

IV

(Información)

INFORMACIÓN PROCEDENTE DE LAS INSTITUCIONES, ÓRGANOS Y ORGANISMOS DE LA UNIÓN EUROPEA

COMISIÓN EUROPEA

Nota explicativa sobre minimización del riesgo de transmisión de los agentes de la encefalopatía espongiforme animal a través de medicamentos para uso humano y veterinarios (EMA/410/01 rev.3)

(2011/C 73/01)

La presente nota establece orientaciones sobre la minimización del riesgo de transmisión de los agentes de la encefalopatía espongiforme animal a través de medicamentos para uso humano y veterinarios.

La presente 3 revisión técnica de la nota explicativa sobre las encefalopatías espongiformes transmisibles (EET) se lleva a cabo para tomar en consideración el progreso del conocimiento científico en el ámbito de las encefalopatías espongiformes transmisibles, así como la situación cambiante en lo relativo a la encefalopatía espongiforme bovina (EEB) en todo el mundo.

Por lo que respecta a la clasificación de los países o regiones en función de su riesgo con respecto a la EEB, la nota explicativa revisada hará referencia a las reglas establecidas por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), que sustituyen a la anterior clasificación geográfica del riesgo de EEB. No obstante, debería aplicarse la actual clasificación geográfica del riesgo a los países que se clasificaron en función de los criterios de riesgo pero aún no de acuerdo con los criterios de la OIE, siempre que no haya pruebas de un cambio significativo en su riesgo con respecto a la EEB.

Se han introducido nuevos criterios relativos a la procedencia y el tratamiento de la gelatina y los derivados de sangre de vacuno utilizados en la fabricación de medicamentos de uso humano o veterinario, así como una nueva subsección sobre peptonas.

La presente sustituye a la anterior revisión de la nota explicativa (EMA/410/01 Rev. 2 publicada en el *Diario Oficial de la Unión Europea* C 24 de 28.1.2004, p. 6). La fecha propuesta para la aplicación de la presente nota explicativa revisada es el 1 de julio de 2011.

1. INTRODUCCIÓN**1.1. Contexto científico**

Las encefalopatías espongiformes transmisibles (EET) son neuropatías degenerativas crónicas caracterizadas por la acumulación de una isoforma anormal de una glucoproteína celular (denominada PrP o proteína del prión). La isoforma anormal de la PrP (PrP^{EET}) difiere de la proteína normal PrP (PrPc) en su gran resistencia a la proteasa y a los tratamientos de desnaturalización térmica. La PrP^{EET} se considera el agente infeccioso responsable de la transmisión de las EET.

Entre las EET en animales figuran:

- la encefalopatía espongiforme bovina (EEB),
- la tembladera de ovinos y caprinos,

— la caquexia crónica de los cérvidos (ciervos y alces),

— la encefalopatía transmisible del visón de criadero,

— la encefalopatía espongiforme felina (específicamente de gatos domésticos y grandes felinos en cautividad), y

— la encefalopatía espongiforme de los ungulados exóticos de parques zoológicos.

En humanos, las encefalopatías espongiformes incluyen diferentes formas de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD), el kuru, el síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS) y el insomnio familiar mortal (FFI).

Se ha registrado la transmisión iatrogénica de las encefalopatías espongiformes. En el caso de los ovinos, la tembladera se ha transmitido accidentalmente por el uso de la vacuna contra el mal de Louping preparada a partir de cerebros y bazos agrupados de ovinos, tratados con formaldehído, a los que, por descuido, se había incorporado material de ovinos infectados con tembladera. Asimismo, la transmisión de la tembladera a ovinos y caprinos se ha producido a causa de la utilización de una vacuna inactivada con formol contra la agalactia contagiosa, elaborada a partir de cerebros y glándulas mamarias homogeneizados de ovinos infectados con *Mycoplasma agalactiae*. En el ser humano, existen casos documentados de transmisión de la CJD atribuidos a la administración parenteral de hormona del crecimiento y de gonadotropina procedentes de las glándulas pituitarias de cadáveres humanos. También se han atribuido casos de la CJD al uso de instrumental infectado durante intervenciones quirúrgicas cerebrales y en trasplantes de duramadre y de córnea humanas.

La transmisión de las EET entre especies se ve restringida por una serie de barreras naturales, pues la transmisibilidad se ve afectada por la especie original, la cepa del prión, la dosis, la vía de entrada y, en algunas especies, el alelo hospedador del gen PRNP. Las barreras entre especies se pueden atravesar en condiciones apropiadas.

La EEB se diagnosticó por primera vez en el Reino Unido en 1986 y se han visto afectados una gran cantidad de vacunos y rebaños. Está claro que la EEB es una enfermedad de transmisión alimentaria (alimentación a base de carne y huesos procedentes de animales infectados por EET). Otros países han tenido casos de EEB en animales importados del Reino Unido o en animales autóctonos. Existen pruebas convincentes de que la variante de la CJD (vCJD) está causada por el agente responsable de la EEB. Por consiguiente, conviene mantener un enfoque prudente si se utilizan materiales biológicos procedentes de especies infectadas naturalmente por EET (especialmente vacunos) para la fabricación de medicamentos.

Durante los programas de vigilancia activa, en algunos casos esporádicos de Europa, Norteamérica y Japón, se han identificado dos formas atípicas de EEB desconocidas hasta entonces (BSE tipo L, también denominada BASE, y BSE tipo H). La «L» y la «H» identifican las posiciones electroforéticas más alta y más baja de sus isoformas Pr^{PEET} resistentes a la proteasa. Hay que señalar que esos casos atípicos se han detectado en países que no habían sufrido la EEB clásica hasta entonces, como Suecia, o en los que solo se habían detectado unos pocos casos, como Canadá o los EE.UU. El agente de la EEB atípica se ha transmitido experimentalmente a ratones transgénicos que expresaban la proteína humana del prión y a un macaco *cynomolgus* o cangrejero.

La tembladera está presente en todo el mundo y se ha notificado en la mayoría de los países europeos. Chipre registra la mayor incidencia. Aunque el ser humano está expuesto a la aparición natural de la tembladera desde hace más de doscientos cincuenta años, no hay pruebas epidemiológicas que vinculen directamente la tembladera a las encefalopatías espongiformes en seres humanos⁽¹⁾. Sin embargo, sigue existiendo un riesgo

teórico y actualmente incuantificable de que se pueda haber alimentado a ovinos con suplementos proteicos infectados con la EEB. Además, debe aceptarse que cualquier agente de la EEB introducido en la población de los pequeños rumiantes a través de una alimentación contaminada puede reciclarse y amplificarse⁽²⁾.

Hay interés por infectar células con agentes de las EET para elaborar ensayos y por razones científicas básicas. Se ha registrado algún éxito, casi siempre con líneas celulares neuronales. Las condiciones necesarias para infectar una célula no se comprenden bien; ese proceso es difícil y requiere combinaciones específicas de agentes y de células. No se considera adecuado hacer recomendaciones específicas en términos de los sustratos celulares que se deben utilizar para la producción de sustancias biológicas o derivadas de la biotecnología. No obstante, en las evaluaciones del riesgo deberá tenerse en cuenta la posibilidad de infección de líneas celulares con agentes de las EET.

1.2. Cumplimiento de la normativa

Evaluación del riesgo – Teniendo en cuenta que la utilización de materiales procedentes de animales es inevitable para la elaboración de determinados medicamentos y que la eliminación completa del riesgo en la fuente rara vez es posible, las medidas adoptadas para hacer frente al riesgo de transmisión de EET animales a través de medicamentos representan una minimización del riesgo, pero no su eliminación. En consecuencia, el fundamento para el cumplimiento de la normativa debería basarse en una evaluación del riesgo, tomando en consideración todos los factores pertinentes que se definen en la presente nota explicativa (véase más adelante).

Base jurídica – La presente nota explicativa la publica la Comisión Europea de conformidad con el

- anexo I, parte I, módulo 3, sección 3.2: *Contenido: principios y requisitos básicos*, punto 9), de la Directiva 2001/83/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 6 de noviembre de 2001, por la que se establece un código comunitario sobre medicamentos para uso humano⁽³⁾, modificada, y el
- anexo I, título I, parte 2, sección C: *Producción y control de los materiales de partida*, de la Directiva 2001/82/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 6 de noviembre de 2001, por la que se establece un código comunitario sobre medicamentos veterinarios⁽⁴⁾, modificada.

⁽¹⁾ Actualmente la EFSA y el CEPCE se encargan de su evaluación. Para una información actualizada, consúltese la siguiente dirección: <http://registrofquestions.efsa.europa.eu/roqFrontend/questionsListLoader?mandate=M-2009-0221>

⁽²⁾ En enero de 2005, tras la confirmación de un caso de EEB en un caprino en Francia, se adoptaron nuevas medidas legislativas relativas al seguimiento y a un aumento de las pruebas para los pequeños rumiantes. El incremento de la vigilancia no identificó nuevos casos de EEB en ovinos y caprinos en la UE.

⁽³⁾ DO L 311 de 28.11.2001, p. 67.

⁽⁴⁾ DO L 311 de 28.11.2001, p. 1.

Estas Directivas exigen que los solicitantes de autorizaciones de comercialización de medicamentos humanos y veterinarios demuestren que los medicamentos han sido fabricados de acuerdo con la última versión de la presente nota explicativa publicada en el *Diario Oficial de la Unión Europea*. Esta obligación persiste una vez se ha concedido la autorización de comercialización.

Por definición, el principio de los materiales especificados de riesgo, según la definición del Reglamento (CE) n° 999/2001 del Parlamento Europeo y del Consejo ⁽⁵⁾ no se aplica a los medicamentos. Sin embargo, el Reglamento (CE) n° 1774/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo ⁽⁶⁾, que se aplica desde el 1 de mayo de 2003, establece las normas sanitarias aplicables a los subproductos animales no destinados al consumo humano. Como norma general, y a menos que esté debidamente justificado, todo subproducto animal que se utilice como material de partida en la fabricación de medicamentos será «material de la categoría 3 (es decir, seguro) o equivalente», con arreglo a la definición del Reglamento (CE) n° 1774/2002. El uso de sustancias derivadas de otros tejidos de infecciosidad elevada deberá justificarse en función de una evaluación beneficio/riesgo adecuada (véase más adelante).

La presente nota explicativa debe leerse conjuntamente con los distintos instrumentos jurídicos de la UE, incluidas las Decisiones de la Comisión progresivamente aplicadas desde 1991. Llegado el caso, se facilitan en el texto las referencias a esas Decisiones. Las posiciones y notas explicativas del Comité permanente de medicamentos de uso humano (CHMP) y del Comité de medicamentos veterinarios (CMV) siguen siendo de aplicación a efectos del cumplimiento de la normativa a menos que la presente nota explicativa diga lo contrario.

Una monografía general titulada *Productos con riesgo de transmisión de agentes de encefalopatías espongiformes animales* se incluye en la Farmacopea Europea. Dicha monografía, que hace referencia a un capítulo general de la Farmacopea Europea, es idéntica a la presente nota explicativa. La monografía constituye la base para la expedición de certificados de idoneidad como procedimiento para demostrar la conformidad EET de las sustancias y los materiales utilizados en la fabricación de medicamentos humanos y veterinarios.

