

IV

(Информация)

ИНФОРМАЦИЯ ОТ ИНСТИТУЦИИТЕ, ОРГАНИТЕ, СЛУЖБИТЕ И АГЕНЦИИТЕ
НА ЕВРОПЕЙСКИЯ СЪЮЗ

ЕВРОПЕЙСКА КОМИСИЯ

**Ръководство за минимизиране на риска от предаване на животински спонгиформни
енцефалопатогенни агенти чрез лекарствени продукти за хуманна и ветеринарна употреба
(ЕМА/410/01 rev. 3)**

(2011/С 73/01)

Настоящото ръководство предоставя насоки за минимизиране на риска от предаване на животински спонгиформни енцефалопатогенни агенти чрез лекарствени продукти за хуманна и ветеринарна употреба.

Настоящата 3-та техническа редакция на ръководството относно ТСЕ (трансмисивна спонгиформна енцефалопатия) беше предприета с цел да бъде отразен напредъкът на науката в областта на трансмисивните спонгиформни енцефалопатии, както и променящата се в световен мащаб ситуация по отношение на спонгиформната енцефалопатия по говедата (СЕГ).

Във връзка с класификацията на държавите и регионите съгласно риска от СЕГ преработеното ръководство относно ТСЕ се позовава при замяната на предишната класификация според географския риск от СЕГ на правилата, установени от Световната организация за здравеопазване на животните (ОИЕ). Независимо от това за държавите, които вече са класифицирани съгласно критериите за географския риск от СЕГ, но това все още не е направено съгласно критериите на ОИЕ, следва да се прилага съществуващата класификация според географския риск от СЕГ, при условие че няма никакви данни за значителна промяна на техния риск от СЕГ.

Включени са нови критерии за произхода и преработката на желатин и кръвни продукти от едър рогат добитък, използвани в производството на лекарствени продукти за хуманна и ветеринарна употреба, както и нов подраздел за пептоните.

С настоящото се заменя предходната редакция на ръководството (ЕМА/410/01 Rev. 2, публикувана в *Официален вестник на Европейския съюз* С 24, 28.1.2004 г., стр. 6). Предложената дата за прилагане на настоящата редакция на ръководството е 1 юли 2011 г.

1. ВЪВЕДЕНИЕ**1.1. Научен контекст**

Трансмисивните спонгиформни енцефалопатии (ТСЕ) са хронични дегенеративни нервни заболявания, които се характеризират с натрупване на абнормна изоформа на клетъчен гликопротеин (известен като PrP или прион протеин). Абнормната изоформа на PrP (PrP^{TSE}) се различава от нормалния PrP (PrP^C) по това, че е изключително резистентна на протеази и топлинна денатурация. PrP^{TSE} се смята за инфекциозен агент, отговорен за предаването на заболяването ТСЕ.

Заболяванията ТСЕ при животните включват:

- спонгиформна енцефалопатия по говедата (СЕГ);
- скрейпи по овцете и козите;

— хронична изтощаваща болест (ХИБ) при животни от семейство Елени (елени и лосове);

— трансмисивна енцефалопатия по норки (ТЕН), наблюдавана при отглеждани животни;

— котешка спонгиформна енцефалопатия (КСЕ) при семейство Котки (по-специално домашни котки и отглеждани в плен големи котки); и

— спонгиформна енцефалопатия при екзотични копитни животни в зоологически градини.

При хората спонгиформните енцефалопатии включват различни форми на болестта на Кройцфелд—Якоб (СJD), Куру, синдром на Герстман—Шройслер—Шайнкер (GSS) и фатална фамилна инсомния (ФФИ).

Има съобщения за ятрогенно предаване на спонгиозни енцефалопатии. При овцете има случаи на предаване на скрейпи при използването на ваксина Louping III, изготвена от сборен, обработен с формалдехид материал от овчи мозък и далак, в който непреднамерено е включен материал от заразени със скрейпи овце. Също така предаване на скрейпи на овце и кози е настъпило след употреба на формол-инактивирана ваксина срещу заразна агалактия, изготвена с хомогенати от мозък и млечни жлези на овце, заразени с *Mycoplasmata agalactiae*. При човека са съобщени случаи на предаване на болестта на Кройцфелд—Якоб, за които се смята, че са причинени от парентерално приложение на растежен хормон и гонадотропин, получени от човешки трупни хипофизии. Случаи на болестта на Кройцфелд—Якоб също са отнесени към използването на контаминирани инструменти в неврохирургията и присаждането на човешка твърда мозъчна обвивка и роговица.

Междувидовото предаване на ТСЕ е ограничено от редица естествени бариери, като трансмисивността зависи от изходния вид, щама на прион, дозата, начина на експозиция, а при някои видове — и от приемащия алел на гена PRNP. Междувидовите бариери могат да бъдат преминати при подходящи условия.

СЕГ е диагностицирана за първи път в Обединеното кралство през 1986 г., като е засегната голяма част от едрия рогат добитък и отделните стада. Ясно е, че СЕГ е предавана по хранителен път болест, свързана с храна (напр. месо и костно брашно), получена от животни, засегнати от СЕГ. Други държави са регистрирали случаи на СЕГ или при животни, внесени от Обединеното кралство, или при местни животни. Има убедителни доказателства, които показват, че вариант на болестта на Кройцфелд—Якоб (vCJD) се причинява от агента, отговорен за СЕГ при едрия рогат добитък. Ето защо все още е необходимо да се подхожда предпазливо, ако биологични материали от видове, засегнати естествено от заболявания ТСЕ, особено видове едър рогат добитък, се използват за производство на лекарствени продукти.

В хода на програмите за активно наблюдение са идентифицирани две непознати дотогава форми на нетипична СЕГ (СЕГ-L, наричана също BASE, и СЕГ-N) в редки спорадични случаи в Европа, Северна Америка и Япония. Буквите „L“ и „N“ означават по-високи и по-ниски позиции при електрофореза на техните протеазорезистентни PrP^{TSE} изоформи. Следва да се отбележи, че атипични случаи са открити в държави, в които дотогава не е имало класическа СЕГ, като например Швеция, или са открити само няколко случая на класическа СЕГ, като Канада и САЩ. Агентът на нетипичната СЕГ е бил експериментално предаден на трансгенни мишки, експресиращи човешки прион протеин, и на дългоопашата маймуна.

Случаи на скрейпи има по целия свят и са съобщени в повечето европейски държави. Най-висока е честотата им в Кипър. Макар хората да са били изложени на възникнала по естествен път скрейпи повече от 250 години, няма епидемиологични данни, които пряко свързват скрейпи със спонгиозните енцефа-

лопатии при хора⁽¹⁾. Въпреки това все още има теоретичен, понастоящем неопределен количествено, риск, че някоя протеинова добавка, зарамена със СЕГ, може да е давана за храна на овце. Освен това следва да се допусне, че всеки агент на СЕГ, въведен в популацията от дребни преживни животни чрез контаминирани храни, е вероятно да се усвои и умножи⁽²⁾.

Интерес предизвиква възможността за инфектиране на клетки с агенти на ТСЕ с цел да се разработят тестове, както и по причини, свързани с фундаменталната наука. Съобщава се за известен успех обикновено, но невинаги, с неврални клетъчни линии. Условията, необходими за инфектиране на клетка, не са добре разбрани и процесът е труден, като изисква специфични комбинации от агент и клетка. Не се смята за целесъобразно да се правят конкретни препоръки по отношение на клетъчните среди, които да се използват за производство на биологични/биотехнологично получени вещества. Независимо от това възможността за заразяване на клетъчни линии с агенти на ТСЕ трябва да се вземе предвид в оценките на риска.

1.2. Спазване на регулаторните изисквания

Оценка на риска — тъй като използването на материали от животински произход е неизбежно за производството на някои лекарствени продукти, а пълното премахване на риска при източника рядко е възможно, мерките, предприети за справяне с риска от предаване на животински ТСЕ чрез лекарствени продукти представляват по-скоро минимизиране на риска, отколкото неговото елиминиране. Следователно базата за спазване на регулаторните изисквания следва да се основава на оценка на риска, като се вземат предвид всички значими фактори, определени в настоящото ръководство (вж. по-долу).

Правно основание — настоящото ръководство се издава от Европейската комисия съгласно:

— приложение I, част I, модул 3, раздел 3.2 „Съдържание: основни принципи и изисквания“, точка 9 от Директива 2001/83/ЕО на Европейския парламент и на Съвета от 6 ноември 2001 г. за утвърждаване на кодекс на Общността относно лекарствени продукти за хуманна употреба⁽³⁾, изменена; и

— приложение I, дял I, част 2, раздел В „Производство и контрол на изходните материали“ от Директива 2001/82/ЕО на Европейския парламент и на Съвета от 6 ноември 2001 г. относно Кодекса на Общността за ветеринарните лекарствени продукти⁽⁴⁾, изменена.

⁽¹⁾ Понастоящем това е предмет на оценка от страна на Европейския орган по безопасност на храните и Европейския център за профилактика и контрол върху заболяванията. За актуална информация потърсете на следния интернет адрес: <http://registerofquestions.efsa.europa.eu/roqFrontend/questionsListLoader?mandate=M-2009-0221>

⁽²⁾ През януари 2005 г., след като във Франция беше потвърден случай на СЕГ при коза, бяха приети допълнителни законодателни мерки, свързани с мониторинга и увеличеното тестване на дребни преживни животни. Увеличеното наблюдение не доведе до откриването на допълнителни случаи в ЕС на СЕГ при овце и кози.

⁽³⁾ ОВ L 311, 28.11.2001 г., стр. 67.

⁽⁴⁾ ОВ L 311, 28.11.2001 г., стр. 1.

Тези директиви изискват от заявителите за разрешение за пускане на пазара на лекарствени продукти за хуманна и ветеринарна употреба да докажат, че лекарствените продукти са произведени в съответствие с най-новата версия на настоящото ръководство, публикувана в *Официален вестник на Европейския съюз*. Това е постоянно задължение, след като е предоставено разрешение за пускане на пазара.

По дефиниция принципът на специфичните рискови материали, определени в Регламент (ЕО) № 999/2001 на Европейския парламент и на Съвета⁽⁵⁾, не се прилага за лекарствени продукти. Все пак Регламент (ЕО) № 1774/2002 на Европейския парламент и на Съвета⁽⁶⁾, който се прилага от 1 май 2003 г., установява здравни правила относно странични животински продукти, непредназначени за консумация от човека. Като общо правило и освен ако не е съответно обосновано, всички странични животински продукти, използвани като изходни материали при производството на лекарствени продукти, трябва да бъдат „материали от категория 3 (т.е. безопасни) или еквивалентни“, както са определени в Регламент (ЕО) № 1774/2002. Основанията за използването на вещества, получени от други материали с висока инфекциозност, трябва да следват съответна оценка на съотношението между ползата и риска от това (вж. по-долу).

