

NOTE RELATIVE À LA MONOGRAPHIE

Ce chapitre est identique à la « Note explicative concernant la réduction du risque de transmission des agents des encéphalopathies spongiformes animales par les médicaments à usage humain et vétérinaire » - Révision 3 (EMA/410/01 rev.3).

Cette troisième révision a été réalisée pour prendre en compte les progrès de la science dans le domaine des encéphalopathies spongiformes transmissibles, ainsi que l'évolution concernant l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) dans le monde.

En ce qui concerne le classement des pays ou régions en fonction de leur risque d'ESB, le chapitre révisé se référera aux règles établies par l'Organisation mondiale de la santé animale, qui remplacent la précédente classification RGE. Néanmoins, la classification RGE actuelle s'applique pour les pays qui ont été classés selon les critères RGE mais qui ne le sont pas encore selon les critères de l'OIE, pour autant qu'un changement important de leur risque d'ESB ne puisse être prouvé.

La présente révision introduit de nouveaux critères relatifs à la provenance et au traitement des gélatines et des dérivés sanguins d'origine bovine utilisés dans la fabrication de médicaments à usage humain ou vétérinaire, ainsi qu'une nouvelle sous-section sur les peptones.

La note explicative révisée remplace la précédente révision de la note explicative (EMA/410/01 Rév. 2 publiée au Journal officiel de l'Union européenne C 24 du 28.1.2004, p. 6). De même, le présent chapitre remplace la version précédente, initialement publiée dans la 5^e édition.

La date proposée pour l'entrée en vigueur du présent chapitre est le 1^{er} juillet 2011.

07/2011:50208

5.2.8. RÉDUCTION DU RISQUE DE TRANSMISSION DES AGENTS DES ENCÉPHALOPATHIES SPONGIFORMES ANIMALES PAR LES MÉDICAMENTS À USAGE HUMAIN ET VÉTÉRINAIRE

Ce chapitre est identique à la « Note explicative concernant la réduction du risque de transmission des agents des encéphalopathies spongiformes animales par les médicaments à usage humain et vétérinaire » - Révision 3 (EMA/410/01 rev. 3).

Contenu

1. INTRODUCTION

1-1. Contexte scientifique

1-2. Conformité réglementaire

2. CHAMP D'APPLICATION

3. CONSIDÉRATIONS D'ORDRE GÉNÉRAL

3-1. Principes scientifiques relatifs à la réduction des risques

3-2. Animaux sources

3-2-1. Origine géographique

- 1 3-2-2. Troupeaux de bovins à risque d'ESB négligeable (fermés)
2 3-3. Parties d'animaux, liquides corporels et sécrétions utilisés comme matières premières
3 3-4. Age des animaux
4 3-5. Procédé de fabrication
5
6 4. ÉVALUATION DU RISQUE LIÉ AUX MATIÈRES OU SUBSTANCES UTILISÉES DANS
7 LA FABRICATION ET LA PRÉPARATION D'UN MÉDICAMENT DANS LE CONTEXTE
8 DE LA CONFORMITÉ RÉGLEMENTAIRE
9 5. ÉVALUATION DU RAPPORT RISQUE/AVANTAGE
10 6. CONSIDÉRATIONS SPÉCIFIQUES
11 6-1. Collagène
12 6-2. Gélatine
13 6-3. Sang et dérivés sanguins d'origine bovine
14 6-4. Dérivés du suif
15 6-5. Noir animal
16 6-6. Lait et dérivés du lait
17 6-7. Dérivés de la laine
18 6-8. Acides aminés
19 6-9. Peptones
20
21
22
23 1. INTRODUCTION
24 1-1. *CONTEXTE SCIENTIFIQUE*
25 Les encéphalopathies spongiformes transmissibles (EST) sont des maladies
26 neurodégénératives chroniques caractérisées par l'accumulation d'une isoforme anormale
27 d'une glycoprotéine cellulaire (baptisée PrP ou protéine du prion). L'isoforme anormale
28 de la PrP (PrP^{EST}) diffère de la PrP normale (PrP^c) par sa résistance élevée aux traitements
29 dénaturants par les protéases ou la chaleur. La PrP^{EST} est considérée comme étant l'agent
30 infectieux responsable de la transmission des EST.
31 Les EST animales comprennent :
32 – l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) chez les bovins,
33 – la tremblante du mouton et de la chèvre,
34 – la maladie du dépérissement chronique des cervidés (cerfs et élans),
35 – l'encéphalopathie transmissible du vison d'élevage,
36 – l'encéphalopathie spongiforme féline (ESF) chez les félinés (notamment les chats
37 domestiques et les grands fauves en captivité), et
38 – l'encéphalopathie spongiforme des ongulés exotiques dans les parcs zoologiques.
39
40 Chez l'homme, les encéphalopathies spongiformes comprennent différentes
41 formes de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ), le Kuru, le syndrome de
42 Gerstmann-Sträussler-Scheinker (SGSS) et l'insomnie fatale familiale (IFF).
43 Des cas de transmission iatrogène des encéphalopathies spongiformes ont été signalés.
44 Chez le mouton, la tremblante a été transmise accidentellement à la suite de l'utilisation
45 d'un vaccin contre le virus Louping Ill préparé à partir d'un mélange de cerveaux et
46 de rates ovins traités au formol dans lequel avait été incorporé par inadvertance du
47

1 tissu provenant d'un mouton infecté par la tremblante. La tremblante a également été
 2 transmise à des moutons et des chèvres à la suite de l'utilisation d'un vaccin inactivé au
 3 formol contre l'agalaxie contagieuse, et préparé à partir d'homogénats de cerveau et
 4 de glande mammaire provenant de moutons contaminés par *Mycoplasma agalactiae*.
 5 Chez l'homme, des cas de transmission de la MCJ ont été rapportés, lesquels ont été
 6 attribués à l'administration parentérale d'hormones de croissance et de gonadotrophine
 7 provenant d'hypophyses de cadavres humains. Des cas de MCJ ont également été attribués
 8 à l'utilisation d'instruments contaminés en chirurgie cérébrale et à la transplantation de
 9 dure-mère et de cornée humaines.

10 La transmission des EST entre les espèces est limitée par un certain nombre de barrières
 11 naturelles, l'espèce d'origine, la souche et la dose du prion, la voie d'exposition et, chez
 12 certaines espèces, l'allèle hôte du gène PRNP ayant une incidence sur la transmissibilité.
 13 Les barrières entre espèces peuvent être franchies dans des circonstances appropriées.

14 L'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) a été notifiée pour la première fois au
 15 Royaume-Uni en 1986. Un grand nombre de bovins et de troupeaux individuels ont été
 16 atteints. Il est clair que l'ESB est une maladie d'origine alimentaire et qu'elle est associée
 17 à une alimentation animale (farine de viande et d'os, par exemple) provenant d'animaux
 18 atteints d'EST. Des cas d'ESB sont apparus dans d'autres pays, soit chez des animaux
 19 importés du Royaume-Uni, soit chez des animaux indigènes. Il existe des indices probants
 20 démontrant que la variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (vMCJ) est due à l'agent
 21 responsable de l'ESB chez les bovins. Une démarche prudente est donc toujours de
 22 rigueur dans les cas où des matières biologiques issues d'espèces naturellement atteintes
 23 d'EST, notamment de l'espèce bovine, sont utilisées pour la fabrication de médicaments.

24 Au cours de programmes de surveillance active, deux formes atypiques d'ESB jusqu'ici
 25 inconnues (l'ESB-L, appelée également BASE, et l'ESB-H) ont été identifiées dans de
 26 rares cas sporadiques en Europe, en Amérique du Nord et au Japon. Les lettres L et H
 27 définissent les positions électrophorétiques supérieure et inférieure de leur isoforme
 28 (PrP^{EST}) résistante aux protéases. Il y a lieu de noter que des cas atypiques ont été
 29 recensés dans des pays épargnés jusqu'ici par l'ESB classique, comme la Suède, ou dans
 30 lesquels seuls quelques cas d'ESB classique avaient été enregistrés, comme le Canada ou
 31 les Etats-Unis. L'agent de l'ESB atypique a été transmis de manière expérimentale à des
 32 souris transgéniques exprimant la protéine du prion humain et à un singe cynomolgus.

33 La tremblante du mouton est répandue à travers le monde, et des cas de cette maladie ont
 34 été signalés dans la plupart des pays d'Europe. L'incidence la plus élevée se rencontre
 35 à Chypre. Bien que les humains aient été exposés à la tremblante naturelle depuis plus
 36 de 250 ans, aucune donnée épidémiologique ne permet d'établir un lien direct entre
 37 la tremblante et les formes humaines d'encéphalopathies spongiformes⁽¹⁾. Il subsiste
 38 cependant le risque théorique et actuellement non quantifiable que des moutons aient été
 39 nourris avec des suppléments alimentaires protéiques contaminés par l'ESB. En outre,
 40 il y a lieu de considérer que tout agent de l'ESB introduit dans la population des petits
 41 ruminants via une alimentation contaminée est susceptible d'être recyclé et amplifié⁽²⁾.

42 (1) Cette question fait actuellement l'objet d'une évaluation de la part de l'EFSA et de l'ECDC. Pour des informations actualisées,
 43 veuillez consulter le lien suivant : (<http://registerofquestions.efsa.europa.eu/roqFrontend/questionsListLoader?mandate=M-2009-0221>).

44 (2) A la suite de la confirmation de l'ESB chez un caprin, en France, des mesures législatives supplémentaires concernant la
 45 surveillance et le renforcement du testage des petits ruminants ont été adoptées en janvier 2005. La surveillance renforcée n'a pas
 46 identifié d'autres cas d'ESB chez les ovins et les caprins dans l'UE.
 47

1 L'infection de cellules avec des agents d'EST présente un intérêt, tant en vue du
2 développement de tests que pour des raisons scientifiques essentielles. Des succès ont
3 été enregistrés, souvent mais pas toujours, dans l'inoculation de lignées de cellules
4 neurales. Les conditions nécessaires pour infecter une cellule ne sont pas bien comprises
5 et le procédé est complexe, dans la mesure où il exige des combinaisons particulières
6 entre l'agent et la cellule. Il n'est pas jugé approprié de formuler des recommandations
7 spécifiques sur les substrats de cellules à utiliser pour la production de substances issues
8 de procédés biologiques ou biotechnologiques. Néanmoins, la possibilité d'infecter des
9 lignées cellulaires avec des agents d'EST doit être prise en compte dans les analyses de
10 risque.

11 1-2. CONFORMITÉ RÉGLEMENTAIRE

13 **Évaluation du risque.** Étant donné que l'utilisation de matières d'origine animale est
14 inévitable pour la production de certains médicaments et que l'élimination complète de
15 tout risque à la source est rarement possible, les mesures prises pour gérer le risque de
16 transmission des EST animales via les médicaments visent à réduire le risque au minimum
17 plutôt qu'à l'éliminer. En conséquence, la conformité réglementaire doit être fondée sur
18 une évaluation du risque, prenant en considération tous les facteurs pertinents identifiés
19 dans le présent chapitre (voir plus bas).

20 **Base juridique.** La note explicative est publiée par la Commission européenne en vertu
21 des dispositions suivantes :

- 22 – l'annexe I, partie I, module 3, section 3.2 « Contenu : principes et exigences
23 fondamentaux », paragraphe 9, de la directive 2001/83/CE du Parlement européen
24 et du Conseil du 6 novembre 2001 instituant un code communautaire relatif aux
25 médicaments à usage humain⁽³⁾, telle que modifiée, et
- 26 – l'annexe I, titre I, deuxième partie, section C « Contrôle des matières premières » de la
27 directive 2001/82/CE du Parlement européen et du Conseil du 6 novembre 2001
28 instituant un code communautaire relatif aux médicaments vétérinaires⁽⁴⁾, telle que
29 modifiée.

30
31 Ces directives disposent que les demandeurs d'autorisation de mise sur le marché de
32 médicaments à usage humain et vétérinaire démontrent que les médicaments sont
33 fabriqués conformément à la version la plus récente de la note explicative publiée au
34 *Journal officiel de l'Union européenne*. Cette obligation persiste après l'octroi de
35 l'autorisation de mise sur le marché.

