanka	Bydło		Owce i kozy		Łosie i jelenie	
	BSE		Trzęsawka owiec		Przewlekła choroba wyniszczająca	
	Zakaźność ⁽¹⁾	PrP ^{TSE}	Zakaźność ⁽¹⁾	PrP ^{TSE}	Zakaźność ⁽¹⁾	PrP ^{TSE}
<i>Tkanki mięśniowo-szkieletowe</i>						
Kość	–	NB	NB	NB	NB	NB
Ścięgno	–	NB	NB	NB	NB	NB
<i>Inne tkanki</i>						
Tkanka dziąsła	NB	NB	NB	NB	NB	NB
Miazga zębowa	NB	NB	NB	NB	NB	NB
Tchawica	–	NB	NB	NB	NB	–
Gruzoł tarczycy	NB	NB	–	NB	NB	–
<i>Płyny ustrojowe, wydzieliny i odchody</i>						
Siara ⁽²¹⁾	(–)	–	(?)	NB	NB	NB
Krew pępowinowa ⁽²¹⁾	–	NB	NB	NB	NB	NB
Pot	NB	NB	NB	NB	NB	NB
Łzy	NB	NB	NB	NB	NB	NB
Błona śluzowa nosa	NB	NB	NB	NB	NB	NB
Żółć	NB	NB	NB	NB	NB	NB

(1) Badania biologiczne dotyczące zakaźności w tkankach ludzkich były prowadzone u naczelnych lub myszy; badania biologiczne dotyczące zakaźności w tkankach bydła były prowadzone u bydła lub myszy; a większość badań biologicznych dotyczących zakaźności w tkankach owiec lub kóz było prowadzonych tylko na myszach. W przypadku owiec i kóz nie wszystkie wyniki są spójne dla obu gatunków; na przykład dwie kozy zaraziły się naturalnie BSE (a nie zaraziła się żadna owca) [Eurosurveillance, 2005, Jeffrey i in., 2006]. Podobnie większość wyników opisanych dla przewlekłej choroby wyniszczającej pochodziło z badania nad jeleniami i ustalenia te mogą być różne w przypadku łosi czy innych jeleniowatych.

(2) W eksperymentalnych modelach TSE wykazano, że nerw wzrokowy był drogą neuroinwazji i zawiera wysokie miano zakaźności.

(3) Nie zebrano żadnych doświadczalnych danych o zakaźności w ludzkiej przysadce mózgowej lub w oponie twardej dla wszystkich rodzajów ludzkiego TSE, ale skrawki opony twardej zwłok i hormon wzrostu pochodzący z przysadek mózgowych zwłok przeniosły chorobę na setki osób i dlatego muszą zostać włączone do kategorii tkanek wysokiego ryzyka. PrP^{TSE} wykryto za pomocą testu immunoblot w oponie twardej pacjenta dotkniętego vCJD, który zmarł w USA po niezwykle długim okresie inkubacji (zob. również tabela IB dla innych zakażanych tkanek: skóry, nerek, wątroby, trzustki, jajnika i macicy) [Notari i in., 2010]. Należy wspomnieć, że wcześniejsze badania licznych przypadków analizowanych w Zjednoczonym Królestwie wykazały, że wszystkie te tkanki nie wykazują zakaźności [Ironsides i in., 2002; Head i in., 2004].

(4) U bydła PrP^{TSE} jest obecny w sposób niespójny w splocie jelitowym w odległej części jelita krętego, ale immunohistochemiczne badania tkanki u jedyne w Japonii przypadku „zwierzęcia padłego na BSE” sugerują (choć niejednoznacznie) udział splotu błony mięśniowej jelita, przez jelito wąskie i grube [Kimura i Haritani, 2008].

(5) W vCJD, PrP^{TSE} ograniczony jest do tkanki limfatycznej występującej w obrębie przewodu pokarmowego i tkanki nerwowej (błony śluzowej, mięśnie i błona surowicza nie wykazują zakażenia).

(6) Przedzoidalaki przeżuwalcy (czepiec, żwacz i księgi) są powszechnie spożywane, podobnie jak żołądek właściwy (trawieniec). Trawieniec bydła (i czasami owiec) jest również źródłem podpuszczki.

(7) Kiedy użyto dużej dawki doustnej BSE do doświadczalnego zakażenia bydła wykryto zakaźność w połączeniu jelita krętego z jelitem ślepyim u transgenicznych myszy z nadekspresją genu PrP [za zgodą Dr. M. Groschupa]. PrP^{TSE} wykryto w niewielkiej ilości w tkankach limfatycznych jelita krętego [Terry i in., 2003] i wykryto przy jeszcze mniejszej częstotliwości w tkance limfatycznej jelita czczego bydła podobnie zakażonego drogą doustną [EFSA, 2009].

(8) Zgłoszono jeden przypadek przekazania sporadycznej infekcyjności CJD ze strony łożyska ludzkiego, który nigdy nie został potwierdzony i uznawany jest za niemożliwy.

