

## Desempeño analítico de los métodos de control de calidad de una solución concentrada para hemodiálisis

### Analytical performance of the quality control methods in a concentrated solution for hemodialysis

MSc. Juan Carlos Benavides Pérez,<sup>I</sup> Lic. Rosa Rojas Romaguera,<sup>I</sup> Dr. C. Jesús Rafael Rodríguez Amado,<sup>II</sup> Lic. Ariadna Lafourcade Prada<sup>II</sup>

<sup>I</sup> Laboratorio Farmacéutico Oriente. Santiago de Cuba. Cuba.

<sup>II</sup> Universidad de Oriente. Santiago de Cuba. Cuba.

---

#### RESUMEN

**Objetivo:** evaluar el desempeño de los métodos de cuantificación de los iones sodio, potasio, cloruro, calcio y magnesio en una solución concentrada para hemodiálisis con bicarbonato.

**Métodos:** los cinco métodos aparecen informados en la farmacopea británica. Para la verificación del desempeño, se utilizaron los parámetros, linealidad, exactitud y precisión. Se empleó el método de placebo enriquecido utilizando niveles de 60 a 140 % de la concentración nominal de cada ion.

**Resultados:** los cinco métodos resultaron lineales en el intervalo de concentraciones evaluadas, fueron precisos y exactos, con coeficientes de variación global menor que 1,75 %, y una recuperación entre  $100 \pm 3$  %.

**Conclusiones:** los métodos de cuantificación de los iones presentes en la solución concentrada para hemodiálisis con bicarbonato, permiten obtener resultados fiables en las condiciones analíticas practicadas en esta investigación.

**Palabras clave:** validación, hemodiálisis, desempeño analítico.

---

#### ABSTRACT

**Objective:** to evaluate the analytical performance of the sodium, potassium, chloride, calcium and magnesium ions quantification methods, in a concentrated solution with bicarbonate for hemodialysis.

**Methods:** the five analytical methods are reported on the official British pharmacopeia. The performance evaluation was made by verifying linearity, accuracy and precision. In all cases, the enriched placebo method was used, with concentration levels from 60 to 140 % of the standard concentration value of each ion.

**Results:** the five methods showed linearity in the evaluated concentration range; they were accurate and precise with global variation coefficients lower than 1.75 %, and a recovery rate of  $100 \pm 3$  %.

**Conclusions:** the quantification methods for the ions present in concentrated solution with bicarbonate for hemodialysis, allows obtaining reliable results under the analytical conditions used in this research.

**Key words:** validation, haemodialysis, analytical performance.

---

## INTRODUCCIÓN

La insuficiencia renal crónica (IRC) es un problema epidemiológico, social y económico que constituye una de las principales causas de muerte a nivel mundial. La cantidad de pacientes con estas enfermedades aumenta exponencialmente. Este hecho constituye un desafío para la nefrología.<sup>1,2</sup>

La hemodiálisis es un procedimiento terapéutico que se utiliza para el tratamiento de las IRC. Esta se fundamenta en la difusión pasiva del agua y electrolitos de la sangre, a través de una membrana semipermeable. El proceso consiste en bombear sangre y solución para hemodiálisis de modo continuo, de manera que difundan las sustancias a través de la membrana, lo cual mejora el funcionamiento del organismo del paciente y su calidad de vida.<sup>2</sup>

Para desarrollar con éxito esta terapia, es necesario contar con un líquido de composición adecuada que permita el intercambio de iones. Este se conoce en la industria como solución concentrada para hemodiálisis.<sup>1,2</sup> El Laboratorio Farmacéutico Oriente (LFO), tradicionalmente produjo una solución para hemodiálisis, utilizando acetatos. En estos momentos, se produce una solución concentrada, que es posteriormente mezclada con bicarbonato de sodio. Este último se suministra a los hospitales, conjuntamente con la solución concentrada. Esta solución, es una mezcla homogénea de cloruro de sodio, potasio, calcio y magnesio en agua pura, con una concentración cercana a la composición electrolítica del plasma.<sup>3</sup>

En la actualidad, el empleo de bicarbonatos en sustitución del acetato, es una novedad en el tratamiento de pacientes con IRC, pues produce un recambio sanguíneo más natural y minimiza las complicaciones durante el proceso. Esto influye positivamente en el mejoramiento del proceso y en la calidad de vida de los enfermos.<sup>4</sup>

Considerando los factores mencionados y la necesidad de garantizar la producción de la solución referida, con altos estándares de calidad, este trabajo tiene el objetivo de evaluar desempeño analítico de los métodos de cuantificación de los iones sodio, potasio, cloruro, calcio y magnesio, en la solución concentrada para hemodiálisis con bicarbonato.

