



Změny v lékopisných mikrobiologických člancích a zajímavosti z praxe

Ivana Kohoutová, vedoucí Oddělení biologických metod, SÚKL

24.09.2025



Změny v mikrobiologických člancích v ČL 2023 Doplňku 2025

Mikrobiologická jakost

- 👁 **2.6.12 Mikrobiologické zkoušení nesterilních přípravků: stanovení počtu mikroorganismů** – upřesnění interpretace hodnocení výsledků zkoušky způsobilosti metody MF
- 👁 **2.6.27 Mikrobiologické zkoušení buněčných přípravků** – sjednocení doby inkubace u zkoušky růstových vlastností pŮd s článkem 2.6.1 Sterilita

Pyrogenita

 ~~2.6.8 Zkouška na pyrogenní látky (na králících)~~ vypuštěný z Ph.Eur. 12

 **5.1.13 Pyrogenita** – nový článek, souvislost s vypuštěním čl. 2.6.8 Zkouška na pyrogenní látky (na králících)

Pyrogenita – nový pojem zaváděný do statí

Pyrogenitu lze hodnotit na základě provedených zkoušek podle 2.6.14, 2.6.30, 2.6.40

Výběr metody – u nových LP nebo jako náhrada za 2.6.8 – pokud nelze vyloučit přítomnost neendotoxinových pyrogenů, použije se 2.6.30

 **5.1.10 Pokyny pro použití zkoušky na bakteriální endotoxiny** – revize v souladu s 5.1.13

 **2.6.30 Zkouška aktivace monocytů** – revize v souladu s 5.1.13

 **2.6.40 Zkouška aktivace monocytů pro vakcíny obsahující inherentně pyrogenní složky (rev 11.8)** – nový



Změny v mikrobiologických člancích v ČL 2023

Doplňku 2026

Připravované revize v Doplňku 2026

👁 2.6.7 Mykoplazmata – velká revize

Zcela se změnil úvod, byly vypuštěny zmínky o metodách pro jednotlivé fáze výroby nebo pro typy LP

Kultivační metoda a metoda s indikátorem musí být použita současně, použití jedné metody je třeba doložit risk analýzou, metody s použitím NAT jsou alternativní, pokud nejsou uvedené v lékopisném článku

Vždy se musí brát v potaz přítomnost inhibičních látek

Kontrolní mikroorganismy jsou uvedené jako příklad, je zde také uveden příklad sbírkových kmenů, BRP standardů a WHO IS for mycoplasma DNA

👁 5.1.9 Pokyny k použití zkoušky na sterilitu – revize

Je přímo uvedeno, že lze použít alternativní test v souladu s 5.1.6

Podmínky zkoušky – je vypuštěna formulace tř. čistoty A/B – pozor, jen změna formulace vstřícná k použití izolátorů

Plán odběru vzorků musí respektovat „nejhorší případ“ umístění ve sterilizátoru nebo v lyofilizátoru

V případě zneplatnění výsledků zkoušky je nutno identifikovat izoláty podrobněji než do druhu kvůli identifikaci zdroje

Připravované revize v Doplňku 2026

👁 2.6.41 Vysoce výkonné sekvenování pro detekci virových cizích agens/ High-throughput sequencing (HTS) for the detection of viral extraneous agents

Členění – úvod, popis metod, validace metod,

- Kapitola popisuje metodiky HTS používané pro detekci virových cizorodých agens v biologických produktech, včetně např. vakcín, rekombinantních proteinů, virových vektorů používaných pro genovou terapii a buněčných přípravků pro buněčnou terapii
- Jsou zde nastíněny jednotlivé kroky pracovního postupu HTS, návrh metody, analytické přístupy
- Popisuje a doporučuje kontroly použité při rutinní zkoušce (povinné a volitelné kontroly)
- HTS se používá jako kvalitativní limitní test. Jako taková specifita (vč. šířky detekce viru) a detekční limit jsou parametry, které je třeba posoudit
- Poskytuje také pokyny pro validaci metody HTS, včetně doporučení pro výběr materiálu pro validaci (např. standard WHO) a hodnocení příslušných výkonnostních charakteristik pro HTS
- Kapitola má zabudovanou flexibilitu, která zohledňuje rozmanitost technických přístupů a pracovních postupů