Настоящото ръководство трябва да се чете във връзка с различните европейски правни инструменти на ЕС, включително решенията на Комисията, които се прилагат последователно от 1991 г. насам. Когато е необходимо, позоваванията на тези решения са дадени в текста. Становищата и пояснителните бележки, изготвени от Комитета за лекарствени продукти за хуманна употреба (CHMP) и Комитета по ветеринарни лекарствени продукти (CVMP), продължават да се прилагат за целите на спазването на регулаторните изисквания, освен ако не са заменени от настоящото ръководство.

Обща монография, озаглавена „Продукти с риск от пренасяне на агенти на животински спонгиформни енцефалопатии“ е включена в Европейската фармакопея. Тази монография, която се позовава на общата глава на Европейската фармакопея, е идентична с настоящото ръководство. Монографията е в основата за издаване на сертификати за годност като процедура за доказване на съответствието по отношение на ТСЕ на вещества и материали, използвани при производството на лекарствени продукти за хуманна и ветеринарна употреба.

Пояснение на ръководството — тъй като научното разбиране на ТСЕ, по-специално на патогенезата на заболяването, се развива, на Комитета за лекарствени продукти за хуманна употреба и неговата Биологична работна група в сътрудничество с Комитета за лекарствени продукти за ветеринарна употреба и неговата Имунологична работна група може да се наложи в определени моменти в бъдеще да изготвят допълнителни насоки под формата на становища или пояснителни бележки с цел изясняване на настоящото ръководство. Допълнителните насоки ще бъдат публикувани както от Комисията, така и на уебсайта на Европейската агенция по лекарствата, и ще бъдат

съответно взети предвид за целите на сертифицирането, извършвано от Европейската дирекция по качеството на лекарствата и здравеопазването (EDQM).

2. ОБХВАТ

Значими по отношение на ТСЕ животински видове — едър рогат добитък, овце, кози и животни, които са естествено възприемчиви на инфекция с агенти на ТСЕ или възприемчиви на инфекция по орален път, различни от хората⁽⁷⁾ и нечовекоподобните примати, са определени като „значими по отношение на ТСЕ животински видове“⁽⁸⁾.

Материали — настоящото ръководство се занимава с материали, получени от „значими по отношение на ТСЕ животински видове“, които се използват за приготвянето на:

— активни вещества;

— ексципиенти и аджуванти; и

— суровини и изходни материали и реагенти, използвани в производството (напр. говежди серумен албумин; ензими; хранителни среди, използвани за изготвяне на работни клетъчни банки или нови изходни клетъчни банки за лекарствени продукти, които подлежат на ново разрешение за пускане на пазара).

Настоящото ръководство е приложимо и за материали, които са в пряк контакт с оборудване, използвано при производството на лекарствен продукт, или които влизат в контакт с лекарствения продукт и поради това имат потенциал за заразяване.

Материалите, използвани за одобрение на съоръжения и оборудване, като например хранителните среди, използвани при тестовите с пълнене с тях, за валидиране на асептичността на процеса на пълнене, трябва да се смятат за съответстващи на настоящото ръководство, при условие че съставката или съставките е/са извлечена(и) от тъкани без откриваема инфекциозност (категория IC тъкани) при оценен риск от кръстосано заразяване с потенциално инфекциозни тъкани (вж. раздел 3.3) и когато материалите са с произход от държави с нишожен или контролиран риск от СЕГ (съответно категории А и Б, вж. раздел 3.2). Тази информация се предоставя в документацията за разрешение за пускане на пазара и се проверява по време на рутинни проверки за съответствие с Добрата производствена практика (GMP).

⁽⁷⁾ Комитетът за лекарствени продукти за хуманна употреба и неговата Биологична работна група изготвиха регулаторни насоки и становища по отношение на лекарствените продукти, получени от човешките тъкани, във връзка с CJD и vCJD. Тези насоки могат да бъдат намерени на: <http://www.ema.europa.eu>.

⁽⁸⁾ Свинете и птиците, които са животински видове от специален интерес за производството на лекарствени продукти, не са естествено възприемчиви на инфекция по орален път. Поради това те не са „значими по отношение на ТСЕ животински видове“ по смисъла на настоящото ръководство. Също така кучетата, зайците и рибите не са „значими по отношение на ТСЕ животински видове“ по смисъла на настоящото ръководство.

⁽⁵⁾ ОВ L 147, 31.5.2001 г., стр. 1.

⁽⁶⁾ ОВ L 273, 10.10.2002 г., стр. 1. Регламент (ЕО) № 1774/2002 беше отменен с Регламент (ЕО) № 1069/2009, който ще се прилага от 4 март 2011 г. (ОВ L 300, 14.11.2009 г., стр. 1).

Други материали, като почистващи агенти, омекотители и смазочни материали, които влизат в контакт с лекарствения продукт по време на рутинното му производство или в последния етап на производството, или при първичното му опаковане, се смятат за съответстващи на настоящото ръководство, ако те са продукти от животински мазнини, получени при строго контролирани физикохимични процеси, както е описано в раздел 6.

Посевен материал, клетъчни банки и рутинна ферментация/производство ⁽⁹⁾ — за целите на спазването на регулаторните изисквания изходният посевен материал или изходните клетъчни банки в заявленията за разрешение за пускане на пазара, подадени след 1 юли 2000 г. (за лекарствени продукти за хуманна употреба) или 1 октомври 2000 г. (за лекарствени продукти за ветеринарна употреба) ще да бъдат обхванати от настоящото ръководство.

Изходен посевен материал или изходни клетъчни банки,

— за ваксинни антигени;

— за биотехнологично получени лекарствени продукти, както е описано в приложението към Регламент (ЕО) № 726/2004 на Европейския парламент и на Съвета ⁽¹⁰⁾; и

— за други лекарствени продукти с използване на посевен материал или системи за клетъчно банкиране при производството им,

които вече са одобрени за производство на съставка на разрешен лекарствен продукт, трябва да се смятат за съответстващи на настоящото ръководство, дори ако са включени в заявления за разрешение за пускане на пазара, подадени след 1 юли 2000 г. (за лекарствени продукти за хуманна употреба) или 1 октомври 2000 г. (за лекарствени продукти за ветеринарна употреба).

За изходни клетъчни банки и изходен посевен материал, които са създадени преди 1 юли 2000 г. (за лекарствени продукти за хуманна употреба) или 1 октомври 2000 г. (за лекарствени продукти за ветеринарна употреба), но все още не са одобрени като съставка на разрешен лекарствен продукт, трябва да се докаже, че отговарят на изискванията на настоящото ръководство. Ако за някои суровини или изходни материали, или реагенти, използвани за създаването на тези клетъчни банки или посевен материал, вече не са на разположение пълни документални данни, заявителят трябва да представи оценка на риска, както е описано в раздел 4 от настоящото ръководство.

Създадените изходни клетъчни банки и изходен посевен материал, използвани при производството на лекарствени продукти и разрешени преди 1 юли 2000 г. (за лекарствени продукти за хуманна употреба) или 1 октомври 2000 г. (за лекарствени продукти за ветеринарна употреба), които са били подложени на съответно извършена оценка на риска от компетентен орган на държавите-членки или от Европейската агенция по лекарствата и са обявени за приемливи, също се смятат за съответстващи.

⁽⁹⁾ Вж. също Становище относно оценката на риска от предаване на животински спонгиформни енцефалопатогенни агенти чрез изходен посевен материал, използван за производството на ветеринарни ваксини (ЕМА/СVMP/019/01 — февруари 2001 г., прието от Комитета по ветеринарни лекарствени продукти (СVMP) през юли 2001 г. (ОВ С 286, 12.10.2001 г., стр. 12).

⁽¹⁰⁾ ОВ L 136, 30.4.2004 г., стр. 1.

Все пак когато в процесите на ферментация/рутинните производствени процеси или в създаването на работен посевен материал и работни клетъчни банки се използват материали с произход от „значимите по отношение на ТСЕ животински видове“, заявителят трябва да докаже, че те отговарят на изискванията на настоящото ръководство.

3. ОБЩИ СЪОБРАЖЕНИЯ

3.1. Научни принципи за минимизиране на риска

Когато производителите имат право на избор, се предпочитат използването на материали от „незначими по отношение на ТСЕ животински видове“ или материали с неживотински произход. Трябва да бъде посочена причината за използването на материали, получени от „значими по отношение на ТСЕ животински видове“, вместо на материали от „незначими по отношение на ТСЕ животински видове“ или от неживотински произход. Ако трябва да се използват материали от „значими по отношение на ТСЕ животински видове“, трябва да се вземат предвид всички необходими мерки за минимизиране на риска от предаване на ТСЕ.

Лесно приложими диагностични тестове за инфекциозност с ТСЕ *in vivo* все още не са на разположение. Диагнозата се основава на характерни мозъчни лезии, потвърдени постмортално чрез хистопатология и/или откриване на PrP^{TSE} с помощта на Western Blot тест или имунологично изследване. Доказването на инфекциозност чрез инокулиране на съмнителна тъкан в целеви видове или лабораторни животни се използва за потвърждение. Поради дългия инкубационен период обаче на всички ТСЕ, резултатите от тестовете *in vivo* са на разположение едва след месеци или години.

Разработени са няколко имунохимични теста за откриване на PrP^{TSE} в постмортален материал и понастоящем някои от тях се смятат за изключително чувствителни. Въпреки това тяхната способност да откриват инфектирано животно зависи от времето на вземане на материала по отношение на времето на експозиция, вида на събраните тъкани и получената инфекциозна доза, както и от последващия момент на настъпване на клинично заболяване. Понастоящем няма достатъчно информация как това би могло да бъде повлияно от вариациите на шамовете.

Макар че скринингът на изходните животни чрез *in vitro* тестове може да предотврати използването на животни в късен стадий на инкубация на заболяването и да предостави информация за епидемиологичния статус на дадена държава или регион, нито един от тестовете не се смята за подходящ за категорично потвърждаване на негативния статус на дадено животно.

Минимизирането на риска от предаване на ТСЕ се основава на три допълнителни параметъра:

— изходните животни и техният географски произход;

— естеството на животинския материал, използван при производството, и всички налични процедури,

— за да се избегне кръстосано заразяване при високорискови материали;

— производствения(те) процес(и), включително наличната система за гарантиране на качеството, която осигурява съответствието на продуктите и възможността за проследяването им.

3.2. Животински произход

Изходните материали, използвани за производството на материали за производство на лекарствени продукти, трябва да са взети от животни, годни за консумация от човека, след анте-мортален и постмортален анализ в съответствие с изискванията на ЕС или еквивалентни (на трета държава) условия, с изключение на материали, взети от живи животни, за които е установено, че са здрави след клиничен преглед.

3.2.1. Географски произход

3.2.1.1. Материали от едър рогат добитък

Световната организация за здравеопазване на животните (OIE) ⁽¹¹⁾ определя критериите за оценка на статуса на държавите в главата от Международния зоосанитарен кодекс за спонгиформната енцефалопатия по говедата. Държавите или регионите са представени, както следва:

- A. Държави или региони с нищожен риск от СЕГ;
- B. Държави или региони с контролиран риск от СЕГ;
- B. Държави или региони с неопределен риск от СЕГ.

