



中华人民共和国医药行业标准

YY/T 0771.4—2015/ISO/TR 22442-4:2010

动物源医疗器械

第4部分:传播性海绵状脑病(TSE)因子的 去除和/或灭活及其过程确认分析的原则

Medical devices utilizing animal tissues and their derivatives—
Part 4: Principles for elimination and/or inactivation of transmissible spongiform
encephalopathy agents and validation assays for those processes

(ISO/TR 22442-4:2010, IDT)

2015-03-02 发布

2016-01-01 实施

国家食品药品监督管理总局 发布

中华人民共和国医药
行 业 标 准
动物源医疗器械
第4部分:传播性海绵状脑病(TSE)因子的
去除和/或灭活及其过程确认分析的原则
YY/T 0771.4—2015/ISO/TR 22442-4:2010

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)
网址 www.spc.net.cn
总编室:(010)68533533 发行中心:(010)51780238
读者服务部:(010)68523946
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 1.25 字数 30 千字
2015年6月第一版 2015年6月第一次印刷

*

书号: 155066 • 2-28750 定价 26.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107

前 言

YY/T 0771《动物源医疗器械》拟分部分出版,目前计划发布如下部分:

- 第1部分:风险管理应用;
- 第2部分:来源、收集与处置的控制;
- 第3部分:病毒和传播性海绵状脑病(TSE)因子去除与灭活的确认;
- 第4部分:传播性海绵状脑病(TSE)因子的去除和/或灭活及其过程确认分析的原则。

本部分为 YY/T 0771 的第4部分。

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本部分等同采用 ISO/TR 22442-4:2010《动物源医疗器械 第4部分:传播性海绵状脑病(TSE)因子的去除和/或灭活及其过程确认分析的原则》。本部分中规范性引用的国际文件有一致性对应关系的我国文件如下:

YY/T 0771.1—2009 动物源医疗器械 第1部分:风险管理应用(ISO 22442-1:2007,IDT)

YY/T 0771.2—2009 动物源医疗器械 第2部分:来源、收集与处置的控制(ISO 22442-2:2007,IDT)

YY/T 0771.3—2009 动物源医疗器械 第3部分:病毒和传播性海绵状脑病(TSE)因子去除和/或灭活的确认(ISO 22442-3:2007,IDT)

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本部分由国家食品药品监督管理总局提出。

本部分由全国医疗器械生物学评价标准化技术委员会(SAC/TC 248)归口。

本部分起草单位:国家食品药品监督管理局济南医疗器械质量监督检验中心。

本部分主要起草人:刘成虎、由少华、吴平。

引 言

某些医疗器械采用动物源性材料。

在医疗器械设计和制造中使用动物组织及其衍生物,以提供优于非动物源性材料的性能特征。医疗器械不同,使用的动物源性材料的种类和数量也不同。这些材料可构成器械的主要部分(如牛/猪心脏瓣膜、用于牙科或整形外科的骨替代物、止血器械),可以是产品的涂层或浸渍物(如胶原、明胶、肝素),也可用于器械制造过程中(如油酸盐和硬脂酸盐等动物脂衍生物、胎牛血清、酶、培养基)。

本文件是一份为设计和实施确认分析提供建议的技术报告,以帮助确定无活力动物组织来源的医疗器械的加工过程是否可以帮助降低传播性海绵状脑病(TSEs)的医源性传播(iatrogenic transmission)的风险。本文件将传染因子称为“TSE 因子”,而不是朊病毒,以与 ISO 22442 的其他部分保持一致。本文件给出的有关人体组织和 TSEs 的最新信息,也可类推到其他动物组织。

已经无可辩驳地证实,人类 TSE 克雅氏病(CJD)的医源性传播与外科手术中使用人硬脑膜同种异体移植物(Hannah, E.D Belay, et al.2001)和使用人类垂体提取的激素(Mills, J.L.L.B.Schonberger, et al.2001)有关,两者都是无活力组织。最近,在一名血友病患者尸检中检测出了变异型克雅氏病(vCJD)的亚临床感染并将其归因为用于该患者治疗的加工的人血浆提取的凝血因子(http://www.hpa.org.uk/webw/HPAweb&HPAwebStandard/HPAweb_C/1234859690542?p=1231252394302 和 http://www.dh.gov.uk/en/Publicationsandstatistics/Publications/PublicationsPolicyAndGuidance/DH_100357)。

另外,还有角膜移植物传播 CJD(Kennedy, Hogan et al, 2001)和一些输注浓缩红细胞传播 vCJD (Llewelyn, Hewitt et al 2004; Peden, Head et al 2004; Peden, Ritchie and Ironside 2005)的报道。

全球范围内已有超过 210 名接触牛海绵状脑病(BSE)因子的 vCJD 病例,其中大部分被认为是食用已感染的牛肉产品所致。虽然,除了已讨论的医源性 vCJD 感染,尚未识别出通过医用或兽用产品传播 BSE 因子的报道,然而,没有理由怀疑使用某一反刍动物来源的 BSE 因子感染的医疗器械可以感染易感者。事实上,已有两个从无活力绵羊组织提取的兽用疫苗向绵羊传播绵羊/山羊 TSE 痒病的报道(WHO 2006)。目前尚未见人类感染痒病因子的报道。

在传播性因子的可能分子性质[当前使用最广泛的全-蛋白或“朊病毒”理论(Prusiner 1982)]或在传染性因子的复制中不同形式的宿主编码的朊病毒蛋白的确切作用或疾病的发病机理的优先术语未达成国际共识的情况下,本部分一般采用世界卫生组织《WHO 组织感染性 TSE 分布指南》2006(WHO 2006)中推荐的术语。本部分的核心目的是在使用无活力动物组织医疗器械时,为降低偶然性传播 TSEs 风险方法的有效性确认提供策略。

下列文件是有助于正确理解本文件的标准:

- ISO 22442-1 动物源医疗器械 第 1 部分:风险管理应用;
- ISO 22442-2 动物源医疗器械 第 2 部分:来源、收集与处置的控制;
- ISO 22442-3 动物源医疗器械 第 3 部分:病毒和传播性海绵状脑病(TSE)因子去除和/或灭活的确认;
- ISO 14160 医疗保健产品的灭菌 一次性使用动物源性医疗器械用液体化学灭菌剂 灭菌过程的表征、开发、确认与常规控制要求。