Připravované revize v Doplňku 2026

5.32 Buněčné přípravy pro humánní použití – nový

Článek je dělený na kapitoly:

definice,

všeobecné požadavky platné pro všechny typy buněčných LP,

zvláštní požadavky pro lidské hematopoetické kmenové buňky, lidské chondrocyty, lidské limbální kmenové buňky, lidské mezenchymální stromální buňky

Připomínkování Pharmeduropa v roce 2025

- 👁 **2.6.14 Bakteriální endotoxiny** – velká revize, zařazena zkouška G –
Fluorometrická metoda koncového bodu s využitím rekombinantního faktoru C,
která je nyní v článku 2.6.32
(příprava na zařazení další metody za použití rekombinantní kaskády LAL)
- 👁 Následné zrušení **2.6.32**
- 👁 **5.1.13 Pyrogenita** – revize v souladu s rev. 2.6.14
- 👁 **5.1.6 Alternativní metody kontroly mikrobiologické jakosti** – velká revize
(+mikrokalorimetrie, Ramanova spektroskopie a sekvenování, validace změněná
na implementaci, ekvivalence změněná na porovnatelnost)

Zajímavé případy z praxe

- 👁 Jak může laboratoř dojít při správném postupu zkoušky k falešně negativnímu výsledku?
- 👁 Může přípravek vyhovující zkoušce na sterilitu být nevyhovující zkoušce na mikrobiologickou jakost?

2024 šetření závady v jakosti Methylrosalini chloridi sol. 0,5%

Únor 2024 – nevyhovující vzorek TAMC více než 10^4 (limit 10^2) CFU/mL

- 👁️ Při vyšetřování bylo zkoušeno 22 vzorků z různých zdrojů – LP připravený v lékárně nebo v hromadné přípravě
- 👁️ Výsledky vyšetřování – 9 vzorků nevyhovělo na mikrobiologickou jakost, mnoho vzorků bylo špatně označeno včetně nesprávné doby použitelnosti
- 👁️ „Dezinfekce nemůže být kontaminovaná!“
- 👁️ LP z hromadné přípravy měl certifikát o lab. kontrole s vyhovujícím výsledkem pro MB jakost

2024 šetření závady v jakosti Methylrosalini chloridi sol. 0,5%

- ☞ Nález SÚKL – velké množství pomalu rostoucích drobných kolonií viditelných až 4. den
- ☞ G- tyčky – identifikace MALDI TOF: silné podezření na *Burkholderia cepacia complex (BCC)*, Unreliable identification, ale na všech pozicích *Burkholderia*
- ☞ BCC je závažný oportunní patogen a častá nozokomiální nákaza s přirozenou ATB rezistencí, může získávat energii z velmi rozmanitých zdrojů/matric

Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value
1 (-)	Burkholderia cenocepacia LMG 12614 HAM	1.65
2 (-)	Burkholderia anthina LMG 16670 HAM	1.58
3 (-)	Burkholderia cepacia LMG 2161 HAM	1.57
4 (-)	Burkholderia ambifaria LMG 11351 HAM	1.57
5 (-)	Burkholderia vietnamiensis LMG 10929T HAM	1.54
6 (-)	Burkholderia cepacia MB 7544 05 THL	1.43
7 (-)	Paraburkholderia phymatum LMG 21445T HAM	1.41
8 (-)	Burkholderia glumae DSM 9512T HAM	1.39
9 (-)	Burkholderia seminalis VA40474 09 ERL	1.37

