



Application Note AN-D-003

Contrôle de la qualité des concentrés de dialyse

Analyse complète des anions, de l'acétate et des cations par IC

L'hémodialyse est un traitement médical appliqué pour maintenir la vie lorsque les fonctions rénales déclinent et que les capacités de détoxicification endogène des reins échouent [1,2]. Les liquides de dialyse (solutions d'hémodialyse), composés d'électrolytes, de tampons et de glucides (glucose) identiques au sang, sont un élément central de ce traitement [1,3–5]. Le gradient de diffusion entre le sang et le liquide de dialyse permet l'élimination des déchets métaboliques et la normalisation de la teneur

en électrolytes [1,2]. Les liquides de dialyse sont préparés en ajoutant des concentrés contenant des électrolytes, des glucides et des tampons à l'eau. Ces produits requièrent les normes les plus élevées en matière de fabrication et de préparation sur site, spécifiées par exemple par la Pharmacopée européenne, la norme ISO 11663, la norme ISO 23500 ou la norme ISO 13958 (pour les concentrés d'hémodialyse) [1,2,4].

La spectroscopie d'absorption atomique (AAS) est

souvent utilisée à des fins de contrôle qualité, mais elle est limitée aux composants cationiques (métalliques) et à un nombre limité d'analytes déterminés simultanément. La chromatographie ionique (IC) est une solution automatisée, rapide et sensible pour quantifier avec précision les composants cationiques et anioniques, y compris l'acétate, simultanément. Cette approche globale fait de l'IC

une alternative économique aux techniques analytiques traditionnelles pour le contrôle qualité des solutions pharmaceutiques comme les concentrés d'hémodialyse. La facilité d'utilisation, la précision et les capacités de débit élevées des CI augmentent la productivité et répondent aux exigences des laboratoires de routine et de recherche modernes.

SAMPLE AND SAMPLE PREPARATION

Les liquides de dialyse doivent imiter étroitement la composition du plasma sanguin pour éliminer les composants toxiques du sang par diffusion. Ces fluides sont généralement composés d'eau, d'électrolytes qui fournissent des cations et des anions (par exemple, sodium, potassium, calcium, chlorure), de tampons (par exemple, acétate ou carbonate) et de glucides (par exemple, glucose) [1,3–5]. Dans cet exemple d'application, la teneur en cations, en anions et en acétate a été analysée dans deux concentrés d'hémodialyse (**Tableau 1**). Des résultats optimaux ont été obtenus avec une dilution comprise entre 1:500 et 1:750 en utilisant de l'eau ultrapure (UPW).

Les concentrés de dialyse ont été fournis par MTN Neubrandenburg GmbH, une société Nipro, un producteur établi de produits d'hémodialyse de haute qualité. Les deux étaient des concentrés acides (concentrés A) pour la dialyse au bicarbonate avec des compositions différentes (**Tableau 1**). La production de tels concentrés est soumise à des critères de qualité normalisés stricts tels que, par exemple, ISO 13958, ISO 11663 et ANSI/AAMI RD 61:2000 [1]. Des normes strictes s'appliquent également aux autres composants nécessaires à la préparation du liquide de dialyse final, notamment l'eau et les concentrés de base (concentrés B) [1,3–5].

EXPERIMENTAL

Les anions et les cations ont été analysés avec une configuration CI à double canal (**Figure 1**) en utilisant la détection de conductivité (supprimée séquentiellement pour les anions). Un détecteur

UV/VIS (détecteur UV/VIS professionnel Vario 947) peut également être utilisé pour exclure les contaminations en nitrites, nitrates et bromures dans les concentrés.

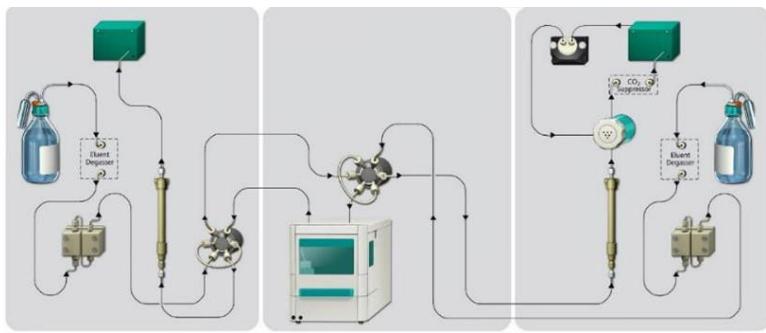


Figure 1. Chemin d'écoulement pour un système Metrohm IC à double canal. L'injection a été réalisée à l'aide du 889 Sample Center – cool (milieu). La conductivité non supprimée a été utilisée pour la détection des cations, tandis que les anions ont été détectés avec une conductivité supprimée ainsi que les UV (205 nm).