这些文件中的规范性附录和资料性附录也与本文件的内容直接相关。这些文件中的所有术语适用于本文件。

由于缺乏统一的能可靠去除 TSEs 的过程步骤,使用低风险来源的动物和组织是非常重要的。

虽然还没有直接适用的从使用无活力动物组织加工的医疗器械中降低 TSE 风险的确认方法,英国

和美国监管部门已经针对预期从潜在污染 TSE 因子的人血液中去除 TSE 因子传染性的器械的确认研究的要点征求了专家建议,而这些建议也可在动物源性组织的评价方法中得到利用。这些要点包括使用已加入 TSE 的高滴度感染性染毒材料的预评价、选择与感染相关的试验性因子以及采取 PrP^{TSE} 分析进行接受性研究作为预筛选方案来摒弃不适当的方法。这些方法需在已知的易感试验动物的生物分析中表明病毒感染性显著性降低。为了鉴定某一方法是否可以使用,如果可行,需要用两个 TSE 因子生物分析组合对该方法进行分析以证实具有的相似的结果。在得出该方法具有充分的可操作性的结论之前,这些准则宜得到满足。想要证实某一方法能降低内源性感染组织 TSE 的传染性以及证实某一完整的加工过程能去除所有可检测到的传染性,虽然是所期望的,但在当前仍是不可行的。大多数神经系统以外组织中 TSE 感染性的滴度非常低,而对自然发生的 TSE 因子易感的动物又非常少,且对新种属不适用等都是方法研究的限制性因素。没有已知感染滴度的标准物质、缺乏感染 TSEs 的人类和动物的生物学特性的知识,也被认为是开发确认研究的另一障碍[WHO(2006)附录 2]。虽然认识到尝试对提高人血源性医疗产品以及其他组织源性医疗产品(已被证实有医源性传播的产品)的 TSE 安全性方法的确认非常渺茫,但必须强调不能放弃可能提高动物源医疗器械 TSE 安全性的新确认方法的努力。

如上所述,宜再次提请注意,动物组织与导致任何医源性人 TSE 感染是不直接相关的(Minor, Newham et al.2004)。然而,食物传染 BSE 和绵羊组织中提取的兽用疫苗向绵羊传播痒病的实例表明了从动物向人进行医源性 TSEs 传播的风险,理应得到持续关注。

动物源医疗器械

第4部分:传播性海绵状脑病(TSE)因子的去除和/或灭活及其过程确认分析的原则

1 范围

为帮助确定无活力动物组织来源的医疗器械的加工过程是否有助于减少传播性海绵状脑病(TSEs)的医源性传播的风险,本部分为设计和开展确认分析提供建议。

加工动物组织所使用的 TSE 去除方法也宜减少通过人源性无活力组织传播 TSE 感染的风险;本部分不涉及这一方面。一些关于人体组织和 TSEs 的当前信息可通过类推适用于其他动物组织。

本部分不预期为 ISO 22442-1:2007 的附录 C 中所列出的已识别出的具有 TSE 因子污染的“可忽略风险”的特定材料提供方法的确认要求。

本部分预期用于解释 ISO 22442 系列中最终国际标准草案以及 ISO 14160 标准。

本部分是建立在对 ISO 22442-3 中与 TSE 因子相关的特定讨论的基础之上并努力总结 TSE 因子去除领域内当前最新技术水平。随着对 TSE 因子的灭活和去除的深入理解,可行时将会对本文件进行修订。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

ISO 14160 含动物源材料的一次性使用医疗器械的灭菌 液体化学灭菌剂灭菌的确认与常规控制(Sterilization of single-use medical devices incorporating materials of animal origin—Validation and routine control of sterilization by liquid chemical sterilants)

ISO 22442-1 动物源医疗器械 第1部分:风险管理应用(Medical devices utilizing animal tissues and their derivatives—Part 1:Application of risk management)

ISO 22442-2 动物源医疗器械 第2部分:来源、收集与处置的控制(Medical devices utilizing animal tissues and their derivatives—Part 2:Controls on sourcing, collection and handling)

ISO 22442-3 动物源医疗器械 第3部分:病毒和传播性海绵状脑病(TSE)因子去除和/或灭活的确认(Medical devices utilizing animal tissues and their derivatives—Part 3:Validation of the elimination and/or inactivation of viruses and Transmissible Spongiform Encephalopathy(TSE) agents)

3 术语和定义

ISO 22442-1、ISO 22442-2、ISO 22442-3 和 ISO 14160 界定的术语和定义适用于本文件。

4 TSE 因子的去除:基本考虑

4.1 总则

4.1.1 关于 TSEs

牛的海绵状脑病(bovine spongiform encephalopathy, BSE)是目前已知的向人类传播疾病的唯一

动物源的 TSE(人畜共患传染病)。痒病,虽然有理论上的可能,但根据几百年来经验,还不被认为是人畜共患传染病。尽管如此,一些监管部门仍采取了预防政策,禁止使用从具有痒病史的羊群来源的绵羊源和山羊源的提取注射液(如,1999 年 6 月,FDA TSE 顾问委员会 03 号会议的记录,accessed 16 July 2009 at <http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/cber99.htm#Transmissible%20Spongiform>, European Union Directive from 2003 [OJ L 105, 26.4.2003 p.18, <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2003:105:0018:0023:EN:PDF>], 和日本 177 通告 <http://www.nihs.go.jp/cgtp/cgtp/guidline/03052001.pdf>)。绵羊和山羊对 BSE 因子感染的易感性已经引起另一最新的关注(WHO 2006)。虽然猪已经在试验中成功感染上 BSE 因子(Wells, Hawkins et al.2003; Castilla, Gutierrez-Adan et al.2004),但经口途径不会使它们感染上 BSE,并且未发现自然传播的猪 TSE。并且,多数监管部门通常对于猪组织不可能是人接触任何 TSE 因子的来源持有乐观态度。医疗器械的加工中基本上都不使用的其他动物(如,马)组织也是如此。(不会经口感染 TSE 因子的动物不被欧洲药品评估局(EMA)认为是“TSE 相关动物种属”;在 EMA 指南 2004 的一个注意事项中,这些动物种属的组织在用于人用或兽用医疗产品的制造时被认为是没有 TSE 风险的 <http://www.emea.europa.eu/pdfs/human/bwp/TSE%20NFG%20410-rev2.pdf>。)

4.1.2 关于动物组织

当前使用的以无活力动物组织形式制造的医疗器械的实例包括猪心脏瓣膜、牛心包和牛胶原。虽然已证实这些组织中未发现 TSE 因子(WHO 2006),但是动物组织试验在数量上是非常少的,所使用的分析方法的检测灵敏度也有差异。况且,常规屠宰中所收集的任何动物组织都有受到高风险组织污染的机会是可想而知的。需要有从动物尸体(尤其是老年动物尸体)中去除、隔离和安全处理“特定风险”材料的法规和程序来降低这一风险,但还不能完全将其去除。欧盟委员会最近已经提出《动物副产品风险均衡规则》(见欧盟法规 1069/2009),用于阐明和方便在动物源材料的选择中进行风险管理。

4.1.3 TSE 因子感染的组织

组织可以通过两种途径受到 TSE 因子的污染:

- a) 某一组织在 TSE 疾病过程中被感染,或
- b) 从已感染的组织传染递到其他组织。(例如,与神经系统、组织中的淋巴细胞或血液接触的组织)。

第二种或“外源性”TSE 因子污染可能发生在对已感染组织的收集过程中,或是从以前操作中受到 TSE 因子污染的器具或表面。对其加以区别的重要性有以下几个理由:内源性感染的组织(除在已感染的动物体内发现具有较高传染性的中枢神经系统组织外)通常含有非常少量的 TSE 因子,因此,从逻辑上难以开发出去除内源性传染源的确认方法的适用模型。外源性污染的确认方法更容易通过人为地将组织加入已知来源、生物学特征和传染性含量(用易感动物体内滴定量来定义)的 TSE 因子加以模拟。有多种可在啮齿类动物体内繁殖成高滴度的痒病因子的病毒株和一种 BSE 中派生的因子株(301V)已在对外源性感染材料的模型化中得到应用(见 ISO 22442-3:2007 的 C.1 和 ISO 22442-3:2007 的附录 D)。确认研究中模型因子的选择受到以下考虑的限制:

- a) 虽然组织中实际未被通过的 TSE 因子被认为与确认性灭活/去除研究的目的最具有“相关性”,但这一因子的传染性滴度通常是未知的并且低于那些适用于啮齿类动物的因子(Wells 2007);和
- b) BSE 因子以及啮齿类动物 BSE 因子中提取的病毒株的处置,监管部门可能会要求难以广泛获得的高防护性研究设施。通常情况下,用适用于啮齿类动物的痒病因子进行研究被认为是可接受的。切记,有报道称不同的 TSE 病毒株对灭活程序的抗性是不一致(Peretz, Supattapone et al.2006)。

5 去除 TSE 因子的潜在方法

5.1 传染性灭活方法

5.1.1 总则

多数监管部门建议,宜尽可能灭活潜在污染源材料的 TSE 因子而不是简单地将其与其他原材料分离。残留活性因子的存在可能会引起某一组织源性产品的后期机会性污染,并污染加工设施和非一次性使用器具的持续性感染危险。但不幸的是,大多数已知的能有效灭活 TSE 因子的物理和化学方法都过于苛刻通常会损害组织的功能特性。对于一次使用后不能毁坏或应与潜在污染性材料的直接接触的设施和加工器具的清洁,可靠地灭活 TSE 因子的去污染方法优先于简单去除 TSE 因子的方法。

5.1.2 灭活 TSE 传染性的物理方法

5.1.2.1 高温

当已感染痒病的啮齿类动物来源的组织悬液被迅速加热并持续性搅动时,其传染性(Rohwer 1984;Rohwer 1984)在几分钟内就能迅速降低至分析的检出限以下。但含 TSE 因子的浸渍物和干燥的制品则在长时间热处理后仍具有一定的传染性(Asher,Pomeroy et al.1986;Asher,Pomeroy et al.1987;Taylor,Fraser et al.1994)。干热灭活 TSE 因子没有湿热灭活有效(Taylor 2001)[的确,有两篇关于采用干热法对携有外科医源性 CJD 的器具灭菌后出现传播的报道(Nevin,McMenemy et al.1980;Foncin,Gaches et al.1980)]。在一系列研究中甚至发现,痒病因子在低于 600 °C 的烘箱中烧成骨灰后仍有少量的传染性(Brown,Liberski,et al.1990),而在更高的温度下才没有发现痒病因子活性(Brown,Rau et al.2004)。组织器械不可能经受使 TSE 因子灭活的热处理而不丧失其功能。

曾有人建议,为了充分去除 TSE 因子的污染,宜在 2 MPa(20 bar)的压力条件下,在透气性耐热灭菌器中蒸汽灭菌至少 13 min。这已经被证明是无效的(Taylor and McBride 1987)。WHO 的一个咨询会(World Health Organization 1999)警告这种处理不可能去除已被 TSE 污染的干性组织表面的 TSE 污染。美国 CDC 的一位顾问警示,当污染的表面未经过彻底的清洗时,许多病原体在热处理和化学处理中可以存活,所以应对重复性使用的医疗器械的关键表面进行彻底清洗(Rutala W,FDA TSE Advisory Committee,17 July 2003 accessed 16 July 2009 at <http://www.fda.gov/chrms/dockets/ac/03/slides/3969s1.htm>);但是,该顾问(Rutala 2010)又指出,外科仪器带来的医源性传播 CJD 的情况是极为罕见的(自 1980 年以来未见相关医疗文献报道),说明,现行的外科仪器的消毒和最终灭菌的标准方法对充分去除 CJD 因子以降低风险至检测不到的水平可能是有效的。

这种观察到的功效可能是清洗和湿热灭活的综合作用,并且实验室中已证明了单独使用任一种方法的潜在功效都是不够的(Bundesgesundheitsbl-Gesundheitsforsch-Gesundheitsschutz 2001,UK Department of Health 2009)。

5.1.2.2 射线

TSE 因子对紫外线和电子束灭活都具有抗灭活性(Alper,Haig et al.1966;Latarjet,Muel et al.1970;Latarjet 1979)。

5.1.3 灭活 TSE 传染性的化学方法

5.1.3.1 碱性水解处理

目前已知,NaOH 接触处理(≥ 1 N,特别是在高温条件下)在从水性悬液和表面干燥的组织

(tissues dried onto surfaces)(Taylor 2000)中去除传染性是有效的并且在实验室处理 TSE 因子中被广泛使用(Brown,Rohwer et al.1984;Baron,Safar et al.2001)。NaOH 引起的危害是众所周知的[腐蚀性,特别是加热的时候,并且与铝接触时可能会发生爆炸(<http://www.certified-lye.com/safety.html>)]。NaOH 对灭菌器的腐蚀性似乎被夸大了,其实只要不使溶液直接接触灭菌器的关键表面,这个问题就能得以解决,(Brown and Merritt 2003;Brown,Merritt et al.2005)。

明胶(gelatins)制造中广泛使用的 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 虽然辅以加热非常有效,但从染毒后的动物骨制品中去除痒病和 BSE 传染性方面,远不如 NaOH 处理有效(Grobbsen,Steele et al.2005;Grobbsen,Steele et al.2006a;Grobbsen,Steele et al.2006b)。

许多碱性配方(碱性化学物的混合物)被声称与低浓度碱溶液具有相同的灭活效率。这些不同配方的溶液的作用,取决于配方、温度和特定产品的浓度。这些处理对组织是低破坏性的,但未见有将它们的灭活效率和高浓度碱处理的灭活效率进行比较的研究。

5.1.3.2 酸处理

曾经通过接触浓缩的甲酸(Brown,Liberski et al.1990)和最近通过接触含有十二烷基硫酸钠的乙酸溶液(Peretz,Supattapone et al.2006),TSE 因子可被大部分灭活,但不能完全灭活。

5.1.3.3 卤化物和氧化剂处理

目前已知,次氯酸钠(浓度 $\geq 5\%$ 的家用氯漂白剂)从痒病污染的悬液和表面(Taylor 2000)去除 TSE 传染性是有效的并在不考虑其对金属腐蚀作用时广泛使用(Brown and Merritt 2003;Taylor 2004)。氯胺和其他卤化物的灭活效率较低(Asher 1986)。液体过氧化氢在去除 TSE 因子污染方面也缺乏实用性(Taylor 2004),尽管在低温气体状态下可能会更有效(Langeveld,Wang et al.2003;Fichet,Comoy et al.2004;Yakovleva,Janiak et al.2004;Yan,Stitz et al.2004;Fichet,Antloga et al.2007)。

5.1.3.4 酚类消毒剂处理

有报道称一种有专利权的酚消毒剂可将已污染的悬液中的痒病传染性去除至检出限水平(Ernst and Race 1993;Race and Raymond 2004)。只用酚处理不能去除传染性(Asher,Gibbs et al.1986)。