## MÉTODOS

*Determinación de sodio y potasio:* se realizó por el método fotométrico descrito en la farmacopea británica.<sup>5</sup>

*Determinación de cloruros totales, calcio y magnesio:* se realizó por los métodos volumétricos informados en la farmacopea británica.<sup>5</sup>

### EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE VALIDACIÓN

Como todos los procedimientos utilizados, aparecen informados en los compendios oficiales, en este trabajo solo se realiza una evaluación del desempeño de cada uno de ellos, en las condiciones experimentales de la «Empresa Laboratorio Farmacéutico Oriente».

En todos los casos se utilizó el método de placebo enriquecido.<sup>6,7</sup> Para ello, se preparó como placebo, la solución concentrada para hemodiálisis, utilizando todas las sustancias que esta contiene, en las mismas proporciones que indica la literatura,<sup>7</sup> con excepción del analito a estudiar en cada caso. Posteriormente, se añadió el analito en concentraciones desde 60-140 %. Se verificaron los parámetros linealidad, exactitud y precisión.<sup>7</sup>

#### Linealidad

Se realizaron las determinaciones correspondientes en cada nivel, por quintuplicado. Se calculó; en cada caso; la cantidad recuperada. Se realizaron un análisis de varianza para verificar homocedasticidad; un análisis de regresión simple por el método de los mínimos cuadrados, utilizando como variable independiente las cantidades añadidas y como respuesta las cantidades recuperadas; además, un análisis de varianza de la regresión, para evaluar la significación de la relación entre ambas variables. Se determinó el coeficiente de variación del factor respuesta en cada nivel. Se ejecutó la prueba de linealidad y la de proporcionalidad. Se calculó el % de recuperación en cada nivel.<sup>6,7</sup>

#### Exactitud

Se utilizaron los niveles de concentración 80, 100 y 120 %, de cada analito, en cada caso. Se determinaron la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación en cada nivel de adición. Posteriormente, se realizó una prueba de Cochran de contraste de varianzas, para evaluar si existían diferencias estadísticas significativas entre las desviaciones estándar (homogeneidad), en cada uno de los niveles de adición. Los criterios de aceptación para exactitud se establecieron según la literatura.<sup>6,7</sup>

#### Precisión

*Repetibilidad:* Se realizó con la utilización del mismo analista, en el Laboratorio de Control de Calidad del LFO. En todos los casos se empleó la muestra al 100 %. Se realizaron 10 réplicas de análisis, en las mismas condiciones de temperatura ( $25 \pm 2$  °C) y humedad de 53 %. Se utilizó el mismo equipamiento y cristalería; se

realizaron dos determinaciones cada hora, durante 5 h consecutivas. Se tomó como criterio de aceptación que el coeficiente de variación de todas las determinaciones fuera menor que 1,5 %.<sup>6,7</sup>

*Reproducibilidad:* Se realizó mediante la comparación de los resultados en la aplicación de cada uno de los métodos sobre las muestras. Se utilizó el valor de concentración nominal (100 %), realizándose 10 réplicas en cada caso. Se efectuaron las determinaciones en el Laboratorio de Control de la Calidad del LFO y en el Laboratorio de Tecnología y Control de Medicamentos de la Universidad de Oriente. Se realizó una prueba t de comparación de medias para evaluar si existían diferencias significativas en los resultados obtenidos en ambos laboratorios. El de la recuperación no debía ser mayor que 3 %.<sup>6,7</sup>

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y PROCESAMIENTO DE DATOS

Los resultados obtenidos fueron procesados de forma automatizada, con el empleo del programa estadístico Statgraphics Plus versión 5.1 (StatEase Co., MA, USA).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### EVALUACIÓN DE LA LINEALIDAD