Aclaración de la nota explicativa – Como la comprensión científica de las EET, y especialmente de la patogenia de las enfermedades, está en fase de evolución, de vez en cuando se podrá solicitar al CHMP y a su grupo de trabajo sobre biotecnología, en colaboración con el CMV y su grupo de trabajo sobre inmunología, que elaboren nuevas orientaciones en forma de posiciones o notas explicativas con objeto de aclarar la presente nota explicativa. Las orientaciones suplementarias las publicará la Comisión; asimismo aparecerán en el sitio web de la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) y se tomarán en

consideración de acuerdo con el ámbito de aplicación de la certificación de la Dirección Europea de Calidad del Medicamento (EDQM).

2. ÁMBITO DE APLICACIÓN

Especies animales afectadas por las EET – Los vacunos, ovinos, caprinos y animales susceptibles naturalmente de infección por los agentes de las encefalopatías espongiformes transmisibles o susceptibles de infección por vía oral distintos de los humanos ⁽⁷⁾ y los primates no humanos se definen como especies animales afectadas por las EET ⁽⁸⁾.

Materiales – La presente nota explicativa hace referencia a los materiales procedentes de «especies animales afectadas por las EET» utilizados para la elaboración de:

- sustancias activas,
- excipientes y adyuvantes, y
- materias primas y materiales de partida y reactivos que intervienen en la producción (por ejemplo: seroalbúmina bovina; enzimas; medios de cultivo, incluidos los que se utilizan para preparar bancos de células de trabajo o nuevos bancos de células primarios para medicamentos sujetos a nueva autorización de comercialización).

La presente nota explicativa también se aplica a los materiales que entran en contacto directo con el instrumental utilizado en la fabricación del medicamento o que entran en contacto con el medicamento y, por tanto, son potencialmente contaminantes.

Los materiales utilizados en la cualificación de instalaciones y equipos, como los medios de cultivo utilizados en experimentos de relleno de medios para validar procesos de envasado aséptico, se considerarán conformes con la presente nota explicativa siempre que el constituyente o constituyentes procedan de tejidos que no tengan infecciosidad detectable (tejidos de la categoría IC), cuyo riesgo de contaminación cruzada con tejidos potencialmente infecciosos se haya tenido en cuenta (véase el punto 3.3) y cuyos materiales procedan de países con un riesgo insignificante de EEB o con un riesgo controlado de EEB (categorías A y B, respectivamente; véase el punto 3.2). Dicha información se facilitará en el expediente de autorización de comercialización y se comprobará con ocasión de las inspecciones sistemáticas para su conformidad con las prácticas correctas de fabricación.

⁽⁷⁾ El Comité de Medicamentos de Uso Humano y su grupo de trabajo sobre biotecnología han publicado documentos de orientación normativa y de posición sobre los medicamentos derivados de tejidos humanos en relación con la CJD y la vCJD. Dicha orientación se puede consultar en la siguiente dirección: <http://www.ema.europa.eu>

⁽⁸⁾ Los cerdos y las aves, que son especies animales de especial interés para la fabricación de medicamentos, no son sensibles de forma natural a la infección por vía oral. Por consiguiente, no son especies animales afectadas por las EET en el sentido de la presente nota explicativa. Asimismo, tampoco los perros, conejos y peces son especies animales afectadas por las EET en el sentido de la presente nota explicativa.

⁽⁵⁾ DO L 147 de 31.5.2001, p. 1.

⁽⁶⁾ DO L 273 de 10.10.2002, p. 1. El Reglamento (CE) n° 1774/2002 fue derogado por el Reglamento (CE) n° 1069/2009, que comenzará a aplicarse a partir del 4 de marzo de 2011 (DO L 300 de 14.11.2009, p. 1).

Otros materiales como los agentes de limpieza, suavizantes y lubricantes que entran en contacto con el medicamento durante su fabricación ordinaria, en la fase de acabado o en la de envasado primario se considerarán conformes con la presente nota explicativa si son derivados del sebo elaborados según los rigurosos procesos fisicoquímicos que se describen en el punto 6.

Lotes de siembra, bancos de células y fermentación/producción corriente ⁽⁹⁾ – A efectos del cumplimiento de la normativa, los inóculos primarios o los bancos de células primarios que figuran en las solicitudes de autorización de comercialización presentadas después del 1 de julio de 2000 (para los medicamentos humanos) o del 1 de octubre de 2000 (para los medicamentos veterinarios) estarán cubiertos por la presente nota explicativa.

Los inóculos primarios y bancos de células primarios,

- para antígenos de vacuna,
- para un medicamento derivado de un tratamiento biotecnológico en el sentido del anexo del Reglamento (CE) n.º 726/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo ⁽¹⁰⁾, y
- para otros medicamentos que utilicen lotes de siembra o sistemas de bancos de células en su fabricación,

que ya se hayan aprobado para la fabricación de un constituyente de un medicamento autorizado se considerarán conformes con la presente nota explicativa aunque se hayan incluido en las solicitudes de autorización de comercialización presentadas después del 1 de julio de 2000 (para los medicamentos humanos) o del 1 de octubre de 2000 (para los medicamentos veterinarios).

En el caso de los bancos de células primarios y los inóculos primarios elaborados antes del 1 de julio de 2000 para los medicamentos humanos) o del 1 de octubre de 2000 (para los medicamentos veterinarios) pero que no estén aún aprobados como constituyentes de un medicamento autorizado, deberá demostrarse que satisfacen los requisitos de la presente nota explicativa. Si no están disponibles (o han dejado de estarlo) las pruebas documentales completas relativas a materias primas, materiales de partida o reactivos utilizados para la elaboración de los mencionados bancos de células o inóculos, el solicitante presentará una evaluación del riesgo según la descripción del punto 4 de la presente nota explicativa.

Se considerarán conformes los inóculos de trabajo o bancos de células elaborados que se utilicen en la fabricación de medicamentos autorizados antes del 1 de julio de 2000 (medicamentos de uso humano) o del 1 de octubre de 2000 (medicamentos veterinarios) y hayan sido objeto de una evaluación del riesgo, realizada adecuadamente por una autoridad competente de los Estados miembros o por la Agencia Europea de Medicamentos y declarada aceptable.

⁽⁹⁾ Véase también: Documento de posición sobre la evaluación del riesgo de transmisión de los agentes de las encefalopatías espongiformes animales a partir de inóculos primarios utilizados en la fabricación de vacunas veterinarias (EMEA/CMV/019/01 – febrero de 2001) adoptado por el CMV en julio de 2001, DO C 286 de 12.10.2001, p. 12.

⁽¹⁰⁾ DO L 136 de 30.4.2004, p. 1.

Sin embargo, si se utilizan materiales procedentes de las «especies animales afectadas por las EET» en procesos de fermentación/producción corriente o en la elaboración de inóculos de trabajo y bancos de células de trabajo, el solicitante deberá demostrar que satisfacen los requisitos de la presente nota explicativa.

3. CONSIDERACIONES GENERALES

3.1. Principios científicos para minimizar el riesgo

Cuando los fabricantes puedan elegir, se preferirá el uso de materiales procedentes de «especies animales no afectadas por las EET» o de origen no animal. Deberá justificarse el uso para materiales procedentes de «especies animales afectadas por las EET» en lugar de materiales procedentes de «especies no afectadas por las EET» o de origen no animal. Si deben utilizarse materiales procedentes de «especies animales afectadas por las EET», deberán tomarse en consideración todas las medidas necesarias para minimizar el riesgo de transmisión de EET.

No hay todavía pruebas de diagnóstico fácilmente aplicables disponibles para determinar la infecciosidad por EET *in vivo*. El diagnóstico se basa en la confirmación *post mortem* de lesiones cerebrales características mediante histopatología y/o detección de la PrP^{EET} por inmunotransferencia o inmunoensayo. La demostración de la infecciosidad mediante inoculación de tejido sospechoso en una especie objetivo o en animales de laboratorio también se utiliza para confirmación. No obstante, debido a los largos períodos de incubación de todas las EET, los resultados de las pruebas *in vivo* tardan en estar disponibles meses o años.

Se han desarrollado diversas pruebas inmunohistoquímicas para la detección de la PrP^{EET} en muestras *post mortem* y algunas se consideran ahora sumamente sensibles. No obstante, su capacidad para detectar un animal infectado depende del momento de la recogida de muestras en relación con el momento de exposición, el tipo de tejido recogido y la dosis infecciosa adquirida, junto con el momento consiguiente de aparición de la dolencia clínica. La información actualmente disponible sobre la manera en que la variación de las cepas puede afectar al proceso de detección es insuficiente.

Aunque la detección de animales fuente mediante ensayos *in vitro* puede evitar el uso de animales en fases avanzadas de incubación de la enfermedad y puede aportar información sobre la calificación epidemiológica de un país o región determinados, no se considera conveniente ninguna de las pruebas para confirmar sin ambigüedades la situación negativa de un animal.

La minimización de los riesgos de transmisión de las EET se basa en tres parámetros complementarios:

- los animales fuente y su origen geográfico,
- la naturaleza del material animal utilizado en la fabricación y todos los procedimientos
- instaurados para evitar la contaminación cruzada con materias de mayor riesgo,
- el proceso o procesos de fabricación, incluido el sistema de garantía de la calidad existente para garantizar la estabilidad y rastreabilidad del producto.

3.2. Animales fuente

Los materiales básicos utilizados para la producción de materiales destinados a la fabricación de medicamentos deberán derivarse de animales aptos para el consumo humano tras la inspección *ante y post mortem* de conformidad con las condiciones de la UE o equivalentes (tercer país), excepto en el caso de los materiales procedentes de animales vivos, cuya buena salud se determinará mediante examen clínico.

3.2.1 Origen geográfico

3.2.1.1. Materiales bovinos

La Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) ⁽¹¹⁾ establece los criterios para la evaluación de la calificación de los países en el capítulo del Código Zoonosario Internacional sobre la EEB. Los países o regiones se clasifican de la siguiente manera:

- A. Países o regiones con un riesgo insignificante de EEB.
- B. Países o regiones con un riesgo controlado de EEB.
- C. Países o regiones con un riesgo indeterminado de EEB.

Con arreglo a lo establecido en el Reglamento (CE) n° 999/2001 de la Comisión ⁽¹²⁾, modificado, la clasificación de países o regiones en función de su riesgo de EEB, basada en las normas contempladas por la OIE, es legalmente vinculante en la UE desde el 1 de julio de 2007. La Decisión 2007/453/CE de la Comisión ⁽¹³⁾, modificada, establece la clasificación de países o regiones según su riesgo de EEB.

Previamente, el Comité Director Científico de la Comisión Europea (CDC) ⁽¹⁴⁾ había instaurado un sistema provisional de clasificación de los países en función de su riesgo geográfico de EEB (REG) ⁽¹⁵⁾.

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

⁽¹²⁾ Reglamento (CE) n° 722/2007 de la Comisión (DO L 164 de 26.6.2007, p. 7).

⁽¹³⁾ DO L 172 de 30.6.2007, p. 84.

