

# **VOORSCHRIFTEN:**

Laboratorium voor

# **PHARMACEUTISCHE KONTROLE**

I N H O U D

=====

- 1 = Kjeldahl bepaling (destillatie methode)
- 2 = Test op afwezigheid van koortsverwekkende stoffen

Kjeldahl bepaling

=====

In een kjeldahlkolfje brengen 0,2 ml eiwitoplossing, pipet uitblazen en naspoelen met fysiologisch zout.

Daarna toevoegen 2 ml 96% zwavelzuur en + 100 mg seleenmengsel.

(1,5 g  $\text{CuSO}_4$  + 1 g Seleen + 95 g  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), tevens wat glaspereels of kooksteentjes.

Destrueer 1 uur met het apparaat op stand 1, daarna op stand 2 tot kleurloos. Eventueel nog enige tijd op stand 3.

Destillatiemethode

Het apparaat eerst een kwartier uitstomen.

Daarna koelwater aan en onder koeler een erlenmeyer plaatsen met 10 ml, 1:1 verdund verzadigd boorzuur.

Nu eerst een blanco destillatie doen, waarbij gedurende 12 à 15 minuten destillaat wordt opgevangen, om na te gaan of zich nergens stikstof in de apparatuur bevindt.

De kleur van de boorzuoeroplossing waaraan als indicator 1 à 2 druppels van een mengsel van 8 druppels verz. methyloord in alcohol en 1 druppel methyleenblauw 1% in water, is toegevoegd mag geen groene tint aannemen.

Na beëindigen van het destilleren, koeler aan de buitenkant afspoelen met aq.dest. Nadat het kolfje verwijderd is, gasvlam wegnemen en destillatievat leeg laten hevelen, drie keer naspoelen met aq.dest.

Nu opnieuw onder koeler boorzuur met indicator plaatsen (koeler in oplossing laten uitmonden). Verbindings slang met kookkolf dicht en door trechter bepaling toevoegen, uitspoelen met aq.dest, daarna

toevoegen 15 ml 30% NaOH in 5% thio en met nog wat aq.dest naspoelen.

Verbindings slang openen en gedurende 12 à 15 minuten destillaat opvangen.

Of men lang genoeg heeft gedestilleerd is te kontrôleren met een vochtig rood lakmoes papiertje, daar het destillaat niet meer blauw gekleurd mag worden.

Inhoud van het kolfje, afhankelijk van het gehalte N in het te onderzoeken monster titreren met 0,1N tot 0,02N zuur.

Elke cc 0,1 N zuur is 1,4 mg N of 8,75 mg eiwit.

Test op afwezigheid van koortsverwekkende stoffen  
=====

Voor de test worden drie gezonde konijnen gebruikt, die niet lichter in gewicht mogen zijn dan 1500 g. Deze konijnen mogen in de week vóór de proef niet meer dan 75 à 100 g in gewicht zijn achteruit gelopen. Zij moeten tenminste twee weken bij gelijkmatige koele kamertemperatuur (+ 15<sup>o</sup>C) zijn gehouden, bij welke temperatuur eveneens de proef plaats vindt. De konijnen worden twee uur vóór en gedurende de proef in een passende houder geplaatst, waarbij een beperkte bewegingsvrijheid dient te blijven bestaan. Voor een rustige omgeving moet gezorgd worden. Op de dag van de proef mogen zij, totdat deze is afgelopen niet eten. De lichaamstemperatuur wordt vanaf één uur vóór tot drie uur ná de proef elk uur gemeten, door middel van een 7-9 cm in het rectum aangebracht, apparaat voor elektrische temperatuurmeting, bepaald. Ook kan een gewone koortsthermometer worden gebruikt, ook deze brengt men over eenzelfde lengte in het rectum aan.

Als aanvangstemperatuur wordt de temperatuur genomen, die onmiddellijk vóór de inspuiting bepaald is. Slechts die dieren mogen worden gebruikt, waarvan deze temperatuur ligt tussen 38 en 39,5<sup>o</sup>C en niet meer dan + of - 0,4<sup>o</sup>C van de eerst gemeten temperatuur verschilt.

De te onderzoeken vloeistof (eventueel op 39<sup>o</sup>C gebracht), wordt de dieren in de oorvene gespoten. De proef is negatief wanneer geen van de konijnen een temperatuurverhoging vertoont van 0,6<sup>o</sup>C of meer; vertoont slechts één konijn een temperatuurverhoging van 0,6<sup>o</sup>C of meer, dan dient de proef met 5 konijnen herhaald te worden. Zij is dan als negatief te beschouwen wanneer slechts één konijn een temperatuurverhoging van 0,6<sup>o</sup>C of meer vertoont. Deze interpretatie der proef geldt alleen voor oplossingen van zout, glucose etc., waarvan in het algemeen 10 ml/kg wordt ingespoten. Van oplossingen van menselijk plasma en plasmaproducten wordt de hoeveelheid ingespoten als aangegeven voor Biological Products in de voorschriften van de Public Health Service 1965, § 73.74. Ook de daar gegeven interpretatie der proef wordt gevolgd. De dieren mogen niet opnieuw voor een proef worden gebruikt, dan na een rustperiode van tenminste één week. Voor allergeen-actieve stoffen mogen de dieren slechts één keer worden gebruikt.

Al de te gebruiken injectienaalden en spuitten moeten door verhitten van tenminste 30 minuten op 250<sup>o</sup>C, of op een andere doelmatige wijze, pyrogeenvrij worden gemaakt.