(9) PrP^{TSE} został wykryty u owiec zakażonych trzęsawką, ale tylko tych cierpiących na chroniczne zapalenie wymion [Ligios i in., 2005].

(10) Badania nad chomikami zakażonymi doustnie trzęsawką wykazały, że odłożenie PrP^{TSE} w skórze dotyczyło początkowo małych tkanek nerwowych. Wskazano również, że ochronna warstwa skórna poroża porośnięta drobną sierścią (tzw. scypu) zakażonych przewlekłą chorobą wyniszczającą jeleni zawiera PrP^{TSE} i zakaźność [Angers i in., 2009].

(11) PrP^{TSE} wykryto w testach immunocytochemicznych w miedniczce nerkowej owcy zakażonej trzęsawką [Siso i in., 2006]; oraz w gruczole chłonnej w tkance łącznej stykającej się z miedniczką nerkową u mulaka zakażonego przewlekłą chorobą wyniszczającą [Fox i in., 2006].

- (1²) Jeden pozytywny wynik dla szpiku w wielokrotnych próbach przekazania od bydła, któremu doustnie podawano mózg zakażony BSE [Wells i in., 1999; Wells i in., 2005; Sohn i in., 2009].
- (1³) Homogenaty mięśni nie przeniosły choroby na ssaki z rzędu naczelnych od ludzi sporadycznie chorych na CJD lub na bydło od bydła z BSE. Jednakże zakażenie śródmózgowe homogenatu mięśnia podścięglistego (łącznie z elementami nerwowymi i limfatycznymi) od jednej krowy z klinicznym BSE przeniosło chorobę na transgeniczne myszy z nadekspresją genu PrP przy poziomach wskazującym na śladowe poziomy zakaźności [Buschmann i Groschup, 2005]. Ostatnie opublikowane i niepublikowane badania wykazały obecność PrP^{TSE} w mięśniach szkieletowych w modelach doświadczalnych trzęsawki i vCJD u gryzoni [Beekes i in., 2005], w doświadczalnym i naturalnym zakażeniu trzęsawką owiec i kóz [Andreoletti i in., 2004], u owiec, którym podano doustnie BSE [Andreoletti, niepublikowane dane] i u ludzi w sporadycznych, jatrogennych i innego rodzaju CJD [Glatzel i in., 2003; Kovacs i in., 2004; Peden i in., 2006]. Badania biologiczne mięśni u transgenicznych myszy z ekspresją genu PrP jeleniowatych udokumentowały zakaźność u młuka zakażonego przewlekłą chorobą wyniszczającą [Angers i in., 2006]; prowadzone są doświadczenia mające ustalić, czy wykrywalne PrP^{TSE} w innych formach TSE jest również związane z zakaźnością.
- (1⁴) U bydła badania biologiczne zakaźności w języku były negatywne, ale obecność zakaźności w migdałku podniebiennym wzbudziła niepokój odnośnie do możliwego zakażenia tkanki migdałkowej u podstawy języka, która nie może zostać usunięta przy uboju [Wells i in., 2005; EFSA, 2008]. U owiec naturalnie zakażonych trzęsawką, u 7 na 10 zwierząt wykryto PrP^{TSE} w języku [Casalone i in., 2005; Corona i in., 2006].
- (1⁵) Ograniczonych głównie do obszarów biorących udział w odbieraniu bodźców węchowych.
- (1⁶) Ponieważ tylko jeden przypadek jatrogennego CJD został z pewnością przypisany transplantacji rogówki wśród setek tysięcy biorców (jeden dodatkowy przypadek wydaje się prawdopodobny, a kolejny tylko możliwy), rogówka została uznana za tkankę niższego ryzyka; inne tkanki komory przedniej (soczewka, ciecz wodnista, tęczęwka, spojówka) zostały przetestowane z wynikiem negatywnym zarówno pod kątem vCJD, jak i innych ludzkich TSE, i nie istnieje żaden epidemiologiczny dowód, że były one związane z przeniesieniem choroby jatrogennej.
- (1⁷) Mnogość danych z badań zakaźności krwi przeprowadzanych na modelu doświadczalnym TSE u gryzoni została poszerzona w wyniku ostatnich badań dokumentujących zakaźność w krwi owiec zakażonych naturalnie występującą trzęsawką oraz owiec, u których dokonano transfuzji krwi od zakażonego TSE bydła [Huston i in., 2008]; jeleni zakażonych naturalnie występującą przewlekłą chorobą wyniszczającą [Mathiason i in., 2006]; oraz (z obserwacji epidemiologicznych) we frakcji czerwonych krwinek (obejmującej znaczne ilości zarówno osocza, jak i leukocytów) czterech dawców krwi w fazie przedklinicznej infekcji vCJD [zmienione w Brown, 2006; Hewitt i in., 2006]. Podanie czynnika VIII osocza miało również ewentualnie konsekwencje w subklinicznym przypadku vCJD u pacjenta chorego na hemofilię [Peden i in., 2010]. Nie wykazano, by krew przenosiła chorobę od człowieka z jakąkolwiek formą „klasycznego” TSE [Dorsey i in., 2009] lub od bydła z BSE (łącznie z krwią pępowinową cielęcia). Wiele laboratoriów stosujących nowe wysoko precyzyjne metody wykrywania PrP^{TSE} odnotowuje sukcesy w zakresie wielu ludzkich lub zwierzęcych TSE. Jednakże wiele z nich doświadczyło trudności w otrzymaniu powtarzalnych wyników odnośnie do osocza i nie jest jeszcze jasne, czy pozytywne wyniki oznaczają możliwość przenoszenia choroby, albo z powodu wyników fałszywie dodatnich albo „prawdziwych” wyników dodatnich, spowodowanych stężeniami PrP^{TSE} poniżej progu zakażenia. Ze względu na te uwagi (oraz fakt, że żadne dane nie są jeszcze dostępne odnośnie do ślepych testów próbek z naturalnie zakażonych ludzi lub zwierząt) grupa ekspertów uznała, że jeszcze zbyt wcześnie na ocenę ważności tych badań z wystarczającą pewnością, aby zapewnić negatywne lub pozytywne wnioski.
- (1⁸) Elementy świadczące o braku zakaźności w mleku bydła zakażonego BSE obejmują obserwacje epidemiologiczne w czasie i przestrzeni, które nie doprowadziły do wykrycia przenoszenia przez matkę na karmione przez długi czas cielęta; obserwacje kliniczne ponad setki cieląt karmionych przez zakażone krowy, u których nie rozwinęła się BSE; i doświadczalne obserwacje, że mleko od zakażonych krów hodowanych do wieku przekraczającego minimalny okres inkubacji nie spowodowało przeniesienia choroby po podaniu domózgowo lub doustnie myszom [Middleton i Barlow, 1993; Taylor i in., 1995]. PrP^{TSE} nie został również wykryty w mleku od bydła w okresie inkubacji BSE po doświadczalnym narażeniu doustnym [SEAC, 2005]. Niski poziom (μg do ng/L) normalnego PrP został jednak wykryty zarówno u zwierząt, jak i u ludzi [Franscini i in., 2006]. PrP^{TSE} został wykryty w gruczołach mlecznych owiec zakażonych trzęsawką cierpiących na chroniczne zapalenie wymion [Ligios i in., 2005] i niedawno zgłoszono, że mleko (które w niektórych przypadkach zawierało również siarę) owiec zakażonych trzęsawką przekazywało chorobę zdrowym zwierzętom [Konold i in., 2008; Lacroux i in., 2008].
- (1⁹) Mieszany materiał inokulacyjny złożony z moczu i kału od naturalnie zakażonych chroniczną chorobą wyniszczającą jeleni nie przekazał choroby w 18-miesięcznym okresie obserwacji po inokulacji zdrowych jeleni o heterozygotycznym (96 G/S) genotypie PRNP [Mathiason i in., 2006]. Podczas ostatnio przeprowadzonych badań biologicznych u transgenicznych myszy przekazano jednak chorobę zarówno przez mocz [Haley i in., 2009], jak i przez kał [Tamgüney i in., 2009]. Ponadto myszy z limfocytycznym zapaleniem nerek, które doświadczalnie zakażono trzęsawką wykazały zarówno PrP^{TSE}, jak i zakaźność w moczu, podczas badań biologicznych u myszy transgenicznych [Seeger i in., 2005]. Bardzo niskie poziomy infekcyjności wykryto również w moczu (i histologicznie normalnych nerkach) chomików doświadczalnie zakażonych trzęsawką [Gregori i Rohwer, 2007; Gonzalez-Romero i in., 2008]. W doświadczalnych modelach trzęsawki u chomików doustne podanie zakończyło się zakażonym kałem podczas badań biologicznych na transgenicznych myszach z nadekspresją genu PrP [Safar i in., 2008].
- (2⁰) Zarodki pochodzące od bydła dotkniętego BSE nie przeniosły choroby na myszy, ale nie przeprowadzono żadnych pomiarów zakaźności komórek płodowych cieląt innych niż krew (negatywny wynik badania biologicznego na myszach) [Fraser i Foster, 1994]. Cielęta narodzone z krów, które otrzymały embriony z bydła dotkniętego BSE, przeżyły okres obserwacji wynoszący do siedmiu lat, a badanie mózgowo zarówno krów niedotkniętych chorobą, jak i cieląt ujawniło brak występowania encefalopatii gąbczastej i PrP^{TSE} [Wrathall i in., 2002].
- (2¹) Wczesne doniesienia o przekazywaniu sporadycznej zakaźności CJD z ludzkiej krwi pępowinowej i siary nigdy nie zostały potwierdzone i są uważane za mało prawdopodobne. Badanie biologiczne od krowy dotkniętej BSE na transgenicznych myszach z nadekspresją genu PrP dało negatywne wyniki [Buschmann i Groschup, 2005]; PrP^{TSE} nie został również wykryty w siarze bydła w okresie inkubacji BSE po doświadczalnym narażeniu doustnym [SEAC, 2005].