⁽¹⁴⁾ El Comité Director Científico instaurado por la Decisión 97/404/CE de la Comisión (DO L 169 de 27.6.1997, p. 85) asistirá a la Comisión para obtener el mejor asesoramiento científico disponible sobre asuntos relacionados con la salud del consumidor. En mayo de 2003, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) se hizo cargo de sus funciones: <http://www.efsa.europa.eu>

⁽¹⁵⁾ La clasificación del Comité Director Científico sobre riesgos geográficos de EEB (REG) proporciona una indicación del nivel de probabilidad de la presencia de uno o varios vacunos infectados clínica o preclínicamente por EEB en un país o región determinados. En el siguiente cuadro se facilita una definición de las cuatro categorías:

Nivel de REG	Presencia de uno o varios vacunos infectados clínica o preclínicamente por EEB en una región geográfica/un país
I	Probabilidad muy baja
II	Probabilidad muy baja pero no excluida
III	Probable pero no confirmada o confirmada a un nivel bajo
IV	Confirmada a un nivel elevado (≥ 100 casos/1 millón de bovinos adultos por año)

Se pueden consultar los informes de evaluación del REG de los países en el sitio web del CDC (http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/outcome_en.html).

A efectos de la presente nota explicativa, deberá utilizarse la clasificación de EEB basada en las normas de la OIE. Si un país, clasificado previamente de acuerdo con los criterios del CDC para la clasificación REG, no se ha clasificado todavía de acuerdo con las normas de la OIE, se puede emplear la clasificación REG mientras no entre en vigor la clasificación de la OIE, siempre que no haya pruebas de cambios significativos en su riesgo con respecto a la EEB ⁽¹⁶⁾.

Siempre que se pueda elegir, los animales deberán proceder de países con el menor nivel posible de riesgo de EEB [países con un riesgo insignificante de EEB (categoría A)] a menos que se justifique el uso de material procedente de países con un nivel más elevado. Podrá realizarse el suministro de determinados materiales definidos en el punto 6, «Condiciones especiales», procedentes de países con un riesgo de EEB controlado (categoría B) y, en ciertos casos, de países con un riesgo indeterminado de EEB (categoría C), siempre que se apliquen los controles y requisitos especificados en los puntos correspondientes siguientes. Aparte de estas excepciones, los animales no deberán proceder de países con un riesgo indeterminado de EEB (categoría C), y deberá justificarse siempre el uso de animales procedentes de países de esa categoría.

3.2.1.2. Ovinos y caprinos (pequeños rumiantes)

Se han señalado casos clínicos de tembladera natural en una serie de países en todo el mundo. Teniendo en cuenta que pueden producirse casos de diagnóstico erróneo de tembladera en ovinos y caprinos con EEB, como medida cautelar, el suministro de materiales procedentes de pequeños rumiantes deberá tener en cuenta la prevalencia tanto de EEB como de tembladera en el país y los tejidos de los que se derivan los materiales.

Los principios relativos a los «rebaños de vacunos con bajo riesgo de EEB (cerrados)» (véase el punto 3.2.2) podrían aplicarse igualmente en el contexto de los pequeños rumiantes con objeto de crear un marco para la definición de la calificación EET de un rebaño de pequeños rumiantes. En el caso de los ovinos, a causa de la preocupación sobre la posible transmisión de la EEB a dichos animales, podría considerarse el uso de uno o varios genotipos que muestren resistencia a una infección de EEB o tembladera al determinar rebaños libres de EET ⁽¹⁷⁾. No obstante, deberá tenerse en cuenta asimismo la posibilidad de que los genotipos resistentes a la tembladera puedan ser sensibles a la EEB (exposición experimental por vía oral) o a la tembladera atípica (casos naturales). No se han estudiado suficientemente los caprinos con respecto a la sensibilidad específica de un genotipo.

⁽¹⁶⁾ Los expertos consideran que el sistema de clasificación REG es lo suficientemente estable como para seguir empleándose durante el período de transición, para demostrar la conformidad con la presente nota explicativa

⁽¹⁷⁾ Dictamen de la Comisión Técnica de Factores de Peligro Biológicos sobre «el programa de cría de ovinos resistentes a las EET»: http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178620775678.htm

El material derivado de pequeños rumiantes debería proceder preferentemente de países con una larga tradición de ausencia de tembladera. Se requerirá una justificación si el material procede de otro origen.

3.2.2 Rebaños de vacunos con bajo riesgo de EEB (cerrados)

El origen más seguro es el de los países o regiones con un riesgo insignificante de EEB (países de la categoría A). Otros países pueden verse afectados (o haberlo sido) por casos de EEB en algún momento y el CDC ha elaborado el concepto práctico «rebaños de vacunos con bajo riesgo (cerrados)», que ha sido aprobado por el CHMP y el CMV. Los criterios para determinar y mantener un «rebaño de vacunos con bajo riesgo de EEB (cerrados)» se encuentran en el dictamen del CDC de 22 y 23 de julio de 1999 ⁽¹⁸⁾.

Por el momento no es posible cuantificar la reducción del riesgo geográfico de EEB para los «vacunos procedentes de rebaños de vacunos con bajo riesgo de EEB (cerrados)». Sin embargo, se espera que esa reducción del riesgo sea importante. Por lo tanto, el suministro de esos rebaños cerrados de vacunos se tendrá en cuenta en la evaluación del riesgo junto con la clasificación OIE del país.

3.3. Partes del animal, líquidos corporales y secreciones como materiales de partida

En un animal infectado de EET, diferentes órganos y secreciones tienen diferentes niveles de infecciosidad. Si deben utilizarse materiales procedentes de «especies animales afectadas por las EET», deberá intentarse utilizar los materiales con menor nivel de riesgo. Los cuadros que aparecen en el anexo de la presente nota explicativa ⁽¹⁹⁾ resumen los datos actuales sobre la distribución de la infecciosidad y la PrP^{EET} en vacunos con EEB y en ovinos y caprinos con tembladera ⁽²⁰⁾.

La información de los cuadros se basa exclusivamente en observaciones de enfermedades aparecidas de forma natural o por infección experimental primaria por vía oral (en vacunos), pero no incluye datos sobre modelos que utilicen cepas de EET que se hayan adaptado a animales experimentales, ya que los fenotipos de cepas que han sufrido varios pasajes pueden diferir de manera significativa e imprevisible de los fenotipos donde la enfermedad aparece de forma natural. Teniendo en cuenta que se ha demostrado que la detección inmunohistoquímica y/o por inmunotransferencia de la proteína hospedadora anormalmente configurada (PrP^{EET}) constituía un marcador alternativo de infecciosidad, los resultados de ensayos de la PrP^{EET} se han presentado en paralelo con los datos del ensayo biológico. Los tejidos se agrupan en tres categorías principales de infecciosidad, con independencia de la fase de la enfermedad:

⁽¹⁸⁾ Dictamen científico del CDC sobre las condiciones relativas a los «rebaños de vacunos con bajo riesgo de EEB» adoptado en la reunión de los días 22 y 23 de julio de 1999. http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out56_en.html

⁽¹⁹⁾ Los cuadros de clasificación de los tejidos se basan en las Orientaciones de la OMS sobre la distribución de la infecciosidad de los tejidos en las encefalopatías espongiiformes transmisibles (2010) <http://www.who.int/bloodproducts/tablestissueinfectivity.pdf>

⁽²⁰⁾ La EFSA está revisando actualmente un dictamen científico sobre la infecciosidad de la EEB/EET en los tejidos de los pequeños rumiantes (pregunta N° EFSA-Q-2010-052). Para obtener información actualizada, consúltese: <http://registerofquestions.efsa.europa.eu/roqFrontend/questionsListLoader?mandate=M-2010-0041>

Categoría IA: Tejidos de infecciosidad elevada: los procedentes del sistema nervioso central (SNC) con un elevado nivel de infecciosidad en las fases avanzadas de todas las EET, y ciertos tejidos anatómicamente asociados con el SNC.

Categoría IB: Tejidos de infecciosidad baja: tejidos periféricos con resultados positivos de infecciosidad o PrP^{EET} en al menos una de las formas de EET.

Categoría IC: Tejidos sin infecciosidad detectable: aquellos en los que no se ha detectado infecciosidad, o la PrP^{EET} ha dado resultados negativos.

Los tejidos de la categoría IA y las sustancias que de ellos se derivan no deberán usarse en la fabricación de medicamentos, a menos que esté justificado (véase el punto 5).

Aunque es casi seguro que entre los tejidos de la categoría de infecciosidad baja (tejidos de la categoría IB) hay algún tejido (por ejemplo, la sangre) con un riesgo menor que otros (por ejemplo: los tejidos linforreticulares), los datos sobre los niveles de infecciosidad en esos tejidos son demasiado limitados como para subdividir la categoría en diferentes niveles de riesgo. También está claro que clasificar un tejido determinado en una u otra categoría puede ser específico de la enfermedad y de la especie, y estar sujeto a revisión cuando surgen nuevos datos.

Para la evaluación del riesgo (véase el punto 4), los fabricantes o los titulares/solicitantes de una autorización de comercialización deberán tener en cuenta los cuadros de clasificación de los tejidos que aparecen en el anexo de la presente nota explicativa.

Las categorías de los cuadros solo tienen carácter indicativo y es importante señalar los siguientes extremos:

- en algunas situaciones puede haber **contaminación cruzada** de tejidos de diferentes categorías de infecciosidad. El riesgo potencial se verá influido por las circunstancias en las que se extraen los tejidos, especialmente en caso de contacto entre tejidos de infecciosidad baja o infecciosidad no detectable (tejidos de las categorías IB e IC) y tejidos de infecciosidad elevada (tejidos de la categoría IA). De esa manera, la contaminación cruzada de algunos tejidos podría aumentar si para el sacrificio de los animales infectados se utilizan métodos de aturdimiento (tanto los que penetran como los que no penetran el cerebro) o si se cortan el cerebro y/o la médula espinal. El riesgo de contaminación cruzada disminuirá si en la recogida de los líquidos corporales se produce un daño mínimo al tejido y se extraen los componentes celulares y si la sangre fetal se recoge sin que se contamine por otros tejidos maternos o fetales como la placenta y los líquidos amniótico y alantoideo. Para determinados tejidos, es muy difícil o imposible evitar la contaminación cruzada con los tejidos de la categoría IA (por ejemplo: el cráneo). Todo ello debe tenerse en cuenta a la hora de evaluar el riesgo,

- para determinadas clases de sustancias, las **técnicas de aturdimiento o sacrificio** utilizadas pueden influir en la evaluación del riesgo potencial ⁽²¹⁾, a causa de la probabilidad de diseminación de partículas cerebrales en los órganos periféricos, especialmente los pulmones. Las técnicas de aturdimiento o sacrificio deben describirse, al igual que los procedimientos de extracción de tejidos de infecciosidad elevada. También deberán describirse detalladamente los procedimientos de recogida de tejidos u órganos animales que se van a utilizar y las medidas adoptadas para evitar la contaminación cruzada con un material de riesgo elevado,
- el riesgo de contaminación de tejidos y órganos por material alojado en el sistema nervioso central, lugar potencial de infecciosidad por EEB, como consecuencia del método de aturdimiento utilizado para el sacrificio del ganado vacuno depende de los siguientes factores:
 - el nivel de infecciosidad por EEB en el cerebro del animal sacrificado,
 - el alcance de la lesión cerebral,
 - la diseminación de partículas cerebrales en el cuerpo del animal.