36
37 Par définition, le principe de matériels à risque spécifiés défini dans le règlement (CE)
38 n° 999/2001 du Parlement européen et du Conseil⁽⁵⁾ ne s'applique pas aux médicaments.
39 Toutefois, le règlement (CE) n° 1774/2002 du Parlement européen et du Conseil⁽⁶⁾, en
40 vigueur depuis le 1^{er} mai 2003, établit des règles sanitaires applicables aux sous-produits
41 animaux non destinés à la consommation humaine. En règle générale, et sauf justification
42 appropriée, tous les sous-produits animaux utilisés comme matières premières dans la
43 fabrication de médicaments devraient être des matières de catégorie 3 (c'est-à-dire sûres),
44

45 (3) JO L 311 du 28.11.2001, p. 67.

46 (4) JO L 311 du 28.11.2001, p. 1.

47 (5) JO L 147 du 31.5.2001, p. 1.

(6) JO L 273 du 10.10.2002, p. 1. Le règlement (CE) n° 1774/2002 a été abrogé par le règlement (CE) n° 1069/2009, qui entrera en vigueur le 4 mars 2011 (JO L 300 du 14.11.2009, p. 1).

1 suivant la définition du règlement (CE) n° 1774/2002, ou des matières équivalentes.
2 L'utilisation de substances dérivées de tissus à infectiosité élevée doit être pleinement
3 justifiée après une évaluation des risques/avantages appropriée (voir plus loin).
4

5 La note explicative doit être lue conjointement avec les différents actes juridiques de l'UE,
6 notamment les décisions de la Commission progressivement mises en œuvre depuis 1991.
7 Le cas échéant, des renvois à ces décisions sont effectués dans le texte. Les avis écrits et
8 les notes explicatives du comité des médicaments à usage humain (CMUH) et du comité
9 des médicaments à usage vétérinaire (CMUV) restent applicables aux fins de la conformité
10 réglementaire, sauf indication contraire de la note explicative.

11 La monographie générale *Produits comportant un risque de transmission d'agents*
12 *d'encéphalopathies spongiformes animales* de la Pharmacopée Européenne renvoie au
13 présent chapitre qui est identique à la note explicative. Cette monographie constitue
14 la base pour la délivrance de certificats de conformité, en tant que procédure visant à
15 démontrer la conformité EST des substances et matières utilisées dans la fabrication de
16 médicaments à usage humain et vétérinaire.
17

18 **Clarification de la note explicative.** La compréhension scientifique des EST, et
19 notamment de la pathogenèse de ces maladies, étant en évolution constante, le CMUH
20 et son groupe de travail biologie, en collaboration avec le CMUV et son groupe de travail
21 immunologie pourront être tenus, à l'avenir, de mettre périodiquement au point des
22 orientations supplémentaires sous forme d'avis écrits ou de notes explicatives aux fins
23 de clarifier la note explicative. Ces orientations supplémentaires seront publiées par la
24 Commission et sur le site web de l'Agence européenne des médicaments et donc prises
25 en compte dans le cadre de la certification de la Direction Européenne de la Qualité du
26 Médicament & Soins de Santé (DEQM).
27

29 2. CHAMP D'APPLICATION

30 *ESPÈCES ANIMALES CONCERNÉES PAR LES EST*

32 Les bovins, les moutons, les chèvres et les animaux naturellement susceptibles d'être
33 infectés par les agents des encéphalopathies spongiformes transmissibles ou les animaux
34 susceptibles d'être infectés par la voie orale autres que les primates humains⁽⁷⁾ ou non
35 humains sont définis comme des « espèces animales concernées par les EST »⁽⁸⁾.

36 *MATIÈRES*

37 Le présent chapitre porte sur les matières dérivées d'« espèces animales concernées par les
38 EST » utilisées pour la préparation :

- 40 – de substances actives,
- 41
- 42 – d'excipients et d'adjuvants, et
- 43

44 (7) Des explications réglementaires et des avis écrits ont été publiés par le comité des médicaments à usage humain et son groupe
45 de travail biologie sur les médicaments dérivés de tissus humains au regard de la MCJ et de la vMCJ. Ces explications figurent sur
46 le site (<http://www.ema.europa.eu>).

47 (8) Les porcs et les oiseaux, espèces animales d'un intérêt particulier pour la production de médicaments, ne sont pas sensibles à
une infection naturelle par voie orale. En conséquence, ce ne sont pas des espèces animales concernées par les EST au sens de la
présente note explicative. Les chiens, les lapins et les poissons ne sont pas non plus des espèces animales concernées par les EST au
sens de la présente note explicative.

1 – de matières premières et de réactifs entrant dans le processus de fabrication (par
2 exemple albumine sérique bovine, enzymes, milieux de culture y compris ceux utilisés
3 pour préparer les banques de cellules de travail ou de nouvelles banques de cellules
4 primaires pour des médicaments soumis à une nouvelle autorisation de mise sur le
5 marché).

6
7 Le présent chapitre s'applique également à des matières qui entrent en contact direct avec
8 les appareils utilisés lors de la fabrication du médicament ou qui entrent en contact avec le
9 médicament et qui sont donc potentiellement contaminantes.

10 Les matières employées lors de la validation des établissements et des équipements, telles
11 que les milieux de culture utilisés dans les essais de répartition simulée pour valider le
12 procédé de remplissage aseptique, sont considérées comme conformes au présent chapitre
13 pour autant que le ou les constituants soient dérivés de tissus sans infectiosité décelable
14 (tissus de catégorie IC), pour lesquels le risque de contamination croisée avec des tissus
15 potentiellement infectieux a été pris en compte (voir la section 3-3), et qui proviennent
16 d'un pays à risque d'ESB négligeable ou contrôlé (pays respectivement de catégorie A et
17 B – (voir la section 3-2). Ces informations doivent figurer dans le dossier d'autorisation
18 de mise sur le marché et être vérifiées lors des inspections de routine concernant la
19 conformité aux bonnes pratiques de fabrication (BPF).

20 D'autres matières, telles que les agents de nettoyage, les adoucissants et les lubrifiants
21 qui entrent en contact avec le médicament lors de sa fabrication courante ou au stade de
22 la finition ou de l'emballage primaire sont considérées comme conformes au présent
23 chapitre s'il s'agit de dérivés du suif préparés au moyen des processus physicochimiques
24 rigoureux décrits dans la section 6.

25
26 *LOTS DE SEMENCE, BANQUES DE CELLULES ET FERMENTATION/PRODUCTION*
27 *DE ROUTINE*⁽⁹⁾

28 Aux fins de la conformité réglementaire, les semences primaires ou les banques de cellules
29 primaires figurant dans les demandes d'autorisation de mise sur le marché présentées
30 après le 1^{er} juillet 2000 (pour les médicaments à usage humain) ou après le 1^{er} octobre 2000
31 (pour les médicaments à usage vétérinaire) sont couvertes par la note explicative.

32 Les semences primaires et les banques de cellules primaires utilisées :

- 33
34 – pour les antigènes de vaccins,
35 – pour un médicament issu d'un procédé biotechnologique au sens de l'annexe du
36 règlement (CEE) n° 726/2004 du Parlement européen et du Conseil⁽¹⁰⁾, et
37 – pour d'autres médicaments utilisant des lots de semences ou des systèmes de banques
38 de cellules dans leur fabrication,
39

40 qui ont déjà été approuvées pour la fabrication d'un constituant d'un médicament
41 autorisé seront considérées comme conformes à la note explicative, même si elles sont
42 intégrées à des demandes d'autorisation de mise sur le marché présentées après le
43 1^{er} juillet 2000 (pour des médicaments à usage humain) ou après le 1^{er} octobre 2000
44 (pour des médicaments à usage vétérinaire).

45
46 (9) Voir aussi : Avis écrit concernant l'évaluation des risques de transmission des agents des encéphalopathies spongiformes animales
47 par les semences mères utilisées pour la production de vaccins vétérinaires (EMEA/CMV/019/01 – février 2001) adopté par le comité
des médicaments à usage vétérinaire (CMV) en juillet 2001 (JO C 286 du 12.10.2001, p. 12).

(10) JO L 136 du 30.4.2004, p. 1

1 Il doit être démontré que les banques de cellules primaires et les semences primaires
2 établies avant le 1^{er} juillet 2000 (pour les médicaments à usage humain) ou le
3 1^{er} octobre 2000 (pour les médicaments à usage vétérinaire), mais non encore approuvées
4 comme constituants d'un médicament autorisé, satisfont aux exigences de la note
5 explicative. Si le dossier complet des justificatifs relatifs à une matière première ou à des
6 réactifs utilisés pour la mise au point de ces banques de cellules ou ces semences n'est
7 plus disponible, le demandeur doit présenter une évaluation du risque telle que décrite
8 dans la section 4 de la note explicative.

9
10 Les semences de travail ou les banques de cellules établies utilisées pour la fabrication de
11 médicaments autorisés avant le 1^{er} juillet 2000 (pour les médicaments à usage humain) ou
12 avant le 1^{er} octobre 2000 (pour les médicaments à usage vétérinaire), qui ont fait l'objet
13 d'une évaluation du risque menée correctement par une autorité compétente des Etats
14 membres ou par l'Agence européenne des médicaments et ont été déclarées acceptables,
15 doivent également être considérées comme conformes.

16 Cependant, si des matières dérivées d'« espèces animales concernées par les EST » sont
17 utilisées dans des procédés de fermentation ou des procédés de production courante,
18 ou pour l'établissement de semences de travail ou de banques de cellules de travail, le
19 demandeur doit démontrer qu'elles satisfont aux exigences de la note explicative.

21 3. CONSIDÉRATIONS D'ORDRE GÉNÉRAL

22 3-1. *PRINCIPES SCIENTIFIQUES RELATIFS À LA RÉDUCTION DES RISQUES*

23 Les fabricants, lorsqu'ils ont le choix, donneront la préférence à l'utilisation de matières
24 provenant d'« espèces animales non concernées par les EST » ou d'origine non animale.
25 L'utilisation de matières dérivées d'« espèces animales concernées par les EST » plutôt que
26 de matières provenant d'« espèces non concernées par les EST » ou d'origine non animale
27 devra être justifiée. Si des matières issues d'« espèces animales concernées par les EST »
28 doivent être utilisées, il y a lieu de tenir compte de toutes les mesures nécessaires à la
29 réduction du risque de transmission des EST.

30
31 Il n'existe pas encore de tests diagnostiques facilement applicables pour déterminer
32 l'infectiosité EST *in vivo*. Le diagnostic se base sur la confirmation post-mortem de lésions
33 cérébrales caractéristiques par histopathologie et/ou par la détection de la PrP^{EST} par
34 Western blot ou immunodosage. La mise en évidence de l'infectiosité par l'inoculation
35 de tissus suspects à une espèce cible ou à des animaux de laboratoire est également
36 utilisée pour confirmation, mais compte tenu des longues périodes d'incubation de toutes
37 les EST, les résultats d'essais *in vivo* ne sont disponibles qu'après plusieurs mois ou
38 plusieurs années.

39
40 Plusieurs tests immunochimiques *in vitro* pouvant déceler la PrP^{EST} dans des échantillons
41 post-mortem ont été mis au point et certains sont considérés désormais comme très
42 sensibles. Néanmoins, leur capacité de détection d'un animal infecté dépend du moment
43 auquel l'échantillon est prélevé par rapport à la période d'exposition, du type de tissu
44 prélevé et de la dose d'infection acquise, ainsi que du moment où se manifestent les
45 premiers signes cliniques de la maladie. Les informations actuelles ne permettent pas
46 de déterminer dans quelle mesure des variations dans les souches peuvent avoir une
47 incidence sur le processus de détection.

1 Si le dépistage des animaux sources par des essais *in vitro* peut empêcher l'utilisation
2 d'animaux aux derniers stades d'incubation de la maladie et fournir des informations sur
3 le statut épidémiologique d'un pays ou d'une région donnés, aucun essai n'apparaît en
4 mesure de confirmer sans équivoque le statut négatif d'un animal.

6 La réduction des risques de transmission des EST se fonde sur trois paramètres
7 complémentaires :

- 10 – les animaux sources et leur origine géographique,
- 12 – la nature de la matière animale utilisée lors de la fabrication et toute procédure mise en
13 place pour éviter une contamination croisée avec des matières à haut risque,
- 16 – le/les procédés de production, y compris le système d'assurance de la qualité en place
17 pour garantir la reproductibilité et la traçabilité du produit.

18 3-2. ANIMAUX SOURCES

19 Les matières sources utilisées pour la production de matières destinées à la fabrication
20 de médicaments doivent être dérivées d'animaux déclarés propres à la consommation
21 humaine après les inspections ante- et post-mortem conformément aux conditions de
22 l'UE ou à des conditions équivalentes (pays tiers), à l'exception des matières provenant
23 d'animaux vivants dont la bonne santé doit être établie par un examen clinique.