Както е предвидено в изменения ⁽¹²⁾ Регламент (ЕО) № 999/2001 на Комисията класификацията на държави или региони от тях съгласно техния риск от СЕГ въз основа на правилата, определени от OIE, е правнообвързваща в ЕС от 1 юли 2007 г. Измененото Решение 2007/453/ЕО на Комисията ⁽¹³⁾ предвижда класифицирането на държавите или регионите в съответствие с техния риск от СЕГ.

Преди това Научният ръководен комитет (НРК) на Европейската комисия ⁽¹⁴⁾ беше създал временна система за класифициране на държавите според техния географски риск от СЕГ ⁽¹⁵⁾.

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

⁽¹²⁾ Регламент (ЕО) № 722/2007 (ОВ L 164, 26.6.2007 г., стр. 7).

⁽¹³⁾ ОВ L 172, 30.6.2007 г., стр. 84.

⁽¹⁴⁾ Научният ръководен комитет, учреден с Решение 97/404/ЕО на Комисията (ОВ L 169, 27.6.1997 г., стр. 85), трябва да подпомага Комисията да получава възможно най-добрите научни становища във връзка със здравето на потребителите. От май 2003 г. неговата задача е поета от Европейския орган за безопасност на храните (ЕОБХ): <http://www.efsa.europa.eu>

⁽¹⁵⁾ Класификацията на държавите според географския риск от СЕГ (ГРС), създадена от Научния ръководен комитет на Европейската комисия, дава указание за нивото на вероятност от наличие в дадена държава или регион на едно или повече животни от вида едър рогат добитък, които са клинично или предклинично заразени със СЕГ. В таблицата е дадено определение на четирите категории:

Ниво на географския риск от СЕГ	Наличие в дадена държава или регион на едно или повече животни от вида едър рогат добитък, които са клинично или предклинично заразени със СЕГ
I	Малко вероятно
II	Малко вероятно, но не е изключено
III	Вероятно, но непотвърдено или потвърдено в ниска степен
IV	Потвърдено във висока степен (≥ 100 случая/1 милион говеда в зряла възраст на година)

Докладите относно оценката на ГРС на държавите са на разположение на уебсайта на НРК (http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/outcome_en.html).

За целите на настоящото ръководство следва да се използва класификацията за СЕГ въз основа на правилата на OIE. Ако държава, която преди е била класифицирана в съответствие с критериите на Научния ръководен комитет по отношение на географски риск от СЕГ, все още не е класифицирана според правилата на OIE, класификацията на комитета може да се използва до извършването на класификация по OIE, при условие че няма данни за значителна промяна в риска от СЕГ ⁽¹⁶⁾.

Когато има възможност за избор, животните трябва да произхождат от държави с възможно най-нисък риск от СЕГ (държави с нищожен риск от СЕГ (категория А), освен ако използването на материали от държави с по-висок риск от СЕГ е обосновано. Някои от материалите, посочени в раздел 6 „Специални условия“, може да бъдат с произход от държави с контролиран риск от СЕГ (категория Б), а в някои случаи — от държави с неопределен риск от СЕГ (категория В), при условие че се прилагат контролът и изискванията, посочени в съответните раздели по-долу. Освен тези изключения, животните не трябва да бъдат с произход от държави с неопределен риск от СЕГ (категория В) и винаги трябва да бъдат представени основания за използването на животни от държави с неопределен риск от СЕГ (категория В).

3.2.1.2. Овце и кози (дребни преживни животни)

В редица държави по света се съобщава за възникнали по естествен път клинични случаи на скрейпи. Тъй като има възможност СЕГ при овце и кози да бъде объркана със скрейпи, като предпазна мярка при подбора на източниците на материали, получени от дребни преживни животни, трябва да се вземе предвид разпространението както на СЕГ, така и на скрейпи в държавата и в тъканите, от които са получени материалите.

Принципите, свързани със „(затворени) стада от говеда с нищожен риск от СЕГ“ (вж. раздел 3.2.2) могат еднакво да се прилагат и към дребните преживни животни с цел да се разработи рамка за определяне на статуса на стадо от дребни преживни животни по отношение на ТСЕ. При овцете, поради загрижеността, предизвикана от възможността за СЕГ при овцете, използването на генотип(и), показващ(и) резистентност на инфекцията от СЕГ/скрейпи, може да се обмисли за установяването на стада, свободни от СЕГ ⁽¹⁷⁾. Все пак трябва също да се вземе предвид възможността генотипове, които са резистентни на скрейпи, да бъдат възприемчиви на СЕГ (експериментална орална експозиция) или на нетипична скрейпи (естествени случаи). Козите не са изследвани достатъчно по отношение на специфичната чувствителност на генотипа.

⁽¹⁶⁾ По мнение на експертите системата на класификацията според географския риск от СЕГ е достатъчно устойчива, така че да може да продължи да бъде използвана през междинния период за доказване на съответствието с настоящото ръководство.

⁽¹⁷⁾ Становище на експертната група по биологични опасности относно програмата за развъждане на овце с резистентност към ТСЕ: http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178620775678.htm

За предпочитане е материалът от дребни преживни животни да бъде с произход от държави, в които скрейпи не е наблюдавана от дълго време. Ако източникът на материала е с друг произход, е необходимо това да се обоснове.

3.2.2. (Затворени) стада от говеда с нищожен риск от СЕГ

Най-сигурният произход е от държави или региони с нищожен риск от СЕГ (държави от категория А). В други държави в някакъв момент може да има или да е имало случаи на СЕГ и Научният ръководен комитет разработи практическата концепция за „(затворени) стада от говеда с нищожен риск от СЕГ“, която беше одобрена от Комитета за лекарствени продукти за хуманна употреба и Комитета по ветеринарни лекарствени продукти. Критериите за установяването и поддържането на „(затворено) стадо от говеда с нищожен риск от СЕГ“ са дадени в становището на НРК от 22—23 юли 1999 г. ⁽¹⁸⁾

За момента не е възможно да се определи количествено намаляването на географския риск от СЕГ за едър рогат добитък в резултат на „(затворените) стада от говеда с нищожен риск от СЕГ“. Очакванията обаче са това намаляване на риска да е значително. Поради това произходът на материали от такива затворени стада говеда трябва да се взема предвид при оценката на риска във връзка с класификацията на държавата съгласно ОИЕ.

3.3. Животински части, телесни течности и секрети като изходен материал

При животно, инфектирано с ТСЕ, различните органи и секрети имат различни нива на инфекциозност. Ако трябва да се използват материали от „значими по отношение на ТСЕ животински видове“, трябва да се предвиди използването на материали от най-ниската категория риск. В таблиците в приложението към настоящото ръководство ⁽¹⁹⁾ се обобщават актуални данни за разпределението на инфекциозността и PrP^{TSE} при едрия рогат добитък със СЕГ, както и при овцете и козите със скрейпи ⁽²⁰⁾.

Информацията в таблиците се основава изключително на наблюдения върху възникнали по естествен път случаи на болестта или първична експериментална инфекция по орален път (при едър рогат добитък), но не включва данни от модели с използване на шамове на ТСЕ, които са адаптирани към опитни животни, тъй като пресетите фенотипни линии на шамовете може да се различават значително и непредсказуемо от тези при спонтанно възникналата болест. Тъй като откриването с имунохистохимично изследване и/или с Western Blot тест на протеин с неправилна конфигурация (PrP^{TSE}) у приемника е доказан заместителен маркер за инфекциозност, резултатите от

тестовите за PrP^{TSE} са представени едновременно с данните от биологичния тест. Тъканите са групирани в три основни категории инфекциозност, независимо от етапа на болестта:

Категория IA: тъкани с висока инфекциозност: тъкани на централната нервна система (ЦНС), в които се достига до висок титър на инфекциозност в по-късните етапи на всички ТСЕ, и някои тъкани, които са анатомично свързани с централната нервна система.

Категория IB: тъкани с ниска инфекциозност: периферни тъкани, които са дали положителен резултат за инфекциозност и/или PrP^{TSE} в поне една форма на ТСЕ.

Категория IC: тъкани без установена инфекциозност: тъкани, които са били изследвани за инфекциозност, без откриваема инфекциозност и/или PrP^{TSE}, с отрицателни резултати.

Тъкани от категория IA и вещества, получени от тях, не трябва да се използват при производството на лекарствени продукти, освен ако няма основание за това (вж. раздел 5).

Въпреки че категорията на тъканите с по-ниска инфекциозност (тъкани от категория IB) почти сигурно включва някои (напр. кръв) с по-малък риск от други (напр. лимфоретикуларна тъкан), данните за степента на инфекциозност в тези тъкани са твърде ограничени, за да е възможно подразделянето на категорията на различни нива на риск. Също така е очевидно, че поставянето на дадена тъкан в една или друга категория може да бъде специфично за различните заболявания и животински видове и да подлежи на промяна при появата на нови данни.

При оценката на риска (вж. раздел 4) производителите и/или титулярите/заявителите на разрешение за пускане на пазара трябва да вземат предвид таблиците за класифициране в приложението към настоящото ръководство.

Категориите в таблиците са само индикативни и е важно да се отбележат следните точки:

— В някои случаи може да има **кръстосано заразяване** на тъкани от различни категории на инфекциозност. Потенциалният риск ще зависи от обстоятелствата, при които са взети тъканите, по-специално при контакт на тъкани с по-ниска инфекциозност или без откриваема инфекциозност (тъкани от категории IB и IC) с тъкани с висока инфекциозност (тъкани от категория IA). Следователно кръстосаното заразяване на някои тъкани може да бъде увеличено, ако заразени животни са заклани с мозъчно зашеметяване (проникващо или непроникващо), или ако мозъкът и/или гръбначният мозък са срязани. Рискът от кръстосано заразяване ще се намали, ако телесните течности се събират при минимално увреждане на тъканите, клетъчните компоненти се отстраняват, а феталната кръв се събира, без да се замърсява от други майчини или фетални тъкани, включително плацента и околоплодни и алантоидни течности. За някои тъкани е много трудно или невъзможно да се избегне кръстосаното заразяване с тъкани от категория IA (напр. черепа). Това трябва да се вземе предвид при оценката на риска.