5.1.3.5 蛋白酶处理

广泛接受的朊病毒理论促成了对几种蛋白酶处理对 TSE 因子的传染性作用的研究,各研究结果不同(Langeveld,Wang et al.2003;Fichet,Comoy et al.2004;Yakovleva,Janiak et al.2004;Yan,Stitz et al.2004;Jackson,McKintosh et al.2005)。如前所述,彻底清洗在去除表面的传染性中无疑是重要的(Rutala and Weber 2004;),蛋白酶处理可能有利于彻底清洗过程。蛋白酶是否还能通过裂解朊蛋白而对 TSE 因子灭活具有特定作用还不太清楚。

5.1.3.6 胍类和其他离液的化学处理

已发现,用胍类(Manuelidis 1997)和其他离液化学物(Prusiner,Groth et al.1993)可降低传染性。一些报道表明,当离液化学物去除后明显的灭活是可逆的(Prusiner,Groth et al.1993;McKenzie,Bartz et al.1998)。

5.1.3.7 综合处理

有限的经验认为,用不同化学方法与物理方法相结合,对 TSE-灭活可能比单独用一种方法处理更有效(Fichet,Comoy et al.2004)。潜在有效的综合处理的实例有 NaOH 并伴随加热(Taguchi,Tamai et al.1991)、中性洗涤剂中煮沸处理(Taylor 2004)以及洗涤溶液中加入乙酸处理(Peretz,Supattapone et

al.2006)。通过使用加盖的容器来使 NaOH 与灭菌器内表面隔离,可以减少其对灭菌器的潜在损害(Brown and Merritt 2003;Brown,Merritt et al.2005)。

5.1.3.8 已研究过的无活力组织源性医疗器械中去除 TSE 因子的潜在过程

我们尚不清楚 TSE 因子的实验性确认在降低染毒后传染性方面是否与降低组织来源的医疗器械中所用的任何方法相似。只知道一项使用 NaOH 从仓鼠硬脑膜去除痒病因子的研究(Diringer and Braig 1989)和一项在用痒病因子实验性染毒的肉类产品经高温和高压后还保持其美味的研究(Brown, Meyer et al.2003);这两项处理(导致传染性实质性降低的同时)都没能将染毒后的痒病传染性降低到检出限以下水平。

注:当前,医学文献中报道的用于无活力人组织来源器械的灭菌的方法有很多种[包括有/无辐射防护剂的 γ 射线和不同的化学清洗剂和消毒剂,其中包括清洁剂、过氧化氢、酒精、酸化液(McAllister, Joyce et al.2007)和 NaOH 处理(Hannah, Belay et al.2001)];这些程序中至少有一些似乎损害了器械的功能特性(McAllister, Joyce et al.2007)。某些方法已被声称能大幅降低添加菌株(FDA 推荐的外科植入性人体细胞、组织和组织源性产品的无菌保证水平[SAL]为 10^{-3} ,能承受灭菌过程的植入性医疗器械的 SAL 为 10^{-6})。

5.1.3.9 无效处理

尚未发现环氧乙烷气体、酒精、含汞消毒剂和其他一些通常用于表面消毒和灭菌的处理方法对 TSE 因子的去除有作用;这些处理方法的研究已受到了限制(Asher 1986)。乙醛不仅无法灭活 TSE 因子,而且还会稳定 TSE 因子的传染性(Taylor and McBride 1987;Brown, Liberski et al.1990)。英国政府公布的文件中列出了更多无效的处理方法(DoH ACDP TSE WG-annex C)。

5.2 去除 TSE 传染性而不是将其灭活的方法

虽然如色谱法、沉淀、过滤和将各部分分开的物理方法能降低复杂的生物混合物(如血液及其成分以及血浆和血浆成分(Foster 2004))中 TSE 传染性的总量,但不太可能用于从完整的无活力组织中选择性去除 TSE 传染性。

6 从使用无活力动物组织的医疗器械中去除 TSE 因子方法的实验性确认

6.1 总则

虽然已经有少量降低(如果不能去除)人类无活力组织中外源性污染 TSE 因子的研究,但几乎未见直接从动物源组织中去除 TSE 因子污染的研究。正如 ISO 22442 系列标准中所述,更适宜降低风险的方法是仔细选择低风险来源的动物和组织以及良好的加工过程(GMPs)以降低外源性污染神经组织和在较小程度上污染淋巴组织以及肠组织的机会(McAllister and Joyce 2007)。

6.2 为设计 TSE 过程的确认研究对产品家族给出定义

美国医疗仪器促进协会 AAMI TIR37:2007 第 4 章对产品家族给出的定义宜适用于本文件。这些定义用于评价从使用无活力动物组织的医疗器械中消除/去除 TSE 因子确认分析。试验性确认所选择的产品宜尽可能与所关注的制造产品相近,并被一名或多名专家顾问认定为是一个产品家族中的可接受的真实代表(AAMI TIR37:2007 中 4.2.3~4.3.4 所定义的主产品、等同产品或模拟产品)。

6.3 为确立和验证 TSE 因子的感染剂量进行的产品选择和试验

AAMI TIR37:2007 的第 5 章中关于从使用无活力动物组织的医疗器械中消除/去除 TSE 因子确认分析的评价所描述的内容宜适用于本文件。这些内容包括试验产品抽样条件属性的考虑、样品份额、

多批次考虑,以及试验产品浸提液的分析(直接对整个动物样品进行分析不可行时)等。宜注意的是,无论是用抗 PrP^{TSE}-蛋白酶的初步免疫分析还是(尤其是)随后在动物体内的生物学分析,相对于细菌和真菌的培养,TSE 因子分析的技术难点更高、更耗时(生物分析需要几个月或几年时间)和更昂贵,这应在选择重复性试验的数量时予以考虑。

6.4 TSE 因子染毒材料

少量但越来越多的证据表明,虽然所有 TSE 因子都具有大部分共同的生物学特性和物理特性,包括对各种灭活处理具有罕见的抵抗力,但各病毒株之间的抵抗力还是有显著差异的(Taylor 2000)(Peretz,Supattapone et al.2006)。这似乎说明在研究中要选择一个感染上一株对灭活程序具有较高抵抗力而不是较低抗力的 TSE 因子的组织,前提是该染毒材料与制造过程具有相关性。虽然用最坏情况不切实际地代表制造情况可能会有争议,但是各种确认模型都通常要求用含有高浓度 TSE 因子(通常指的是已感染的脑组织悬液、片段或浸渍物)的组织作为染毒材料。必须认识到,这些材料大部分是用已感染上与该啮齿类动物相应病毒株的 TSE 因子(特别是痒病因子)的啮齿类动物的脑组织制备而成,这些组织可能在病毒因子的数量或生物学特性和物理特性或基质(组织的来源)的某些特性上都不能与自然感染的组织完全相似。但是,通常情况下,因为以下几种原因,除了用啮齿类动物相应的 TSE 因子病毒株对啮齿类动物大脑染毒之外,其他从原材料中去除 TSE 因子的确认过程都还不可行。

- a) 天然感染组织中 TSE 因子的滴度通常是未知的,可获得的啮齿类动物对野生型分离(field isolates)(非常少见)TSE 因子感染的易感性也是未知的。其他组织中 PrP^{TSE}(通常检测不到)的滴度和传染性都低于脑组织。
- b) 从天然感染动物的组织中制备的经过充分表征的标准对照材料还不能广泛获得。
- c) 除了少数研究实验室以外,通常无法获得与野生型分离的 TSE 因子具有一致易感性的转基因小鼠[或其他啮齿类动物一如,欧洲银行田鼠(Nonno,Di Bari et al.2006)]。