25 3-2-1. Origine géographique

27 3-2-1-1. *Matières bovines*. L'Organisation mondiale de la santé animale (OIE)⁽¹¹⁾ établit
28 les critères relatifs à l'évaluation du statut des pays dans le chapitre du code sanitaire
29 international pour les animaux concernant l'encéphalopathie spongiforme bovine. Les
30 pays et régions sont classés de la façon suivante :

- 33 – A. Pays ou régions à risque d'ESB négligeable
- 35 – B. Pays ou régions à risque d'ESB contrôlé
- 38 – C. Pays ou régions à risque d'ESB indéterminé.

40 Comme le prévoit le règlement (CE) n° 999/2001 de la Commission⁽¹²⁾ dans sa version
41 modifiée, le classement des pays ou de leurs régions en fonction de leur risque d'ESB,
42 conformément aux règles de l'OIE, est juridiquement contraignant dans l'UE depuis le
43 1^{er} juillet 2007. La décision 2007/453/CE de la Commission⁽¹³⁾ établit, dans sa version
44 modifiée, la classification des pays ou régions en fonction de leur risque d'ESB.

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

47 (12) Règlement (CE) n° 722/2007 (JO L 164 du 20.6.2007, p. 7).

(13) JO L 172 du 30.6.2007, p. 84

1 Le comité scientifique directeur de la Commission européenne (CSD)⁽¹⁴⁾ avait établi
2 précédemment un système temporaire de classification des pays en fonction de leur risque
3 géographique d'ESB (RGE).⁽¹⁵⁾

4 Pour les besoins du présent chapitre, la classification ESB fondée sur les règles de l'OIE
5 doit être utilisée. Si un pays classé précédemment selon les critères RGE du CSD n'a pas
6 encore été classé selon les règles de l'OIE, la classification RGE peut être utilisée tant que
7 la classification OIE ne l'a pas remplacée, à condition qu'aucun changement important
8 du risque d'ESB ne puisse être prouvé⁽¹⁶⁾.

9 Lorsque le choix est possible, les animaux doivent provenir de pays présentant le
10 risque d'ESB le plus faible [pays à risque d'ESB négligeable (catégorie A)], à moins
11 que l'utilisation de matières provenant de pays à risque d'ESB plus élevé ne soit
12 justifiée. L'approvisionnement en certaines matières parmi celles identifiées dans la
13 section 6, « Conditions spécifiques », peut se faire auprès de pays à risque d'ESB contrôlé
14 (catégorie B) et, dans certains cas, de pays à risque d'ESB indéterminé (catégorie C),
15 sous réserve que les contrôles et exigences spécifiés ci-après dans les sections concernées
16 soient appliqués. Hormis ces exceptions, les animaux ne doivent pas provenir de pays à
17 risque d'ESB indéterminé (catégorie C), et en cas d'utilisation d'animaux issus de ces pays,
18 les justifications doivent systématiquement être fournies.

19 3-2-1-2. *Moutons et chèvres (petits ruminants)*. Des cas cliniques de tremblante naturelle
20 ont été signalés dans un certain nombre de pays à travers le monde. Un diagnostic erroné
21 de tremblante chez le mouton ou la chèvre atteints d'ESB pouvant aisément se produire,
22 l'approvisionnement en matières dérivées de petits ruminants devra tenir compte, par
23 mesure de précaution, de la prévalence dans le pays des deux maladies - ESB et tremblante
24 - et des tissus desquels les matières sont dérivées.
25

26 Les principes relatifs aux « troupeaux de bovins à risque d'ESB négligeable (fermés) » (voir
27 section 3-2-2) peuvent également s'appliquer dans le contexte des petits ruminants en
28 vue de l'élaboration d'un cadre pour la définition du statut EST d'un élevage de petits
29 ruminants. En ce qui concerne les moutons, du fait des inquiétudes liées à la possibilité
30 d'ESB chez le mouton, l'utilisation d'un ou de plusieurs génotypes dont la résistance à une
31 infection par l'ESB/la tremblante est attestée pourrait être prise en considération pour
32 constituer des élevages exempts d'EST⁽¹⁷⁾. Cependant, la possibilité que des génotypes
33

34 (14) Le comité scientifique directeur établi par la décision 97/404/CE de la Commission (JO L 169 du 27.6.1997, p. 85) apporte
35 son assistance à la Commission pour qu'elle obtienne les meilleurs avis scientifiques disponibles sur les questions relatives à la
36 santé des consommateurs. Depuis mai 2003, l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) l'a remplacé dans ses fonctions
37 (<http://www.efsa.europa.eu>).

38 (15) La classification du comité scientifique directeur européen relative au risque géographique d'ESB (RGE) fournit une indication du
39 niveau de probabilité de la présence d'un ou de plusieurs bovins cliniquement ou précliniquement infectés par l'ESB dans un pays ou
40 une région donnés. Une définition des quatre catégories est fournie dans le tableau suivant :

Niveau du RGE	Présence d'un ou de plusieurs bovins cliniquement ou précliniquement infectés par l'ESB dans une région géographique/un pays
I	Très peu probable
II	Peu probable mais pas exclue
III	Possible mais non confirmée ou confirmée à un niveau peu élevé
IV	Confirmée à un niveau élevé (≥ 100 cas/1 million de bovins adultes par an)

41 Les rapports d'évaluation des pays au regard de leur RGE sont disponibles sur le site internet du CSD (http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/outcome_en.html).

42 (16) Selon les experts, le système de classification RGE est suffisamment stable et peut continuer à être utilisé pendant la période de
43 transition pour démontrer la conformité au présent chapitre.

44 (17) Avis du groupe scientifique sur les risques biologiques relatif au programme d'élevage axé sur la résistance aux EST chez les ovins
45 (http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178620775678.htm).

1 résistants à la tremblante soient sensibles à l'ESB (exposition orale expérimentale) ou à la
2 tremblante atypique (cas d'infection naturelle) doit être également prise en compte. La
3 sensibilité spécifique d'un génotype n'a pas suffisamment été étudiée chez les chèvres.

4
5 Les matières issues de petits ruminants doivent de préférence provenir de pays ayant de
6 longs antécédents d'absence de tremblante. Une justification sera exigée en cas de matière
7 d'origine différente.

8
9 **3-2-2. Troupeaux de bovins à risque d'ESB négligeable (fermés).** L'approvisionnement
10 le plus sûr se fait auprès de pays ou de régions présentant un risque d'ESB négligeable
11 (pays de catégorie A). D'autres pays peuvent présenter ou avoir présenté des cas d'ESB à
12 un certain moment ; aussi le concept pratique de « troupeaux de bovins à risque d'ESB
13 négligeable (fermés) » a-t-il été élaboré par le CSD et approuvé par le CMUH et le CMUV.
14 Les critères relatifs à l'établissement et au maintien d'un « troupeau de bovins à risque
15 d'ESB négligeable (fermé) » sont spécifiés dans l'avis du CSD des 22 et 23 juillet 1999⁽¹⁸⁾.

16
17 Il n'est pas possible pour le moment, de quantifier la réduction du risque géographique
18 d'ESB chez les bovins issus de « troupeaux de bovins à risque d'ESB négligeable (fermés) »,
19 mais on suppose que cette réduction est importante. L'approvisionnement auprès de tels
20 troupeaux fermés de bovins doit donc être pris en considération dans l'évaluation des
21 risques, en relation avec la classification OIE du pays.

22 **3-3. PARTIES D'ANIMAUX, LIQUIDES CORPORELS ET SECRÉTIONS UTILISÉS** 23 **COMME MATIÈRES PREMIÈRES**

24 Chez un animal infecté par une EST, les niveaux d'infectiosité varient selon les organes
25 et les sécrétions. Si des matières provenant d'«espèces animales concernées par les EST»
26 doivent être utilisées, elles devraient si possible appartenir à une catégorie de risque faible.
27 Les tableaux présentés en annexe au présent chapitre⁽¹⁹⁾ résument les données actuelles
28 concernant la distribution de l'infectiosité et de la PrP^{EST} chez les bovins atteints d'ESB, et
29 chez les moutons ou les chèvres atteints de tremblante⁽²⁰⁾.

30
31 Les informations figurant dans les tableaux se fondent exclusivement sur les observations
32 de maladies survenues naturellement ou par infection expérimentale primaire par voie
33 orale (chez les bovins) mais n'incluent pas de données relatives à des modèles utilisant des
34 souches d'EST adaptées aux animaux d'expérimentation car les phénotypes de souches
35 ayant subi plusieurs passages peuvent différer de façon significative et imprévisible des
36 phénotypes de la maladie naturelle. Etant donné qu'il a été prouvé que la détection
37 immunohistochimique et/ou par Western blot de protéines hôtes mal repliées (PrP^{EST})
38 constituait un critère de substitution de l'infectiosité, les résultats des tests de détection
39 de la PrP^{EST} ont été présentés parallèlement aux données des biodosages. Les tissus
40 sont groupés en trois catégories majeures d'infectiosité, indépendamment du stade de la
41 maladie :

42
43 (18) Avis scientifique du CSD sur les conditions relatives aux «troupeaux de bovins à risque d'ESB négligeable (fermés)» adopté lors de
44 la réunion des 22 et 23 juillet 1999 (http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out56_en.html)

45 (19) Les tableaux de classification des tissus se fondent sur les orientations de l'OMS les plus récentes
46 concernant la distribution de l'infectiosité tissulaire dans les encéphalopathies spongiformes transmissibles (2010)
47 (<http://www.who.int/bloodproducts/tablestissueinfectivity.pdf>).

(20) Un avis scientifique sur l'infectiosité de l'ESB/EST dans les tissus des petits ruminants fait actuellement l'objet d'un
examen de l'EFSA (question n° EFSA-Q-2010-052). Pour des informations actualisées, veuillez consulter le lien suivant
(<http://registerofquestions.efsa.europa.eu/roqFrontend/questionsListLoader?mandate=M-2010-0041>).

1	Catégorie IA	Tissus à infectiosité élevée
2		Tissus du système nerveux central (SNC) qui atteignent un titre infectieux élevé dans les
3		derniers stades de toutes les EST, et certains tissus anatomiquement associés au SNC
4	Catégorie IB	Tissus à faible infectiosité
5		Tissus périphériques à infectiosité positive et/ou PrP ^{EST} positifs dans une forme d'EST
6	Catégorie IC	Tissus sans infectiosité décelable
7		Tissus dont l'examen n'a révélé aucune infectiosité, et/ou dont la recherche de PrP ^{EST}
8		a donné des résultats négatifs

9 Les tissus de catégorie IA et les substances qui en sont dérivées ne doivent pas être utilisés
10 pour la fabrication de médicaments (voir section 5).

11 Même si la catégorie des tissus à faible infectiosité (tissus de catégorie IB) inclut très
12 probablement des tissus (par exemple le sang) qui présentent un risque plus faible que
13 d'autres (par exemple les tissus lymphoréticulaires), les données relatives aux niveaux
14 d'infectiosité de ces tissus sont trop limitées pour subdiviser cette catégorie en différents
15 niveaux de risque. Par ailleurs, il est évident que le classement d'un tissu donné dans une
16 catégorie ou une autre peut être spécifique de la maladie ou de l'espèce et sujet à révision
17 au fur et à mesure de l'émergence de données nouvelles.

18 En ce qui concerne l'évaluation des risques (voir section 4), les fabricants et/ou les
19 demandeurs/détenteurs d'autorisation de mise sur le marché doivent tenir compte des
20 tableaux de classification des tissus figurant à l'annexe du présent chapitre.