⁽¹⁸⁾ Научно становище на Научния ръководен комитет относно условията, свързани със „(затворени) стада от говеда с нищожен риск от СЕГ“, прието на заседанието от 22—23 юли 1999 г. http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out56_en.html

⁽¹⁹⁾ Таблиците с класификациите на тъканите се основават на последните насоки на СЗО „Насоки за тъканното разпределение на инфекциозността при трансмисивните спонгиозни енцефалопатии“ (2010 г.) <http://www.who.int/bloodproducts/tablestissueinfectivity.pdf>

⁽²⁰⁾ Научно становище относно инфекциозността за СЕГ/ТСЕ на тъкани от дребни преживни животни е понастоящем предмет на разглеждане от страна на ЕОБХ (въпрос № EFSA-Q-2010-052). Текуща информация може да бъде намерена на следния интернет адрес: <http://registerofquestions.efsa.europa.eu/roqFrontend/questionsListLoader?mandate=M-2010-0041>

- За определени класове вещества използваните **техники за зашеметяване/клане** могат да бъдат важни при определяне на потенциалния риск ⁽²¹⁾ поради вероятността от разпространение на мозъчни частици в периферните органи, особено в белите дробове. Техниките на зашеметяване/клане трябва да бъдат описани, както и процедурите за отстраняване на тъканите с висока инфекциозност. Процедурите за събиране на животински тъкани или органи, които трябва да се използват, както и предприетите мерки, за да се избегне кръстосаното заразяване с високорисков материал, трябва да бъдат описани подробно.
- Рискът от заразяване на тъканите и органите със СЕГ-инфекциозност, потенциално локализирана в материал от централната нервна система вследствие на метода за зашеметяване, използван за клане на едър рогат добитък, зависи от следните фактори:
 - количеството на СЕГ-инфекциозност в мозъка на закланото животно;
 - степента на увреждане на мозъка;
 - разпространението на мозъчни частици в тялото на животно.

Тези фактори трябва да се вземат предвид във връзка с класификацията на ОІЕ/класификацията на географския риск по отношение на изходните животни, с възрастта им, когато се отнася до едър рогат добитък, и с постморталните тестове на животни с помощта на валидиран метод.

Основните принципи, посочени по-горе, ще бъдат приложими в същата степен за овце и кози.

Рискът от кръстосано заразяване ще зависи от няколко допълнителни фактора, включително:

- приетите мерки за недопускане на заразяване по време на събирането на тъканите (вж. по-горе);
- степента на заразяване (количеството на заразата тъкан);
- количеството и вида на материалите, събрани едновременно.

Производителите и/или титулярите/заявителите на разрешение за пускане на пазара трябва да вземат предвид риска по отношение на кръстосаното заразяване.

3.4. Възраст на животните

Тъй като ТСЕ-инфекциозността се акумулира в едър рогат добитък за инкубационен период от няколко години, е разумно като източник да се използват млади животни.

⁽²¹⁾ Становище на НРГ относно методите на зашеметяване и риска от СЕГ (Риск от СЕГ при разпръскване на мозъчни частици в кръвта и трупата при прилагането на определени методи на зашеметяване), прието на заседанието от 10—11 януари 2002 г. http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out245_en.pdf.

Доклад на работната група на ЕОБХ относно риска от СЕГ при разпръскване на мозъчни частици в кръвта и трупата. Въпрос № EFSA-Q-2003-122, приет на 21 октомври 2004 г.; http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178620777397.htm

За наличие на инфекциозен материал се съобщава главно в централната нервна система и свързаните с нея тъкани, както и в лимфоретикуларната система, в зависимост от агента на ТСЕ (СЕГ при едрия рогат добитък или скрейпи при овце и кози). Точното развитие във времето на инфекциозността в съответните телесни части и тъкани, считано от датата на инфекция, не е известно и при двата вида, и затова е трудно да се дадат ясни указания относно възрастта, над която различни тъкани могат да бъдат заразени и не трябва да бъдат събирани. Първоначалната препоръка за събиране на тъкани в най-младата възраст е все още валидна. Освен това следва да се отбележи, че възрастовите критерии зависят и от географския произход. Възрастта е по-важен параметър за материали от държави, където рискът е по-висок (държави от категории Б и В), отколкото от държави с нищожен риск от СЕГ (държави от категория А).

3.5. Производствен процес

При оценката за намаляване на общия риск от ТСЕ на лекарствен продукт трябва да се вземат предвид мерките за контрол, предприети по отношение на:

- произхода на суровините/изходните материали; и
- производствения процес.

Контролираният произход е много важен критерий за постигане на приемливо ниво на безопасност на продукта поради документираната резистентност на агентите на ТСЕ към повечето методи на инактивиране.

Необходимо е да бъде въведена система за качество, като например сертифициране по ISO 9000, HACCP ⁽²²⁾ или добра производствена практика, с цел мониторинг на производствения процес и за формирането на партида (т.е. определението на партида, разделянето на партиди, почистването между партидите). Трябва да се въведат процедури за гарантиране на проследимостта, както и вътрешен одит и одит на доставчиците на суровини/изходни материали.

Някои производствени процедури могат да допринесат значително за намаляването на риска от заразяване с ТСЕ, например процедурите, използвани при производството на продукти от животински мазнини (вж. раздел 6). Тъй като такава строго контролирана преработка не може да се приложи към много продукти, процесите, включващи физическо отстраняване, като утаяване и филтриране за премахване на богат на приони материал, вероятно ще бъдат по-подходящи от химичната обработка. Трябва да се представи описание на производствения процес, включително прилаганите по време на процеса контролни мерки, и трябва да бъдат обсъдени стъпките, които могат да допринесат за намаляването или премахването на заразата с ТСЕ. Когато участват различни производствени обекти, трябва да бъдат ясно идентифицирани етапите на контрол във всеки обект. Мерките, предприети с цел да се осигури проследимостта на всяка отделна производствена партида до изходния материал, следва да бъдат описани.

⁽²²⁾ Анализ на рисковете и критичните контролни точки.

Процес на почистване — почистването на производственото оборудване може да бъде трудно валидирано за премахване на агенти на ТСЕ. Съобщено е, че след експозиция на препарати с високи титри на агенти на ТСЕ откриваема инфекциозност може да остане по повърхността от неръждаема стомана. Отстраняването на целия адсорбиран протеин чрез използването на 1 М натриев хидроксид или освобождаващи хлор дезинфектанти (напр. 20 000 частици хлор на минута за 1 час) се счита за приемлив подход, когато оборудване, което не може да бъде заменено, е изложено на потенциално контаминирани материали. По-щадящи обработки с ограничени концентрации на основи или стабилизирана белина, когато са правилно съчетани с детергенти и са използвани при определени температури, са показали, че имат подобна ефективност за отстраняване на приони, както и класическата обработка с NaOH или хлор. Системата, основана на изпарения на водородния перексид, също се оказва ефективна за инактивиране на агенти на ТСЕ. Тези нови методи на обработка са по-подходящи с фини материали, а също и за практическо използване ⁽²³⁾.

Ако при производството на даден продукт се използват рискови материали, трябва да се въведат процедури на почистване, включително мерки за контрол, за да се минимизира рискът от кръстосано заразяване между производствените партии. Това е особено важно, ако материали от различни рискови категории се третират в едно и също съоръжение с едно и също оборудване. В случай на използване на материали от категория IA за производството на даден продукт, трябва да бъде използвано специално определено оборудване, освен ако няма основание за друго.

Необходими са допълнителни изследвания за разработването и валидирането на нови методи за обеззаразяване, за да се намали рискът от кръстосано заразяване на материали и устройства, които не съответстват на процедурите, препоръчани от СЗО.

Валидиране на отстраняване/инактивиране — изследванията валидиране на процедури за отстраняване/инактивиране на ТСЕ могат да бъдат трудни за интерпретиране. Необходимо е да се вземат предвид естеството на заразения материал и неговата представителност за естествените обстоятелства, структурата на изследването (включително намаляването на мащаба на процесите) и методът за откриване на агента (*in vitro* или *in vivo* тест). Необходими са допълнителни изследвания за да бъде разбран начинът за най-подходящото „изготвяне на заразения материал“ за валидиращи изследвания. Ето защо понастоящем като цяло не се изискват валидиращи изследвания. При наличие обаче на твърдения за безопасността на продукта по отношение на ТСЕ въз основа на способността на производствените процеси за отстраняване или инактивиране на агенти на ТСЕ, те трябва да бъдат подкрепени със съответните проучващи изследвания ⁽²⁴⁾.

В допълнение към използването на подходящи източници на материали производителите се насърчават да продължат проучванията си относно методите за отстраняване и инактивиране, за да се определят етапи/процеси, които биха били полезни за гарантиране на отстраняването или инактивирането на агенти на ТСЕ. Във всеки случай, когато е възможно, трябва да бъде

разработен производствен процес, прилагаш наличната информация за методи, за които се смята, че биха могли да инактивират или отстранят агенти на ТСЕ.

За някои видове продукти (вж. раздел 6.3 „Кръвни продукти от едър рогат добитък“), където валидираното отстраняване/инактивиране не е лесно приложимо, може да бъде необходимо оценяване на процеса. То трябва да се основава на изходния материал и всички публикувани данни за риск от ТСЕ.

4. ОЦЕНКА НА РИСКА НА МАТЕРИАЛИ ИЛИ ВЕЩЕСТВА, ИЗПОЛЗВАНИ ПРИ ПРОИЗВОДСТВОТО И ПОДГОТОВКАТА НА ДАДЕН ЛЕКАРСТВЕН ПРОДУКТ В КОНТЕКСТА НА СПАЗВАНЕТО НА РЕГУЛАТОРНИТЕ ИЗИСКВАНИЯ

При оценката на рисковете, свързани с ТСЕ, е необходимо да се разгледат внимателно всички параметри, както е очертано в раздел 3.1 „Научни принципи за минимизиране на риска“.

Както е посочено в уводната част на настоящото ръководство, спазването на регулаторните изисквания се основава на благоприятния резултат от оценката на риска. Оценките на риска, извършвани от производителите и/или титулярите или заявителите на разрешение за различните материали и вещества от „значими по отношение на ТСЕ животински видове“, използвани при производството на лекарствен продукт, трябва да показват, че всички рискови фактори за ТСЕ са взети предвид и когато е възможно, рискът е сведен до минимум чрез прилагане на принципите, изложени в настоящото ръководство. Сертификатите за годност по отношение на ТСЕ, издадени от Европейската дирекция по качеството на лекарствата и здравеопазването, могат да се използват от титулярите или заявителите на разрешение като основа на оценката на риска.

Обобщената оценка на риска за лекарствени продукти, извършена от титулярите или заявителите на разрешение, трябва да включва оценките на риска за всички различни материали от „значими по отношение на ТСЕ животински видове“ и ако е необходимо, намаляването или инактивирането на ТСЕ в производствените етапи на активното вещество и/или крайния продукт.

Окончателното определяне на спазването на регулаторните изисквания е в правомощията на компетентния орган.

Задължение на титулярите или заявителите на разрешение за пускане на пазара на лекарствени продукти за хуманна и ветеринарна употреба е да изберат и да обосноват мерки за контрол за конкретен произведен продукт от „значими по отношение на ТСЕ животински видове“, като се вземат предвид най-новите научни и технически постижения.