6.5 生物分析动物的可获得性(普通小鼠和转基因小鼠、其他啮齿类动物、农场动物)

适合于 TSE 因子(通常来源于绵羊痒病的病毒株但最近也可以从 BSE 获得)的啮齿类动物已经在调查各种实验性染毒的原材料或中间体中的传染性去除方法的初步研究之中得到应用。痒病因子适宜于仓鼠的 263 K 病毒株(Nazor 2005)和与金黄色地鼠分析中相似的病毒株(Peretz,Scott et al.2001)是非常有用的。在普通小鼠体内分析中适宜于 BSE 因子病毒株的 301V 小鼠可能更能预视牛组织中 BSE 因子的行为(Grobbsen,Steele et al.2005)。

通过基因工程技术繁育的表达朊蛋白基因(PRNP)中其他种属的氨基酸序列的转基因小鼠在有些情况下可能是有用的但也会引起许多问题。

- a) 过表达朊病毒蛋白质的小鼠在试验以后会患有组织病理学上与 TSEs 相似的非传播性神经系统疾病,有时会干扰传染性分析的解释(Nazor,Seward,et al.2007)。
- b) 当前,多数品系的 PRNP-转基因小鼠只能通过从开发者处馈赠的途径获得。

与某些普通品系小鼠相比,虽然某些品系可能会具有更高的敏感性,但表达牛 PRNP 氨基酸序列小鼠的优越性至今尚未得到严格证实(人源性 TSE 因子很少向普通小鼠传播疾病,并且因为使用非人灵长类进行分析已经变得越来越不可能,所以表达人 PRNP 氨基酸序列的转基因鼠似乎为传染性的分析提供了最实际的手段)。如上所述,欧洲银行田鼠对许多 TSE 因子具有高易感性(Cartoni,Schinina et al.2005;Nonno,Di Bari et al.2006;World Health Organization 2006;Cartoni,Schinina et al.2007),但是,它们比小鼠对 BSE 因子和新发现的痒病因子的 Nor98 病毒株显示出相对较低的敏感性,并且在任何情况下,群居的田鼠都无法广泛获得。

用相同种属的易感动物中分析出自然感染的动物来源的材料进行去除动物源 TSE 因子的传染性方法的研究是否最为适宜可能还存在争议;虽然已在小牛犊中(World Health Organization 2006;

Masujin, Matthews et al. 2007) 和痒病在绵羊中对 BSE 致病性分析开展了少量的调查 (Hadlow, Race et al. 1979; Hunter, Foster et al. 2002; Hunter and Houston 2002; Hunter 2003), 但是在大型动物中研究 TSE 传染性的去除通常是不现实的。

6.6 细胞培养法分析传染性的发展潜力

几种细胞系已被报道描述可支持所选择的 TSE 因子的繁殖 (Klohn, Stoltze et al. 2003; Kocisko, Morrey et al. 2004; Kocisko, Engel et al. 2005; World Health Organization 2006; Liu, Sun et al. 2008)。虽然这些细胞不能显示出公认的细胞病变效应, 但能够检测出 PrP^{TSE}。据报道, 这样的细胞培养分析比在原始感染组织中直接检测 PrP^{TSE} 更灵敏得多。不幸的是, 细胞培养分析还没有被开发用于 BSE 因子、分离自隔离种群的绵羊痒病因子或人源性 TSE 因子的检测。另外, PrP^{TSE} 结果假阳性已成为一个问题 (Vorberg, Raines et al. 2004)。因此, 开发可靠并敏感的以细胞培养为基础的动物 TSE 因子的分析方法将非常有利于动物源材料中 TSE 因子去除方法的确认。

6.7 PrP^{TSE} 和传染性分析之间的相关性

虽然通常会在含有 TSE 传染性的组织和组织浸提液中检出 PrP^{TSE}, 但也有许多在含有大量传染性的材料中无法检测出 PrP^{TSE} 的报道 (Lasmezas, Deslys et al. 1997; Manuelidis, Fritch et al. 1997; Manson, Jamieson et al. 1999; Race, Meade-White et al. 2002; Barron, Campbell et al. 2007; Piccardo, Manson et al. 2007)。并且, 已经在 TSE 因子含量在检出限以下的组织中发现了具有 PrP^{TSE} 特性的免疫反应性蛋白。一些研究者已经宣称从没有接触过 TSE 因子的动物组织中产生 TSE 传染性是有可能的 (Yuan, Xiao et al. 2006; Deleault, Harris et al. 2007; Castilla 2008; Jackson et al. 2009)。这些混乱的局面亟需得到澄清 (Aguzzi 2007), 但在解释 PrP^{TSE} 分析结果时对此予以注意。

虽然有些报道声称 PrP^{TSE} 几项新方法比啮齿类动物生物分析传染性的方法更为灵敏 (Safar, Cohen et al. 2000; Safar, Scott et al. 2002; Lee, Long et al. 2005; Safar, Geschwind et al. 2005; Castilla, Saa et al. 2006; Soto, Estrada et al. 2006), 但这些研究还需由独立方在设盲和随机研究中进行比对验证。

6.8 传染性降低到检出限以下

只有采用了经足够多的重复试验和分析而每一试验都能确保其结果具有可重复性的可靠方法, 分析所估计出的传染性数量的降低才有价值。正如对其他传染性因子的传染性降低的估计那样, 当采用不同分析方法的结果时, 尤其是当传染性降低少于 1 000 倍的情况时, 应对此特别予以注意。出于这一原因, 有些监管部门推荐, 对任一个声称降低污染风险的加工方案宜采用两个基于不同的化学-物理原理 [“正交性” (Trejo, Hotta et al. 2003)] 并确认过的传染性降低过程。对于生物制品, FDA 推荐在声称某一加工方法可将某一特定病原体污染的风险降低至某一可接受水平之前, 两个过程中的任一个降低染毒的传染性至少 10 000 倍 (Farshid, Taffs et al. 2005)。

6.9 支持传染性降低不是依据分析性能的变异来确定重复确认的次数

某一试验中重复试验和重复分析的次数在很大程度上取决于分析和所研究的过程的变异性。所提供的方法宜为可靠的, 能表明确认试验宜是在加工规模和加工过程中可能遇到的所有条件下 (pH、离子强度、温度和有机负载) 进行的。

6.10 用各生产步骤对 PrP^{TSE} 和传染性的降低能力确认对整个过程确认的要求

在开始的材料中加入相应的 TSE 传染性后, 清除其实质性的数量, 从而在终产品中得到彻底的不可检测的感染性, 以验证整个制造过程中的有效性, 这种方法特别令人放心, 但是, 如此的验证, 因为如下的几个原因而难以实施。原始材料中输入的传染性可能是适度的, 但从原始材料到最终产品间的各

