

endogenních pyrogenů. Mezi endogenní pyrogeny řadíme: interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor (TNF) a interferony uvolňované monocyty a makrofágy. V některých případech jsou za pyrogenní reakci zodpovědné i další entity.

Léčivé přípravky podávané parenterálně mohou způsobit nežádoucí účinky v důsledku možné kontaminace pyrogenními látkami (2). Tato kontaminace se může projevovat horečkou, třesavkou, pocením, pyrexii, myalgii, tachykardií, hypotenzí a vazodilatací, případně až život ohrožujícími příznaky podobnými šoku. Vyšetření pyrogenity v léčivých přípravcích slouží k minimalizaci rizika horečnaté reakce u pacienta, která může vzniknout v důsledku podání daného přípravku, a to na úrovni, která je považována za přijatelnou. To se týká především přípravků aplikovaných ve velkém objemu, jako jsou infuze. Pyrogenní kontaminanty vyvolávají pyrogenní reakce, ke kterým dochází během první hodiny aplikace infuze. Stanovení hraniční akceptovatelné hodnoty pro obsah pyrogenů závisí přímo na celkovém aplikovaném objemu (dávce) přípravku a aplikační cestě (3).

Pyrogenní látky jsou nejčastěji mikrobiálního původu, takzvané bakteriální endotoxiny, pocházející z gramnegativních mikroorganismů. Nejčastěji jejich chemickou povahu vystihuje označení lipopolysacharid, viz výše. Ten se skládá ze tří složek, z nichž za horečku a ostatní biologické účinky je odpovědný Lipid A (Obr. 1). Během terminální sterilizace, kdy bakterie hynou, dochází k jejich autolýze. Tento děj vede k uvolnění většiny endotoxinů z buněk do roztoku. Gramnegativní bakterie se mohou vyskytovat ve špatně technologicky připravených produktech, zejména těch získaných biologickými metodami. Jejich přítomnost je také často důsledkem chyby ve výrobním procesu (4).

Do parenterálních přípravků, ale rovněž do zdravotnických prostředků, se mohou pyrogeny dostat z několika zdrojů. Obvykle to jsou: voda

použitá jako rozpouštědlo nebo jako pomocná látka v průběhu výroby; obalové komponenty; chemické látky a suroviny nebo zařízení použité při přípravě produktu. Pokud je léčivá látka produkována biologicky, neúplné odstranění mikroorganismu během čištění může mít za následek, že léčivá látka má vysoké hladiny endotoxinů. Příkladem mohou být antibiotika vyráběná fermentací, nebo případně vedlejší produkty gramnegativních bakterií používané k výrobě geneticky upravených léčivých přípravků. Standardní výrobní postup má zahrnovat i kontrolu mikrobiologické a endotoxinové úrovně kontaminace ve výše uvedených potenciálních zdrojích.

„Mikrobiální pyrogen“ na rozdíl od „gramnegativního bakteriálního endotoxinu“ se stal obecným popisným termínem pro mnoho různých látek. Pyrogenní látky jsou nejčastěji produkovány gramnegativními bakteriemi, avšak mohou být také produkovány některými grampozitivními bakteriemi, mykobakteriemi, plísněmi a také viry (5). Ve farmaceutické technologii je za hlavní pyrogenní látky možné považovat:

- bakteriální endotoxiny (např. lipopolysacharidy (LPS), peptidoglykany (PGN) nebo lipoteichoové kyseliny)
- pseudopyrogeny (vyvolávají zvýšení tělesné teploty jinými mechanismy než pravé pyrogeny – např. cizorodé částice v infuzních roztocích mohou být mylně identifikovány organismem jako pyrogeny, což vede k reakci, která napodobuje účinek skutečných pyrogenů, aniž by byla aktivována obvyklá imunitní odpověď spojená s infekcí nebo zánětem)
- virové pyrogeny
- některé nízkomolekulární léky
- nízkomolekulární proteiny
- nebakteriální polypeptidy, polysacharidy (2)

Řada pyrogenů jsou látky s velkou molekulou, které bývají v roztocích jako agregáty, lze je tedy zachytit ultrafiltrací na přepážkách z alifatických polymerů (4).

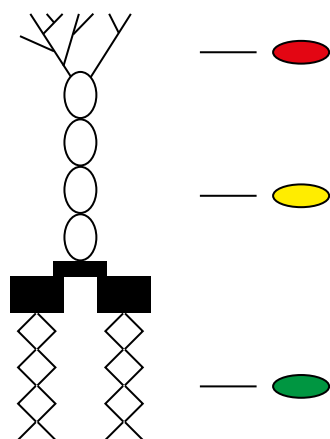
Pokud není možné se stanovenou hladinou jistoty potvrdit skutečnost, že možné pyrogenní kontaminanty jsou pouze bakteriální endotoxiny, je třeba provést analýzu rizik (ne)přítomnosti non-endotoxin pyrogenů. V případě neprůkaznosti nepřítomnosti non-endotoxin pyrogenů je třeba použít některou z metod detekce širokého spektra pyrogenů (Tab. 1).

Metody pro stanovení pyrogenních látek

1. Detekce širokého spektra pyrogenů

- a. Pyrogenní test na králících (Rabitt pyrogen test – RPT) (lékopisný článek 2. 6. 8)

Obr. 1. Schéma struktury endotoxinu



Červeně o-antigen, žlutě jádro LPS, zeleně lipid A (File:LPS3.svg - Wikimedia Commons)

Tab. 1. Metody pro stanovení pyrogenních látek

	Detekce širokého spektra pyrogenů	Detekce zaměřená na endotoxiny
Animal based method Metoda založená na využití zvířat	Rabitt pyrogen test (RPT) Pyrogenní test na králících	Bacterial endotoxin test (BET) Zkouška na bakteriální endotoxiny
In vitro method Metoda prováděná mimo živý organismus	Monocyty activation test (MAT) Test aktivace monocytů	Recombinant factor C (rFC) Zkouška na bakteriální endotoxiny za použití rekombinantního faktoru C