Los valores de recuperación obtenidos (tabla 1) en todos los métodos evaluados y en todos los niveles de concentración estudiados se encuentran dentro del rango establecido por la literatura ( $100 \pm 5$  %).<sup>6,7</sup> De igual modo, el coeficiente de variación del factor de respuesta en todos los casos estuvieron por debajo de 2,5 %, valor exigido por la literatura.<sup>6,7</sup>

Se observó, en todos los casos, la existencia de homocedasticidad, con valores de probabilidad de La prueba de Levene (contraste de varianzas) mayores que 0,05 (tabla 2). Estos resultados indican que la respuesta de los métodos fotométrico (sodio y potasio) y volumétricos (cloruros, calcio y magnesio) no se afectan por la concentración del analito, en el intervalo de concentraciones estudiado, en cada caso.<sup>7</sup>

En todos los casos la pendiente de la curva de recuperación fue superior a 0,99 (tabla 2). Los valores del coeficiente de correlación (r) observados, en todos los casos, resultaron superiores a 0,99, con valores de  $r^2$  superiores a 0,98. Estos valores cumplen con los criterios para linealidad, recomendados por la literatura.<sup>6,7</sup>

En todos los casos, las pruebas de linealidad (pendiente estadísticamente igual a uno) y de proporcionalidad (intercepto estadísticamente igual a cero); ofrecieron valores de probabilidad de la prueba t de Student mayores que el nivel de significación (0,05), por lo que se cumplieron los criterios de aceptación para linealidad.<sup>6,7</sup>

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, puede afirmarse que los cinco métodos son lineales, en el intervalo de concentraciones considerados y en las condiciones analíticas practicadas.

**Tabla 1.** Resultados obtenidos en el estudio de recuperación para linealidad

Iones	Parámetro	60 %	80 %	100 %	120 %	140 %
Sodio	Ca	4,9700	6,6300	8,2880	9,9500	11,6000
	Cr	4,9200	6,6000	8,4000	9,9700	11,7000
	CV	1,39	1,58	0,67	1,05	0,59
	% R	99,09	99,55	101,35	100,29	100,86
Potasio	Ca	0,1600	0,2210	0,2731	0,3260	0,3800
	Cr	0,1608	0,2171	0,2712	0,3330	0,3818
	CV	0,75	0,51	0,34	0,28	0,44
	% R	100,49	99,75	99,7	102,14	100,48
Cloruros	Ca	8,1420	10,8500	13,5700	16,2840	18,9900
	Cr	8,2240	10,9260	13,5560	16,2940	18,9780
	CV	0,06	0,74	0,36	0,30	0,02
	% R	101,01	100,7	99,9	100,06	99,94
Calcio	Ca	0,1470	0,1960	0,2450	0,2940	0,3430
	Cr	0,1486	0,1964	0,2459	0,2978	0,3458
	CV	2,16	1,93	0,56	0,7	0,65
	% R	101,09	100,2	100,37	101,29	100,82
Magnesio	Ca	0.0252	0.0336	0.0420	0.0504	0.0588
	Cr	0,0253	0,0339	0,0411	0,0506	0,0601
	CV	2,02	1,57	2,17	1,46	1,06
	% R	100,32	101,01	97,84	100,48	102,18

Ca: cantidad añadida; Cr: cantidad recuperada; CV: coeficiente de variación; R: recuperación.

#### EVALUACIÓN DE LA EXACTITUD

El contraste de varianza realizado (prueba C de Cochran) para evaluar la homogeneidad de las desviaciones estándar (tabla 3); mostró valores de probabilidad superiores a 0,05. Esto indica que existe igualdad estadística entre las desviaciones estándar en cada uno de los niveles de concentración evaluados, en todos los métodos examinados en esta investigación.

El coeficiente de variación global en todos los métodos fue menor que 1,75 %. En todos los casos se cumple con los requerimientos de la literatura que señala sea menor que 3 %.<sup>6</sup> En todos los métodos, los % de recuperación en cada nivel (tabla 3), se observaron dentro de los límites que informa la literatura especializada (100 ± 3 %).<sup>6,7</sup>

Estos resultados, demuestran que en el intervalo de concentraciones evaluado, la concentración del analito no influye en los valores de recuperación y, por tanto, los métodos utilizados para la cuantificación de los iones presentes en la solución concentrada para hemodiálisis con bicarbonato; en el intervalo de concentraciones practicado en cada caso; son exactos.