21 Les catégories présentées dans les tableaux ne sont fournies qu'à titre indicatif et il est
22 important de noter les points suivants :

- 24 – dans certaines situations, il peut y avoir **contamination croisée** entre des tissus
25 de catégories d'infectiosité différentes. Les risques potentiels dépendront des
26 circonstances dans lesquelles les tissus ont été prélevés, notamment du contact
27 entre des tissus à infectiosité faible ou non décelable (tissus des catégories IB et IC)
28 et des tissus à infectiosité élevée (tissus de catégorie IA). Ainsi, la contamination
29 croisée de certains tissus risque de s'accroître si les animaux infectés sont abattus
30 par étourdissement (perforant ou non perforant) ou si le cerveau et/ou la moelle
31 épinière sont débités à la scie. Le risque de contamination croisée sera réduit si les
32 liquides corporels sont recueillis avec un minimum de lésions tissulaires, si les éléments
33 cellulaires en sont retirés et si le sang foetal est recueilli en évitant toute contamination
34 par des tissus de la mère ou du foetus comme le placenta ou les liquides amniotique
35 et allantoïdien. Pour certains tissus, il est très difficile, voire impossible, d'éviter une
36 contamination croisée avec des tissus de catégorie IA (par exemple, le crâne). Ceci doit
37 être pris en considération dans l'évaluation des risques,

1 – pour certaines classes de substances, les **techniques utilisées pour assommer/abattre**
2 l'animal peuvent jouer un rôle important dans la détermination du risque potentiel⁽²¹⁾
3 du fait de la probabilité de dissémination des particules cérébrales dans les organes
4 périphériques, notamment les poumons. De même que les procédures d'élimination
5 des tissus à infectiosité élevée, les techniques d'étourdissement/d'abattage utilisées
6 doivent être décrites. Les procédures de prélèvement des tissus ou organes animaux à
7 utiliser et les mesures mises en place pour éviter une contamination croisée avec une
8 matière à risque élevé doivent également faire l'objet d'une description détaillée.

9 – le risque de contamination de tissus ou d'organes par les matières du système nerveux
10 central, sièges potentiels de l'infectiosité de l'ESB, en raison de la méthode utilisée
11 pour assommer l'animal lors de l'abattage dépend des facteurs suivants :

- 12 – le titre infectieux de l'ESB dans le cerveau de l'animal abattu,
- 13 – l'étendue des dommages cérébraux,
- 14 – la dissémination de particules cérébrales dans le corps de l'animal.

15 Ces facteurs doivent être pris en considération en relation avec la classification OIE/RGE
16 des animaux sources, l'âge des animaux dans le cas de bovins et les essais post-mortem
17 sur les bovins par une méthode validée.

18 Les principes de base énoncés ci-dessus sont également applicables aux moutons et aux
19 chèvres.

20 Le risque posé par la contamination croisée dépendra de plusieurs facteurs
21 complémentaires comme :

- 22 – les mesures adoptées pour éviter la contamination lors du prélèvement des tissus (voir
23 plus haut),
- 24 – le niveau de contamination (quantité de tissu contaminant),
- 25 – la quantité et le type de matières prélevées en même temps.

26 Les fabricants et les détenteurs/demandeurs d'autorisation de mise sur le marché
27 devraient tenir compte du risque lié à la contamination croisée.

31 3-4. ÂGE DES ANIMAUX

32 Etant donné que l'infectiosité de l'EST s'accumule chez les bovins sur une période
33 d'incubation de plusieurs années, il convient par prudence de s'approvisionner en matières
34 provenant d'animaux jeunes.

35 La présence de matières infectieuses a été essentiellement signalée, selon le type d'agent
36 EST concerné (ESB chez les bovins ou tremblante chez les ovins et les caprins), dans
37 le système nerveux central et les tissus associés, et dans le système lymphoréticulaire.
38 En ce qui concerne les deux espèces, l'évolution précise de l'infectiosité depuis la date
39 d'infection dans les différents tissus et parties du corps n'est pas connue, et il est donc
40 difficile de donner des indications claires quant à l'âge au-delà duquel les différents tissus
41 peuvent être infectés et ne doivent plus être prélevés. La recommandation initiale de
42 prélever les tissus sur des animaux en bas âge est toujours valable. En outre, il y a lieu
43 de noter que le critère d'âge est également fonction de l'origine géographique. L'âge
44

45 (21) Avis du CSD sur les méthodes d'étourdissement et le risque d'ESB (le risque de dissémination des particules cérébrales dans
46 le sang et la carcasse lors de l'utilisation de certaines méthodes d'étourdissement) adopté lors de la réunion des 10 et 11 janvier
47 2002 (http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out245_en.pdf). Rapport du groupe de travail de l'EFSA sur le risque d'ESB lié à la
dissémination de particules cérébrales dans le sang et la carcasse. Question n° EFSA-Q-2003-122, adoptée le 21 octobre 2004 (http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178620777397.htm).

1 constitue un paramètre plus important pour les matières provenant de pays présentant un
2 risque plus élevé (pays des catégories B et C) que pour celles provenant de pays à risque
3 d'ESB négligeable (pays de catégorie A).

4 3-5. *PROCÉDÉ DE FABRICATION*

5 L'évaluation de la réduction globale du risque d'EST d'un médicament doit tenir compte
6 des mesures de contrôle instituées au regard :

- 7 – de la source d'approvisionnement en matières premières/de départ, et
- 8
- 9 – du procédé de fabrication.
- 10
- 11
- 12

13 Le contrôle de l'approvisionnement est un critère très important à prendre en compte
14 pour garantir une innocuité acceptable du produit, étant donné la résistance établie des
15 agents des EST à la plupart des procédures d'inactivation.

16
17 Des systèmes d'assurance de la qualité tels que la certification ISO 9000, le HACCP⁽²²⁾
18 ou les BPF, doivent être mis en place pour la surveillance du procédé de production et
19 de la production par lots (définition du lot, séparation des lots, nettoyage entre les lots).
20 Des procédures doivent être mises en place pour assurer la traçabilité et les vérifications
21 internes, ainsi que pour contrôler les fournisseurs de matières premières.

22
23 Certaines procédures de production peuvent contribuer considérablement à la réduction
24 du risque de contamination par les agents des EST [par exemple les procédures utilisées
25 dans la fabrication des dérivés du suif (voir la section 6)]. Des traitements aussi rigoureux
26 ne pouvant s'appliquer à de nombreux produits, les procédés impliquant une action
27 physique, comme la précipitation ou la filtration, pour éliminer les matières riches en
28 prions, sont probablement plus appropriés que les traitements chimiques. Une description
29 du procédé de fabrication, y compris les contrôles appliqués en cours de fabrication, sera
30 présentée, et les étapes susceptibles de contribuer à la réduction ou à l'élimination de
31 la contamination par les agents des EST seront examinées. Si des sites de fabrication
32 différents sont impliqués, les étapes réalisées sur chaque site devront être clairement
33 identifiées. Les mesures mises en place pour garantir la traçabilité de chaque lot de
34 production jusqu'à la matière source devront être décrites.

35
36 **Procédé de nettoyage.** Le nettoyage des appareils de traitement peut être difficile à valider
37 en ce qui concerne l'élimination des agents des EST. Il a été signalé qu'après exposition à
38 des préparations à titre élevé en agents des EST, une infectiosité décelable peut rester liée
39 à la surface de l'acier inoxydable. L'élimination de toute protéine adsorbée par l'utilisation
40 de désinfectants libérant de l'hydroxyde de sodium 1 M ou du chlore (par exemple, du
41 chlore à 20 000 ppm pendant 1 h) est considérée comme une démarche acceptable dans
42 le cas d'appareils qui ne peuvent être remplacés et qui ont été exposés à des matières
43 potentiellement contaminées. Des traitements moins agressifs à concentration réduite en
44 alcalins ou en eau de javel stabilisée ont démontré une efficacité similaire à celle des
45 traitements classiques au NaOH ou au chlore pour l'élimination des prions, lorsque ces
46 substances étaient formulées de manière appropriée avec des détergents et utilisées aux

47
(22) Hazard Analysis Critical Control Point (analyse des risques et maîtrise des points critiques).

1 températures spécifiées. Un système utilisant de l'eau oxygénée vaporisée s'est avéré
2 également efficace pour l'inactivation des agents des EST. Ces nouveaux traitements sont
3 plus appropriés aux matériels délicats et devraient convenir à un usage pratique⁽²³⁾.
4

5
6 Si des matières à risque sont utilisées dans la fabrication d'un produit, des procédures de
7 nettoyage, y compris des mesures de contrôle, doivent être mises en place afin de réduire
8 le risque de contamination croisée entre les lots de production. De telles procédures sont
9 d'autant plus importantes lorsque des matières appartenant à des catégories de risque
10 différentes sont manipulées dans la même installation avec les mêmes appareils. Si des
11 produits de catégorie IA entrent dans la fabrication d'un produit, un équipement spécial
12 devra être utilisé, sauf justification contraire.
13

14
15 Il faut poursuivre les recherches en vue de développer et valider de nouvelles procédures
16 de décontamination susceptibles de réduire le risque de contamination croisée pour les
17 matières et les appareils inadaptés aux procédures recommandées par l'OMS.

18 **Validation de l'élimination/inactivation.** Les études de validation des procédures
19 d'élimination/inactivation des agents infectieux des EST peuvent être difficiles à
20 interpréter car il est nécessaire de prendre en considération la nature du produit
21 contaminé intentionnellement et sa pertinence vis-à-vis de la situation réelle, le protocole
22 de l'étude (y compris la réduction d'échelle des procédés) et la méthode de détection de
23 l'agent (dosage *in vitro* ou *in vivo*). Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour
24 pouvoir parvenir à un accord concernant la « préparation contaminée intentionnellement »
25 la plus appropriée pour les études de validation. Actuellement, les études de validation ne
26 sont donc généralement pas exigées. Cependant, si une revendication liée à l'innocuité du
27 produit au regard des EST est faite sur la base de la capacité du procédé de fabrication
28 à éliminer ou inactiver les agents des EST, elle doit être justifiée par des études
29 d'investigation appropriées⁽²⁴⁾.
30

31
32 Outre un approvisionnement approprié, les fabricants sont incités à poursuivre leurs
33 travaux sur les méthodes d'élimination ou d'inactivation en vue de l'identification des
34 étapes/procédés qui favoriseraient l'élimination ou l'inactivation des agents infectieux des
35 EST. En tout état de cause, chaque fois que cela est possible, un procédé de production
36 doit être élaboré, en tenant compte des informations disponibles sur les méthodes
37 présumées efficaces pour l'élimination ou l'inactivation des agents des EST.
38

39
40 Une évaluation du procédé de fabrication peut être exigée pour certains types de produits
41 (voir la section 6.3 « Sang et dérivés sanguins d'origine bovine ») auxquels des méthodes
42 d'élimination ou d'inactivation validées ne peuvent être appliquées aisément. Cette
43 évaluation doit porter sur la matière première et prendre en compte toutes les informations
44 publiées sur le risque d'EST.

45
46 (23) Orientations de l'OMS sur la distribution de l'infectivité tissulaire dans les encéphalopathies spongiformes transmissibles (2006)
(<http://www.who.int/bloodproducts/tse/WHO%20TSE%20Guidelines%20FINAL-22%20JuneupdatedNL.pdf>).

47 (24) Orientations sur l'examen du procédé de fabrication des médicaments dérivés du plasma au regard du risque de vMCI CPMP/
BWP/5136/03

4. ÉVALUATION DU RISQUE LIÉ AUX MATIÈRES OU SUBSTANCES UTILISÉES DANS LA FABRICATION ET LA PRÉPARATION D'UN MÉDICAMENT DANS LE CONTEXTE DE LA CONFORMITÉ RÉGLEMENTAIRE

L'évaluation du risque associé aux EST nécessite une prise en considération minutieuse de tous les paramètres cités dans la section 3-1 (Principes scientifiques relatifs à la réduction des risques).

Comme indiqué en introduction au présent chapitre, la conformité réglementaire repose sur une conclusion favorable de l'évaluation des risques. Les évaluations des risques effectuées par les fabricants et/ou les détenteurs ou demandeurs d'autorisation de mise sur le marché pour les différentes matières ou substances issues d'« espèces animales concernées par les EST » entrant dans la fabrication d'un médicament doivent montrer qu'il a été tenu compte de tous les facteurs de risque liés aux EST et que, si possible, le risque a été réduit au minimum par l'application des principes décrits dans le présent chapitre. Les détenteurs ou demandeurs d'autorisation de mise sur le marché peuvent se fonder, pour l'évaluation des risques, sur les certificats de conformité EST délivrés par la DEQM.

Une évaluation globale du risque concernant un médicament, réalisée par les détenteurs ou demandeurs d'autorisation de mise sur le marché, devra tenir compte des évaluations du risque lié à chacune des différentes matières provenant d'« espèces animales concernées par les EST » et, le cas échéant, de la réduction ou de l'élimination des agents des EST par des étapes de la fabrication de la substance active et/ou du produit fini.

La détermination finale de la conformité réglementaire est du ressort de l'autorité compétente.

Il incombe aux fabricants et/ou aux détenteurs ou demandeurs d'autorisation de mise sur le marché de médicaments à usage humain ou vétérinaire de choisir et de justifier les mesures de contrôle pour un dérivé donné d'« espèces animales concernées par les EST », en tenant compte des derniers progrès scientifiques et technologiques.