Ces impuretés peuvent être déterminées avec une grande précision et sensibilité même en présence de concentrations élevées de chlorure (Tableau 1). Les tests de performance de la méthode avec des concentrés enrichis en nitrates et en nitrites ont donné des taux de récupération de 90 à 110 %.

Tableau 1. Composition (moyenne et fourchette) de deux concentrés d'acide d'hémodialyse testés (concentrés A) selon le fabricant.

Concentré A	#293	#570
Sodium (mol/L)	3,61 (3,51–3,70)	4,64 (4,52–4,75)
Potassium (mmol/L)	70,00 (66,50–73,50)	90,00 (85,50–94,50)
Magnésium (mmol/L)	17,50 (16,63–18,37)	22,50 (21,38–23,62)
Calcium (mmol/L)	52,50 (49,88–55,12)	56,25 (53,44–59,06)
Chlorure (mol/L)	3,82 (3,62–4,01)	4,88 (4,64–5,13)
Acide acétique (mol/L)	0,11 (0,10–0,11)	0,14 (0,13–0,14)
Glucose (g/L)	35,00 (33,25–36,75)	45,00 (42,75–47,75)

EXPERIMENTAL

Le système complet (**Figure 1**) était contrôlée par Waters EmpowerTM 3 logiciels. Un auto-échantillonneur réfrigéré (889 IC Sample Center – cool) a été utilisé pour prolonger la stabilité des échantillons hautement dilués.

Les anions ont été séparés à l'aide du Metrosep A Supp 19 - colonne 150/4,0 (éluant et débit standard, **Figure 2A, C**). Cette colonne IC haute capacité présente d'excellentes capacités de séparation, même pour les matrices fortement chargées.

Les propriétés uniques de la colonne Metrosep A Supp 19 permettent une séparation et une quantification adéquates de l'acétate même en présence de concentrations élevées de chlorure. Outre l'acétate (0,4–20 mg/L) et le chlorure (6–300 mg/L), l'étalonnage du système comprenait le fluorure (0,02–1 mg/L), le nitrite et le bromure (0,04–2 mg/L), ainsi que le nitrate, le phosphate et le

sulfate (0,2–10 mg/L).

Les cations ont été séparés à l'aide d'un Metrosep C 6 - Colonne 150/4,0 (éluant standard, débit : 1,3 mL/min, **Figure 2 B**). L'étalonnage des cations a été effectué pour le sodium (4–200 mg/L), l'ammonium (0,02–1 mg/L) et le potassium, le calcium et le magnésium (0,2–10 mg/L). La chimie spéciale de la colonne Metrosep C 6 garantit des résolutions de pic optimales et permet la quantification de faibles concentrations d'analytes (par exemple, l'ammonium) qui éluent à proximité de composants plus concentrés (par exemple, le sodium).

Les anions et les cations ont été analysés simultanément à partir du même échantillon en moins de 25 minutes (**Figure 2**). La robustesse des deux colonnes de séparation permet des débits élevés, accélérant ainsi la durée d'exécution globale.

RESULTS

Un résumé des résultats, y compris les récupérations calculées par rapport aux valeurs du fabricant, est présenté dans **Tableau 2**. Des écarts types relatifs (RSD) inférieurs à 1 % pour les anions et les cations pour des mesures d'échantillons répétées révèlent une répétabilité adéquate de la méthode. Les récupérations calculées selon les données du fabricant se situent entre 91 et 106 % pour tous les analytes (**Tableaux 1 et 2**).

Les principaux composants des concentrés A testés sont le sodium et le chlorure, correspondant aux principales fractions du plasma sanguin, avec

respectivement 136–145 mEq/L et 98–106 mEq/L [2]. Cependant, cela montre également que ces concentrés sont des solutions hautement salines, difficiles à analyser et nécessitant souvent des étapes d'élimination de la matrice pour une détermination précise de l'analyte. Lorsqu'ils sont présents en concentrations élevées, le sodium et le chlorure peuvent chevaucher les pics voisins (par exemple, l'acétate, le nitrite ou l'ammonium), rendant leur quantification impossible ou surchargeant la colonne, entraînant un élargissement des pics et des décalages substantiels du temps de rétention.