**Tabla 2.** Estadígrafos calculados para la evaluación de la linealidad de los iones sodio, potasio, cloruro, calcio y magnesio

Parámetro	Límites*	Sodio	Potasio	Cloruros	Calcio	Magnesio
Pendiente (m)	> 0,96	1,0211	1,0024	0,9966	1,0118	1,0273
Intercepto (a)	-	-0,1413	0,0012	0,0575	-0,0010	-0,0010
Coefficiente de correlación (r)	> 0,99	0,9998	0,9992	0,9999	0,9999	0,9987
Coefficiente de determinación (r <sup>2</sup> )	> 0,98	0,9997	0,9985	0,9999	0,9998	0,9974
Prueba de linealidad	m= 1	t= 2,06 p=0,1316	t= 0,11 p=0,9188	t= -0,73 p= 0,5186	t= 1,51 p= 0,2270	t= 0,9113 p= 0,4293
Prueba de proporcionalidad	a= 0	t= -1,60 p= 0,2069	t= 0,19 p=0,8566	t= 0,89 p= 0,4397	t= -0,50 p=0,6497	t= -0,72 p=0,5212
Análisis de varianza (Prueba de Levene)	p> 0,05	Prueba= 0,50 p= 0,7360	Prueba=1,35 p= 0,2870	Prueba=0,10 p= 0,9793	Prueba=1,02 p= 0,4212	Prueba= 0,64 p= 0,6414

\* CECMED. Regulación 41/2007; Eurachem, 2003.

**Tabla 3.** Resultados de la evaluación del parámetro exactitud para los iones sodio, potasio, cloruros, magnesio y calcio en la solución concentrada para hemodiálisis con bicarbonato

Parámetro	Sodio			Potasio			Cloruros totales				Calcio			Magnesio		
	80 %	100 %	120 %	80 %	100 %	120 %	80 %	80 %	100 %	120 %	100 %	120 %	80 %	100 %	120 %	
CV (%)	1,58	0,67	1,05	0,51	0,34	0,28	0,74	0,36	0,3	0,70	0,04	0,03	1,57	2,17	1,46	
R (%)	99,55	101,35	100,29	99,75	99,70	102,14	100,70	100,20	100,37	101,29	99,90	100,06	101,01	97,84	100,48	
Prueba C de Cochran	C= 0,4375; p= 0,8259			C= 0,4116; p= 0,9516			C = 0,5714; p= 0,3325				C= 0,6969; p= 0,0958			C= 0,4941; p= 0,5846		
CV global (%)	1,10			0,37			0,46				1,06			1,73		
R global (%)	100,39			100,53			100,22				100,62			99,77		

CV: coeficiente de variación; R: recuperación.

**Tabla 4.** Resultados de la evaluación de la repetibilidad de los métodos de cuantificación de los iones sodio, potasio, cloruros, calcio y magnesio en la solución concentrada para hemodiálisis con bicarbonato

Parámetro	Sodio	Potasio	Cloruros	Calcio	Magnesio
Media (g)	8,3502	0,2725	13,6600	0,1634	0,0419
Desviación estándar	0,1200	0,0020	0,0460	0,0020	0,0005
Coefficiente variación (%)	1,44	0,73	0,34	1,22	1,13

#### EVALUACIÓN DE LA PRECISIÓN

*Repetibilidad.* En todos los casos se observó una baja dispersión de los resultados alrededor del valor medio (coeficiente de variación menor que 1,45 %) (tabla 4). Esto indica que la variabilidad intrínseca del proceso es muy baja, además de observarse muy poca variabilidad intraensayos.<sup>6</sup>

*Reproducibilidad.* Al comparar los valores medios de la respuesta de todos los métodos analíticos, obtenidos en los dos laboratorios, se observaron valores de probabilidad superiores a 0,05 (tabla 5). Este hecho demuestra que no existen diferencias en los resultados que se obtienen para cada uno de los iones, cuando la determinación se realiza en laboratorios diferentes. En todos los casos el coeficiente de variación global estuvo por debajo de 1,5 %, criterio que cumple con lo establecido en la literatura (3 %).<sup>6</sup>