步骤可能会将其大量地稀释。这种稀释向人们提出了实验设计中的抽样问题。如果因为稀释使某一样品中达不到感染性剂量,就会在所使用的分析中得到一个假阴性结果。解决这个问题的方法是测试更多的样品,但这通常是不可能的。按比例缩小的预试验模型中不能维持原有的表面-体积关系。因此,对于生物制品的病毒确认(QA5 Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products Derived from Cell Lines of Human or Animal Origin, International Conference on Harmonisation, 1998, accessed 16 July 2009 at <http://www.emea.europa.eu/pdfs/human/ich/029595en.pdf>),通常更有必要用模型 TSE 因子对每个中间步骤染毒,来模拟真实的过程条件和中间体的状态,从而通过引入一个正交的 log 降低因子以得出总的 log 降低值来推断整个生产流程的总体有效性,同时要注意其不确定性。

众所周知,不宜将具有相似灭活或去除机制的各步骤的降低因子累加成一个总降低因子。ISO 22442-3 中有确认研究的进一步指南。

参 考 文 献

- [1] ISO 14160 Sterilization of health care products—Liquid chemical sterilizing agents for single-use medical devices utilizing animal tissues and their derivatives—Requirements for characterization, development, validation and routine control of a sterilization process for medical devices
- [2] ISO 22442-1:2007 Medical devices utilizing animal tissues and their derivatives—Part 1: Application of risk management
- [3] ISO 22442-2:2007 Medical devices utilizing animal tissues and their derivatives—Part 2: Controls on sourcing, collection and handling
- [4] ISO 22442-3:2007 Medical devices utilizing animal tissues and their derivatives—Part 3: Validation of the elimination and/or inactivation of viruses and transmissible spongiform encephalopathy (TSE) agents
- [5] Aguzzi, A. (2007). "Prion biology: the quest for the test." *Nat Methods* 4(8):614-6.
- [6] Alper, T., D. Haig, et al. (1966). "The exceptionally small size of the scrapie agent." *Biochemical and Biophysical Research Communications* 22:278-284.
- [7] Asher, D. (1986). *Slow viral infections: Safe handling of the agents of subacute spongiform encephalopathies. Laboratory Safety: Principles and Practices*. B. Miller. Washington, DC, American Society for Microbiology. 1:59-71.
- [8] Asher, D., K. Pomeroy, et al. (1987). Attempts to disinfect surfaces contaminated with etiologic agents of the spongiform encephalopathies. VIIth International Congress of Virology, Edmonton, Alberta, Canada.
- [9] Asher, D., K. Pomeroy, et al. (1986). Practical inactivation of scrapie agent on surfaces. IXth International Congress of Infectious and Parasitic Diseases, Munich, Germany, Futuramed Verlag.
- [10] Asher, D. M., C. J. Gibbs, Jr., et al. (1986). *Slow viral infections: safe handling of the agents of the subacute spongiform encephalopathies. Laboratory Safety: Principles and Practice*. B. M. Miller, D. H. M. Gröschel, J. H. Richardson et al. Washington, American Society for Microbiology: 59-71.
- [11] Baron, H., J. Safar, et al. (2001). *Prions. Disinfection, Sterilization and Preservation*. S. Block. Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins. 1:659-674.
- [12] Barron, R. M., S. L. Campbell, et al. (2007). "High titers of transmissible spongiform encephalopathy infectivity associated with extremely low levels of PrPSc in vivo." *J Biol Chem* 282(49): 35878-86.
- [13] Brown, P., P. P. Liberski, et al. (1990). "Resistance of scrapie infectivity to steam autoclaving after formaldehyde fixation and limited survival after ashing at 360° C: practical and theoretical implications." *Journal of Infectious Diseases* 161:467-472.
- [14] Brown, P., R. Meyer, et al. (2003). "Ultra-high-pressure inactivation of prion infectivity in processed meat: a practical method to prevent human infection." *Proc Natl Acad Sci U S A* 100(10): 6093-7.
- [15] Brown, P., E. H. Rau, et al. (2004). "Infectivity studies of both ash and air emissions from simulated incineration of scrapie-contaminated tissues." *Environ Sci Technol* 38(22):6155-60.
- [16] Brown, P., R. Rohwer, et al. (1984). "Sodium hydroxide disinfection of Creutzfeldt-Jakob disease virus." *New England Journal of Medicine* 310:727.
- [17] Brown, S. A. and K. Merritt (2003). "Use of containment pans and lids for autoclaving

caustic solutions." *Am J Infect Control* 31(4):257-60.

[18] Brown, S.A., K.Merritt, et al. (2005). "Effects on instruments of the World Health Organization-recommended protocols for decontamination after possible exposure to transmissible spongiform encephalopathy-contaminated tissue." *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 72(1):186-90

[19] Cartoni, C., M.E.Schinina, et al. (2007). "Quantitative profiling of the pathological prion protein allotypes in bank voles by liquid chromatography-mass spectrometry." *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 849(1-2):302-6.

[20] Cartoni, C., M.E.Schinina, et al. (2005). "Identification of the pathological prion protein allotypes in scrapie-infected heterozygous bank voles (*Clethrionomys glareolus*) by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry." *J Chromatogr A* 1081(1):122-6.

[21] Castilla, J. (2008). De novo generation of prion infectivity in a cell-free system (announced). Cambridge healthtech Institute 12 Annual Transmissible Spongiform Encephalopathies [Symposium]. Baltimore.

[22] Castilla, J., A.Gutierrez-Adan, et al. (2004). "Subclinical bovine spongiform encephalopathy infection in transgenic mice expressing porcine prion protein." *J Neurosci* 24(21):5063-9.

[23] Castilla, J., P.Saa, et al. (2006). "Protein misfolding cyclic amplification for diagnosis and prion propagation studies." *Methods Enzymol* 412:3-21.

[24] Deleault, N.R., B.T.Harris, et al. (2007). "Formation of native prions from minimal components in vitro." *Proc Natl Acad Sci U S A* 104(23):9741-6.

[25] Diringer, H. and H.R.Braig (1989). "Infectivity of unconventional viruses in dura mater." *Lancet* 1(8635):439-40.

[26] Ernst, D.R. and R.E.Race (1993). "Comparative analysis of scrapie agent inactivation methods." *Journal of Virological Methods (Amsterdam)* 41(2):193-201.

[27] Farshid, M., R. E. Taffs, et al. (2005). "The clearance of viruses and transmissible spongiform encephalopathy agents from biologicals." *Curr Opin Biotechnol* 16(5):561-7.

[28] Fichet, G., K.Antloga, et al. (2007). "Prion inactivation using a new gaseous hydrogen peroxide sterilisation process." *J Hosp Infect* 67(3):278-86.

[29] Fichet, G., E.Comoy, et al. (2004). "Novel methods for disinfection of prion-contaminated medical devices." *Lancet* 364(9433):521-6.

[30] Foncin, J.F., J.Gaches, et al. (1980). "Transmission iatrogène interhumaine possible de maladie de Creutzfeldt-Jakob avec atteinte des grains du cervelet." *Rev Neurol (Paris)* 136:280.

[31] Foster, P.R. (2004). "Removal of TSE agents from blood products." *Vox Sang* 87 Suppl 2: 7-10.

[32] Grobbsen, A.H., P.J.Steele, et al. (2006a). "Inactivation of BSE infectivity on chips of bone by autoclaving during the manufacture of gelatine." *Vet Rec* 158(3):94-6.