Esos factores deben tenerse en cuenta junto con la clasificación OIE/REG de los animales fuente, la edad de los animales en el caso de los vacunos y los ensayos *post mortem* en los vacunos que utilizan un método validado.

Los principios subyacentes anteriormente indicados serán asimismo de aplicación a ovinos y caprinos.

El riesgo que plantea la contaminación cruzada dependerá de diversos factores complementarios, entre ellos:

- las medidas adoptadas para evitar la contaminación en el momento de la recogida de tejidos (véase más arriba),
- el nivel de contaminación (cantidad de tejido contaminante),
- la cantidad y tipo de materiales recogidos al mismo tiempo.

Los fabricantes, titulares o solicitantes de una autorización de comercialización deberán tener en cuenta el riesgo relativo a la contaminación cruzada.

3.4. Edad de los animales

Como la infecciosidad por EET se acumula en los vacunos durante un período de incubación de varios años, es prudente utilizar materiales procedentes de animales jóvenes.

Se ha registrado la presencia de material infeccioso especialmente en el sistema nervioso central y los tejidos adyacentes, y también en el sistema linfático, en función del agente de

la EET (EEB en vacunos o tembladera en ovinos y caprinos). La evolución temporal exacta de la infecciosidad en las respectivas partes y tejidos del cuerpo, desde la fecha de infección, no se conoce en las dos especies y, por eso, es difícil ofrecer una orientación clara sobre la edad a partir de la cual se pueden infectar los distintos tejidos y debe evitarse su recogida. Sigue siendo válida la recomendación inicial de obtener los tejidos a la edad más temprana posible. Además, hay que destacar que los criterios de edad dependen también del origen geográfico. La edad es un parámetro de mayor peso en el caso de los materiales procedentes de países con un nivel más elevado (países de las categorías B y C), que en el de los procedentes de países con un riesgo insignificante de EEB (países de la categoría A).

3.5. Proceso de fabricación

La evaluación de la reducción global del riesgo de EET de un medicamento deberá tener en cuenta las medidas de control adoptadas en relación con:

- el origen de las materias primas o los materiales de partida, y
- el proceso de fabricación.

El origen controlado es un criterio muy importante para lograr una seguridad aceptable del producto, debido a la resistencia documentada de los agentes de las EET a la mayor parte de los procedimientos de inactivación.

Se puede instaurar un sistema de garantía de la calidad, como la certificación ISO 9000, el HACCP ⁽²²⁾ o las prácticas correctas de fabricación, para el seguimiento del proceso de fabricación y la delimitación por lotes (es decir, la definición del lote, la separación de los lotes y la limpieza entre lotes). Deben instaurarse procedimientos para garantizar la rastreabilidad, así como la autocomprobación y la inspección de los proveedores de materias primas o materiales de partida.

Algunos procedimientos de fabricación pueden contribuir considerablemente a la reducción del riesgo de contaminación por EET, como por ejemplo los procedimientos empleados en la fabricación de derivados del sebo (véase el punto 6). Como unos procesos tan rigurosos no se pueden aplicar a muchos productos, los procesos en los que hay eliminación física, como la precipitación y el filtrado para eliminar materiales ricos en priones, son probablemente más apropiados que los tratamientos químicos. Se hará una descripción del proceso de fabricación, incluidos los controles aplicados durante la fabricación, y deberán analizarse las etapas que pueden contribuir a la reducción o eliminación de la contaminación por EET. Si hay diversos lugares de fabricación involucrados, deberán identificarse claramente las etapas realizadas en cada lugar. Deberán indicarse las medidas adoptadas con objeto de garantizar la rastreabilidad de cada lote de fabricación hasta el material básico.

⁽²¹⁾ Dictamen del CDC sobre métodos de aturdimiento y riesgo de EEB (el riesgo de diseminación de partículas cerebrales en la sangre y los canales al aplicar determinados métodos de aturdimiento), adoptado en la reunión de 10 y 11 de enero de 2002 http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out245_en.pdf
Informe del Grupo de Trabajo de la EFSA sobre diseminación de partículas cerebrales en la sangre y los canales.
Pregunta nº EFSA-Q-2003-122, adoptado el 21 de octubre de 2004, http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_117862077397.htm

⁽²²⁾ Análisis de peligros y puntos de control crítico.

Proceso de limpieza – La limpieza del material de procesamiento puede ser difícil de validar en lo relativo a la eliminación de los agentes de las EET. Se ha señalado que tras la exposición a preparados con gran cantidad de agentes de las EET, la infecciosidad detectable puede permanecer vinculada a la superficie de acero inoxidable. Se considera un enfoque aceptable la eliminación de todas las proteínas absorbidas por el uso de desinfectantes que liberen 1 M de hidróxido de sodio o cloro (por ejemplo, 20 000 ppm. de cloro en una hora) en el caso de un equipo que no se puede sustituir y se ha visto expuesto a material potencialmente contaminado. Tratamientos menos agresivos, con concentraciones limitadas de alcalinos o lejía estabilizada han demostrado una eficacia similar a los tratamientos clásicos con NaOH o con cloro para la eliminación de los priones, cuando estaban formuladas de manera apropiada con detergentes y se utilizaron a temperaturas específicas. Parece ser eficaz también para inactivar los agentes de las EET un tratamiento a base de agua oxigenada vaporizada. Estos nuevos tratamientos son más compatibles con materiales delicados y pueden ser adecuados para una utilización práctica ⁽²³⁾.

Si se usan materias de riesgo en la fabricación de un producto, se pondrán en marcha procedimientos de limpieza, incluyendo medidas de control, con objeto de minimizar el riesgo de contaminación cruzada entre lotes de fabricación. Esto es especialmente importante si se manipulan materiales de diferentes categorías de riesgo en la misma planta y con el mismo equipo. Si se utilizan materiales de la categoría IA en la fabricación de un producto, deberá usarse equipo dedicado, a menos que haya razones para lo contrario.

Es preciso seguir investigando para desarrollar y validar nuevos procedimientos de descontaminación para reducir el riesgo de contaminación cruzada en materiales y dispositivos que no son compatibles con los procedimientos recomendados por la OMS.

Validación de la eliminación o inactivación – Los estudios de validación de los procedimientos de eliminación o inactivación de las EET pueden ser difíciles de interpretar. Es necesario tomar en consideración la naturaleza del material contaminado intencionadamente y su pertinencia ante la situación real, el protocolo del estudio (incluyendo la reducción de escala de los procesos) y el método de detección del agente (ensayo *in vitro* o *in vivo*). Hacen falta más investigaciones para desarrollar una comprensión del «preparado contaminado intencionadamente» más adecuada para los estudios de validación. Por consiguiente, actualmente no se requieren por lo general estudios de validación. Sin embargo, si se afirma la seguridad del producto en relación con las EET en base a la capacidad de los procesos de fabricación para eliminar o inactivar los agentes de las EET, hay que fundamentar tal afirmación mediante los estudios de investigación adecuados ⁽²⁴⁾.

Además de un origen apropiado, los fabricantes deberían continuar sus investigaciones sobre los métodos de eliminación e inactivación para definir las etapas/procesos que pudieran ser beneficiosos para la eliminación o inactivación de los agentes de las EET. En todo caso, un proceso de fabricación debe diseñarse siempre que sea posible teniendo en cuenta la información disponible sobre los métodos destinados a inactivar o eliminar los agentes de las EET.

⁽²³⁾ Orientaciones de la OMS sobre la distribución de la infecciosidad de los tejidos en las encefalopatías espongiformes transmisibles (2006) <http://www.who.int/bloodproducts/tse/WHO%20TSE%20Guidelines%20FINAL-22%20JuneupdatedNL.pdf>.

⁽²⁴⁾ Orientaciones sobre la investigación del proceso de fabricación de medicamentos derivados de plasma en lo que respecta al riesgo de vDCJ (CPMP/BWP/5136/03)

Para determinados tipos de productos (véase el punto 6.3, «Derivados de sangre de vacuno»), cuando la eliminación o la inactivación validadas no sean de fácil aplicación, podrá exigirse una evaluación del proceso, que deberá basarse en el material de partida y en todo tipo de datos publicados sobre el riesgo de EET.

4. EVALUACIÓN DEL RIESGO DE LOS MATERIALES O SUSTANCIAS UTILIZADOS EN LA FABRICACIÓN Y PREPARACIÓN DE UN MEDICAMENTO EN EL CONTEXTO DEL CUMPLIMIENTO DE LA NORMATIVA

La evaluación del riesgo asociado con las EET necesita una minuciosa consideración de todos los parámetros que aparecen en el punto 3.1 (Principios científicos para minimizar el riesgo).

Como se indica en la introducción a la presente nota explicativa, el cumplimiento de la normativa se basa en un resultado favorable de la evaluación del riesgo. Las evaluaciones del riesgo, llevadas a cabo por los fabricantes y/o los titulares o solicitantes de una autorización de comercialización para los distintos materiales o sustancias procedentes de «especies animales afectadas por las EET» que se utilizan en la fabricación de un medicamento deben mostrar que se han tenido en cuenta todos los factores de riesgo relativos a las EET y, si es posible, que se ha minimizado el riesgo mediante la aplicación de los principios que se indican en la presente nota explicativa. Los titulares o solicitantes de una autorización de comercialización pueden utilizar los certificados de idoneidad EET expedidos por la Dirección Europea de Calidad del Medicamento como base de las evaluaciones del riesgo.

Una evaluación global del riesgo del medicamento, realizada por los titulares o solicitantes de una autorización de comercialización, deberá tener en cuenta las evaluaciones del riesgo de todos los distintos materiales procedentes de «especies animales afectadas por las EET» y, en su caso, la reducción o inactivación de las EET por fases de fabricación de la sustancia activa y/o el producto acabado.

La determinación definitiva del cumplimiento de la normativa corresponde a la autoridad competente.

Los fabricantes y/o los titulares o solicitantes de una autorización de comercialización para medicamentos humanos y veterinarios son responsables de seleccionar y justificar las medidas de control destinadas a un derivado concreto de «especies animales afectadas por las EET», teniendo en cuenta el estado de la ciencia y la técnica.

5. EVALUACIÓN DE LA RELACIÓN BENEFICIO/RIESGO

Además de los parámetros mencionados en los puntos 3 (que pueden estar cubiertos por un certificado de idoneidad EET expedido por la Dirección Europea de Calidad del Medicamento) y 4, la aceptabilidad de un medicamento específico que contenga materiales procedentes de una «especie animal afectada por las EET», o que pueda contener dichos materiales como resultado de su fabricación, tendrá en cuenta los siguientes factores:

— vía de administración del medicamento,

— cantidad de material animal utilizado en el medicamento,

- dosis terapéutica máxima (dosis diaria y duración del tratamiento),
- utilización prevista del medicamento y sus beneficios clínicos,
- presencia de una barrera entre especies.