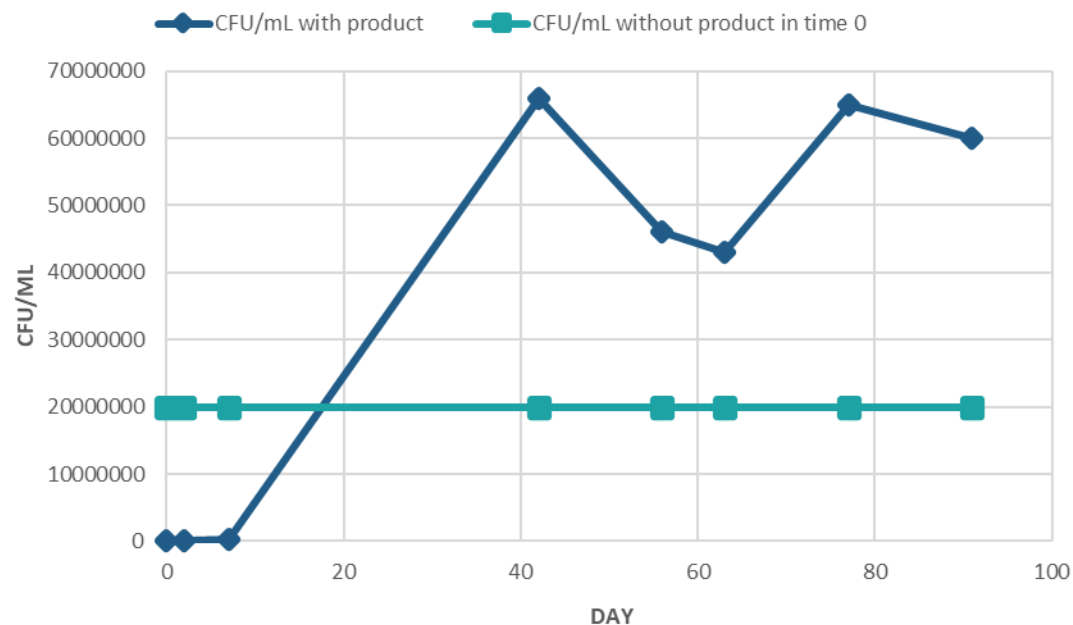
2024 šetření závady v jakosti Methylrosalini chloridi sol. 0,5%

- 🕒 Zdroj BCC ve výrobě/přípravě LP je voda
- 🕒 **Otázky:** Jak dlouho může BCC přežívat v genciáně a ohrožovat pacienta?
Postupovala kontrolní laboratoř správně?
- 🕒 SÚKL: provedení zkoušky podle ČL 5.1.3 Účinnost protimikrobních konzervačních látek
- 🕒 Postup – příprava sterilního LP, použití lékopisných kontrolních kmenů a dvou kmenů izolovaných ze závadných šarží
- 🕒 Výsledek – odečítání zkoušek z času 0, 2 dny, 7, 14, 28 dnů pro bakterie
- 🕒 Všechny lékopisné kmeny kromě *Aspergillus braz.* byly 0 CFU/ml
- 🕒 Jeden izolát vykazoval růst jen v čase 0 a 2 dny