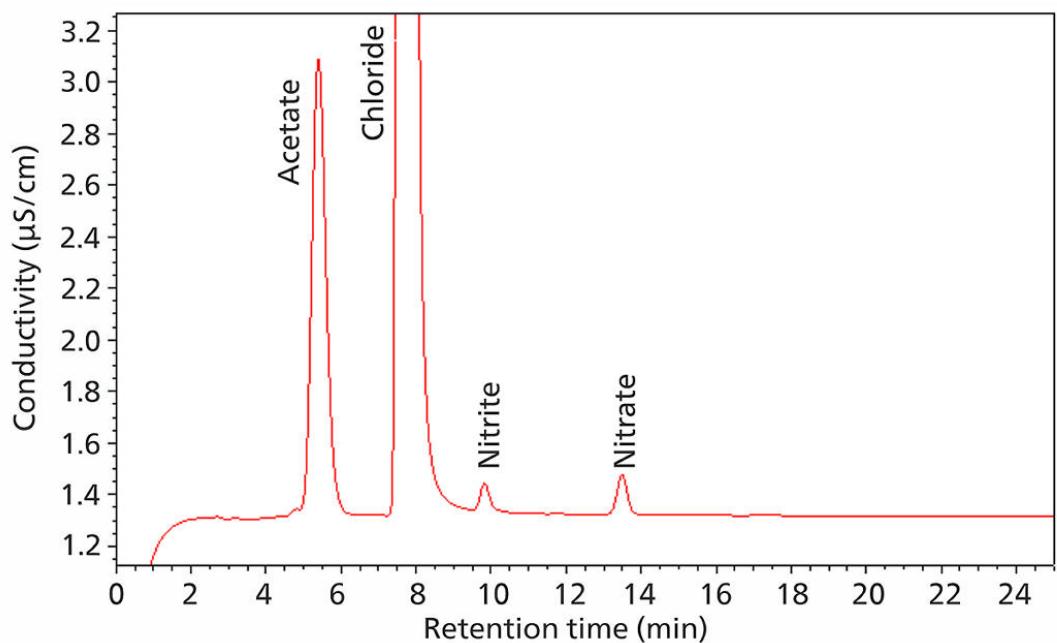


Figure 2 A.

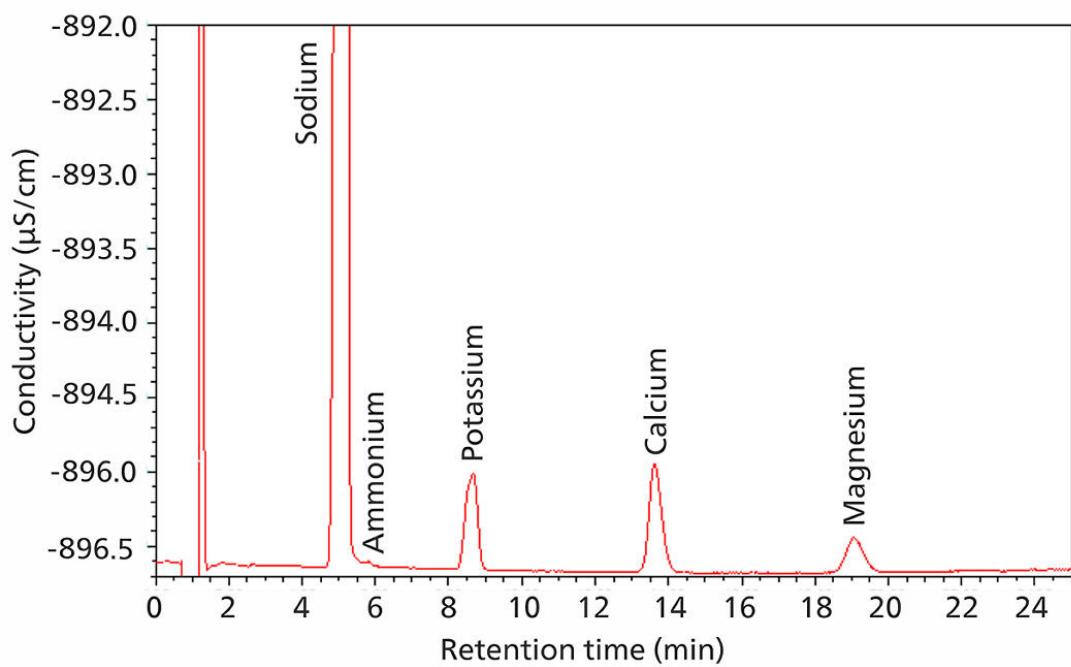


Figure 2 B.