Los tejidos de infecciosidad elevada (tejidos de la categoría IA) y las sustancias procedentes de los mismos no deberán utilizarse en la fabricación de medicamentos, de sus materiales de partida y de los productos intermedios (incluyendo las sustancias activas, los excipientes y los reactivos), a menos que esté justificado. Deberá justificarse la razón por la que no se pueden utilizar otros materiales. En esas circunstancias excepcionales y justificadas, podría considerarse el uso de tejidos de infecciosidad elevada para la fabricación de sustancias activas, cuando, tras la evaluación del riesgo según la descripción del punto 4 de la presente nota explicativa, y teniendo en cuenta el uso clínico previsto, el solicitante de la autorización de comercialización pueda presentar un análisis positivo de la relación beneficio/riesgo. Las sustancias de los materiales de la categoría IA, si su uso se justifica, podrán fabricarse a partir de animales de los países con un riesgo insignificante de EEB (categoría A).

6. CONSIDERACIONES ESPECÍFICAS

Los siguientes materiales elaborados a partir de «especies animales afectadas por las EET» se considerarán conformes con la presente nota explicativa siempre que cumplan por lo menos las condiciones contempladas a continuación. El titular o solicitante de una autorización de comercialización deberá presentar la información correspondiente o un certificado de idoneidad expedido por la Dirección Europea de Calidad del Medicamento.

6.1. Colágeno

El colágeno es un componente proteico fibroso del tejido conjuntivo de los mamíferos.

En el caso del colágeno, la documentación para demostrar su conformidad con la presente nota explicativa deberá presentarse teniendo en cuenta las disposiciones enumeradas en los puntos 3 a 5. Por otra parte, deberá tenerse presente lo siguiente:

- en el caso del colágeno elaborado a partir de huesos, serán de aplicación las condiciones especificadas para la gelatina (véase más adelante). Se espera que el procedimiento de fabricación del colágeno tenga una capacidad de inactivación inferior a la de la gelatina. Por consiguiente, la procedencia cobra una mayor importancia, que debe tenerse en cuenta,
- el colágeno elaborado a partir de tejidos tales como piel, cueros, tendones y nervios no suele presentar un riesgo medible de EET siempre que se evite durante su obtención la contaminación con materiales potencialmente infectados, por ejemplo el vertido de sangre y/o de tejidos del sistema nervioso central. Por tanto, las pieles constituyen una materia prima más segura para los implantes humanos derivados del colágeno. Sin embargo, sería difícil eliminar la contaminación cruzada con material encefálico liberado durante el proceso de sacrificio que pueda haberse secado en la

superficie de los cueros. Este es otro aspecto que debe tenerse en cuenta a la hora de evaluar la seguridad de este material básico.

El procedimiento de fabricación del colágeno puede tener algunas fases en común con la fabricación de gelatina, como el tratamiento alcalino y con sulfato de sodio, los tratamientos con hidróxido de calcio e hidróxido de sodio o el tratamiento enzimático. Sin embargo, incluso esos tratamientos comunes pueden variar en términos de duración y de condiciones de pH, lo que puede dar lugar a grandes diferencias en su capacidad de inactivación. Los fabricantes deberían realizar, al menos, una evaluación del proceso basada en las semejanzas de las fases de fabricación del colágeno, en comparación con fases de inactivación conocidas de la fabricación de gelatina, con objeto de garantizar la seguridad del producto. Además de la transformación, existen también diferencias en la utilización final de los materiales y, en consecuencia, en la evaluación del riesgo; mientras que la gelatina se utiliza ampliamente por vía oral, muchas aplicaciones del colágeno adoptan la forma de implantes quirúrgicos. Este aspecto deberá tenerse en cuenta asimismo en la evaluación del riesgo definitiva.

6.2. Gelatina

La gelatina es una proteína natural, soluble, gelificante o no, obtenida por la hidrólisis parcial del colágeno producida a partir de huesos, piel y cueros de animales.

En el caso de la gelatina, la documentación para demostrar su conformidad con la presente nota explicativa deberá presentarse teniendo en cuenta las disposiciones enumeradas en los puntos 3 a 5. Por otra parte, deberá tenerse presente lo siguiente ⁽²⁵⁾:

i) El material básico utilizado

La gelatina utilizada en medicamentos puede elaborarse a partir de huesos o cueros.

- *Cueros como material de partida* - En base al conocimiento actual, los cueros utilizados para la fabricación de gelatina representan un material básico más seguro que los huesos. No obstante, se recomienda ampliamente la adopción de medidas para evitar la contaminación cruzada con materiales potencialmente infectados durante la obtención.
- *Huesos como material de partida* - Cuando se utilicen huesos para la fabricación de gelatina, debe controlarse la calidad de los materiales de partida como parámetro suplementario para garantizar la seguridad del producto final. Por consiguiente, deberá procederse de la siguiente manera:
 - 1) los cráneos y la médula espinal deberán eliminarse de los huesos recogidos (materia prima o material de partida) independientemente de la edad o del país de origen de los vacunos;
 - 2) las vértebras deberán eliminarse de la materia prima o de los materiales de partida de los vacunos mayores de treinta meses procedentes de los países con un riesgo de EEB controlado o con un riesgo indeterminado de EEB (categorías B o C);

⁽²⁵⁾ Basado en el Dictamen de la Comisión Técnica de Factores de Peligro Biológicos sobre «Evaluación cuantitativa del riesgo de EEB en el hombre representado por la gelatina con respecto al riesgo residual de EEB» de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria, *The EFSA Journal*, 312, (1-28). http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178620776107.htm
Los requisitos relativos a la selección y la fabricación de material básico se aplican a las gelatinas de vía oral y parenteral utilizadas en la fabricación de medicamentos para uso humano y veterinarios.

- 3) la gelatina para uso parenteral deberá fabricarse exclusivamente a partir de huesos procedentes de países con un riesgo insignificante o con un riesgo controlado de EEB (categorías A y B, respectivamente). La gelatina para uso oral puede fabricarse a partir de huesos procedentes de países con un riesgo insignificante, con un riesgo controlado o con un riesgo indeterminado de EEB (categorías A, B y C, respectivamente);
- 4) la gelatina deberá fabricarse mediante uno de los métodos de fabricación que se describen a continuación.

ii) Métodos de fabricación

- *Cueros* - No se requieren medidas específicas en relación con las condiciones de procesado para la gelatina fabricada a partir de cueros siempre que se adopten medidas de control para evitar la contaminación cruzada tanto durante la obtención de los cueros como durante el proceso de fabricación.
- *Huesos* - Cuando se utilicen huesos como material de partida, la modalidad de fabricación será el segundo parámetro que garantizará la seguridad de la gelatina.
 - La gelatina se puede fabricar a partir de huesos procedentes de países con un riesgo insignificante, con un riesgo controlado o con un riesgo indeterminado de EEB (categorías A, B o C) suministrados de conformidad con las condiciones descritas en el punto 6.2.i), utilizando el proceso de fabricación ácido, alcalino o mediante calentamiento o presión.
 - El proceso de fabricación deberá tomarse en consideración al llevar a cabo la evaluación del riesgo descrita en el punto 4 de la presente nota explicativa. Tanto el método de fabricación ácido como el alcalino han mostrado una inactivación o eliminación global similar de la infecciosidad por EET en los experimentos de validación de la gelatina. Determinados estudios han mostrado que un tratamiento alcalino adicional (pH 13, 2 horas) de los huesos/la oseína incrementa aún más la capacidad de inactivación o eliminación de las EET del proceso de fabricación. Otras etapas de procesamiento como el filtrado, la cromatografía de intercambio iónico y la esterilización UHT contribuyen también a la seguridad de la gelatina.
 - En un proceso típico de fabricación alcalina, los huesos se trituran finamente, se desgrasan con agua caliente y se desmineralizan con ácido clorhídrico diluido (con una concentración mínima del 4 % y un pH < 1,5) durante un período de dos días al menos para fabricar la oseína. A continuación, se produce un tratamiento alcalino con una solución de cal saturada (pH de 12,5 por lo menos) durante un período de veinte días al menos.
 - Los huesos de vacunos se pueden tratar asimismo mediante un proceso ácido. La fase de tratamiento con cal se sustituye entonces por un pretratamiento ácido durante el cual la oseína se trata con un pH < 3,5 durante un mínimo de diez horas.

- Se aplica una fase de calentamiento instantáneo (esterilización) a un mínimo de 138 °C durante cuatro segundos por lo menos tanto en el método de fabricación ácido como en el alcalino.
- En el proceso mediante calentamiento o presión, los huesos deshidratados, desgrasados y triturados se tratan en un autoclave con vapor saturado a una presión superior a 3 bares y a una temperatura mínima de 133 °C, durante al menos veinte minutos; a continuación, se extrae la proteína con agua caliente.

Las etapas finales son similares para el proceso alcalino, ácido o mediante calentamiento o presión e incluyen una extracción de la gelatina, que a continuación se lava, se filtra y se concentra.

6.3. Sangre de vacuno y sus derivados

El suero fetal de vacuno se usa comúnmente en cultivos de células, debe obtenerse a partir de fetos extraídos en mataderos de vacas sanas aptas para el consumo humano. El útero se eliminará completamente y la sangre fetal se recogerá en un espacio o zona específica mediante punción cardiaca hacia un sistema de extracción cerrado mediante técnicas de asepsia.

El suero de terneros recién nacidos se obtiene a partir de terneros menores de veinte días y el suero de terneros a partir de animales menores de doce meses. En el caso del suero de un vacuno donante, dado que puede proceder de animales menores de treinta y seis meses, deberá estar bien definida y documentada la situación negativa EET del rebaño donante. En todos los casos, el suero se recogerá de acuerdo con protocolos especificados por parte de personal con la debida formación en esos procedimientos para evitar la contaminación cruzada con tejidos de riesgo elevado.

En el caso de la sangre de vacuno y sus derivados, la documentación para demostrar su conformidad con la presente nota explicativa deberá presentarse teniendo en cuenta las disposiciones enumeradas en los puntos 3 a 5. Por otra parte, deberá tenerse presente lo siguiente:

i) Rastreabilidad

La rastreabilidad hasta el matadero deberá garantizarse para cada lote de suero o plasma. Los mataderos deberán disponer de listas de explotaciones de las que proceden los animales. Si el suero se produce a partir de animales vivos, deberán estar disponibles los documentos que certifiquen para cada lote de suero la rastreabilidad hasta las explotaciones.

ii) Origen geográfico

Aunque la infecciosidad de los tejidos en relación con la EEB en vacunos está menos difundida que en el caso de la tembladera, como medida cautelar la sangre de vacuno deberá proceder de países de la categoría A. También es aceptable la sangre de vacuno originaria de países de la categoría B siempre que no haya riesgo de contaminación cruzada de la sangre con material encefálico procedente del sacrificio de animales mayores de veintiún meses ⁽²⁶⁾ de edad.