[33] Grobbsen, A.H., P.J.Steele, et al. (2006b). "Inactivation of transmissible spongiform encephalopathy agents during the manufacture of dicalcium phosphate from bone." *Vet Rec* 158(11):361-6.

[34] Grobbsen, A.H., P.J.Steele, et al. (2005). "Inactivation of the BSE agent by the heat and pressure process for manufacturing gelatine." *Vet Rec* 157(10):277-81.

[35] Hadlow, W., R.Race, et al. (1979). Natural infection of sheep with scrapie virus. New York, Academic Press.

[36] Hannah, E.L., E.D.Belay, et al. (2001). "Creutzfeldt-Jakob disease after receipt of a previously unimplicated brand of dura mater graft." *Neurology* 56(8):1080-3.

- [37] Hunter, N. (2003). "Scrapie and experimental BSE in sheep." *Br Med Bull* 66:171-83.
- [38] Hunter, N., J. Foster, et al. (2002). "Transmission of prion diseases by blood transfusion." *J Gen Virol* 83(Pt 11):2897-905.
- [39] Hunter, N. and F. Houston (2002). "Can prion diseases be transmitted between individuals via blood transfusion; evidence from sheep experiments." *Dev Biol (Basel)* 108:93-8.
- [40] Jackson, G. S., E. McKintosh, et al. (2005). "An enzyme-detergent method for effective prion decontamination of surgical steel." *J Gen Virol* 86(Pt 3):869-78.
- [41] Kennedy, R. H., R. N. Hogan, et al. (2001). "Eye banking and screening for Creutzfeldt-Jakob disease." *Arch Ophthalmol* 119(5):721-6.
- [42] Kimberlin, R. H. and C. A. Walker (1977). "Characteristics of a short incubation model of scrapie in the golden hamster." *Journal of General Virology (London)* 34:295-304.
- [43] Klohn, P. C., L. Stoltze, et al. (2003). "A quantitative, highly sensitive cell-based infectivity assay for mouse scrapie prions." *Proc Natl Acad Sci U S A* 100(20):11666-71.
- [44] Kocisko, D. A., A. L. Engel, et al. (2005). "Comparison of protease-resistant prion protein inhibitors in cell cultures infected with two strains of mouse and sheep scrapie." *Neurosci Lett* 388(2):106-11.
- [45] Kocisko, D. A., J. D. Morrey, et al. (2004). "Evaluation of new cell culture inhibitors of protease-resistant prion protein against scrapie infection in mice." *J Gen Virol* 85(Pt 8):2479-83.
- [46] Langeveld, J. P., J. J. Wang, et al. (2003). "Enzymatic degradation of prion protein in brain stem from infected cattle and sheep." *J Infect Dis* 188(11):1782-9.
- [47] Lasmezas, C. I., J. P. Deslys, et al. (1997). "Transmission of the BSE agent to mice in the absence of detectable abnormal prion protein." *Science* 275(5298):402-5.
- [48] Latarjet, R. (1979). Inactivation of the agents of scrapie, Creutzfeldt-Jakob disease, and kuru by radiations. *Slow transmissible diseases of the nervous system*. S. B. Prusiner and W. J. Hadlow. New York, Academic Press, Inc. 2:387-407.
- [49] Latarjet, R., B. Muel, et al. (1970). "Inactivation of the scrapie agent by near monochromatic ultraviolet light." *Nature* 227:1341-1343.
- [50] Lee, I. S., J. R. Long, et al. (2005). "Selective precipitation of prions by polyoxometalate complexes." *J Am Chem Soc* 127(40):13802-3.
- [51] Llewelyn, C. A., P. E. Hewitt, et al. (2004). "Possible transmission of variant Creutzfeldt-Jakob disease by blood transfusion." *Lancet* 363(9407):417-21.
- [52] Liu, Y., R. Sun, et al. (2008). "A rapid accurate culture assay for infectivity in transmissible encephalopathies." *J Neurovirol* 14(5):352-61.
- [53] Manson, J. C., E. Jamieson, et al. (1999). "A single amino acid alteration (101L) introduced into murine PrP dramatically alters incubation time of transmissible spongiform encephalopathy." *Embo J* 18(23):6855-64.
- [54] Manuelidis, L. (1997). "Decontamination of Creutzfeldt-Jakob disease and other transmissible agents." *J Neurovirol* 3(1):62-5.
- [55] Manuelidis, L., W. Fritch, et al. (1997). "Evolution of a strain of CJD that induces BSE-like plaques." *Science* 277(5322):94-8.
- [56] Masujin, K., D. Matthews, et al. (2007). "Prions in the peripheral nerves of bovine spongiform encephalopathy-affected cattle." *J Gen Virol* 88(Pt 6):1850-8.
- [57] McAllister, D. R., M. J. Joyce, et al. (2007). "Allograft update: the current status of tissue

regulation, procurement, processing, and sterilization." *Am J Sports Med* 35(12):2148-58.

[58] McKenzie, D., J. Bartz, et al. (1998). "Reversibility of scrapie inactivation is enhanced by copper." *J Biol Chem* 273(40):25545-7.

[59] Mills, J. L., L. B. Schonberger, et al. (2004). "Long-term mortality in the United States cohort of pituitary-derived growth hormone recipients." *J Pediatr* 144(4):430-6.

[60] Minor, P., J. Newham, et al. (2004). "Standards for the assay of Creutzfeldt-Jakob disease specimens." *J Gen Virol* 85(Pt 6):1777-84.

[61] Nazor, K. E., T. Seward, et al. (2007). "Motor behavioral and neuropathological deficits in mice deficient for normal prion protein expression." *Biochim Biophys Acta* 1772(6):645-53.

[62] Nevin, S., W. H. McMenemy, et al. (1960). "Subacute spongiform encephalopathy; a subacute form of encephalopathy attributable to vascular dysfunction (spongiform cerebral atrophy)." *Brain* 83:519-564.

[63] Nonno, R., M. A. Di Bari, et al. (2006). "Efficient transmission and characterization of Creutzfeldt-Jakob disease strains in bank voles." *PLoS Pathog* 2(2):e12.

[64] Peden, A. H., M. W. Head, et al. (2004). "Preclinical vCJD after blood transfusion in a PRNP codon 129 heterozygous patient." *Lancet* 364(9433):527-9.

[65] Peden, A. H., D. L. Ritchie, et al. (2005). "Risks of transmission of variant Creutzfeldt-Jakob disease by blood transfusion." *Folia Neuropathol* 43(4):271-8.

[66] Peretz, D., M. R. Scott, et al. (2001). "Strain-specified relative conformational stability of the scrapie prion protein." *Protein Sci* 10(4):854-63.

[67] Peretz, D., S. Supattapone, et al. (2006). "Inactivation of prions by acidic sodium dodecyl sulfate." *J Virol* 80(1):322-31.

[68] Piccardo, P., J. C. Manson, et al. (2007). "Accumulation of prion protein in the brain that is not associated with transmissible disease." *Proc Natl Acad Sci U S A* 104(11):4712-7.

[69] Prusiner, S. B. (1982). "Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie." *Science* 216:136-144.

