

2.6.8. ПІРОГЕНИ

Випробування на пірогени полягає у вимірюванні підвищення температури тіла, що спричинене внутрішньовенним введенням кролям стерильного розчину \blacktriangledown випробовуваної речовини \blacktriangleleft .

Вибір тварин. Використовують здорових статевозрілих кролів обох статей масою не менше 1.5 кг, які отримують повноцінне та збалансоване харчування без антибіотиків та не втрачають масу тіла протягом тижня, що передує випробуванню. Кріль не може бути використаний у випробуванні на пірогени:

- якщо він був використаний у випробуванні на пірогени з негативним результатом протягом попередніх трьох днів;
- якщо він був використаний у попередні три тижні у випробуванні на пірогени, в якому зразок не витримав випробування.

Приміщення для тварин. Кролів утримують нарізно в тихому приміщенні з підходящою постійною температурою. Напередодні увечері й до повного завершення випробування кролів позбавляють їжі; під час випробування позбавляють води. Випробування проводять у тихій кімнаті, де немає ризику збудження тварин та в якій температура не відрізняється більш як на 3 °C від температури в житлових приміщеннях для кролів або в приміщеннях в яких кролів утримували принаймні протягом 18 год перед випробуванням.

Матеріали. Скляний посуд, шприци та голки. Ретельно миють увесь скляний посуд, шприци та голки водою для ін'єкцій та стерилізують гарячим повітрям за температури 250 °C протягом 30 хв або за температури 200 °C протягом 1 год.

Фіксуючі клітки. Фіксуючі клітки для кролів, температуру яких вимірюють за допомогою електричного пристрою, мають бути виготовлені так, щоб тварини фіксувалися лише за допомогою вільно закріплених на шії хомутів; тулуб залишається відносно вільним, щоб кролі могли сидіти в звичайному положенні; їх не утримують за допомогою ременів або інших подібних методів, які можуть спричинити шкоду тварині. Тварин поміщають у клітки не менш як за 1 год до першого вимірювання температури та залишають у них протягом випробування.

Термометри. Використовують термометр або електричний пристрій, що визначають температуру з роздільною здатністю шкали 0.1 °C, та вводять у пряму кишку кроля на глибину близько 5 см. Глибина введення пристрою постійна у кожного кроля в кожному випробуванні. За умови використання електричного пристрою його можна залишити у цьому положенні протягом усього випробування.

Попереднє випробування. Після добору тварин за один-три дні до випробування зразка тим тваринам,

яких не використовували протягом попередніх двох тижнів, вводять внутрішньовенно 10 мл на кілограм маси тіла апірогенний 9 г/л розчин *натрію хлориду P*, підігрітий до температури \blacktriangledown 38 °C \blacktriangleleft . Реєструють температуру тварин, починаючи за 90 хв до ін'єкції та продовжуючи протягом 3 год після ін'єкції розчину. Будь-яка тварина, у якої виявляється зміна температури більш як на 0.6 °C, не використовується в основному випробуванні.

Основне випробування. Випробування проводять, використовуючи групу із трьох кролів.

Підготовка та введення випробовуваного зразка. Перед введенням випробовуваний розчин нагрівають приблизно до температури \blacktriangledown 38 °C \blacktriangleleft . Випробовуваний зразок може бути розчинений або розведений в апірогенному розчині 9 г/л *натрію хлориду P* або іншому зазначеному розчиннику. Розчин повільно вводять у крайову вену вуха кожного кроля протягом не більше 4 хв, якщо немає інших зазначень в монографії. Кількість випробовуваного зразка, що вводиться, залежить від його властивостей та зазначається в монографії. Об'єм, що вводиться, має бути не менш як 0.5 мл та не більш як 10 мл на кілограм маси тіла.

Визначення вихідної та максимальної температур. «Вихідна температура» кожного кроля — це середнє значення, яке складається із двох показань температур, зареєстрованих у кроля з інтервалом 30 хв які вимірюють протягом 40 хв, що безпосередньо передують введенню випробовуваного зразка. «Максимальна температура» кожного кроля є найвищою зареєстрованою температурою даного кроля протягом 3 год після ін'єкції. Температуру кожного кроля реєструють із інтервалом не більше 30 хв, починаючи не раніше як за 90 хв перед введенням випробовуваного зразка та продовжуючи протягом 3 год після уведення. Різницю між максимальною температурою та вихідною температурою для кожного кроля беруть за його реакцію. Якщо ця різниця від'ємна, результат оцінюють як нульову реакцію. Кролів, у яких під час визначення вихідної температури виявляють відмінності між двома послідовними температурними показниками більш як на 0.2 °C, вилучають із випробування. У будь-якому випробуванні використовують лише тих кролів, вихідні температури яких не різняться між собою більш як на 1 °C. Кролів, що мають вихідну температуру вище 39.8 °C або нижче 38.0 °C, вилучають із випробування.

Інтерпретація результатів. Випробування проводять спочатку на групі із трьох кролів, якщо необхідно, далі повторюють на наступній групі із трьох кролів. Залежно від одержаних результатів повторюють випробування на наступній групі з трьох кролів, і так до загальної кількості груп — 4. Якщо сумарна реакція у першій групі не перевищує значення, наведеного у другому стовпчику Табл. 2.6.8.-1, зразок витримує випробування. Якщо сумарна реакція перевищує значення, наведене у другому стовпчику таблиці,