5. ОЦЕНКА НА СЪОТНОШЕНИЕТО ПОЛЗА/РИСК

В допълнение към параметрите, посочени в раздели 3 (които могат да бъдат предмет на сертификат за годност по отношение на ТСЕ, издаден от Европейската дирекция по качеството на лекарствата и здравеопазването) и 4, за приемливостта на определен лекарствен продукт, съдържащ материали, получени от „значими по отношение на ТСЕ животински видове“, или съдържащ тези материали в резултат на производството, се вземат също предвид следните фактори:

— начинът на приложение на лекарствения продукт;

— количеството на животинския материал, използван в лекарствения продукт;

⁽²³⁾ Насоки на СЗО за тъканното разпределение на инфекциозността в трансмисивните спонгиформни енцефалопатии (2006 г.); <http://www.who.int/bloodproducts/tse/WHO%20TSE%20Guidelines%20FINAL-22%20JuneupdatedNL.pdf>

⁽²⁴⁾ Насоки за изследване на метода на производство на получени от плазма лекарствени продукти по отношение на риска от vCJD, CPMP/BWP/5136/03.

- максималната лечебна доза (дневната доза и продължителността на лечението);
- предназначението на лекарствения продукт и клиничната полза от него;
- наличието на междувидова бариера.

Тъкани с висока степен на инфекциозност (тъкани от категория IA) и извлечени от тях вещества не трябва да се използват в производството на лекарствени продукти, техните изходни материали и междинни продукти (включително активни вещества, експоненти и реагенти), освен ако няма основание за това. Трябва да бъде представена обосновка на невъзможността от използване на други материали. При извънредни и обосновани обстоятелства използването на тъкани с висока инфекциозност може да бъде планирано за производство на активни вещества, когато след извършване на оценка на риска, както е описано в раздел 4 от настоящото ръководство, и като се отчита предвиденото клинично приложение, заявителят на разрешение за пускане на пазара може да представи положителна оценка на съотношението полза/риск. Ако тяхното използване е обосновано, веществата от материали от категория IA трябва да бъдат произведени от животни от държави с нищожен риск от CEF (категория A).

6. КОНКРЕТНИ СЪОБРАЖЕНИЯ

В съответствие с настоящото ръководство се разглеждат следните материали, изготвени от „значимите по отношение на TSE животински видове“, при условие че отговарят поне на условията, посочени по-долу. Съответната информация или сертификат за годност, издаден от Европейската дирекция по качеството на лекарствата и здравеопазването, се предоставя от титуляря/заявителя на разрешение за пускане на пазара.

6.1. Колаген

Колагенът е фиброзна белтъчна съставна част на съединителната тъкан на бозайници.

За колагена трябва да се предостави документация за доказване на съответствието с настоящото ръководство, като се вземат предвид предписанията, изброени в раздели 3—5. Освен това трябва да се има предвид следното:

- За колагена, получен от кости, са приложими условията, определени за желатин (вж. по-долу). При производството на колаген може да се очаква по-нисък капацитет на инактивиране от този при желатина. Ето защо произходът става още по-критичен аспект, който трябва да бъде взет предвид.
- Колагенът, получен от тъкани като кожи и сухожилия, обикновено не представлява измерим риск от TSE, при условие че заразяването с потенциално инфектирани материали, например разпръскване на кръв и/или тъкани на централната нервна система, се избягва при добиването им. Ето защо кожата представлява по-безопасна суровина за човешки импланти, получени от колаген. Въпреки това кръстосаното заразяване с мозъчен материал, разпръснат по време на процеса на клане и засъхнал на повърхността на кожата,

ще бъде трудно да се елиминира. Това е друг аспект, който трябва да се вземе предвид при оценката на безопасността на този изходен материал.

Методът на производство на колаген може да има някои общи етапи с производството на желатин, като алкална обработка и обработка с натриев сулфат, обработка с калциев хидроксид и натриев хидроксид или ензимна обработка. Тези общи етапи обаче може да се различават по продължителност и стойности на рН, което може да доведе до значителни разлики в техния капацитет за инактивиране. Производителите следва да извършат поне оценка на процеса въз основа на сходствата на етапите на преработка на колаген в сравнение с познатите етапи на инактивиране при производството на желатин с цел гарантиране на безопасността на продукта. Освен в обработката, разлики съществуват и в крайната употреба на материала, а оттам и по отношение оценката на риска; докато желатинът се използва широко за перорално приложение, много приложения на колагена са под формата на хирургически импланти. Този аспект също трябва да бъде взет предвид при окончателната оценка на риска.

6.2. Желатин

Желатинът е естествен, разтворим протеин, желиращ се или нежелиран, извлечен чрез частична хидролиза на колаген, получен от кости и кожи на животни.

За желатина трябва да се предостави документация за удостоверяване на съответствието с настоящото ръководство, като се вземат предвид предписанията, изброени в раздели 3—5. Освен това трябва да се има предвид следното⁽²⁵⁾:

i) Използваният изходен материал

Желатинът, използван в лекарствени продукти, може да бъде произведен от кости или кожи.

— *Кожите като изходен материал* — въз основа на сегашните познания кожата, използвани за производство на желатин, представляват по-сигурен изходен материал в сравнение с костите. Въпреки това е силно препоръчително да се въведат мерки, за да се избегне кръстосаното заразяване с потенциално инфектирани материали при добиването им.

— *Костите като изходен материал* — когато за производството на желатин са използвани кости, качеството на изходните материали трябва да бъде контролирано като допълнителен параметър, за да се гарантира безопасността на крайния продукт. Поради това се прилага следното:

1. Черепът и гръбначният мозък се отстраняват от събраните кости (суровини/изходен материал) независимо от възрастта или държавата на произход на едрия рогат добитък.
2. Прешлените се отстраняват от суровините/изходните материали от едър рогат добитък на възраст над 30 месеца от държави с контролиран или неопределен риск от CEF (категория B или V).

⁽²⁵⁾ Въз основа на становището на Научния форум по биологични опасности към Европейския орган по безопасност на храните (ЕОБХ) относно „Количествена оценка на риска от CEF за хората, който представлява желатинът по отношение на остатъчния риск от CEF“, *The EFSA Journal*, 312, (1—28); http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178620776107.htm Изискванията за подбор и производство на изходен материал са подходящи за желатин за перорално или парентерално приложение за използване в лекарствени продукти за хуманна и ветеринарна употреба.

3. Желатинът за парентерално приложение трябва да се произвежда само от кости, идващи от държави с нищожен или контролиран риск от СЕГ (съответно категории А и Б). Желатинът за перорално приложение трябва да се произвежда от кости от държави с нищожен, контролиран или неопределен риск от СЕГ (съответно категории А, Б и В).
4. Желатинът трябва да се произвежда, като се използва един от методите на производство, описани по-долу.

ii) Методи на производство

- *Кож* — по отношение на условията за преработка не се изискват конкретни мерки за желатин, произведен от кожи, при условие че са въведени мерки за контрол, за да се избегне кръстосаното заразяване както по време на добиването на кожата, така и по време на процеса на производство.
- *Кости* — когато като изходен материал се използват кости, начинът на производство ще бъде вторият параметър, който ще гарантира безопасността на желатина.
- Желатинът може да се произвежда от кости от държави с незначителен, контролиран или неопределен риск от СЕГ (категория А, Б или В), чийто произход е в съответствие с условията, описани в раздел 6.2, подточка i), като се използва производствен процес с киселина, основа или топлинна енергия/налягане.
- Методът на производство трябва да се взема предвид при извършване на оценка на риска, както е описано в раздел 4 от настоящото ръководство. Както методите на производство с киселина, така и тези с основа са показали сходна цялостна степен на инактивиране/отстраняване на инфекциозността с ТСЕ по време на валидиращите опити с желатин. Изследванията показват, че допълнителна алкална обработка (рН 13, 2 часа) на костите/осеина увеличава допълнително капацитета на производствения процес за инактивиране/отстраняване на ТСЕ. Други етапи на преработка, като например филтриране, йонообменна хроматография и стерилизация с помощта на УНТ също допринасят за безопасността на желатина.
- При типичния производствен процес с основа костите са фино смлени, обезмаслени с гореща вода и деминерализирани с разрежена солна киселина (с минимум 4 % и рН < 1,5) за период от поне два дни, за да се извлече осеин. Това е последвано от алкално третиране с наситен варов разтвор (рН най-малко 12,5) за период от поне 20 дни.
- Говеждите кости също могат да бъдат обработени с киселина. В този случай етапът с варов разтвор се заменя с предварителна киселинна обработка, при която осеинът се обработва при рН < 3,5 най-малко 10 часа.

- Етап на „мигновена“ топлинна обработка (стерилизация) при минимум 138 °С за поне 4 секунди се прилага както при производството с киселина, така и с основа.
- При метода с топлинна енергия/налягане сухите обезмаслени смлени кости са автоклавираны с наситена пара с налягане по-голямо от 3 бара и минимална температура 133 °С поне 20 минути, последвано от извличане на протеина с гореща вода.

Довършителните етапи на процесите с основа, киселина и топлинна енергия/налягане са сходни и включват извличане на желатин, измиване, филтриране и концентриране.

6.3. Кръв и кръвни продукти от едър рогат добитък

Феталният говежди серум е широко използван за клетъчни култури. Феталният говежди серум трябва да бъде получен от ембриони, събрани в кланици от здрави майки, годни за консумация от човека, като матката трябва да бъде напълно отстранена, а феталната кръв — събрана на специално предназначено място или област чрез сърпечна пункция в затворена система за събиране, като се използва асептична техника.

Телешки серум от новородено се добива от телета под 20-дневна възраст, а телешки серум — от животни на възраст под 12 месеца. В случай на донорски говежди серум, тъй като той може да е получен от животни на по-малко от 36 месеца, негативният статус на стадото на донора по отношение на ТСЕ трябва да е ясно установен и документиран. Във всички случаи серумът трябва да се събира в съответствие с определени протоколи от персонал, обучен в тези процедури, за да се избегне кръстосаното заразяване с високорискови тъкани.

За кръв и кръвни продукти от едър рогат добитък трябва да се предостави документация за удостоверяване на съответствието с настоящото ръководство, като се вземат предвид предписанията, изброени в раздели 3—5. Освен това трябва да се има предвид следното:

i) Проследимост

За всяка партида серум или плазма трябва да бъде гарантирано проследяване до кланицата. Кланиците трябва да имат на разположение списък на фермите, от които произхождат животните. Ако серумът се произвежда от живи животни, трябва да бъдат налице протоколи за всяка партида серум, което да осигурява възможност за проследяване до фермите.

ii) Географски произход

Макар тъканната инфекциозност за СЕГ при едрия рогат добитък да е по-ограничена в сравнение със скрейпи, като предпазна мярка кръвта от едър рогат добитък трябва да бъде с произход от държави от категория А. Кръвта от едър рогат добитък от държави от категория Б също е приемлива, при условие че не съществува риск за кръстосано заразяване на кръв с мозъчен материал при клането на животни на възраст над 21 месеца ⁽²⁶⁾.