2024 šetření závady v jakosti Methylrosalini chloridi sol. 0,5%

Růstová křivka druhého izolátu

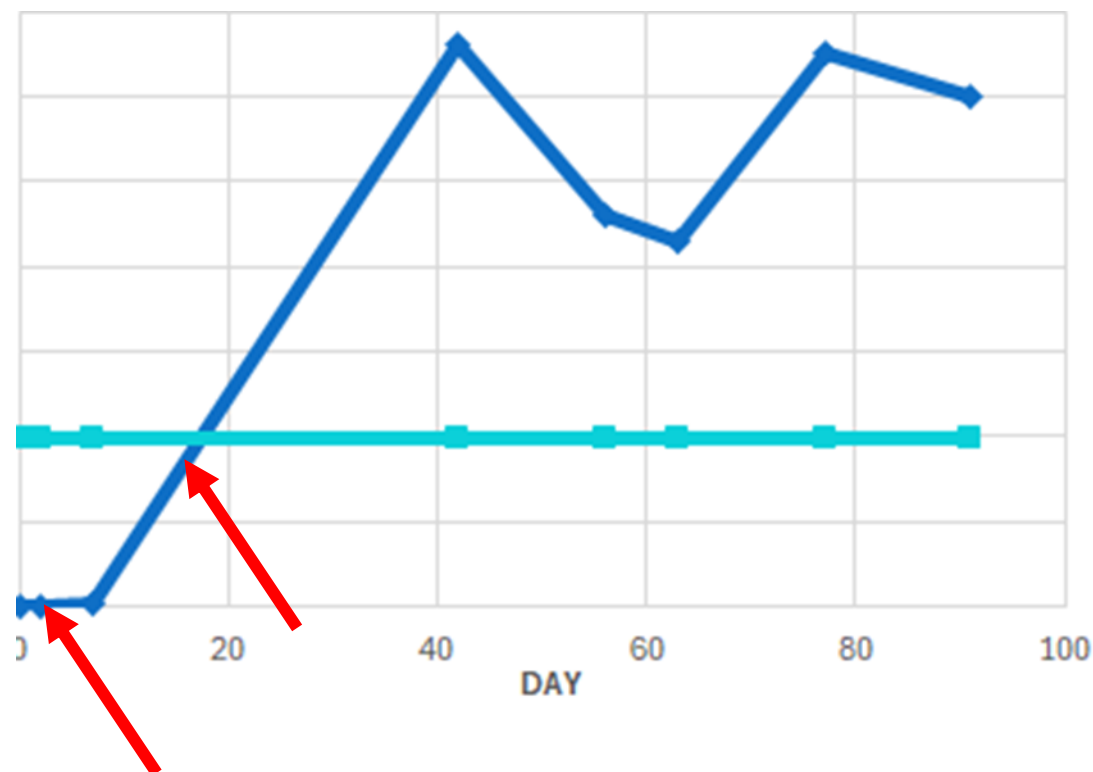
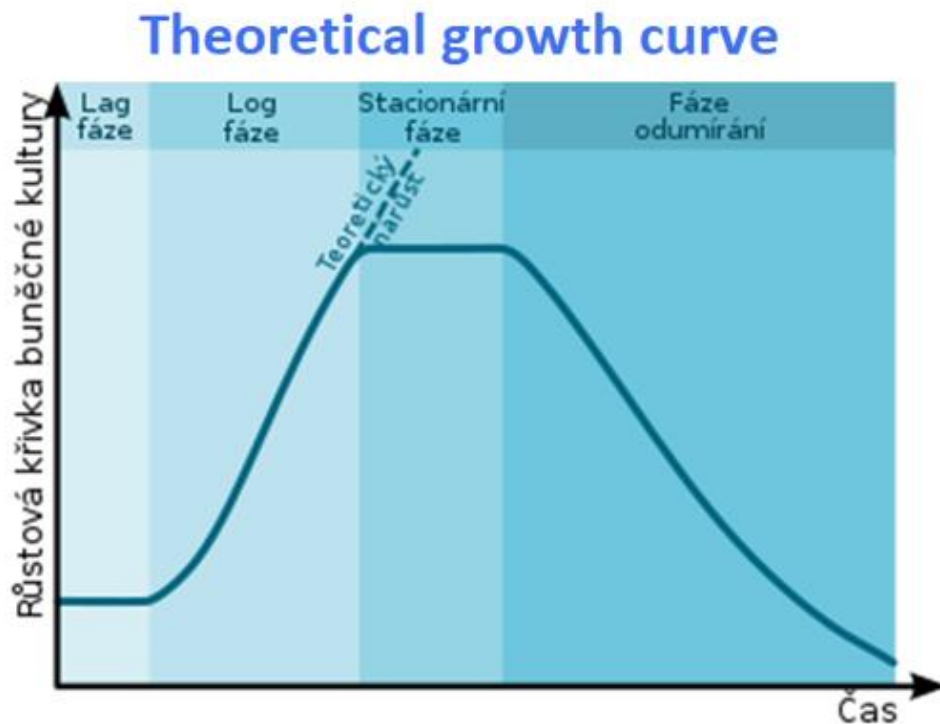
Čas dny	Počet CFU/ml při zkoušce	Výchozí inokulum CFU/ml
0	22 100	19 900 000
2	6 600	19 900 000
7	270 000	19 900 000
42	66 000 000	19 900 000
56	46 000 000	19 900 000
63	43 000 000	19 900 000
77	65 000 000	19 900 000
91	60 000 000	19 900 000



2024 šetření závady v jakosti Methylrosalini chloridi sol. 0,5%

V jaké fázi růstu byl LP testován?

Skutečná růstová křivka druhého izolátu



Závěry k šetření závady v jakosti Methylrosalini chloridi sol. 0,5%

- 🕒 Budte připraveni
- 🕒 Rutinně používejte více ředění vzorku
- 🕒 Kontrolujte změny ve vzorku každý den
- 🕒 Konečné odečtení výsledků proveďte poslední den lékopisného testovacího limitu nebo následující den (limit od 3 do 5 dnů pro bakterie)
- 🕒 Důležitý je termín testování po přípravě
- 🕒 Kmeny z výroby/přípravy jsou změněné a přizpůsobené těžkým/jiným podmínkám
- 🕒 Zkoušky vhodnosti a zkouška protimikrobních konzervačních látek nejsou všespásné
- 🕒 Při zkouškách vhodnosti používejte svoje kmeny z monitoringů prostředí a vody

Mikrobiologické zkoušení vzorku aqua purificata z lékárny v SÚKL

👁 Výsledky zkoušení:

Sterilita – **bez růstu**, vyhovuje

Zkouška TAMC pro vodu balenou na agarové půdě s hydrolyzáty sóji a kaseinu:

0 CFU/ml, vyhovuje

Zkouška TAMC pro monitoring vody na půdě R2A: **79 CFU/ml**, vyhovuje, ale

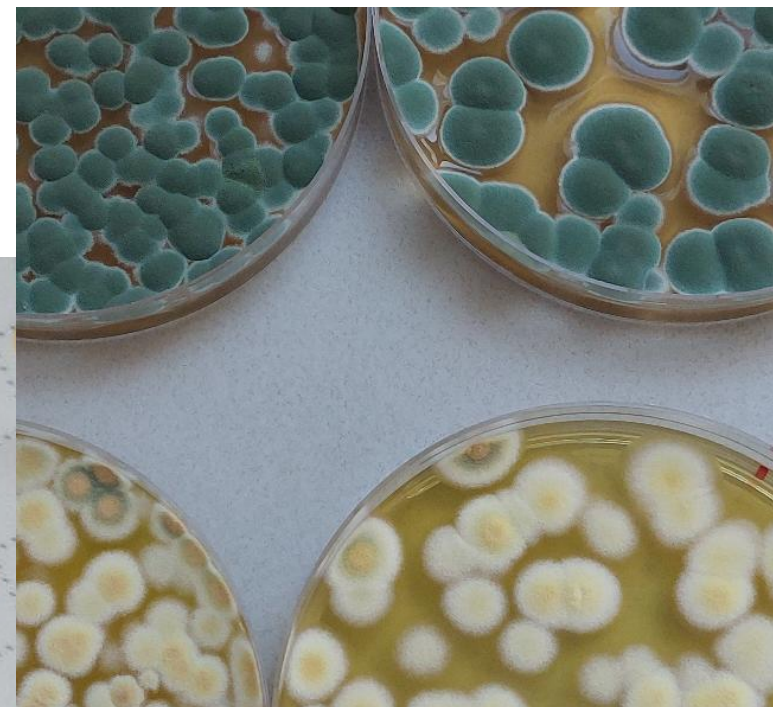
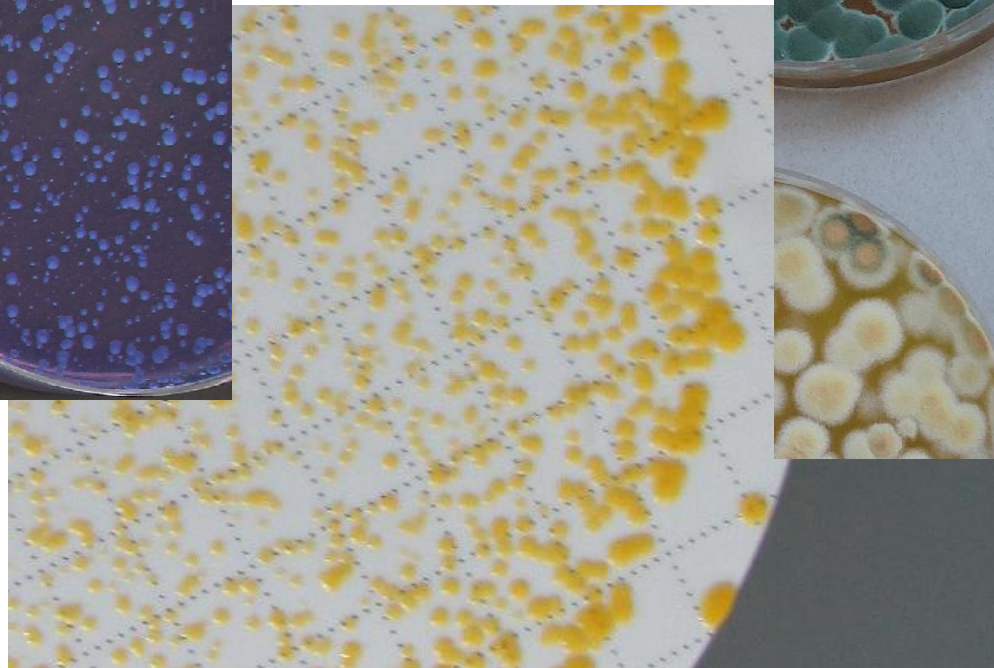
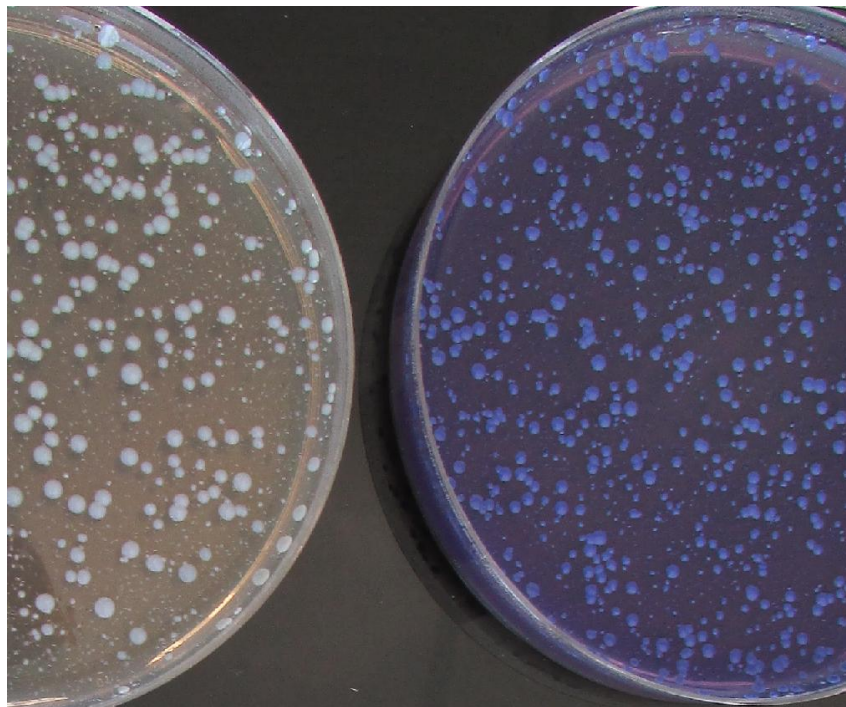
👁 **Může přípravek vyhovující zkoušce na sterilitu být nevyhovující zkoušce na mikrobiologickou jakost?**