⁽²⁶⁾ Dictamen de la Comisión Técnica de Factores de Peligro Biológicos sobre la evaluación del límite de edad en los vacunos para la extracción de determinados materiales especificados de riesgo (MER). Pregunta n° EFSA-Q-2004-146, adoptado el 28 de abril de 2005.

iii) Métodos de aturdimiento

Si el material procede de animales sacrificados, el método de sacrificio es importante para garantizar su seguridad. Se ha demostrado que el aturdimiento mediante pistola (de matarife) de bala cautiva con o sin descabello (sección de la médula) y mediante pistola neumática, especialmente si inyecta aire, puede destruir el cerebro y diseminar material cerebral en la corriente sanguínea. El aturdimiento que no penetra el cerebro ha dejado de considerarse una alternativa al aturdimiento que penetra, ya que se ha demostrado la contaminación de la sangre con material encefálico ⁽²⁷⁾. El riesgo puede considerarse bajo si se recurre a la electronarcosis ⁽²⁸⁾, pero ni siquiera proporciona una seguridad total, ya que, si no funciona, puede ser preciso volver a aturdir a los animales. Por consiguiente, deben describirse los métodos de aturdimiento para el proceso de recogida de sangre de vacuno.

Cuando no se pueda evitar el riesgo de contaminación cruzada de la sangre con material encefálico en los sacrificios ordinarios en países con un riesgo de EEB controlado (categoría B), deberán aplicarse medidas de seguridad tales como restricciones de edad de los vacunos y/o reducción de los agentes infecciosos durante la fabricación.

iv) Edad

En los países con un riesgo de EEB controlado (categoría B), se aplicará un límite de edad cautelar de veintiún meses a la sangre

de vacuno o sus derivados cuando no se pueda garantizar una reducción significativa de los agentes de las EET en la fabricación. Un límite de edad de treinta meses se considera suficiente para los derivados de la sangre cuando se pueda demostrar una reducción significativa de los agentes de las EET de acuerdo a lo descrito a continuación.

v) Reducción de los agentes de las EET durante la fabricación

En el caso de los derivados de la sangre, la capacidad del proceso de fabricación para reducir o eliminar los agentes de las EET deberá estimarse a partir de estudios de investigación. La estimación podrá basarse en datos publicados o en datos internos cuando se pueda demostrar la pertinencia de dichos datos para el proceso de fabricación en cuestión. Si no se puede determinar que la capacidad de reducción es comparable, se recomienda a los fabricantes que lleven a cabo estudios de investigación para cada producto. Puede ser suficiente un ensayo bioquímico si se dispone de pruebas científicas de que dicho ensayo está correlacionado con los datos de infecciosidad. Se han elaborado orientaciones generales destinadas a los estudios de investigación sobre la reducción de los agentes de las EET ⁽²⁹⁾. Conviene utilizar preparados contaminados intencionalmente a base de material encefálico para realizar estudios sobre los riesgos derivados de la sangre contaminada por dicho material.

Cuadro 1

Criterios para la aceptación de sangre/sueros y sus derivados de vacuno

Producto	Suero fetal de vacuno	Suero de un ternero donante	Suero de un vacuno adulto donante	Suero de ternero	Suero o plasma de un vacuno adulto	Suero o plasma o derivados de suero de un vacuno adulto	Derivados de suero de un vacuno adulto	Derivados de suero de un vacuno adulto
Procedencia geográfica del ganado	Cat. A y B	Cat. A y B	Cat. A y B ⁽¹⁾	Cat. A y B	Cat. A	Cat. B	Cat. A	Cat. B
Edad del ganado	Nonatos	< 1 año	< 36 meses	< 1 año	Sin restricciones	< 21 meses ⁽²⁾	Sin restricciones	< 30 meses
Sacrificio/contaminación cruzada de la sangre con material del SNC	Sin riesgo de contaminación cruzada			Riesgo de contaminación cruzada				
Demostración de la reducción de los priones durante la fabricación	No			No				Sí ⁽³⁾

⁽¹⁾ Los vacunos originarios de países de la categoría B deben proceder de rebaños bien definidos y documentados.

⁽²⁾ Se pueden autorizar animales de mayor edad si es posible descartar claramente la contaminación cruzada de la sangre con material del SNC (por ejemplo, matanza halal).

⁽³⁾ La demostración de la reducción de los priones puede no ser obligatoria si es posible descartar claramente la contaminación cruzada de la sangre con material del SNC (por ejemplo, matanza halal).

6.4. Derivados del sebo

El sebo es grasa obtenida a partir de tejidos como los de las zonas subcutáneas, abdominales e intermusculares y de los huesos.

⁽²⁷⁾ Orientaciones de la OMS sobre la distribución de la infecciosidad de los tejidos en las encefalopatías espongiiformes transmisibles (2006) <http://www.who.int/bloodproducts/tse/WHO%20TSE%20Guidelines%20FINAL-22%20JuneupdatedNL.pdf>.

⁽²⁸⁾ Informe del Grupo de Trabajo de la EFSA sobre el riesgo de EEB derivado de la diseminación de partículas cerebrales en la sangre y los canales. Pregunta n° EFSA-Q-2003-122, adoptado el 21 de octubre de 2004, http://www.efsa.europa.eu/en/science/biohaz/biohaz_opinions/opinion_annexes/733.html

El sebo usado como material de partida para la fabricación de derivados del sebo será «material de la categoría 3 o equivalente», según la definición del Reglamento (CE) n° 1774/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 3 de octubre de 2002, por el que se establecen las normas sanitarias aplicables a los subproductos animales no destinados al consumo humano.

Los derivados del sebo, como el glicerol y los ácidos grasos,

⁽²⁹⁾ Orientaciones sobre la investigación del proceso de fabricación de medicamentos derivados de plasma en lo que respecta al riesgo de vDCJ (CPMP/BWP/5136/03).

fabricados a partir de sebo mediante procesos rigurosos se consideran de infecciosidad improbable y han sido objeto de consideraciones específicas por parte del CEF y el CMV. Por esa razón, dichos materiales fabricados en condiciones al menos tan rigurosas como las mencionadas a continuación deberán considerarse conformes con la presente nota explicativa, independientemente del origen geográfico y la naturaleza de los tejidos de los que proceden los derivados del sebo. Ejemplos de procesos rigurosos son los siguientes:

- transesterificación o hidrólisis a una temperatura no inferior a 200 °C durante no menos de veinte minutos a presión (para la fabricación de glicerol, ácidos grasos y ésteres de ácidos grasos),
- saponificación con NaOH 12 M (fabricación de glicerol y de jabón):
 - proceso discontinuo: a una temperatura no inferior a 95 °C durante no menos de tres horas,
 - proceso continuo: a una temperatura no inferior a 140 °C, a presión, durante no menos de ocho minutos, o equivalente,
- destilación a 200 °C.

Los derivados del sebo fabricados de acuerdo con esas condiciones no parecen presentar ningún riesgo de EET y, por lo tanto, se considerarán conformes con la presente nota explicativa.

Los derivados del sebo fabricados en otras condiciones deberán demostrar su conformidad con la presente nota explicativa.

6.5. Carbón de huesos

El carbón de huesos se prepara por carbonización de tejidos animales, como huesos, a temperaturas superiores a 800 °C. A menos que haya razones para lo contrario, el material de partida para la fabricación de carbón de huesos será «material de la categoría 3 o equivalente», según la definición del Reglamento (CE) n° 1774/2002. Independientemente del origen geográfico y la naturaleza del tejido, a efectos del cumplimiento de la normativa, el carbón de huesos se considerará conforme con la presente nota explicativa.

El carbón de huesos fabricado de acuerdo con esas condiciones no parece presentar ningún riesgo EET y, por lo tanto, se considerará conforme con la presente nota explicativa. El carbón de huesos fabricado en otras condiciones deberá demostrar su conformidad con la presente nota explicativa.

6.6. Leche y derivados lácteos

A la luz del conocimiento científico actual e independientemente del origen geográfico, la leche de bovinos no parece presentar ningún riesgo de contaminación por EET ⁽³⁰⁾.

Determinados materiales, incluida la lactosa, se extraen del suero lácteo, que es el líquido procedente de la coagulación como resultado de la producción de queso. La coagulación puede comportar el uso de cuajo de ternero, un extracto de abomaso, o cuajo derivado de otros rumiantes. El CHMP y el CMV han evaluado el riesgo relativo a la lactosa y otros derivados del suero lácteo fabricados utilizando cuajo de ternero y su conclusión ha sido que el riesgo de EET es insignificante si el cuajo de ternero se produce de conformidad con el proceso que se describe en el informe de evaluación del riesgo ⁽³¹⁾. El CDC ha ratificado la conclusión ⁽³²⁾, y ha evaluado también el riesgo de EET derivado del cuajo en general ⁽³³⁾.

Los derivados de la leche de bovinos fabricados de acuerdo con las condiciones indicadas a continuación no parecen presentar ningún riesgo EET y, por lo tanto, se considerarán conformes con la presente nota explicativa:

- la leche procede de animales sanos en idénticas condiciones que la leche destinada al consumo humano, y
- no se utilizan otros materiales procedentes de rumiantes, con excepción del cuajo de ternero, en la elaboración de esos derivados (por ejemplo: tratamiento de la caseína con enzimas pancreáticas).

Los derivados lácteos fabricados mediante otros procesos o utilizando cuajo procedente de otras especies de rumiantes deberán demostrar su conformidad con la presente nota explicativa.

6.7. Derivados de la lana

Los derivados de la lana y el pelo de rumiantes, como la lanolina y los alcoholes de lana derivados del pelo se considerarán conformes con la presente nota explicativa, siempre que la lana y el pelo procedan de animales vivos.

⁽³⁰⁾ Por lo que respecta a la leche y los derivados de la leche de pequeños rumiantes, véase el dictamen EFSA sobre la pregunta N° EFSA-Q-2008-310, adoptado el 22 de octubre de 2008, <http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/scdoc/849.htm>

⁽³¹⁾ El Comité de medicamentos de uso humano y su grupo de trabajo sobre biotecnología han llevado a cabo una evaluación del riesgo y de la normativa sobre la lactosa preparada utilizando cuajo de ternero. La evaluación del riesgo incluyó la procedencia de los animales, la excisión de los abomasos y la disponibilidad de procedimientos bien definidos de garantía de calidad. La calidad de cualquier sustituto de la leche utilizado en la alimentación de los animales a partir de los cuales se obtienen los abomasos es especialmente importante. Dicho informe se puede consultar en la siguiente dirección: <http://www.ema.europa.eu/pdfs/human/press/ps/057102.pdf>.

⁽³²⁾ Provisional statement on the safety of calf-derived rennet for the manufacture of lactose, adopted by the SSC at its meeting of 4-5 April 2002 ().

⁽³³⁾ El CDC formuló un dictamen sobre la seguridad del cuajo animal en relación con los riesgos de EET animal y de EEB en particular, adoptado en su reunión de 16 de mayo de 2002 (http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out265_en.pdf).

Los derivados de la lana fabricados a partir de lanas procedentes de animales sacrificados declarados «aptos para el consumo humano» y cuyo proceso de fabricación en relación con el pH, la temperatura y la duración del tratamiento cumple al menos una de las condiciones de tratamiento estipuladas enumeradas a continuación no parecen presentar ningún riesgo de EET y, por lo tanto, se considerarán conformes con la presente nota explicativa.

— Tratamiento a pH T13 (inicial; correspondiente a una concentración de NaOH de al menos 0,1 M) a 60°C durante al menos una hora, realizado normalmente durante la fase de reflujo del tratamiento orgánico alcalino.