⁽²⁶⁾ Становище на Научния форум по биологични опасности относно оценката на възрастовата граница при едър рогат добитък във връзка с отстраняването на някои специфични рискови материали (СРМ). Въпрос № EFSA-Q-2004-146, приет на 28 април 2005 г.

iii) **Методи за зашеметяване**

Ако се вземат проби от заклани животни, начинът на клане е от значение, за да се гарантира безопасността на материала. Установено е, че зашеметяването им с пистолет с излизашо стебло, със или без разрушаване на гръбначния мозък, както и пневматичното зашеметяване, особено ако впръсква въздух, може да разруши мозъка и да разпръсне мозъчен материал в кръвообращението. Зашемяването без проникване вече не се смята за алтернатива на зашемяването с проникване, тъй като заразяването на кръвта с мозъчен материал е доказано⁽²⁷⁾. Нишожен риск може да се очаква от електронаркозата⁽²⁸⁾, но това дори не осигурява достатъчна безопасност, тъй като при неуспех може да се наложи животните да бъдат допълнително зашемявани. Затова методите на зашемяване трябва да бъдат описани за процеса на събиране на кръв от едър рогат добитък.

В случаите, когато рискът от кръстосано заразяване на кръв с мозък не може да бъде избегнат при рутинно клане в държави с контролиран риск от СЕГ (категория Б), трябва да се прилагат мерки за безопасност, като например ограничение на възрастта на едрия рогат добитък и/или намаляване на инфекциозните агенти по време на производството.

iv) **Възраст**

За държавите с контролиран риск от СЕГ (категория Б), за кръв и кръвни продукти от едър рогат добитък трябва да се прилага предпазна възрастова граница от 21 месеца, когато не може да се допусне значително намаляване на агентите на ТСЕ в производството. Възрастова граница от 30 месеца се смята за достатъчна за кръвните продукти, за които може да се докаже значително намаляване на агенти на ТСЕ, както е описано по-долу.

v) **Намаляване на агентите на ТСЕ по време на производството**

За кръвни продукти проучванията трябва да определят капацитета на производствения процес за намаляване/премахване на агентите на ТСЕ. Оценката може да се основава на публикувани данни или на вътрешни данни, когато може да се докаже, че тези данни са свързани с конкретния производствен процес. Ако не може да се заключи, че намаляването на капацитета е съпоставимо, се препоръчва производителите да предприемат изследвания за конкретния продукт. Изследванията, използващи биохимичен анализ, може да бъдат достатъчни, ако има научни доказателства, че този анализ се намира в съотношение с данните за инфекциозност. Очертани са общи насоки за изследвания, проучващи намаляването на агенти на ТСЕ⁽²⁹⁾. Получените от мозъка заразени материали са подходящи за изследвания, проучващи риска от кръв, заражена с мозък.

Таблица 1

Принцип на приемане на говежда кръв/серуми и продукти от тях

Продукт	Фетален говежди серум	Донорски телешки серум	Донорски говежди серум	Телешки серум	Говежди серум/плазма	Говежди серум/плазма/продукти от серум	Продукти от говежди серум	Продукти от говежди серум
Географски произход на едрия рогат добитък	Кат. А и Б	Кат. А и Б	Кат. А и Б ⁽¹⁾	Кат. А и Б	Кат. А	Кат. Б	Кат. А	Кат. Б
Възраст на едрия рогат добитък	Неродени животни	< 1 година	< 36 месеца	< 1 година	Без ограничения	< 21 месеца ⁽²⁾	Без ограничения	< 30 месеца
Клане/кръстосано заразяване на кръвта с материал от централната нервна система	Без риск от кръстосано заразяване			Риск от кръстосано заразяване				
Доказване на намаляването на приони по време на производството	Не			Не				Да ⁽³⁾

⁽¹⁾ Когато едрия рогат добитък произхожда от държава от категория Б, той трябва да бъде от добре определени и документирана стада.

⁽²⁾ Може да се допусне по-висока възраст, ако кръстосаното заразяване на кръвта с материал от централната нервна система безспорно може да бъде изключено (напр. при клане „халал“).

⁽³⁾ Може да не се изисква доказване на намаляването на приони по време на производството, ако кръстосаното заразяване на кръвта с материал от централната нервна система безспорно може да бъде изключено (напр. при клане „халал“).

6.4. Продукти от животински мазнини

Животинските мазнини са мазнини, получени от тъкани, включително подкожни, коремни и междумускулни зони и кости. Животинските мазнини се използват като изходен материал за

производството на продукти от животински мазнини и трябва да бъдат „материал от категория 3 или еквивалентен“, както е определено в Регламент (ЕО) № 1774/2002 на Европейския парламент и на Съвета от 3 октомври 2002 г. за установяване на здравни правила относно странични животински продукти, непредназначени за консумация от човека.

Смята се, че е малко вероятно продуктите от животински мазнини, като например глицерин и мастни киселини, произведени от животинските мазнини при строго контролирани

⁽²⁷⁾ Насоки на СЗО за тъканното разпределение на инфекциозността в трансмисивните спонгиозни енцефалопатии (2006 г.); <http://www.who.int/bloodproducts/tse/WHO%20TSE%20Guidelines%20FINAL-22%20JuneupdatedNL.pdf>

⁽²⁸⁾ Доклад на работната група на ЕОБХ относно риска от СЕГ при разпръскване на мозъчни частици в кръвта и трупа. Въпрос № EFSA-Q-2003-122, приет на 21 октомври 2004 г. http://www.efsa.europa.eu/en/science/biohaz/biohaz_opinions/opinion_annexes/733.html

⁽²⁹⁾ Насоки за изследване на метода на производство на получени от плазма лекарствени продукти по отношение на риска от vCJD, СРМР/ВВР/5136/03.

процеси, да бъдат инфекциозни, и те са били предмет на специално внимание от страна на Комитета за патентованите лекарствени продукти и Комитета по ветеринарни лекарствени продукти. По тази причина такива материали, произведени при условия поне толкова строги, колкото тези по-долу, следва да се разглеждат като съответстващи на настоящото ръководство, независимо от географския произход и естеството на тъканите, от които се получени продуктите от животински мазнини. Примери за строго контролирани процеси са:

- трансестерификация или хидролиза при не по-малко от 200 °C за не по-малко от 20 минути под налягане (производство на глицерин, мастни киселини и естери на мастни киселини);
- осапуняване с NaOH 12 M (производство на глицерин и сапун);
- обработване на партиди: при температура не по-ниска от 95 °C в продължение на не по-малко от 3 часа;
- непрекъсната обработка: при температура не по-ниска от 140 °C под налягане за не по-малко от 8 минути, или еквивалентни условия;
- дестилация при 200 °C.

Продуктите от животински мазнини, произведени съгласно тези условия, няма вероятност да представляват риск от ТСЕ и следователно трябва да се смятат за съответстващи на настоящото ръководство.

За продуктите от животински мазнини, произведени при използване на други условия, съответствието с настоящото ръководство трябва да се удостовери.

6.5. Животински въглен

Животинският въглен се приготвя чрез карбонизиране на животински тъкани, например кости, като се използват температури над 800 °C. Освен ако няма основание за друго, изходният материал за производството на животински въглен трябва да бъде материал от категория 3 или еквивалентен, както е определено в Регламент (ЕО) № 1774/2002 на Европейския парламент и на Съвета от 3 октомври 2002 г. за установяване на здравни правила относно странични животински продукти, предназначени за консумация от човека. Независимо от географския произход и естеството на тъканта, за целите на спазването на регулаторните изисквания животинският въглен трябва да се смята за съответстващ на настоящото ръководство.

Животинският въглен, произведен съгласно тези условия, няма вероятност да представлява риск от ТСЕ и следователно трябва да се смята за съответстващ на настоящото ръководство. За животински въглен, произведен при използване на други условия, съответствието с настоящото ръководство трябва да се удостовери.

6.6. Мляко и млечни продукти

В светлината на съвременните научни познания и независимо от географския произход млякото от едър рогат добитък е малко вероятно да представлява риск от заразяване с ТСЕ⁽³⁰⁾.

Някои материали, включително лактоза, са извлечени от суоватка, остатъчната течност при производството на сирене след коагулация. Коагулацията може да включва използването на сирише, екстракт от същински стомах, или сирише, получено от други преживни животни. Комитетът за лекарствени продукти за хуманна употреба и Комитетът по ветеринарни лекарствени продукти извършиха оценка на риска при лактоза и други суроватъчни продукти, произведени чрез използване на сирише, и заключението е, че рискът от ТСЕ е нищожен, ако сиришето се произвежда в съответствие с процедурата, описана в доклада за оценка на риска⁽³¹⁾. Заключението беше одобрено от НРК⁽³²⁾, който също извърши оценка на риска от ТСЕ в сирише като цяло⁽³³⁾.

Млечните продукти от едър рогат добитък, произведени съгласно условията, описани по-долу, няма вероятност да представляват риск от ТСЕ и следователно трябва да се смятат за съответстващи на настоящото ръководство, когато:

- млякото е получено от животни при същите условия като млякото, събрано за консумация от човека; и
- при изготвянето на такива продукти (напр. казеинови хидролизати от панкреатични ензими) не се използват никакви други материали от преживни животни, с изключение на сирише.

За млечните продукти, произведени при използване на други процеси или сирише, получено от други преживни животни, съответствието с настоящото ръководство трябва да се удостовери.

6.7. Продукти от вълна

Продуктите от вълна и косми от преживни животни, като ланолин и ланолинов спирт, получени от косми, трябва да се смятат за съответстващи на настоящото ръководство, при условие че вълната и космите са с произход от живи животни.

⁽³⁰⁾ По отношение на млякото и млечните продукти от дребни преживни животни вж. становището на Комитета за ветеринарни лекарствени продукти по въпрос № EFSA-Q-2008-310, прието на 22 октомври 2008 г.; <http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/scdoc/849.htm>

⁽³¹⁾ Комитетът за лекарствени продукти за хуманна употреба и неговата Биологична работна група извършиха оценка на риска и регулаторна оценка на лактоза, изготвена с използване на сирише. Оценката на риска включва произхода на животните, изрязването на същинския стомах и наличието на точно определени процедури за гарантиране на качеството. Качеството на заместителите на млякото, използвани за фураж на животните, от които е взет същинският стомах, е от особено значение. Докладът може да бъде намерен на: <http://www.ema.europa.eu/pdfs/human/press/pus/057102.pdf>

⁽³²⁾ Временно становище относно безопасността на говеждото сирише, използвано за производството на лактоза, прието от Научния регулаторен комитет на заседанието му от 4—5 април 2002 г.; (http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out255_en.pdf) (http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out255_en.pdf).

⁽³³⁾ Научният регулаторен комитет публикува становище, прието на заседанието му от 16 май 2002 г., относно безопасността по отношение на рисковете от животински ТСЕ и особено от СЕГ на получено от животни сирише (http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out265_en.pdf).

Продуктите от вълна, произведени от вълна с произход от заклани животни, обявени за „годни за консумация от човека“ и получени чрез производствен процес, който по отношение на рН, температурата и продължителността на обработката отговаря на поне едно от определените условия на преработка, изброени по-долу, е малко вероятно да представляват риск от ТСЕ и поради това трябва да се смятат за съответстващи на настоящото ръководство.