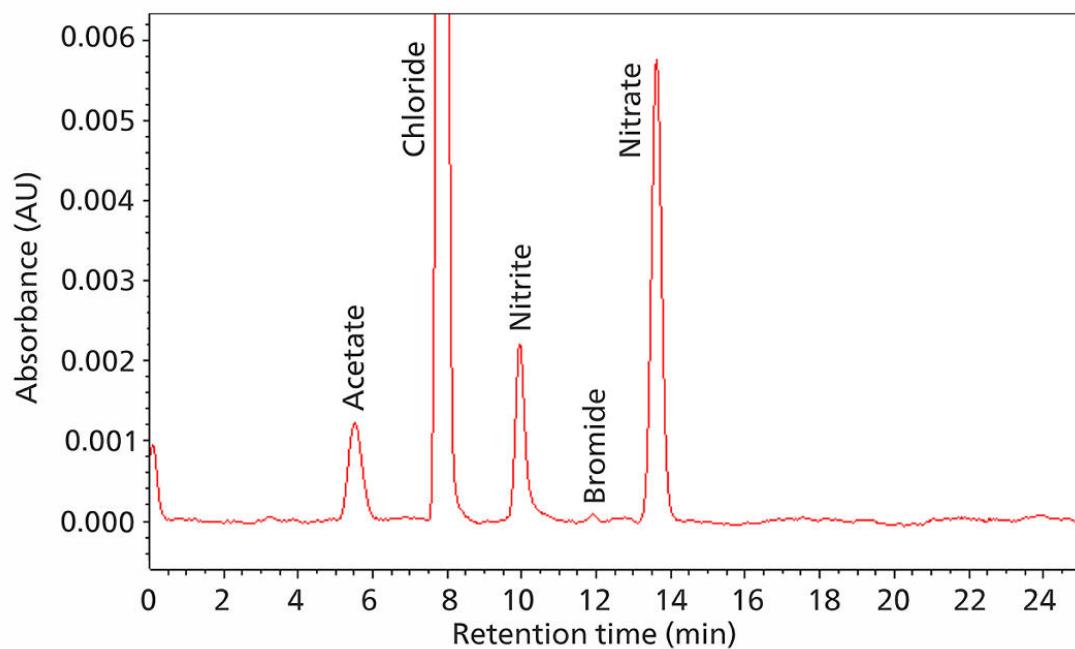


Figure 2 C. Chromatogrammes montrant les signaux de conductivité (A, B) et UV (C) pour l'analyse IC des anions (y compris l'acétate) et des cations dans l'échantillon de concentré d'hémodialyse n° 293. Tous les échantillons ont été dilués d'un facteur 750 avec de l'eau ultra pure. Le volume d'injection était de 20 µL.

Pour les concentrés A, la détermination précise de tous les composants (acétate, chlorure, sodium, potassium, calcium et magnésium, Tableau 1) est indispensable et nécessite une séparation appropriée des pics combinée à des pics nets et symétriques. L'utilisation des colonnes Metrosep A Supp 19 et Metrosep C 6 évite les problèmes mentionnés ci-dessus : les capacités élevées des colonnes empêchent la surcharge de la matrice et garantissent une excellente séparation des pics.

Tableau 2. Données sur les principaux composants des échantillons de concentré A d'hémodialyse n° 293 et n° 570 MTN Neubrandenburg GmbH, une société Nipro. Les données montrent les valeurs moyennes et les RSD pour deux échantillons préparés et analysés séparément (dilution 1:500) ainsi que les récupérations basées sur les données du fabricant.