[70] Prusiner, S. B., D. Groth, et al. (1993). "Attempts to restore scrapie prion infectivity after exposure to protein denaturants." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90(7):2793-2797.

[71] Race, R., K. Meade-White, et al. (2002). "Subclinical scrapie infection in a resistant species: persistence, replication, and adaptation of infectivity during four passages." *J Infect Dis* 186 Suppl 2: S166-70.

[72] Race, R. E. and G. J. Raymond (2004). "Inactivation of transmissible spongiform encephalopathy (prion) agents by environ LpH." *J Virol* 78(4):2164-5.

[73] Rohwer, R. G. (1984). "Scrapie infectious agent is virus-like in size and susceptibility to inactivation." *Nature (london)* 308:658-662.

[74] Rohwer, R. G. (1984). "Virus-like sensitivity of scrapie agent to heat inactivation." *Science* 223:600-602.

[75] Rutala, W. A. and D. J. Weber (2004). "Disinfection and sterilization in health care facilities: what clinicians need to know." *Clin Infect Dis* 39(5):702-9.

[76] Rutala, W. A. and D. J. Weber (2004). "The benefits of surface disinfection." *Am J Infect Control* 32(4):226-31.

[77] Rutala, W. A. and D. J. Weber (2010). "Guideline for disinfection and sterilization of prion-contaminated medical instruments." *Infect Control Hosp Epidemiol* 31(2):107-17.

- [78] Safar, J., F.E. Cohen, et al. (2000). "Quantitative traits of prion strains are enciphered in the conformation of the prion protein." *Arch Virol Suppl* 16:227-35.
- [79] Safar, J.G., M.D. Geschwind, et al. (2005). "Diagnosis of human prion disease." *Proc Natl Acad Sci U S A* 102(9):3501-6.
- [80] Safar, J.G., M. Scott, et al. (2002). "Measuring prions causing bovine spongiform encephalopathy or chronic wasting disease by immunoassays and transgenic mice." *Nat Biotechnol* 20(11):1147-50.
- [81] Soto, C., L. Estrada, et al. (2006). "Amyloids, prions and the inherent infectious nature of misfolded protein aggregates." *Trends Biochem Sci* 31(3):150-5.
- [82] Taguchi, F., Y. Tamai, et al. (1991). "Proposal for a procedure for complete inactivation of the Creutzfeldt-Jakob disease agent." *Arch Virol* 119(3-4):297-301.
- [83] Taylor, D. (2004). *Transmissible degenerative encephalopathies: inactivation of the unconventional causal agents*. Russell, Hugo and Ayliffe's Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization. A. Fraiese, P. Lambert and J.-Y. Maillard. Malden, Massachusetts, Blackwell Publishing. 1:324-341.
- [84] Taylor, D.M. (2000). "Inactivation of transmissible degenerative encephalopathy agents: A review." *Vet J* 159(1):10-17.
- [85] Taylor, D.M. (2001). "Resistance of transmissible spongiform encephalopathy agents to decontamination." *Contrib Microbiol* 7:58-67.
- [86] Taylor, D.M. (2004). "Resistance of transmissible spongiform encephalopathy agents to decontamination." *Contrib Microbiol* 11:136-45.
- [87] Taylor, D.M., H. Fraser, et al. (1994). "Decontamination studies with the agents of bovine spongiform encephalopathy and scrapie." *Arch Virol* 139(3-4):313-26.
- [88] Taylor, D.M. and P.A. McBride (1987). "Autoclaved, formol-fixed scrapie mouse brain is suitable for histopathological examination, but may still be infective." *Acta Neuropathol (Berl)* 74(2):194-6.
- [89] Trejo, S.R., J.A. Hotta, et al. (2003). "Evaluation of virus and prion reduction in a new intravenous immunoglobulin manufacturing process." *Vox Sang* 84(3):176-87.
- [90] UK Department of Health. TSE Decontamination and Waste Disposal Guidance (Transmissible spongiform encephalopathy agents: safe working and the prevention of infection: Annex C (November 2009) http://www.dh.gov.uk/prod_consum_dh/groups/dh_digitalassets/@dh/@ab/documents/digitalasset/dh_108602.pdf
- [91] UK Health Protection Agency Press Release (2009 Feb 17) "vCJD abnormal prion protein found in a patient with haemophilia at post mortem. Evidence of infection with the agent (abnormal prion protein) that causes variant Creutzfeldt-Jakob Disease (vCJD) has been found at post mortem in the spleen of a person with haemophilia." Volume, DOI:
- [92] Vorberg, I., A. Raines, et al. (2004). "Acute formation of protease-resistant prion protein does not always lead to persistent scrapie infection in vitro." *J Biol Chem* 279(28):29218-25.
- [93] Wells, G.A., S.A. Hawkins, et al. (2003). "Studies of the transmissibility of the agent of bovine spongiform encephalopathy to pigs." *J Gen Virol* 84(Pt 4):1021-31.
- [94] Wells, G.A., T. Konold, et al. (2007). "Bovine spongiform encephalopathy: the effect of oral exposure dose on attack rate and incubation period in cattle." *J Gen Virol* 88(Pt 4):1363-73.

[95] World Health Organization. (1999). "WHO General Considerations for Effective TSE Agent Decontamination in Healthcare Settings." Retrieved Oct 15, 2003, 2003, from www.who.int/emcdocuments/tse/docs/whocdscsraph20003.pdf.

[96] World Health Organization (2006). WHO Guidelines on Tissue Infectivity Distribution in Transmissible Spongiform Encephalopathies, Geneva.

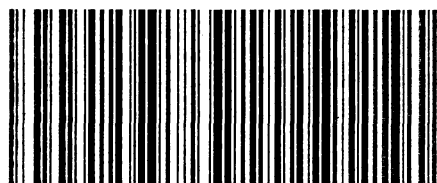
[97] Yakovleva, O., A. Janiak, et al. (2004). "Effect of protease treatment on plasma infectivity in variant Creutzfeldt-Jakob disease mice." *Transfusion* 44(12):1700-5.

[98] Yan, Z.X., L. Stitz, et al. (2004). "Infectivity of prion protein bound to stainless steel wires: a model for testing decontamination procedures for transmissible spongiform encephalopathies." *Infect Control Hosp Epidemiol* 25(4):280-3.

[99] Yuan, J., X. Xiao, et al. (2006). "Insoluble aggregates and protease-resistant conformers of prion protein in uninfected human brains." *J Biol Chem* 281(46):34848-53.

[100] Bundesgesundheitsbl-Gesundheitsforsch-Gesundheitsschutz 2001 44:1115-1126, Springer Verlag (2001), "Anforderungen an die Hygiene bei der Aufbereitung von Medizinprodukten", publication in German, English translation can be obtained under http://www.infectionprevention.eu/Nutzerdaten/File/germany_hygiene_requirements_for_reprocessing_medical_devices.pdf

[101] DoH ACDP TSE WG-annex C "General principles of decontamination and waste disposal", published in November 2009 http://www.dh.gov.uk/prod_consum_dh/groups/dh_digitalassets/@dh/@ab/documents/digitalasset/dh_108602.pdf



YY/T 0771.4-2015

版权专有 侵权必究

*

书号:155066·2-28750

定价: 26.00 元