— Обработка при $\text{pH} \geq 13$ (първоначално; съответстваща на концентрация на NaOH поне 0,1 M NaOH) при $\geq 60^\circ\text{C}$ в продължение на най-малко 1 час. Това обикновено се случва по време на етапа на рефлукс при биологичната алкална обработка.

— Молекулярна дестилация при $\geq 220^\circ\text{C}$ при ниско налягане.

За продукти от вълна, произведени при използване на други условия, съответствието с настоящото ръководство трябва да се удостовери.

6.8. Аминокиселини

Аминокиселините могат да бъдат получени чрез хидролиза на материали от различни източници.

Освен ако няма основание за друго, изходният материал за производството на аминокиселини трябва да бъде „материал от категория 3 или еквивалентен“, както е определено в Регламент (ЕО) № 1774/2002 на Европейския парламент и на Съвета от 3 октомври 2002 г. за установяване на здравни правила относно странични животински продукти, предназначени за консумация от човека.

Аминокиселините, произведени съгласно условията на преработка, описани по-долу, няма вероятност да представляват риск от ТСЕ и следователно трябва да се смятат за съответстващи на настоящото ръководство:

— аминокиселини, получени от кожи чрез процес, който включва подлагане на суровината на рН от 1 до 2,

последвано от рН по-голямо от 11, последвано от термична обработка при 140°C за 30 минути при 3 бара;

— получените аминокиселини или пептиди се филтрират след производството; и

— се извършва анализ чрез използване на утвърден и чувствителен метод за контрол на всички остатъчни интактни макромолекули в съответно определени граници.

За аминокиселини, произведени при други условия, съответствието с настоящото ръководство трябва да се удостовери.

6.9. Пептони

Пептоните са частично хидролизирани протеини, получени чрез ензимно или киселинно смилане. Те се използват в микробиологични хранителни среди за задоволяване на хранителните нужди на микроорганизми, които могат да бъдат използвани като изходен посевен материал или във ферментацията в индустриален мащаб за производство на лекарствени продукти за хуманна и ветеринарна употреба, включително ваксини. Има значителен интерес към използването на растителни протеини като алтернатива на протеините от животински произход. При все това:

— когато като изходен материал за протеини се използва желатин, това се съгласува с раздел 6.2 „Желатин“ от настоящото ръководство;

— когато като изходен материал за протеини се използва казеин, това се съгласува с раздел 6.6 „Мляко и млечни продукти“ от настоящото ръководство;

— когато изходен материал за протеини е тъкан от „значими по отношение на ТСЕ животински видове“, тъканта трябва да е с произход от животни, годни за консумация (вж. раздел 3.2 „Животински произход“ от настоящото ръководство), с максимална възраст 30 месеца за едър рогат добитък от държави с контролиран риск от СЕГ (категория Б). Възрастта на животните е от минимално значение за животни от държави с нищожен риск от СЕГ (категория А).

ПРИЛОЖЕНИЕ

Основни категории на инфекциозност

Таблиците по-долу са взети от Насоки на СЗО за тъканното разпределение на инфекциозността в трансмисивните спонгиозни енцефалопатии (2010 г.).

Вписванията на данните се показват, както следва:

- + Наличие на инфекциозност или PrP^{TSE}
- Липса на откриваема инфекциозност или PrP^{TSE}
- НИ Неизпитан
- ? Противоречиви или несигурни резултати

Категория IA: Тъкани с висока инфекциозност

Тъкан	Едър рогат добитък		Овце/кози		Лосове/елени	
	СЕГ		Скрейпи		ХИБ	
	Инфекциозност (1)	PrP ^{TSE}	Инфекциозност (1)	PrP ^{TSE}	Инфекциозност (1)	PrP ^{TSE}
Мозък	+	+	+	+	+	+
Гръбначен мозък	+	+	+	+	НИ	+
Ретина	+	НИ	НИ	+	НИ	+
Зрителен нерв (2)	+	НИ	НИ	+	НИ	+
Гръбначни ганглии	+	+	+	+	НИ	+
Тригеминални ганглии	+	+	НИ	+	НИ	–
Хипофиза (3)	–	НИ	+	+	НИ	+
Твърда мозъчна обвивка (3)	НИ	НИ	НИ	НИ	НИ	НИ

Категория IB: Тъкани с ниска инфекциозност

Тъкан	Едър рогат добитък		Овце/кози		Лосове/елени	
	СЕГ		Скрейпи		ХИБ	
	Инфекциозност (1)	PrP ^{TSE}	Инфекциозност (1)	PrP ^{TSE}	Инфекциозност (1)	PrP ^{TSE}
<i>Периферна нервна система</i>						
Периферни нерви	+	+	+	+	НИ	+
Автономни нерви и ганглии (4)	НИ	+	НИ	+	НИ	+
<i>Лимфоретикуларни тъкани</i>						
Далак	–	–	+	+	НИ	+
Лимфни възли	–	–	+	+	НИ	+

Тъкан	Едър рогат добитък		Овце/кози		Лосове/елени	
	СЕГ		Скрейпи		ХИБ	
	Инфекци-озност (1)	PrP ^{Sc}	Инфекци-озност (1)	PrP ^{Sc}	Инфекци-озност (1)	PrP ^{Sc}
Сливици	+	-	+	+	НИ	+
Мигателна ципа	+	-	[+]	+	НИ	+
Тимус	-	НИ	+	+	НИ	-
<i>Храносмилателен тракт (5)</i>						
Хранопровод	-	НИ	[+]	+	НИ	+
Предстомах (6) (само при дребните преживни животни)	-	НИ	[+]	+	НИ	+
Стомах/абомасум	-	НИ	[+]	+	НИ	+
Дванадесетопръстник	-	-	[+]	+	НИ	+
Празно черво (7)	-	+	[+]	+	НИ	НИ
Илеум (7)	+	+	+	+	НИ	+
Апендикс	Няма	Няма	Няма	Няма	Няма	Няма
Колон/сляпо черво (7)	-	-	+	+	НИ	+
Дебело черво	НИ	НИ	НИ	+	НИ	+
<i>Репродуктивни тъкани</i>						
Плацента (8)	-	НИ	+	+	НИ	-
Яйчници (3)	-	НИ	-	-	НИ	-
Матка (3)	-	НИ	-	-	НИ	-
<i>Други тъкани</i>						
Млечна жлеза/виме (9)	-	НИ	-	+	НИ	НИ
Кожа (3), (10)	-	НИ	-	+	[+]	[+]
Масна тъкан	-	НИ	НИ	НИ	[+]	НИ
Сърце/перикард	-	НИ	-	НИ	НИ	+
Бял дроб	-	НИ	-	-	НИ	+
Черен дроб (3)	-	НИ	+	-	НИ	-
Бъбрек (3), (11)	-	-	[+]	+	НИ	+
Надбъбречна жлеза	[+]	+	+	-	НИ	+
Панкреас (3)	-	НИ	+	НИ	НИ	+

Тъкан	Едър рогат добитък		Овце/кози		Лосове/елени	
	СЕГ		Скрейпи		ХИБ	
	Инфекциозност (1)	PrP ^{Sc}	Инфекциозност (1)	PrP ^{Sc}	Инфекциозност (1)	PrP ^{Sc}
Костен мозък (12)	(+)	НИ	+	НИ	НИ	–
Скелетни мускули (13)	[+]	НИ	[+]	+	[+]	–
Език (14)	–	НИ	[+]	+	НИ	–
Кръвоносни съдове	–	НИ	НИ	+	НИ	–
Носна лигавица (15)	–	НИ	+	+	НИ	+
Слюнчена жлеза	–	НИ	+	НИ	–	–
Роговица (16)	НИ	НИ	НИ	НИ	НИ	НИ

Телесни течности, секрети и екскрети

Ликвор	–	НИ	+	–	НИ	НИ
Кръв (17)	–	?	+	?	+	?
Слюнка	НИ	НИ	–	НИ	+	[–]
Мляко (18)	–	–	+	[+]	НИ	НИ
Урина (19)	–	НИ	–	–	–[+]	[+]
Фекалии (19)	–	НИ	–	НИ	–[+]	НИ

Категория IV: Тъкани с ниска инфекциозност

Тъкан	Едър рогат добитък		Овце/кози		Лосове/елени	
	СЕГ		Скрейпи		ХИБ	
	Инфекциозност (1)	PrP ^{Sc}	Инфекциозност (1)	PrP ^{Sc}	Инфекциозност (1)	PrP ^{Sc}
<i>Репродуктивни тъкани</i>						
Тестиси	–	НИ	–	–	НИ	–
Простата/епидидимис/ семенни мехурчета	–	НИ	–	–	НИ	–
Сперма	–	НИ	–	–	НИ	НИ
Околоплодни течности	–	НИ	НИ	НИ	НИ	НИ
Фетус (20)	–	НИ	–	–	НИ	(–)
Ембрион (20)	–	НИ	?	НИ	НИ	НИ

Тъкан	Едър рогат добитък		Овце/кози		Лосове/елени	
	СЕГ		Скрейпи		ХИБ	
	Инфекциозност ⁽¹⁾	PrP ^{TSE}	Инфекциозност ⁽¹⁾	PrP ^{TSE}	Инфекциозност ⁽¹⁾	PrP ^{TSE}
<i>Мускулно-скелетни тъкани</i>						
Кости	–	НИ	НИ	НИ	НИ	НИ
Сухожилия	–	НИ	НИ	НИ	НИ	НИ
<i>Други тъкани</i>						
Гингивални тъкани	НИ	НИ	НИ	НИ	НИ	НИ
Зъбна пулпа	НИ	НИ	НИ	НИ	НИ	НИ
Трахея	–	НИ	НИ	НИ	НИ	–
Щитовидна жлеза	НИ	НИ	–	НИ	НИ	–
<i>Телесни течности, секрети и екскрети</i>						
Коластра ⁽²¹⁾	(–)	–	(?)	НИ	НИ	НИ
Кръв от пъпната връв ⁽²¹⁾	–	НИ	НИ	НИ	НИ	НИ
Пот	НИ	НИ	НИ	НИ	НИ	НИ
Съзми	НИ	НИ	НИ	НИ	НИ	НИ
Носна слуз	НИ	НИ	НИ	НИ	НИ	НИ
Жлъчка	НИ	НИ	НИ	НИ	НИ	НИ

(1) Направени са биологични тестове за инфекциозност на човешки тъкани на примати или мишки (или и на двата вида); биологични тестове на инфекциозност на телески тъкани са направени на говеда или мишки (или и на двата вида); и повечето биологични тестове на тъкани от овце и/или кози са направени само на мишки. По отношение на овцете и козите не всички резултати се отнасят и за двата вида, напр. две кози (но не овце) са придобили СЕГ по естествен път [Eurosurveillance, 2005, Jeffrey et al., 2006]. По подобен начин голяма част от резултатите, описани за ХИБ, са получени от изследвания, направени с елени, и резултатите може да не бъдат еднакви с тези при лосове и други животни от семейство Елени.