5. ÉVALUATION DU RAPPORT RISQUE/AVANTAGE

Outre les paramètres cités dans les sections 3 (susceptibles d'être couverts par un certificat de conformité EST délivré par la DEQM) et 4, l'acceptabilité d'un médicament particulier contenant des matières dérivées d'« une espèce animale concernée par les EST », ou pouvant en contenir du fait du procédé de fabrication, dépendra des facteurs suivants :

- la voie d'administration du médicament,
- la quantité de matière animale utilisée dans le médicament,
- la posologie thérapeutique maximale (dose journalière et durée du traitement),
- l'utilisation prévue du médicament et son avantage clinique,
- la présence d'une barrière d'espèce.

Les tissus à infectiosité élevée (tissus de catégorie IA) et les substances qui en sont dérivées ne doivent pas être utilisés sans justification dans la fabrication de médicaments, de leurs matières de départ ou de leurs produits intermédiaires (y compris les substances actives, les excipients et les réactifs). Le cas échéant, les motifs justifiant qu'aucune autre matière ne peut être utilisée devront être fournis. Dans ces circonstances exceptionnelles et justifiées, l'utilisation de tissus à infectiosité élevée pourra être envisagée pour la fabrication de substances actives si, après avoir procédé à l'évaluation des risques décrite à la section 4 du présent chapitre, et compte tenu de l'utilisation clinique prévue, le

1 demandeur d'autorisation de mise sur le marché peut présenter une analyse positive
2 du rapport risque/avantage. Les substances issues de matières de catégorie IA, dont
3 l'utilisation est justifiée, doivent être produites à partir d'animaux provenant de pays
4 à risque d'ESB négligeable (catégorie A).

6. CONSIDÉRATIONS SPÉCIFIQUES

7 Les matières suivantes préparées à partir d'« espèces animales concernées par les EST »
8 sont considérées comme conformes au présent chapitre sous réserve qu'elles satisfassent
9 au moins aux conditions spécifiées ci-après. Des informations appropriées ou un certificat
10 de conformité délivré par la DEQM devront être fournis par le demandeur ou le détenteur
11 d'autorisation de mise sur le marché.

6-1. *COLLAGÈNE*

12 Le collagène est un constituant protéique fibreux du tissu conjonctif des mammifères.

13 En ce qui concerne le collagène, les documents attestant la conformité au présent chapitre
14 devront être fournis en tenant compte des dispositions indiquées dans les sections 3 à 5.

15 En outre, les points suivants devront être pris en considération :

- 16 – pour le collagène produit à partir d'os, les conditions spécifiées pour la gélatine
17 sont applicables (voir plus loin). Le procédé de fabrication du collagène est supposé
18 avoir une capacité d'inactivation inférieure à celui de la gélatine. Par conséquent,
19 l'approvisionnement constitue un aspect plus critique dont il y a lieu de tenir compte,
20
- 21 – le collagène produit à partir de tissus comme les peaux, les tendons et les muscles ne
22 présente généralement pas de risque mesurable d'EST à condition que la contamination
23 par des matières potentiellement infectées (par exemple, déversements accidentels de
24 sang et/ou de tissus du système nerveux central) soit évitée lors du prélèvement. Les
25 peaux constituent donc une matière première plus sûre pour la fabrication d'implants
26 humains à base de collagène. Toutefois, il semble difficile d'éviter la contamination
27 croisée avec des matières cérébrales libérées au cours de l'abattage qui peuvent avoir
28 séché sur la surface des peaux. Il s'agit d'un autre aspect dont il y a lieu de tenir compte
29 lors de l'évaluation de la sûreté de cette matière source.
30
31

32 Le procédé de fabrication du collagène peut avoir certaines étapes en commun avec
33 la fabrication de la gélatine, comme les traitements aux alcalis et au sulfate de soude,
34 les traitements à la chaux éteinte et à la soude caustique et le traitement aux enzymes.
35 Cependant, même ces traitements communs peuvent varier en termes de durée et de
36 conditions de pH, ce qui peut donner lieu à d'importantes différences quant à leur capacité
37 d'inactivation. Les fabricants doivent, afin de justifier la sûreté du produit, procéder au
38 minimum à une évaluation du processus fondée sur les similitudes que présentent les
39 étapes de traitement du collagène par rapport aux dispositifs d'inactivation connus entrant
40 dans la fabrication de la gélatine. Des différences existent non seulement au niveau du
41 procédé de fabrication, mais aussi en ce qui concerne l'utilisation finale de la matière et,
42 en conséquence, l'appréciation de son risque ; si la gélatine est largement utilisée par voie
43 orale, un grand nombre d'applications du collagène concernent les implants chirurgicaux.
44 Il y a lieu de tenir compte également de cet aspect dans l'évaluation des risques finale.

6-2. *GÉLATINE*

45 La gélatine est une protéine naturelle, soluble, gélifiante ou non, obtenue par l'hydrolyse
46 partielle du collagène produit à partir d'os et de peaux d'animaux.
47

1 En ce qui concerne la gélatine, les documents attestant la conformité au présent chapitre
2 doivent être fournis en tenant compte des dispositions énoncées dans les sections 3 à 5.
3 En outre, les points suivants devront être pris en considération⁽²⁵⁾ :

4 **La matière source utilisée**

5 La gélatine utilisée dans les médicaments peut être fabriquée à partir d'os ou de peaux.

6 *Peaux comme matière première.* En l'état actuel des connaissances, les peaux utilisées
7 pour la production de gélatine représentent une matière source plus sûre que les os.
8 Toutefois, il est hautement recommandé de mettre en place des mesures permettant
9 d'éviter la contamination croisée avec des matières potentiellement infectées lors du
10 prélèvement.

11 *Os comme matière première.* Si des os sont utilisés pour produire de la gélatine, le
12 contrôle de la qualité des matières premières constitue un paramètre supplémentaire à
13 prendre en compte pour garantir la sûreté du produit final. Il convient donc de procéder
14 comme suit :

- 15 1. les crânes et les moelles épinières doivent être retirés des os prélevés (matière première)
16 sur les bovins, quels que soient leur âge ou leur pays d'origine ;
- 17 2. les vertèbres sont à éliminer des matières premières prélevées sur les bovins de plus de
18 30 mois provenant de pays à risque d'ESB contrôlé ou indéterminé (catégories B ou C) ;
- 19 3. la gélatine à usage parentéral doit être obtenue uniquement à partir d'os d'animaux
20 provenant de pays à risque d'ESB négligeable ou contrôlé (catégories A et B,
21 respectivement). La gélatine à usage oral peut être fabriquée à partir d'os d'animaux
22 provenant de pays à risque d'ESB négligeable, contrôlé ou indéterminé (catégories A,
23 B et C, respectivement) ;
- 24 4. la gélatine doit être fabriquée au moyen d'une des méthodes de fabrication décrites
25 ci-dessous.

26 **Méthodes de fabrication**

- 27 – *Peaux.* Concernant la gélatine produite à partir de peaux, il n'est exigé aucune mesure
28 spécifique quant aux conditions de manipulation, sous réserve que des mesures de
29 contrôle soient mises en place pour éviter une contamination croisée, que ce soit
30 pendant le prélèvement des peaux ou pendant le procédé de fabrication.
- 31 – *Os.* Lorsque les os sont utilisés comme matière première, le mode de fabrication
32 constituera le deuxième paramètre à prendre en compte pour garantir la sûreté de la
33 gélatine.
 - 34 – La gélatine peut être fabriquée à partir d'os provenant de pays à risque d'ESB
35 négligeable, contrôlé ou indéterminé (catégories A, B et C), tracés conformément aux
36 conditions décrites dans la section 6.2, sous La matière source utilisée), au moyen
37 du procédé de fabrication par traitement acide, alcalin ou à chaud/sous pression.
 - 38 – Le procédé de fabrication doit être pris en considération lors de l'évaluation des
39 risques décrite dans la section 4 du présent chapitre. Les méthodes de fabrication
40 par traitement acide et alcalin ont toutes deux révélé une capacité similaire

41 (25) Sur la base de l'avis du groupe scientifique sur les risques biologiques de l'Autorité européenne de sécurité des aliments
42 concernant «l'évaluation quantitative du risque d'ESB chez l'homme représenté par la gélatine au regard du risque résiduel d'ESB»,
43 *The EFSA Journal*, 312, (1-28) (http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178620776107.htm).

44 Les exigences relatives à la sélection et la fabrication de matières sources s'appliquent pour les gélatines à usage oral et parentéral
45 utilisées dans la fabrication de médicaments humains et vétérinaires.

1 d'inactivation ou d'élimination totale de l'infectiosité des EST dans les expériences
2 de validation de la gélatine. Des études ont montré qu'un traitement aux alcalins
3 supplémentaire des os/de l'osséine (à pH 13 pendant 2 h) accroît encore la
4 capacité d'inactivation/d'élimination du procédé de fabrication. D'autres étapes
5 du traitement telles que le filtrage, la chromatographie par échange d'ions et la
6 stérilisation UHT contribuent également à la sûreté de la gélatine.

- 7
- 8 – Un procédé typique de fabrication par traitement alcalin consiste à broyer finement
9 les os, à les dégraisser à l'eau chaude et à les déminéraliser à l'acide chlorhydrique
10 dilué (à une concentration minimale de 4 pour cent et un pH < 1,5) pendant une
11 période d'au moins 2 jours pour produire l'osséine. Un traitement alcalin utilisant
12 une solution de chaux saturée (pH de 12,5 au minimum) pendant une période d'au
13 moins 20 jours est ensuite appliqué.
- 14 – Les os de bovins peuvent aussi être traités par un procédé acide. L'étape du
15 traitement par la chaux est alors remplacée par un prétraitement acide durant lequel
16 l'osséine est à pH < 3,5 pendant au moins 10 h.
- 17
- 18 – Un traitement thermique instantané (stérilisation), à une température minimale de
19 138 °C pendant au moins 4 s, est appliqué dans les procédés de fabrication par
20 traitement tant acide qu'alcalin.
- 21
- 22 – Dans le procédé à chaud/sous pression, les os broyés, dégraissés et séchés sont
23 autoclavés avec de la vapeur saturée à une pression supérieure à 3 bars et une
24 température minimale de 133 °C, pendant au moins 20 min, la protéine étant
25 ensuite extraite avec de l'eau chaude.

26 Les opérations de finition sont similaires pour les procédés alcalin, acide et à chaud/sous
27 pression et consistent dans l'extraction, le rinçage, le filtrage et la concentration de la
28 gélatine.

29 6-3. *SANG ET DÉRIVÉS SANGUINS D'ORIGINE BOVINE*

30 Le sérum foetal bovin est couramment utilisé pour les cultures cellulaires. Le sérum foetal
31 bovin doit être obtenu à partir de foetus prélevés dans des abattoirs sur des vaches saines
32 et propres à la consommation humaine ; la totalité de l'utérus devra être retirée et le
33 sang foetal sera recueilli à l'intérieur d'un espace ou d'une zone spéciale par ponction
34 cardiaque dans un système de prélèvement fermé, dans des conditions d'asepsie.

35

36 Le sérum de veau nouveau-né est obtenu à partir de veaux âgés de moins de 20 jours et
37 le sérum de veau à partir d'animaux âgés de moins de 12 mois. Dans le cas de sérum
38 bovin issu d'un donneur, sous réserve qu'il provienne d'animaux âgés de moins de
39 36 mois, le statut négatif du troupeau donneur au regard des EST devra être bien défini
40 et documenté. Dans tous les cas, le sérum sera prélevé selon les protocoles spécifiés par
41 du personnel formé à ces procédures afin d'éviter une contamination croisée avec des
42 tissus à risque plus élevé.

43

44 En ce qui concerne le sang et les dérivés sanguins d'origine bovine, les documents
45 attestant la conformité au présent chapitre devront être fournis, en tenant compte des
46 dispositions énoncées dans les sections 3 à 5. En outre, les points suivants devront être
47 pris en considération :

1 **Traçabilité**

2 La traçabilité de l'abattoir devra être assurée pour chaque lot de sérum ou de plasma. Les
3 abattoirs devront avoir à disposition les listes existantes des élevages d'où proviennent les
4 animaux. Si le sérum est produit à partir d'animaux vivants, les documents de traçabilité
5 assurant la traçabilité des élevages devront être disponibles pour chaque lot de sérum.
6

7 **Origine géographique**

8 Bien que chez les bovins, l'infectiosité des tissus liée à l'ESB soit plus limitée que pour
9 la tremblante, le sang bovin devra provenir, par mesure de précaution, de pays classés
10 dans la catégorie A. Le sang bovin provenant de pays de catégorie B est aussi acceptable,
11 pour autant qu'il n'y ait pas de risque de contamination croisée du sang avec les matières
12 cérébrales lors de l'abattage d'animaux de plus de 21 mois⁽²⁶⁾.