	#293 Conc _{Moyenne} \pm ET (écart type relatif (%))	Récupération (%)	#570 Conc _{Moyenne} \pm ET (écart type relatif (%))	Récupération (%)
Sodium (mol/L)	3,70 \pm 0,04 (1,0)	103	4,90 \pm 0,03 (0,6)	106
Potassium (mmol/L)	66,21 \pm 0,52 (0,8)	95	86,75 \pm 0,42 (0,5)	96
Magnésium (mmol/L)	15,95 \pm 0,11 (0,7)	91	21,47 \pm 0,08 (0,4)	96
Calcium (mmol/L)	50,36 \pm 0,56 (1,1)	96	55,18 \pm 0,19 (0,3)	98
Chlorure (mol/L)	3,84 \pm 0,01 (0,2)	103	4,97 \pm 0,01 (0,1)	104
Acide acétique (mol/L)	0,11 \pm <0,01 (<0,1)	102	0,14 \pm <0,01 (0,2)	102

L'acétate (\approx 8 g/L) peut être déterminé directement à côté de concentrations élevées de chlorure (\approx 180 g/L) sur la colonne Metrosep A Supp 19. Aucune étape supplémentaire n'est requise, telle que l'élimination de la matrice ou l'utilisation de différents facteurs de dilution. Les cations peuvent être déterminés en parallèle à partir du même échantillon

(Figure 1, canal cationique) car la colonne Metrosep C 6 est également idéale pour les échantillons à matrice élevée.

Pour analyser les impuretés potentielles nitrite, bromure et nitrate, une sensibilité plus élevée peut être obtenue en utilisant un détecteur UV/VIS à une longueur d'onde de 205 nm.

Les concentrés de dialyse utilisés pour les traitements d'hémodialyse sont des solutions hautement salines, nécessitant des analyses de contrôle qualité tolérantes à la matrice, précises et sensibles. En utilisant un système IC à double canal, les anions et les cations peuvent être déterminés avec précision et simultanément à partir du même échantillon. En moins de 25 minutes, les principaux composants concentrés d'acétate, de chlorure, de sodium, de potassium, de calcium et de magnésium, ainsi que les impuretés (par exemple, le nitrite, le nitrate ou l'ammonium) peuvent être quantifiés. Bien que l'analyse des matrices à haute salinité soit souvent difficile, les colonnes de séparation à haute capacité Metrosep A Supp 19 et Metrosep C 6 réduire les risques courants de surcharge de colonne et

d'identification et de quantification inexactes des pics. L'analyse simultanée des composants anioniques et cationiques et des impuretés permet un examen complet de tous les analytes à partir d'un seul échantillon, présentant l'IC comme une technique d'analyse précise, sensible, efficace et à haut débit pour le contrôle qualité des solutions pharmaceutiques telles que les concentrés d'hémodialyse.

Les systèmes Metrohm IC peuvent être entièrement contrôlés (y compris les fonctions intelligentes et automatisées) par différents logiciels : MagIC Net (Metrohm), EmpowerTM 3 (Waters) ou OpenLab CDS (Agilent). Ces options offrent une solution flexible pour de nombreux laboratoires d'analyse.

REFERENCES

- [1] Hoenich, N. ; Thijssen, S. ; Kitzler, T. ; Lévin, R. ; Ronco, C. Impact de la qualité de l'eau et de la composition du liquide de dialyse sur la pratique de la dialyse. *Unité de puissance de secours* 2008, 26 (1), 6–11. <https://doi.org/10.1159/000110556>.
- [2] Hoenich, N. A.; Ronco, C. Liquide d'hémodialyse : composition et importance clinique. *Unité de puissance de secours* 2007, 25 (1), 62–68. <https://doi.org/10.1159/000096400>.
- [3] Coulliette, A. D.; Arduino, M. J. Hémodialyse et qualité de l'eau. *Séminaires en dialyse* 2013, 26 (4), 427–438. <https://doi.org/10.1111/sdi.12113>.
- [4] Parker, J. N.; Parker, P. M. *Hémodialyse - Dictionnaire médical, bibliographie et guide de recherche annoté sur les références Internet*; ICON Health Publications, États-Unis, 2004.
- [5] Catto, G. R. D. *Hémodialyse*; Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, Londres, 1989.

Référence interne : Circuit intégré d'AW CH-1455-

042022

CONTACT

Metrohm France
13, avenue du Québec - CS
90038
91978 VILLEBON
COURTABOEUF CEDEX

info@metrohm.fr