(2) В експериментални модели на ТСЕ е установено, че зрителният нерв е път на невроинвазия и съдържа високи титри на инфекциозност.

(3) За всички форми на ТСЕ при човека няма експериментални данни за инфекциозност в човешката хипофиза или твърда мозъчна обвивка, но трупни части от твърда мозъчна обвивка и растежен хормон, получени от трупни хипофизы, са разпространили болестта сред стотици хора и следователно трябва да бъдат включени в категорията на високорисковите тъкани. PrP^{TSE} е открит с имуноблот в твърда мозъчна обвивка на пациент с vCJD, починал в САЩ след необичайно дълъг инкубационен период (вж. също таблица IV за други позитивни тъкани: кожа, бъбреци, черен дроб, панкреас, яйчници и матка) [Notari et al., 2010]. Трябва да се отбележи, че в по-ранни проучвания на множество случаи в Обединеното кралство се съобщава, че всички тези тъкани са негативни [Ironsides et al., 2002; Head et al., 2004].

(4) При едрия рогат добитък се съобщава за непостоянно наличие на PrP^{TSE} в чревния сплит в дисталния илеум, но имунохистохимично изследване на тъкани от единичен случай на „мъртво животно“ със СЕГ в Япония допуска (макар и неокончателно) въвеждане на миентричния плексус по цялата дължина на тънкото и дебелото черво [Kimura and Haritani, 2008].

(5) При vCJD PrP^{TSE} е локализиран в чревната лимфоидна и неврална тъкан (лигавицата, мускулният слой и серозата са отрицателни).

(6) Престомашното на дребните преживни животни (ретикулум, търбух и книжка) е широко консумирано, както и същинският стомах (абомасум). Същинският стомах на едрия рогат добитък (а понякога и на овцете) също е източник на сирише.

(7) Когато за експерименталното заразяване на добитък е използвана голяма перорална доза на СЕГ, инфекциозност се открива в празното черво и илео-цекалната връзка при Tg мишки, свръхекспресиращи PrP [с любезното съдействие на д-р M. Groschup]. PrP^{TSE} се открива с ниска честота в лимфоидната тъкан на илеума [Terry et al., 2003] и с още по-ниска честота в лимфоидната тъкан на празното черво на едър рогат добитък, заразен по подобен начин [EFSA, 2009].

(8) Единственото съобщение за предаване на спорадична инфекциозност за болестта на Кройцфелд—Якоб чрез човешка плацента никога не е било потвърдено и се смята за малко вероятно.

(9) PrP^{TSE} е открит при заразени със скрейпи овце с хроничен мастит, но не и при заразени овце без мастит [Ligios et al., 2005].

(10) Проучвания върху хамстери, заразени перорално със скрейпи, разкриха, че PrP^{TSE} отлагания в кожа са били първоначално локализираны в малки нервни влакна. Също така се съобщава, че апикална кожа „кадифе“ от рога на елен, заразен с ХИБ, съдържа PrP^{TSE} и инфекциозност [Angers et al., 2009].

(11) PrP^{TSE} е установен чрез имунохистохимия в бъбречното легенче на заразени със скрейпи овце [Siso et al., 2006]; и в лимфните фоликули на съединителна тъкан в съседство с бъбречното легенче на заразен с ХИБ американски елен [Fox et al., 2006].

- (12) Една позитивна проба от костен мозък при многократни опити за предаване на едър рогат добитък с перорално дозиран заразен със СЕГ мозък [Wells et al., 1999; Wells et al., 2005; Sohn et al., 2009].
- (13) Мускулни хомогенати не са предали болестта от хора със спорадична болест на Кройцфелд—Якоб на примати, нито от едър рогат добитък със СЕГ на едър рогат добитък. Въпреки това вътремозъчната инокулация на хомогенат от *musculus semitendinosus* (включително нервни и лимфни елементи) от една крава с клинична СЕГ предава болестта на трансгенни мишки, свръхекспресиращи PrP в размер, показателен за следи от инфекциозност [Buschmann и Groschup, 2005]. Също така скорешни публикувани и непубликувани изследвания съобщават за наличието на PrP^{TSE} в скелетните мускули на експериментални модели на скреипи и vCJD при гризачи [Beekes et al., 2005], при опитни и спонтанни инфекции със скреипи на овце и кози [Andreoletti et al., 2004], при оцвете с перорално дозиране със СЕГ [Andreoletti, непубликувани данни] и при хора със спорадични, ятрогенни и вариантни форми на болестта на Кройцфелд—Якоб [Glatzel et al., 2003; Kovacs et al., 2004; Peden et al., 2006]. Биологичните тестове на мускули при трансгенни мишки, експресиращи PrP на семейство Елени, са документирали инфекциозност в заразен с ХИБ американски елен [Angers et al., 2006] и са в ход експерименти, за да се определи дали откриваем PrP^{TSE} в други форми на ТСЕ също е показателен за инфекциозност.
- (14) При едрия рогат добитък биологичният тест за инфекциозност в езика е негативен, но наличието на инфекциозност в небна тонзила предизвиква загриженост за възможна инфекциозност в тонзиларната тъкан в основата на езика, която може да не бъде отстранена при клане [Wells et al., 2005; EFSA, 2008]. При овце, заразени по естествен път със скреипи, 7 от 10 животни имат откриваем PrP^{TSE} в езика [Casalone et al., 2005; Corona et al., 2006].
- (15) Локализиран главно в регионите, участващи в обонятелното сензорно възприятие.
- (16) Тъй като само за един случай на ятрогенна болест на Кройцфелд—Якоб се счита със сигурност, че се дължи на трансплантация на роговицата сред стотици хиляди реципиенти (един допълнителен случай се счита за вероятен, а друг случай — само за възможен), роговицата е категоризирана като нискорискова тъкан; други тъкани от предния сегмент (леща, вътреочна течност, ирис, конюнктива) са изследвани с негативен резултат както по отношение на vCJD, така и на други ТСЕ при хората и няма епидемиологични доказателства, че те са свързани с ятрогенно предаване на болестта.
- (17) Изобилието от данни от изследвания на инфекциозността на кръвта в експериментални модели на ТСЕ при гризачи нарасна с последните проучвания, документиращи инфекциозността в кръвта на овце с възникнало по естествен път скреипи или овце с прелята кръв от заразен със СЕГ едър рогат добитък [Houston et al., 2008]; от елени с възникнала по естествен път ХИБ [Mathiason et al., 2006]; и (от епидемиологичните наблюдения) във фракцията на червените кръвни клетки (която включва значително количество плазма и левкоцити) от четири кръвни донора в предклинична фаза на vCJD инфекции [разгледано в Brown, 2006; Hewitt et al., 2006]. Приложението на плазмен фактор VIII също е потенциално свързано със субклиничен случай на vCJD при болен от хемофилия пациент [Peden et al., 2010]. Не е доказано, че кръвта пренася болестта от хора с форма на „класическа“ ТСЕ [Dorsey et al., 2009] или от едър рогат добитък със СЕГ (включително телешка фетална кръв). Редица лаборатории, които използват нови високочувствителни методи за откриване на PrP^{TSE}, съобщават за успех при най-различни форми на ТСЕ при животни и хора. Някои от тях обаче срещат трудности при получаването на възпроизводими резултати с плазма и все още не е ясно дали положителните резултати означават потенциал за предаване на болестта, било поради фалшиви положителни резултати, било поради „верни“ положителни резултати, които се дължат на субтрансмисивни концентрации на PrP^{TSE}. Поради тези съображения (и факта, че все още липсват данни от съпяно тестване на проби от заразени по естествен път хора или животни) експертната група счете, че още е твърде рано да се оцени валидността на тези тестове с достатъчна сигурност, която да позволи отрицателно или положително заключение.
- (18) Данните, че няма инфекциозност в млякото от заразени със СЕГ говеда, включват епидемиологични наблюдения във времето и в пространството, които не са успели да открият предаване от майката на телета, сукали през дълъг период; клинични наблюдения на повече от сто телета, сукали от заразени крави, които не са развили СЕГ; както и експериментални наблюдения, че с млякото от заразени крави, отглеждани до възраст, надвишаваща минималния инкубационен период, не е предавана болестта, когато е въведено вътремозъчно или перорално на мишки [Middleton и Barlow, 1993; Taylor et al., 1995]. Също така PrP^{TSE} не е открит в млякото от едър рогат добитък, инкубиращ СЕГ, след експериментално перорално приложение [SEAC, 2005]. Въпреки това са открити ниски нива (μg на ng/L) на нормален PrP в мляко от животни и хора [Franscini et al., 2006]. PrP^{TSE} е открит в млечните жлези на заразени със скреипи овце с хроничен мастит [Ligios et al., 2005] и съвсем наскоро е съобщено, че с млякото (което в някои случаи съдържа и коластра) от заразени със скреипи овце болестта се предава на здрави животни [Konold et al., 2008; Lacroix et al., 2008].
- (19) Смесен материал за инокулация от урина и фекалии от заразен по естествен път с ХИБ елен не предава болестта за период на наблюдение от 18 месеца след инокуирането в здрав елен с хетерозиготен (96 G/S) PRNP генотип [Mathiason et al., 2006]. Наскоро извършени биологични тестове с Tg мишки са предали болестта както с урината [Haley et al., 2009], така и с фекалите [Tamgüney et al., 2009]. Освен това мишки с лимфоцитен нефрит, които са експериментално заразени със скреипи, отделят PrP^{TSE} и инфекциозност в урината, когато това е биологично тествано в Tg мишки [Seeger et al., 2005]. Много ниски нива на инфекциозност са открити в урината (и хистологично нормални бъбреци) на хамстери, заразени експериментално със скреипи [Gregori и Rohwer, 2007; Gonzalez-Romero et al., 2008]. Накрая, в експериментален модел на хамстери, заразени със скреипи, пероралният прием има за резултат заразени фекалии, когато това е биологично тествано в Tg мишки, свръхекспресиращи PrP [Safar et al., 2008].
- (20) Ембрионите на заразени със СЕГ животни не предават болестта на мишки, но не са правени никакви измервания на инфекциозността на телешки фетални тъкани, с изключение на кръв (негативни биологични тестове на мишки) [Fraser и Foster, 1994]. Телета, родени от майки, които са получили ембриони от заразени със СЕГ животни, са преживели за период на наблюдение до седем години и изследванията на мозъците както на незаразените майки, така и на тяхното потомство показват липса на спонгиозна енцефалопатия или PrP^{TSE} [Wrathall et al., 2002].
- (21) Ранните съобщения за предаване на спорадична инфекциозност за болестта на Кройцфелд—Якоб от човешка кръв от пълна връв и коластра никога не са били потвърдени и се смятат за малко вероятни. Биологичната проба от крава, заразна със СЕГ, на трансгенни мишки, свръхекспресиращи говежди PrP, даде негативен резултат [Buschmann и Groschup, 2005]; и PrP^{TSE} не е открит в коластра от едър рогат добитък, инкубиращ СЕГ, след експериментално перорално приложение [SEAC, 2005].