13 **Méthodes d'étourdissement**

14 Si la matière est prélevée sur des animaux abattus, la méthode d'abattage utilisée est
15 importante pour garantir l'innocuité. Il a été démontré que l'étourdissement au moyen
16 d'un pistolet à tige perforante, avec ou sans jonchage, ou au moyen d'un pistolet
17 pneumatique, notamment s'il injecte de l'air, peut détruire le cerveau et disséminer de la
18 matière cérébrale dans la circulation sanguine. L'étourdissement non perforant ne peut
19 plus être considéré comme une alternative à l'étourdissement perforant dans la mesure où
20 la contamination du sang par des matières cérébrales a été prouvée⁽²⁷⁾. Le risque devrait
21 être négligeable en cas d'étourdissement par électronarcose⁽²⁸⁾, mais même cette méthode
22 n'est pas entièrement sûre puisque, si elle ne réussit pas, les animaux doivent être encore
23 assommés. Les méthodes d'étourdissement doivent donc être décrites pour le procédé de
24 prélèvement du sang bovin.
25

26 Chaque fois que le risque d'une contamination croisée du sang par des matières cérébrales
27 ne peut être évité lors des abattages de routine dans les pays à risque d'ESB contrôlé
28 (catégorie B), des mesures de sécurité telles que l'abaissement de l'âge des bovins et/ou la
29 réduction des agents infectieux pendant la fabrication doivent être appliquées.

30 **Âge**

31 Pour les pays à risque d'ESB contrôlé (catégorie B), une limite d'âge de 21 mois doit être
32 appliquée par précaution pour le sang et les dérivés sanguins d'origine bovine lorsque
33 le procédé de fabrication ne permet pas de supposer qu'il y a une réduction sensible
34 des agents des EST. Une limite d'âge de 30 mois est jugée suffisante pour les dérivés
35 sanguins lorsqu'une importante réduction des EST peut être démontrée de la façon
36 décrite ci-dessous.
37

38 **Réduction des agents des EST pendant la fabrication**

39 En ce qui concerne les dérivés sanguins, la capacité du procédé de fabrication à réduire
40 ou éliminer les agents des EST doit être estimée sur la base d'études d'investigation.
41 L'estimation peut se fonder sur des données publiques ou des données internes, lorsque la
42

43 (26) Avis du groupe scientifique sur les risques biologiques concernant l'évaluation de la limite d'âge chez les bovins pour le retrait de
44 certains matériels à risque spécifié (MRS). Question n° EFSA-Q-2004-146, adopté le 28 avril 2005

45 (27) Les tableaux de classification des tissus se fondent sur les orientations de l'OMS sur la distribution de l'infectivité tissulaire dans les
46 encéphalopathies spongiformes transmissibles (2006) (<http://www.who.int/bloodproducts/tse/WHO%20TSE%20Guidelines%20FINAL-22%20JuneupdatedNL.pdf>).

47 (28) Rapport du groupe de travail sur l'ESB de l'EFSA concernant le risque de dissémination de particules du cerveau dans le sang et la
carcasse. Question n° EFSA-Q-2003-122, adopté le 21 octobre 2004 (http://www.efsa.europa.eu/en/science/biohaz/biohaz_opinions/opinion_annexes/733.html).

1 pertinence de ces données pour le procédé de fabrication considéré peut être démontrée.
 2 Si une capacité de réduction comparable ne peut être établie, il est recommandé aux
 3 fabricants de procéder à des études d'investigation spécifiques pour le produit. Des
 4 expériences par dosage biochimique peuvent suffire si la corrélation entre le dosage
 5 et les données sur l'infectiosité peut être scientifiquement prouvée. Des orientations
 6 générales pour la réalisation d'études d'investigation sur la réduction des agents des EST
 7 ont été élaborées⁽²⁹⁾. Il convient d'utiliser des préparations à base de matière cérébrale
 8 contaminée intentionnellement pour la réalisation d'études sur les risques liés au sang
 9 contaminé par des matières cérébrales.

10 6-4. DÉRIVÉS DU SUIF

11 Le suif est de la graisse obtenue à partir de tissus incluant les zones sous-cutanées,
 12 abdominales et intermusculaires ainsi que les os. Le suif utilisé comme matière première
 13 dans la fabrication de dérivés du suif doit être issu de matières de catégorie 3 telles que
 14 définies dans le règlement (CE) n° 1774/2002 du Parlement européen et du Conseil du
 15 3 octobre 2002 établissant des règles sanitaires applicables aux sous-produits animaux
 16 non destinés à la consommation humaine, ou de matières équivalentes.
 17

18 Les dérivés du suif, comme le glycérol et les acides gras qui sont fabriqués à partir du suif
 19 selon des procédés rigoureux ont fait l'objet d'un examen spécifique de la part du CMUH
 20 et du CMUV et leur infectiosité est jugée peu probable. Pour cette raison, ces matières
 21 fabriquées dans des conditions au moins aussi rigoureuses que celles mentionnées
 22

23 Table 5.2.8-1. – *Principes à appliquer pour l'acceptation de sang/sérums et produits dérivés d'origine*
 24 *bovine*

25 Produit	Sérum foetal bovin	Sérum de veau donneur	Sérum de bovin adulte donneur	Sérum de veau	Sérum / plasma de bovin adulte	Sérum / plasma / dérivé du sérum de bovins adultes	Dérivé du sérum de bovins adultes	Dérivé du sérum de bovins adultes
26 Origine géographique du bovin	Cat. A et B	Cat. A et B	Cat. A et B ¹	Cat. A et B	Cat. A	Cat. B	Cat. A	Cat. B
27 Âge du bovin	Non arrivé à terme	< 1 an	< 36 mois	< 1 an	Pas de limite	< 21 mois ²	Pas de limite	< 30 mois
28 Abattage/Contamination croisée du sang avec les matières du SNC	Pas de risque de contamination croisée			Risque de contamination croisée				
29 Démonstration de la réduction des prions au cours de la fabrication	Non			Non				Oui ³

30 1. Les bovins provenant de pays de catégorie B doivent être issus de troupeaux bien définis et établis.

31 2. Un âge supérieur peut être admis si la contamination croisée du sang avec les matières du SNC peut être clairement exclue
 32 (par exemple, abattage halal).

33 3. La démonstration de la réduction de prions peut ne pas être exigée si la contamination croisée du sang avec les matières du
 34 SNC peut être clairement exclue (par exemple, abattage halal).

35 (29) Orientations pour l'examen des procédés de fabrication des médicaments dérivés du plasma au regard du risque de vMCJ CPMP/
 36 BWP/5136/03.

1 ci-après doivent être considérées comme conformes au présent chapitre, quelle que soit
2 leur origine géographique ou la nature des tissus dont proviennent les dérivés du suif.
3 Des exemples de procédés rigoureux sont :

- 4
- 5 – la transestérification ou l'hydrolyse sous pression, à une température minimale de
6 200 °C pendant au moins 20 min (pour la production de glycérol, d'acides gras et
7 d'esters d'acides gras),
- 8 – la saponification par NaOH 12 M (pour la production de glycérol et de savon) :
- 9
- 10 – dans un processus discontinu : à une température minimale de 95 °C pendant au
11 moins 3 h,
- 12
- 13 – dans un processus continu : à une température minimale de 140 °C, sous pression
14 et pendant au moins 8 min, ou des conditions équivalentes,
- 15
- 16 – la distillation à 200 °C.

17 Il est peu probable que les dérivés du suif fabriqués dans ces conditions présentent un
18 risque d'EST. Ils doivent donc être considérés comme conformes au présent chapitre.

19 Si les dérivés du suif sont produits dans d'autres conditions, la conformité au présent
20 chapitre doit être démontrée.
21

22 6-5. *NOIR ANIMAL*

23 Le noir animal est préparé par carbonisation de tissus animaux, comme les os, à des
24 températures supérieures à 800 °C. Sauf justification contraire, la matière première
25 entrant dans la fabrication de noir animal devra être une matière de catégorie 3, telle que
26 définie dans le règlement (CE) n° 1774/2002 du Parlement européen et du Conseil du
27 3 octobre 2002 établissant les règles sanitaires applicables aux sous-produits animaux
28 non destinés à la consommation humaine, ou une matière équivalente. Aux fins de la
29 conformité réglementaire, le noir animal sera considéré comme conforme au présent
30 chapitre, quelle que soit l'origine géographique ou la nature du tissu.
31

32 Il est peu probable que le noir animal fabriqué dans ces conditions présente un risque
33 d'EST. Il doit donc être considéré comme conforme au présent chapitre. Si le noir animal
34 est produit dans d'autres conditions, la conformité au présent chapitre doit être démontrée. |

35 6-6. *LAIT ET DÉRIVÉS DU LAIT*

36 A la lumière des connaissances scientifiques actuelles, le lait de vache ne présente |
37 probablement aucun risque de contamination par les agents des EST, quelle que soit son
38 origine géographique⁽³⁰⁾.
39

40 Certaines matières, dont le lactose, sont extraites du lactosérum, liquide issu de la
41 coagulation du lait pour la production de fromage. La coagulation peut impliquer
42 l'utilisation de présure de veau, un extrait de la caillette de veau, ou de présure dérivée
43 d'autres ruminants. Le CMUH et le CMUV ont effectué une estimation du risque associé |
44 au lactose et à d'autres dérivés du lactosérum produits en utilisant de la présure de veau
45 et en ont conclu que le risque d'EST était négligeable si la présure de veau était produite
46

47 (30) Pour le lait et les dérivés du lait provenant de petits ruminants, veuillez consulter l'avis de l'EFSA sur la question no EFSA-Q-2008-310, adopté le 22 octobre 2008 (<http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/scdoc/849.htm>).

1 selon le procédé décrit dans le rapport d'estimation du risque⁽³¹⁾. Cette conclusion a été
2 avalisée par le CSD⁽³²⁾, qui a également effectué une estimation du risque d'EST associé à
3 la présure en général⁽³³⁾.

4 Il est peu probable que les dérivés du lait de vache fabriqués dans les conditions spécifiées
5 ci-après présentent un risque d'EST. Ils doivent donc être considérés comme conformes
6 au présent chapitre :

- 7 – le lait est prélevé sur des animaux sains dans les mêmes conditions que celui collecté
8 pour la consommation humaine, et
- 9 – aucune autre matière issue de ruminants, à l'exception de la présure de veau, n'est
10 utilisée dans la préparation de ces dérivés (hydrolysats pancréatiques de caséine, par
11 exemple).

12 La conformité au présent chapitre des dérivés du lait obtenus selon d'autres procédés ou
13 avec de la présure provenant d'autres espèces de ruminants devra être démontrée.

14 6-7. *DÉRIVÉS DE LA LAINE*

15 Les dérivés de la laine et des poils de ruminants, comme la lanoline et les alcools de laine
16 issus de poils sont considérés comme conformes au présent chapitre, à condition que la
17 laine ou les poils soient prélevés sur des animaux vivants.

18 Il est peu probable que les dérivés de la laine produits à partir de la laine prélevée sur des
19 animaux déclarés « propres à la consommation humaine », et dont le procédé de fabrication
20 (pH, température et durée du traitement) satisfait au moins à l'une des conditions de
21 traitement fixées, énoncées ci-dessous, présentent un risque d'EST. Ils doivent donc être
22 considérés comme conformes au présent chapitre.

- 23 – Traitement à pH \geq 13 (initial ; correspondant à une concentration en NaOH d'au moins
24 0,1 M), à une température de 60 °C pendant au moins 1 h, effectué normalement
25 durant la phase de reflux du traitement alcalin organique.
- 26 – Distillation moléculaire à une température \geq 220 °C sous pression réduite.

27 La conformité au présent chapitre des dérivés de la laine produits dans d'autres conditions
28 doit être démontrée.

29 6-8. *ACIDES AMINÉS*

30 Les acides aminés peuvent être obtenus par hydrolyse de matières provenant de sources
31 variées.

32 Sauf justification contraire, la matière première dans la fabrication d'acides aminés devra
33 être une matière de catégorie 3, telle que définie dans le règlement (CE) n° 1774/2002
34 du Parlement européen et du Conseil du 3 octobre 2002 établissant des règles sanitaires
35 applicables aux sous-produits animaux non destinés à la consommation humaine, ou
36 une matière équivalente.