**Tabla 5.** Resultados de la evaluación de la reproducibilidad de los métodos de cuantificación de los iones sodio, potasio, cloruros totales, calcio y magnesio en la solución concentrada para hemodiálisis con bicarbonato

Iones	Igualdad de las medias de la respuesta entre los dos laboratorios (Criterio: $p > 0,05$ ) <sup>5,6</sup>	Coefficiente variación global (%) (Criterio $CV < 3\%$ ) <sup>5,6</sup>
Sodio	t= 0,73; p= 0,4860	1,30
Potasio	t= -1,63; p= 0,1411	0,48
Cloruro	t= -1,60; p= 0,1469	0,25
Calcio	t= -0,93; p= 0,3773	0,68
Magnesio	t = -1,29; p= 0,2339	1,37

El resultado de la evaluación de la reproducibilidad de estos procedimientos de análisis, conjuntamente con los resultados obtenidos en la evaluación de la repetibilidad, es un indicador de que los cinco métodos son precisos y aportan resultados fiables, cuando se aplican en las condiciones evaluadas en esta investigación.

Los resultados obtenidos en esta investigación, para los cinco métodos, son satisfactorios. Esto resulta especialmente significativo, en la determinación de los iones calcio y magnesio. En su determinación, si no se ajustan bien las condiciones de pH y si el analista no es muy cuidadoso, la sal disódica de EDTA puede acomplejar a ambos iones y sobrepasarse el punto final de la reacción, riesgos que se incrementan con la variación en las concentraciones de estos analitos.<sup>8</sup>



En estos resultados influyeron positivamente (no solo para calcio y magnesio, sino para todos los iones determinados), la buena calidad de los reactivos empleados y la precisión en la preparación de las soluciones y la calidad del agua que se utilizó (conductividad menor que  $4 \mu\Omega$ ), así como la excelente calidad de las sustancias de referencias.<sup>7</sup>

Por otra parte, la cristalería y el equipamiento utilizado fueron calibrados y considerados aptos para el uso. En este sentido, el LFO dispone de toda la documentación que así lo avala. Se mantuvo un estricto control sobre la manipulación y la conservación de las muestras y se garantizó la homogeneidad de estas durante los ensayos, tal como sugiere la literatura especializada.<sup>7</sup>

Los métodos de cuantificación de los iones presentes en la solución concentrada para hemodiálisis con bicarbonato, tienen un adecuado desempeño analítico y permiten obtener resultados fiables, en las condiciones analíticas practicadas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gunter W, Eberhard R. Tratamiento combinado con inhibiciones de la ECA y bloqueantes de la angiotensina II para detener la progresión de la enfermedad renal crónica: fisiopatología e indicaciones. *Kidney Internacional*. 2005;1(1):1-14.
2. Pérez-Oliva Díaz JF, Magrans BC, Almaguer LM, Zambrano CAE, Delgado G, Pérez CR, et al. Guías de buenas prácticas en hemodiálisis. La Habana: INNEF; 2003.
3. United States Pharmacopoeia. The official compendia of standard. Rockville: Mack Printing; 2007. [CD-ROM].
4. Pecoits R, Abensur H, Cueto MAM, Domínguez J, Divino JC, Fernández CJ. Overview of peritoneal dialysis in Latin America. *Perit Dial Int*. 2007;27:316-21.
5. British Pharmacopoeia. London: Stationary Office; 2010. [CD-ROM].
6. Guide Eurachem. The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. 2003. [First english edition].
7. MINSAP. Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos. Regulación 47/2007. Validación de métodos analíticos. La Habana: MINSAP; 2006.
8. Skoog D, West DM. Introducción a la química analítica. Barcelona: Editorial Reverté; 1980. p. 257-63.

Recibido: 8 de julio de 2013.

Aprobado: 22 de agosto de 2013.

*Juan Carlos Benavides Pérez*. Laboratorio Farmacéutico Oriente. Santiago de Cuba. Cuba. Correo electrónico: benavides@lfo.quimefa.cu