— Destilación molecular a 220°C bajo presión reducida.

Los derivados de la lana fabricados en otras condiciones deberán demostrar su conformidad con la presente nota explicativa.

6.8. **Aminoácidos**

Los aminoácidos se pueden obtener mediante hidrólisis de materiales procedentes de distintas fuentes.

A menos que haya razones para lo contrario, el material de partida para la fabricación de aminoácidos será «material de la categoría 3 o equivalente», según la definición del Reglamento (CE) n° 1774/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 3 de octubre de 2002, por el que se establecen las normas sanitarias aplicables a los subproductos animales no destinados al consumo humano.

Los aminoácidos preparados mediante las siguientes condiciones de tratamiento no parecen presentar ningún riesgo de EET y, por lo tanto, se considerarán conformes con la presente nota explicativa.

— los aminoácidos se fabrican a partir de piel y cueros mediante un proceso que comporta una exposición del material a un pH de 1 a 2, a continuación a un pH de >11 y, por último, un tratamiento térmico a 140°C durante treinta minutos a 3 bares,

— los aminoácidos o péptidos resultantes se filtran después de la fabricación, y

— se lleva a cabo un análisis utilizando un método validado y sensible para controlar cualquier macromolécula intacta residual, con un límite apropiado fijado.

Los aminoácidos fabricados en otras condiciones deberán demostrar su conformidad con la presente nota explicativa.

6.9. **Peptonas**

Las peptonas son hidrolizados parciales de proteínas, obtenidos a partir de la digestión ácida o enzimática. Se utilizan en medios de cultivo microbiológico para apoyar las necesidades nutricionales de microorganismos, que pueden usarse como existencias de semillas o en fermentaciones a escala industrial destinadas a la producción de medicamentos para uso humano y veterinarios, incluidas las vacunas. La utilización de proteínas vegetales para sustituir a las proteínas de origen animal suscita un gran interés. No obstante:

— cuando se utilice la gelatina como materia de origen proteico, se debe consultar el punto 6.2, «Gelatina», de la presente nota explicativa,

— cuando se utilice la caseína como materia de origen proteico, se debe consultar el punto 6.6, «Leche y derivados lácteos», de la presente nota explicativa,

— cuando la materia de origen proteico sea un tejido de especies animales afectadas por las EET, el tejido deberá proceder de animales aptos para el consumo (véase el punto 3.2, «Animales fuente», de la presente nota explicativa) de una edad máxima de treinta meses para los vacunos procedentes de países con un riesgo de EEB controlado (categoría B). La edad de los animales tiene una importancia mínima cuando los animales proceden de países con un riesgo insignificante de EEB (categoría A).

ANEXO

Principales categorías de infecciosidad

Los siguientes cuadros proceden de las Orientaciones de la OMS sobre la distribución de la infecciosidad de los tejidos en las encefalopatías espongiformes transmisibles (2010).

Leyenda:

- + Presencia de infecciosidad o PrP^{EET}
- Ausencia de infecciosidad o PrP^{EET} detectables
- NT No probado
- ? Resultados discutibles o dudosos

Categoría IA: Tejidos de infecciosidad elevada

Tejido	Vacunos		Ovinos y caprinos		Alces y ciervos	
	EEB		Tembladera		Caquexia crónica	
	Infecciosidad (1)	PrP ^{EET}	Infecciosidad (1)	PrP ^{EET}	Infecciosidad (1)	PrP ^{EET}
Cerebro	+	+	+	+	+	+
Médula espinal	+	+	+	+	NT	+
Retina	+	NT	NT	+	NT	+
Nervio óptico (2)	+	NT	NT	+	NT	+
Ganglio espinal	+	+	+	+	NT	+
Ganglios del trigémino	+	+	NT	+	NT	-
Glándula pituitaria (3)	-	NT	+	+	NT	+
Duramadre (3)	NT	NT	NT	NT	NT	NT

Categoría IB: Tejidos de infecciosidad baja

Tejido	Vacunos		Ovinos y caprinos		Alces y ciervos	
	EEB		Tembladera		Caquexia crónica	
	Infecciosidad (1)	PrP ^{EET}	Infecciosidad (1)	PrP ^{EET}	Infecciosidad (1)	PrP ^{EET}
<i>Sistema nervioso periférico</i>						
Nervios periféricos	+	+	+	+	NT	+
Ganglios autonómicos (4)	NT	+	NT	+	NT	+
<i>Tejidos linforreticulares</i>						
Bazo	-	-	+	+	NT	+
Ganglios linfáticos	-	-	+	+	NT	+

Tejido	Vacunos		Ovinos y caprinos		Alces y ciervos	
	EEB		Tembladera		Caquexia crónica	
	Infeciosidad (1)	PrP ^{EET}	Infeciosidad (1)	PrP ^{EET}	Infeciosidad (1)	PrP ^{EET}
Amígdala	+	-	+	+	NT	+
Membrana nictitante	+	-	[+]	+	NT	+
Timo	-	NT	+	+	NT	-
<i>Aparato digestivo (2)</i>						
Esófago	-	NT	[+]	+	NT	+
Preestómago (6) (solo rumiantes)	-	NT	[+]	+	NT	+
Estómago/abomaso	-	NT	[+]	+	NT	+
Duodeno	-	-	[+]	+	NT	+
Yeyuno (7)	-	+	[+]	+	NT	NT
Íleon (7)	+	+	+	+	NT	+
Apéndice	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Colon/ciego (7)	-	-	+	+	NT	+
Recto	NT	NT	NT	+	NT	+
<i>Tejidos reproductivos</i>						
Placenta (8)	-	NT	+	+	NT	-
Ovarios (3)	-	NT	-	-	NT	-
Útero (3)	-	NT	-	-	NT	-
<i>Otros tejidos</i>						
Glándulas mamarias/ ubre (9)	-	NT	-	+	NT	NT
Piel (3), (10)	-	NT	-	+	[+]	[+]
Tejido adiposo	-	NT	NT	NT	[+]	NT
Corazón/pericardio	-	NT	-	NT	NT	+
Pulmón	-	NT	-	-	NT	+
Hígado (3)	-	NT	+	-	NT	-
Riñón (3), (11)	-	-	[+]	+	NT	+
Glándula suprarrenal	[+]	+	+	-	NT	+
Páncreas (3)	-	NT	+	NT	NT	+

Tejido	Vacunos		Ovinos y caprinos		Alces y ciervos	
	EEB		Tembladera		Caquexia crónica	
	Infecciosidad (1)	PrP ^{EET}	Infecciosidad (1)	PrP ^{EET}	Infecciosidad (1)	PrP ^{EET}
Médula ósea (12)	(+)	NT	+	NT	NT	-
Músculo esquelético (13)	[+]	NT	[+]	+	[+]	-
Lengua (14)	-	NT	[+]	+	NT	-
Vasos sanguíneos	-	NT	NT	+	NT	-
Mucosa nasal (15)	-	NT	+	+	NT	+
Glándulas salivares	-	NT	+	NT	-	-
Córnea (16)	NT	NT	NT	NT	NT	NT

Líquidos corporales, secreciones y excreciones

Líquido cefalorraquídeo	-	NT	+	-	NT	NT
Sangre (17)	-	?	+	?	+	?
Saliva	NT	NT	-	NT	+	[-]
Leche (18)	-	-	+	[+]	NT	NT
Orina (19)	-	NT	-	-	-[+]	[+]
Heces (19)	-	NT	-	NT	-[+]	NT

Categoría IB: Tejidos de infecciosidad baja

Tejido	Vacunos		Ovinos y caprinos		Alces y ciervos	
	EEB		Tembladera		Caquexia crónica	
	Infecciosidad (1)	PrP ^{EET}	Infecciosidad (1)	PrP ^{EET}	Infecciosidad (1)	PrP ^{EET}
<i>Tejidos reproductivos</i>						
Testículos	-	NT	-	-	NT	-
Próstata/epidídimo/vesícula seminal	-	NT	-	-	NT	-
Esperma	-	NT	-	-	NT	NT
Líquidos de la placenta	-	NT	NT	NT	NT	NT
Fetos (20)	-	NT	-	-	NT	(-)
Embriones (20)	-	NT	?	NT	NT	NT

Tejido	Vacunos		Ovinos y caprinos		Alces y ciervos	
	EEB		Tembladera		Caquexia crónica	
	Infeciosidad ⁽¹⁾	PrP ^{EET}	Infeciosidad ⁽¹⁾	PrP ^{EET}	Infeciosidad ⁽¹⁾	PrP ^{EET}
<i>Tejidos musculoesqueléticos</i>						
Hueso	–	NT	NT	NT	NT	NT
Tendón	–	NT	NT	NT	NT	NT
<i>Otros tejidos</i>						
Tejidos gingivales	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Pulpa dentaria	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Tráquea	–	NT	NT	NT	NT	–
Glándula tiroides	NT	NT	–	NT	NT	–
<i>Líquidos corporales, secreciones y excreciones</i>						
Calostro ⁽²¹⁾	(–)	–	(?)	NT	NT	NT
Sangre del cordón umbilical ⁽²¹⁾	–	NT	NT	NT	NT	NT
Sudor	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Lágrimas	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Mucus nasal	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Bilis	NT	NT	NT	NT	NT	NT

⁽¹⁾ Se han efectuado ensayos biológicos de la infecciosidad de tejidos humanos en primates o en ratones (o en ambos); se han efectuado ensayos biológicos de tejidos de vacunos en vacunos o en ratones (o en ambos); y la mayor parte de ensayos biológicos de tejidos ovinos y/o caprinos solo se han realizado en ratones. Por lo que respecta a ovinos y caprinos, no todos los resultados son compatibles para ambas especies; por ejemplo, dos caprinos (pero ningún ovino) contrajeron la EEB de forma natural [Eurosurveillance, 2005, Jeffrey *et al.*, 2006]. De igual modo, la mayoría de los resultados descritos para la caquexia crónica se derivaron de estudios realizados en ciervos, y las conclusiones pueden no ser idénticas en el caso de los alces u otros cérvidos.

⁽²⁾ En modelos experimentales de EET, se ha demostrado que el nervio óptico es una vía de neuroinvasión que presenta un elevado título infeccioso.

⁽³⁾ No se han comunicado datos experimentales sobre la infecciosidad de la hipófisis o la duramadre humana, independientemente de la forma de EET humana notificada, pero fragmentos de duramadre de cadáveres y hormonas del crecimiento procedentes de la hipófisis de cadáveres han transmitido la enfermedad a centenares de personas, por lo que deben incluirse en la categoría de tejidos de alto riesgo. Se detectaron casos de PrP^{EET} por inmunotransferencia enzimática de IgM en la duramadre de un paciente afectado por la vCJD que murió en los EEUU tras un período de incubación anormalmente largo (véase también el cuadro IB con respecto a otros tejidos positivos: cueros, riñón, hígado, páncreas, ovario y útero) [Notari *et al.*, 2010]. Debe mencionarse que estudios anteriores de numerosos casos examinados en el Reino Unido notificaron que todos esos tejidos eran negativos [Ironsides *et al.*, 2002; Head *et al.*, 2004].