37 (31) Le comité des médicaments à usage humain et son groupe de travail biologie ont effectué une estimation du risque et une
38 évaluation réglementaire concernant le lactose préparé à l'aide de présure de veau. L'estimation du risque a tenu compte de la
39 provenance des animaux, de l'excision des abomasums et de l'existence de procédures d'assurance qualité bien définies. La qualité de
40 tout substitut de lait utilisé pour nourrir les animaux à partir desquels sont obtenus les abomasums est particulièrement importante. Le
41 rapport est disponible à l'adresse suivante : <http://www.ema.europa.eu/pdfs/human/press/pus/057102.pdf>.

42 (32) Déclaration provisoire sur l'innocuité de la présure dérivée du veau pour la fabrication de lactose. Adoptée par le CSD lors de sa
43 réunion des 4 et 5 avril 2002 (http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out255_en.pdf).

44 (33) Le CSD a émis un avis sur l'innocuité de la présure animale vis-à-vis des risques d'EST animales et d'ESB en particulier, adopté
45 lors de sa réunion du 16 mai 2002 (http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out265_en.pdf).

1 Il est peu probable que les acides aminés préparés dans les conditions de traitement
2 suivantes, présentent un risque quelconque d'EST. Ils doivent donc être considérés comme
3 conformes au présent chapitre.

4
5 – Les acides aminés produits à partir de cuirs et de peaux sont obtenus selon un procédé
6 impliquant une exposition de la matière à un pH de 1 à 2, puis à un pH supérieur à 11,
7 suivie d'un traitement thermique à une température de 140 °C pendant 30 min sous
8 une pression de 3 bars.

9 – Les acides aminés ou peptides obtenus doivent être filtrés après production, et

10
11 – Une analyse est effectuée à l'aide d'une méthode sensible et validée pour contrôler
12 l'absence de toute macromolécule intacte résiduelle, avec une limite fixée appropriée.

13 La conformité au présent chapitre des acides aminés préparés dans d'autres conditions
14 doit être démontrée.

15 6.9. PEPTONES

16 Les peptones sont le produit d'une hydrolyse partielle de protéines obtenue par l'action
17 d'enzymes ou d'acides. Elles sont utilisées dans les milieux de culture microbologique afin
18 de subvenir aux besoins nutritionnels de micro-organismes pouvant être utilisés comme
19 stocks de semences ou dans les fermentations à échelle industrielle pour la production de
20 médicaments à usage humain et vétérinaire, y compris les vaccins.

21 L'utilisation de protéines végétales pour remplacer les protéines d'origine animale suscite
22 un grand intérêt. Toutefois :

23
24 – lorsque la matière source de protéines utilisée est la gélatine, se référer à la section 6.2
25 « Gélatines » du présent chapitre,

26
27 – lorsque la matière source de protéines utilisée est la caséine, se référer à la section 6.6 «
28 Lait et dérivés du lait » du présent chapitre,

29
30 – lorsque la matière source de protéines utilisées est un tissu d'une espèce animale
31 concernée par les EST, le tissu doit provenir d'animaux propres à la consommation
32 humaine (voir section 3.2 « Animaux sources » du présent chapitre) âgés de 30 mois
33 au maximum en ce qui concerne les bovins provenant de pays à risque d'ESB contrôlé
34 (catégorie B). L'âge est pratiquement sans intérêt pour les animaux provenant de pays
35 à risque d'ESB négligeable (catégorie A).

36 37 38 Annexe : catégories majeures d'infectiosité

39 Les tableaux ci-dessous sont repris des Orientations de l'OMS sur la distribution tissulaire
40 de l'infectiosité dans les encéphalopathies spongiformes transmissibles (2010).

41 Les données ont été saisies de la façon suivante :

42		
43		
44	+	= Présence d'infectiosité ou de PrP ^{EST}
45	-	= Absence d'infectiosité ou de PrP ^{EST} décelable
46	NT	= Non testé
47	NA	= Non applicable

1	?	=	Interprétation incertaine				
2	()	=	Données limitées ou préliminaires				
3	[]	=	Données relatives à l'infectiosité ou à la PrP ^{EST} basées exclusivement sur				
4			des biodosages effectués sur des souris transgéniques (Tg) surexprimant le				
5			gène codant pour la PrP ou sur des méthodes d'amplification de la PrP ^{EST}				
6							
7			Catégorie IA : tissus à infectiosité élevée				
8			Bovins		Moutons et chèvres		Cerfs et élans
9			ESB		Tremblante		Maladie du
10							dépérissement
11	Tissu						chronique
12			Infectiosité¹	PrP^{EST}	Infectiosité¹	PrP^{EST}	Infectio-
13							sité¹
14	Cerveau		+	+	+	+	+
15	Moelle épinière		+	+	+	+	NT
16	Rétine		+	NT	NT	+	NT
17	Nerf optique ²		+	NT	NT	+	NT
18	Ganglions rachidiens		+	+	+	+	NT
19	Ganglions trigéminés		+	+	NT	+	NT
20	Hypophyse ³		-	NT	+	+	NT
21	Dure-mère ³		NT	NT	NT	NT	NT
22			Catégorie IB : tissus à faible infectiosité				
23			Bovins		Moutons et chèvres		Cerfs et élans
24	Tissu		ESB		Tremblante		Maladie du
25							dépérissement
26							chronique
27			Infectiosité¹	PrP^{EST}	Infectiosité¹	PrP^{EST}	Infectio-
28							sité¹
29			Système nerveux périphérique				
30	Nerfs périphériques		[+]	+	+	+	NT
31	Ganglions autonomiques ⁴		NT	+	NT	+	NT
32			Tissus lymphoréticulaires				
33	Rate		-	-	+	+	NT
34	Ganglions lymphatiques		-	-	+	+	NT
35	Amygdales		+	-	+	+	NT
36	Membrane nictitante		+	-	[+]	+	NT
37	Thymus		-	NT	+	+	NT
38			Tube digestif⁵				
39	Oesophage		-	NT	[+]	+	NT
40	Pré-estomac ⁶ (ruminants		-	NT	[+]	+	NT
41	uniquement)						
42	Estomac/abomasum		-	NT	[+]	+	NT
43	Duodénum		-	-	[+]	+	NT
44	Jéjunum ⁷		-	+	[+]	+	NT
45	Iléon ⁷		+	+	+	+	NT
46	Appendice		NA	NA	NA	NA	NA
47							

	Tissu	Bovins		Moutons et chèvres		Cerfs et élans	
		ESB		Tremblante		Maladie du dépérissement chronique	
		Infectiosité ¹	PrP ^{EST}	Infectiosité ¹	PrP ^{EST}	Infectio- sité ¹	PrP ^{EST}
7	Côlon/Caecum ⁷	-	-	+	+	NT	+
8	Rectum	NT	NT	NT	+	NT	+
9		Tissus reproductifs					
10	Placenta ⁸	-	NT	+	+	NT	-
11	Ovaires ³	-	NT	-	-	NT	-
12	Utérus ³	-	NT	-	-	NT	-
13		Autres tissus					
14	Glande mammaire/Pis ⁹	-	NT	-	+	NT	NT
15	Peau ^{3, 10}	-	NT	-	+	[+]	[+]
16	Tissu adipeux	-	NT	NT	NT	[+]	NT
17	Coeur/Péricarde	-	NT	-	NT	NT	+
18	Poumon	-	NT	-	-	NT	+
19	Foie ³	-	NT	+	-	NT	-
20	Reins ^{3, 11}	-	-	[+]	+	NT	+
21	Glande surrénale	[+]	+	+	-	NT	+
22	Pancréas ³	-	NT	+	NT	NT	+
23	Moelle osseuse ¹²	(+)	NT	+	NT	NT	-
24	Muscle squelettique ¹³	[+]	NT	[+]	+	[+]	-
25	Langue ¹⁴	-	NT	[+]	+	NT	-
26	Vaisseaux sanguins	-	NT	NT	+	NT	-
27	Muqueuse olfactive ¹⁵	-	NT	+	+	NT	+
28	Glande salivaire	-	NT	+	NT	-	-
29	Cornée ¹⁶	NT	NT	NT	NT	NT	NT
30		Liquides corporels, sécrétions et excréctions					
31	LCR	-	NT	+	-	NT	NT
32	Sang ¹⁷	-	?	+	?	+	?
33	Salive	NT	NT	-	NT	+	[-]
34	Lait ¹⁸	-	-	+	[+]	NT	NT
35	Urine ¹⁹	-	NT	-	-	- [+]	[+]
36	Fèces ¹⁹	-	NT	-	NT	- [+]	NT
37		Catégorie IC : tissus sans infectiosité décelable					
38		Catégorie IC : tissus sans infectiosité décelable					
39		Catégorie IC : tissus sans infectiosité décelable					
40		Catégorie IC : tissus sans infectiosité décelable					
41		Catégorie IC : tissus sans infectiosité décelable					
42		Catégorie IC : tissus sans infectiosité décelable					
43		Catégorie IC : tissus sans infectiosité décelable					
44		Catégorie IC : tissus sans infectiosité décelable					
45		Catégorie IC : tissus sans infectiosité décelable					
46		Catégorie IC : tissus sans infectiosité décelable					
47		Catégorie IC : tissus sans infectiosité décelable					

1	Testicule	-	NT	-	-	NT	-
2	Prostate/Epididyme/	-	NT	-	-	NT	-
3	Vésicule séminale						
4	Sperme	-	NT	-	-	NT	NT
5	Liquides placentaires	-	NT	NT	NT	NT	NT
6	Foetus ²⁰	-	NT	-	-	NT	(-)
7	Embryon ²⁰	-	NT	?	NT	NT	NT
9	Tissus musculo-squelettiques						
10	Os	-	NT	NT	NT	NT	NT
11	Tendon	-	NT	NT	NT	NT	NT
12	Autres tissus						
13	Tissu gingival	NT	NT	NT	NT	NT	NT
14	Pulpe dentaire	NT	NT	NT	NT	NT	NT
15	Trachée	-	NT	NT	NT	NT	-
16	Glande thyroïde	NT	NT	-	NT	NT	-
17	Liquides corporels, sécrétions et excréctions						
18	Colostrum ²¹	(-)	-	(?)	NT	NT	NT
19	Sang de cordon ²¹	-	NT	NT	NT	NT	NT
20	Sueur	NT	NT	NT	NT	NT	NT
21	Larmes	NT	NT	NT	NT	NT	NT
22	Mucus nasal	NT	NT	NT	NT	NT	NT
23	Bile	NT	NT	NT	NT	NT	NT

25 (1) Des biodosages de l'infectiosité de tissus humains ont été effectués soit sur des primates, soit sur des souris (ou sur les deux) ; des
 26 biodosages de l'infectiosité de tissus bovins ont été effectués soit sur des bovins, soit sur des souris (ou sur les deux) ; et la plupart
 27 des biodosages de l'infectiosité de tissus de moutons et/ou de chèvres n'ont été effectués que sur des souris. En ce qui concerne
 28 les moutons et les chèvres, les résultats ne correspondent pas toujours pour les deux espèces ; par exemple, deux chèvres (mais
 29 aucun mouton) ont contracté naturellement l'ESB [Eurosurveillance, 2005, Jeffrey *et al.*, 2006]. De même, la plupart des résultats
 30 décrits pour la maladie du dépérissement chronique provenaient d'études menées sur les cerfs, et des résultats différents pourraient
 être obtenus sur les élans et les autres cervidés.

31 (2) Dans des modèles expérimentaux d'EST, il a été démontré que le nerf optique était une voie d'invasion neurologique et qu'il
 32 présentait un titre infectieux élevé.

33 (3) Aucune donnée expérimentale n'a été rapportée en ce qui concerne l'infectiosité de l'hypophyse ou de la dure-mère chez les êtres
 34 humains, quelle que soit la forme d'EST dont ils étaient atteints, mais de la dure-mère de cadavre lyophilisée, et des hormones de
 35 croissances dérivées d'hypophysés de cadavres ont transmis la maladie à des centaines de personnes ; l'hypophyse et la dure-mère
 36 doivent donc figurer dans la catégorie des tissus à risque élevé. La PrP^{EST} a été détectée par immunoblot dans la dure-mère d'un
 37 patient atteint de la vMCJ, décédé aux États-Unis après une période d'incubation exceptionnellement longue (voir aussi le tableau IB
 38 pour les autres tissus positifs : peau, rein, foie, pancréas, ovaire et utérus) [Notari *et al.*, 2010]. Il y a lieu de mentionner que des
 études antérieures portant sur un grand nombre de cas examinés au Royaume-Uni avaient conclu au statut négatif de tous ces
 tissus [Ironsides *et al.*, 2002 ; Head *et al.*, 2004].