👁 Teoreticky i prakticky ano

Může přípravek vyhovující zkoušce na sterilitu být nevyhovující zkoušce na mikrobiologickou jakost?

👁 Jak to?

- 👁 Každá zkouška má omezení, jakou škálu mikroorganismů lze její pomocí detekovat
- 👁 V tomto případě nebyly detekovány mikroorganismy, které se běžně vyskytují ve vodě a jsou schopné růstu jen na chudých půdách
- 👁 Zkouška na sterilitu nemusí zachytit striktní anaeroby nebo jiné mikroorganismy náročné na kultivační podmínky
- 👁 Stejně tak kultivační zkoušky na celkové počty (TAMC a TYMC)
- 👁 A stejně tak i alternativní metody zkoušení...





DĚKUJEME ZA POZORNOST

STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV

Šrobárova 49/48, 100 00 Praha 10

tel.: +420 272 185 111

e-mail: posta@sukl.gov.cz

datová schránka: qwfa2m

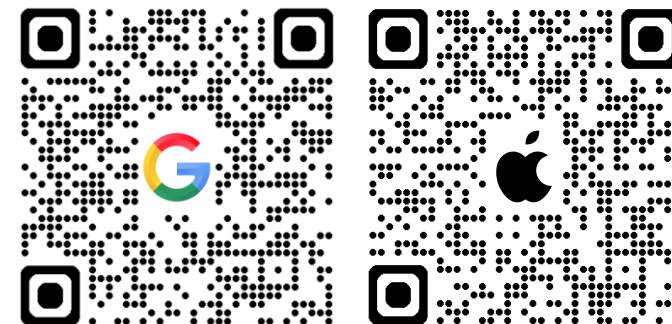
sukl.gov.cz

Máte aplikaci eRecept?

Aplikace navíc nabízí i benefity pro pacienty, např. možnost přístupu ke všem údajům o své elektronické preskripci, včetně lékového záznamu a nastavení souhlasů k němu.

Upozorňujeme, že při aktivaci aplikace budete vyzváni k ověření vaší identity prostřednictvím identity občana.

STÁHNĚTE ZDE





Máte zkušenost se SÚKL?

Podělte se o ni s námi!

Snažíme se zlepšovat a rozvíjet poskytované služby.
Budeme rádi za vaši zpětnou vazbu vyplněním dotazníku.

Předem děkujeme za spolupráci a čas věnovaný odpovědím.

DOTAZNÍK SPOKOJENOSTI