⁽⁴⁾ En los vacunos, se ha señalado que la presencia de PrP^{EET} es desigual en el plexo entérico del íleon distal, pero el análisis inmunohistoquímico de los tejidos de un único caso de «ganado muerto» en Japón sugirió (aunque de manera equívoca) la participación de los plexos mioentéricos a través de los intestinos grueso y delgado [Kimura y Haritani, 2008].

⁽⁵⁾ En la vCJD, la PrP^{EET} solo aparece en el tejido nervioso y linfoide asociado con el intestino (mucosas, músculo y membranas serosas son negativos).

⁽⁶⁾ El preestómago de los rumiantes (redcilla, panza y libro) se consume ampliamente, así como el verdadero estómago (abomaso). El abomaso de los vacunos (y de algunos ovinos) también constituye una fuente de cuajo.

⁽⁷⁾ Cuando se ha utilizado una alta dosis de EEB por vía oral para infectar a vacunos de manera experimental, se ha detectado infecciosidad en el yeyuno y en la unión ciego-íleon en ratones transgénicos que expresaban una PrP excesiva [gentileza del Dr. M. Groschup]. Se ha detectado la PrP^{EET} con baja incidencia en el tejido linfoide del íleon [Terry *et al.*, 2003] y con una frecuencia aún más baja en tejido linfoide yeyunal de vacunos infectados de forma similar por vía oral [EFSA, 2009].

⁽⁸⁾ Nunca se ha confirmado un caso aislado de transmisión de infecciosidad de la CJD esporádica a partir de la placenta humana, por lo que se considera improbable.

⁽⁹⁾ Se ha detectado la PrP^{EET} en ovinos infectados con tembladera con mastitis crónica, pero no en ovinos infectados sin mastitis [Ligios *et al.*, 2005].

⁽¹⁰⁾ En lo que respecta a la piel, estudios en hámsters infectados por vía oral con tembladera revelaron que la PrP^{EET} se depositaba principalmente en las pequeñas fibras nerviosas. Asimismo, se ha señalado la presencia de PrP^{EET} en la parte aterciopelada de la piel apical de la cornamenta de los ciervos infectados con caquexia crónica e infecciosidad [Angers *et al.*, 2009].

⁽¹¹⁾ La PrP^{EET} se ha detectado por inmunocitoquímica en la pelvis renal de ovinos infectados con tembladera [Siso *et al.*, 2006]; y en folículos linfoides dentro del tejido conjuntivo adyacente a la pelvis renal en ciervos mulos infectados con caquexia crónica [Fox *et al.*, 2006].

- (12) Una sola médula ósea positiva en múltiples tentativas de transmisión a partir de vacunos contaminados tras inoculación por vía oral de cerebro infectado con EEB [Wells *et al.*, 1999; Wells *et al.*, 2005; Sohn *et al.*, 2009].
- (13) Los homogeneizados musculares no han transmitido la enfermedad a primates a partir de humanos con CJD esporádica, ni a vacunos a partir de vacunos con EEB. Sin embargo, la inoculación por vía intracerebral de un homogeneizado muscular semitendinoso (incluyendo elementos nerviosos y linfáticos) procedente de una única vaca infectada con EEB clínica transmitió la enfermedad a ratones transgénicos que expresaban una PrP excesiva con un promedio indicativo de vestigios de infecciosidad [Buschmann y Groschup, 2005]. Asimismo, en estudios recientes, publicados y sin publicar, se ha notificado la presencia de la PrP^{EET} en músculos esqueléticos en modelos de roedores de tembladera y vCJD [Beekes *et al.*, 2005], en infecciones experimentales y naturales de tembladera de ovinos y caprinos [Andreoletti *et al.*, 2004], en ovinos infectados con EEB por vía oral [Andreoletti, datos no publicados], y en humanos con formas esporádicas, iatrogénicas y variantes de DCJ [Glatzel *et al.*, 2003; Kovacs *et al.*, 2004; Peden *et al.*, 2006]. Los ensayos biológicos de músculo en ratones transgénicos que expresaban la PrP de cérvidos permitieron observar la presencia de infecciosidad en ciervos mulos infectados con caquexia crónica [Angers *et al.*, 2006], y se están llevando a cabo experimentos para determinar si la PrP^{EET} detectable en otras formas de EET está también asociada a la infecciosidad.
- (14) Un ensayo biológico de la infecciosidad de la lengua en vacunos dio resultado negativo, pero la presencia de la infecciosidad en la amígdala palatina provocó preocupación en cuanto a la posible infecciosidad en el tejido de las amígdalas linguales de la base de la lengua que puede no ser extraído en el momento del sacrificio [Wells *et al.*, 2005; EFSA, 2008]. La presencia de PrP^{EET} detectable se ha descubierto en la lengua de siete de cada diez ovinos infectados con tembladera de manera natural [Casalone *et al.*, 2005; Corona *et al.*, 2006].
- (15) Limitado principalmente a las regiones afectadas por la recepción sensorial olfativa.
- (16) Como solo pudo atribuirse con certeza un caso de CJD iatrogénica a un trasplante de córnea de entre centenares de millares de receptores (otro caso se considera probable y otro más solo posible), la córnea está clasificada como un tejido de bajo riesgo; otros tejidos de cámara anterior (cristalino, humor acuoso, iris y conjuntiva) se han analizado con resultado negativo tanto para la vCJD como para otras EET humanas, y no hay pruebas epidemiológicas que se hayan relacionado con una transmisión iatrogénica de la enfermedad.
- (17) A la gran cantidad de datos procedentes de estudios realizados sobre la infecciosidad de la sangre en los modelos experimentales de roedores de EEB hay que añadir los recientes estudios que documentan la infecciosidad en la sangre de los ovinos con casos de tembladera natural y en ovinos que habían recibido transfusiones de sangre de vacunos contaminados con EEB [Houston *et al.*, 2008]; de ciervos con casos de caquexia crónica natural [Mathiason *et al.*, 2006]; y (a partir de observaciones epidemiológicas) en la fracción de glóbulos rojos (que contiene grandes cantidades de plasma y leucocitos) de cuatro donantes de sangre en la fase preclínica de infecciones por vCJD [recogido en Brown, 2006; Hewitt *et al.*, 2006]. La administración de factor VIII plasmático también se ha visto potencialmente implicada en un caso de vCJD subclínica presente en un paciente hemofílico [Peden *et al.*, 2010]. No se ha demostrado la transmisión de la enfermedad a través de la sangre procedente de humanos afectados por alguna forma de EEB «clásica» [Dorsey *et al.*, 2009], o a partir de vacunos con EEB (incluida la sangre fetal del ternero). Algunos laboratorios que utilizan nuevos métodos altamente sensibles de detección de la PrP^{EET} están notificando casos exitosos de distintas formas de EET animales y humanas. Sin embargo, algunos de ellos han encontrado dificultades a la hora de obtener resultados reproducibles para el plasma y sigue sin estar claro que unos resultados positivos impliquen un potencial de transmisibilidad de la enfermedad, a causa tanto de los falsos positivos como de los «verdaderos» positivos debidos a concentraciones de PrP^{EET} inferiores al límite de transmisión. Debido a todas estas consideraciones (y a falta, por ahora, de información sobre los ensayos a ciegas efectuados en especímenes humanos y animales infectados de forma natural), el grupo de expertos consideró que aún era demasiado pronto para evaluar con suficiente seguridad la validez de esas pruebas y formular una conclusión positiva o negativa.
- (18) Entre las pruebas que demuestran que la infecciosidad no aparece en la leche de vacunos infectados con EEB se incluyen las observaciones epidemiológicas temporales-espaciales que no han permitido detectar la transmisión materna a terneros amamantados durante largos períodos; las observaciones clínicas a partir de más de un centenar de terneros amamantados por vacas infectadas que no habían desarrollado las EEB; y las observaciones experimentales que muestran que la administración intracerebral u oral de leche a ratones, procedente de vacas infectadas criadas hasta una edad superior al período mínimo de incubación, no ha conseguido transmitir la enfermedad [Middleton y Barlow, 1993; Taylor *et al.*, 1995]. Tampoco se ha detectado la PrP^{EET} en la leche de vacunos en período de incubación de la EEB como consecuencia de una exposición oral experimental [SEAC, 2005]. No obstante, se han detectado bajos niveles de PrP normal (ng/L) en leche animal y humana [Franscini *et al.*, 2006]. Se ha detectado la PrP^{EET} en las glándulas mamarias de ovinos infectados con tembladera con mastitis crónica [Ligios *et al.*, 2005], y muy recientemente se ha notificado que la leche (que en algunos casos contenía también calostro) de ovinos infectados con tembladera transmitía la enfermedad a animales sanos [Konold *et al.*, 2008; Lacroux *et al.*, 2008].
- (19) Un inóculo compuesto de una mezcla de orina y heces procedentes de ciervos animales infectados con caquexia crónica de forma natural no transmitió la enfermedad a ciervos sanos a los que se había inoculado un genotipo del gen PRNP heterocigótico (96 G/S) durante un período de observación de dieciocho meses [Mathiason *et al.*, 2006]. Sin embargo, en ensayos biológicos recientes en ratones transgénicos, se ha transmitido la enfermedad tanto por la orina [Haley *et al.*, 2009] como por las heces [Tamgüney *et al.*, 2009]. Además, en ratones con nefritis linfocitaria que habían sido infectados de manera experimental con la tembladera, la presencia de la PrP^{EET} y de la infecciosidad se identificó en la orina cuando fueron sometidos a ensayos biológicos en ratones transgénicos [Seeger *et al.*, 2005]. Igualmente se detectaron niveles muy bajos de infecciosidad en la orina (y en riñones histológicamente normales) de hámsters infectados de manera experimental con la tembladera [Gregori y Rohwer, 2007; González-Romero *et al.*, 2008]. Por último, en un modelo experimental de tembladera en hámsters, la administración oral dio origen a heces infecciosas en un ensayo biológico en ratones transgénicos que expresaban una PrP excesiva [Safar *et al.*, 2008].
- (20) Los embriones procedentes de vacunos infectados por las EEB no han transmitido la enfermedad a ratones, pero no se ha realizado ninguna medida de la infecciosidad sobre los tejidos fetales de terneros distintos de la sangre (ensayo biológico negativo sobre ratones) [Fraser y Foster, 1994]. Los terneros nacidos de vacas que habían recibido embriones procedentes de vacunos infectados por las EEB sobrevivieron durante períodos de observación de hasta siete años, y el examen de los cerebros de las madres no infectadas y de sus terneros no reveló ninguna encefalopatía espongiiforme ni PrP^{EET} [Wrathall *et al.*, 2002].
- (21) Nunca se han confirmado casos de transmisión de infecciosidad de la CJD esporádica a partir de la sangre umbilical y del calostro humanos, por lo que se consideran improbables. Un ensayo biológico sobre ratones transgénicos que expresaba la PrP vacuna de manera excesiva a partir de tejidos de una vaca infectada con EEB ha dado un resultado negativo [Buschmann y Groschup, 2005]; y la PrP^{EET} no se ha detectado en el calostro de vacunos que incubaban la EEB tras haber sido expuestos experimentalmente por vía oral [SEAC, 2005].