39 (4) Chez les bovins, une présence non homogène de PrP^{EST} a été signalée dans le plexus entérique à l'intérieur de l'iléon distal,
 40 mais l'examen immunohistochimique de tissus prélevés sur un seul animal atteint d'ESB trouvé mort au Japon a donné à penser
 41 (quoique de manière équivoque) que les plexus myentériques étaient concernés dans l'ensemble de l'intestin grêle et du gros intestin
 42 [Kimura et Haritani, 2008].

43 (5) Dans la vMCJ, la PrP^{EST} n'apparaît que dans les tissus nerveux et lymphoïdes associés aux boyaux (la muqueuse, les muscles
 44 et le péritoine sont négatifs).

45 (6) Le pré-estomac des ruminants (réticulum, rumen et omasum) est de consommation courante, tout comme le véritable estomac
 46 (abomasum). L'abomasum des bovins (et parfois des ovins) constitue également une source de présure.

47

- 1 (7) Lorsqu'une dose élevée d'ESB a été administrée par voie orale pour infecter expérimentalement des bovins, l'infectiosité
2 a été détectée à la jonction du jéjunum et du cæcum iléique chez des souris transgéniques surexprimant la PrP [avec l'aimable
3 autorisation du Dr. M Groschup]. La PrP^{EST} a été détectée avec une faible incidence dans le tissu lymphoïde de l'iléon [Terry *et al.*,
4 2003] et avec une fréquence encore moindre dans le tissu lymphoïde du jéjunum chez des bovins infectés de manière similaire
5 par voie orale [EFSA, 2009].
- 6 (8) Un seul cas signalé de transmission de la MCJ sporadique à partir du placenta humain n'a jamais été confirmé et est considéré
7 comme improbable.
- 8 (9) La PrP^{EST} a été détectée chez des moutons infectés par la tremblante, qui souffraient de mastite chronique, mais pas chez les
9 moutons infectés qui n'avaient pas développé de mastite [Ligios *et al.*, 2005].
- 10 (10) En ce qui concerne la peau, des études menées sur des hamsters infectés oralement par la tremblante ont révélé que la PrP^{EST} se
11 déposait principalement dans les petites fibres nerveuses. En outre, la présence de PrP^{EST} et d'infectiosité a été signalée dans le duvet
12 apical des andouillers de cerfs atteints de la maladie du dépérissement chronique [Angers *et al.*, 2009].
- 13 (11) La PrP^{EST} a été détectée par examen immunocytochimique dans le bassin rénal de moutons atteints de tremblante [Siso
14 *et al.*, 2006], ainsi que dans les follicules lymphoïdes du tissu conjonctif adjacent au bassin rénal chez des cerfs muets infectés
15 par la maladie du dépérissement chronique [Fox *et al.*, 2006].
- 16 (12) Une seule moelle trouvée positive lors de plusieurs tentatives de transmission à partir de bovins contaminés après inoculation
17 orale de cerveau infecté par l'ESB [Wells *et al.*, 1999 ; Wells *et al.*, 2005 ; Sohn *et al.*, 2009].
- 18 (13) L'inoculation d'homogénats de muscle n'a transmis la maladie ni à des primates à partir de muscles d'humains atteints de MCJ
19 sporadique, ni à des bovins à partir de muscles de bovins atteints d'ESB. Cependant, à la suite de l'inoculation par voie intracérébrale
20 d'un homogénat de muscle semi-tendineux (comprenant des éléments nerveux et lymphatiques), prélevé sur une seule vache atteinte
21 d'ESB clinique, la maladie a été transmise à une souris transgénique surexprimant la PrP à un taux révélant des traces d'infectiosité
22 [Buschmann et Groschup, 2005]. En outre, des études récentes publiées et non publiées ont signalé la présence de PrP^{EST} dans le
23 muscle squelettique chez des modèles rongeurs d'expérimentation de tremblante et de vMCJ [Beekes *et al.*, 2005], chez des moutons
24 et des chèvres atteints de tremblante naturelle et expérimentale [Andreoletti *et al.*, 2004], chez des moutons infectés oralement par
25 l'ESB [Andreoletti, données non publiées], et chez des humains atteints de MCJ sporadique, iatrogénique et de vMCJ [Glatzel *et*
26 *al.*, 2003 ; Kovacs *et al.*, 2004 ; Peden *et al.*, 2006]. Des biososages de muscle sur des souris transgéniques exprimant la PrP des
27 cervidés ont permis d'observer la présence d'infectiosité chez les cerfs muets atteints de la maladie du dépérissement chronique
28 [Angers *et al.*, 2006], et des expériences sont en cours afin de déterminer si la PrP^{EST} détectable dans d'autres formes d'EST peut aussi
29 être associée à l'infectiosité.
- 30 (14) Le biososage d'infectiosité dans la langue s'est révélé négatif chez les bovins, mais la présence d'infectiosité dans l'amygdale
31 palatine a suscité des craintes quant à l'infectiosité possible du tissu amygdalien lingual à la base de la langue qui pourrait ne pas être
32 retiré lors de l'abattage [Wells *et al.*, 2005 ; EFSA, 2008]. La présence de PrP détectable a été relevée dans la langue chez 7 moutons
33 sur 10 atteints de tremblante naturelle [Casalone *et al.*, 2005 ; Corona *et al.*, 2006].
- 34 (15) Limité principalement aux régions impliquées dans la réception olfactive.
- 35 (16) Vu qu'un seul cas de MCJ iatrogène a pu être attribué avec certitude à une transplantation cornéenne parmi des centaines de
36 milliers de receveurs (un autre cas est considéré comme probable, et un autre encore comme possible), la cornée est classée dans la
37 catégorie des tissus à risque faible ; les essais effectués sur les autres tissus de la chambre antérieure (cristallin, humeur aqueuse,
38 iris, conjonctive) ont donné des résultats négatifs pour la vMCJ comme pour les autres EST, et aucune donnée épidémiologique n'a
39 permis de les associer à une transmission iatrogène de la maladie.
- 40
41
42
43
44
45
46
47

1 (17) À la quantité considérable de données issues d'études menées sur l'infectiosité du sang chez les modèles rongeurs
2 d'expérimentation d'ESB se sont ajoutées des études récentes qui ont mis en évidence la présence d'infectiosité dans le sang de
3 moutons atteints de tremblante naturelle et de moutons auxquels du sang de bovins contaminés par l'ESB avait été transfusé
4 [Houston *et al.*, 2008], dans celui de cerfs atteints de la maladie du dépérissement chronique naturelle [Mathiason *et al.*, 2006] et
5 (à partir d'observations épidémiologiques) dans la fraction de globules rouges (particulièrement riche en plasma et en leucocytes)
6 de quatre donneurs de sang au stade préclinique de la vMCJ [voir Brown, 2006 ; Hewitt *et al.*, 2006]. L'administration de facteur
7 VIII plasmatique a été également potentiellement impliquée dans un cas de vMCJ subclinique présente chez un patient hémophile
8 [Peden *et al.*, 2010]. La transmission de la maladie par du sang provenant d'humains atteints d'une forme quelconque d'EST classique
9 [Dorsey *et al.*, 2009], ou de bovins contaminés par l'ESB (y compris le sang foetal de veau) n'a pas été démontrée. Un certain
10 nombre de laboratoires utilisant de nouvelles méthodes extrêmement sensibles de détection de la PrP^{EST} enregistrent des succès
11 pour différentes formes d'EST animales et humaines. Cependant, certains d'entre eux ont rencontré des difficultés pour obtenir des
12 résultats reproductibles pour le plasma, et on ignore encore si les résultats positifs impliquent un potentiel de transmissibilité de la
13 maladie, en raison aussi bien de faux positifs que de "vrais" positifs dus à des concentrations de PrP^{EST} inférieures au seuil de
14 transmission. Compte tenu de ces considérations (et en l'absence, pour l'heure, d'informations sur les tests à l'aveugle effectués sur
15 des spécimens humains et animaux infectés naturellement), le groupe d'experts a estimé qu'il était encore trop tôt pour évaluer avec
16 suffisamment de certitude la validité de ces tests et formuler une conclusion positive ou négative.

15 (18) Parmi les éléments établissant l'absence d'infectiosité dans le lait provenant de bovins contaminés par l'ESB figurent les
16 observations épidémiologiques temporo-spatiales qui n'ont pas permis de déceler de transmission maternelle à des veaux allaités
17 pendant de longues périodes ; les observations cliniques sur plus de cent veaux allaités par des vaches infectées et qui n'ont pas
18 développé d'ESB ; et les observations expérimentales indiquant que l'administration intracérébrale ou orale, chez des souris, de
19 lait provenant de vaches infectées d'un âge supérieur à la période minimale d'incubation n'a pas abouti à une transmission de la
20 maladie [Middleton et Barlow, 1993 ; Taylor *et al.*, 1995]. En outre, la PrP^{EST} n'a pas été détectée dans le lait de bovins incubant
21 l'ESB à la suite d'une exposition orale expérimentale [SEAC, 2005]. Toutefois, de faibles niveaux de PrP normale (μg à ng/L) ont été
22 détectés dans le lait animal et humain [Franscini *et al.*, 2006]. La PrP^{EST} a été décelée dans les glandes mammaires de brebis atteintes
23 de tremblante qui avaient développé une mastite chronique [Lígios *et al.*, 2005], et la transmission de la maladie à des animaux
24 sains par du lait de brebis contaminées par la tremblante (et contenant dans certains cas également du colostrum) a été signalée
25 tout dernièrement [Konold *et al.*, 2008 ; Lacroux *et al.*, 2008].

24 (19) Un inoculum composé d'un mélange d'urine et de fèces provenant de cerfs atteints naturellement de la maladie du dépérissement
25 chronique n'a pas transmis la maladie à des cerfs sains auxquels avait été inoculé un génotype hétérozygote (96 G/S) PRNP, et ce
26 pendant une période d'observation de 18 mois [Mathiason *et al.*, 2006]. Toutefois, des biodosages effectués récemment sur des
27 souris transgéniques ont permis d'observer la transmission de la maladie tant à partir de l'urine [Haley *et al.*, 2009] que des fèces
28 [Tamgüney *et al.*, 2009]. En outre, chez des souris ayant développé une néphrite lymphocytaire après infection expérimentale par la
29 tremblante, la présence de PrP^{EST} et d'infectiosité a été identifiée dans l'urine par biodosage sur souris transgénique [Seeger *et al.*,
30 2005]. De très faibles niveaux d'infectiosité ont été également détectés dans l'urine (et dans les reins histologiquement normaux) de
31 hamsters infectés expérimentalement par la tremblante [Gregori et Rohwer, 2007 ; Gonzalez-Romero *et al.*, 2008]. Enfin, dans un
32 modèle hamster d'expérimentation de tremblante, les fèces gardaient le pouvoir infectieux comme observé après inoculation de la
33 maladie par voie orale à une souris transgénique surexprimant la PrP [Safar *et al.*, 2008].

32 (20) Les embryons issus de bovins infectés par l'ESB n'ont pas transmis la maladie à la souris, mais aucune mesure de l'infectiosité
33 n'a été effectuée sur les tissus foetaux de veau autres que le sang (biodosage sur souris négatif) [Fraser et Foster, 1994]. Les veaux nés
34 de vaches ayant reçu des embryons provenant de bovins atteints d'ESB ont survécu pendant des périodes d'observation pouvant aller
35 jusqu'à sept ans, et l'examen des cerveaux des mères non atteintes d'ESB et de leur progéniture n'a pas révélé d'encéphalopathie
36 spongiforme ni de PrP^{EST} [Wrathall *et al.*, 2002].

36 (21) Des cas signalés dans le passé de transmission de l'infectiosité de la MCJ sporadique à partir de sang cordonal et de colostrum
37 humain n'ont jamais été confirmés et sont jugés improbables. Un biodosage sur une souris transgénique surexprimant la PrP bovine à
38 partir de tissus d'une vache atteinte d'ESB a donné un résultat négatif [Buschmann et Groschup, 2005] ; et la PrP^{EST} n'a pas été
39 détectée dans le colostrum de vaches exposées expérimentalement par voie orale à l'ESB et incubant la maladie [SEAC, 2005].