

# VALIDAÇÃO DA DETERMINAÇÃO DE CITRATO TOTAL EM SOLUÇÕES ANTICOAGULANTES DE BOLSAS DE SANGUE POR CLAE- UV

Anna Maria B. S. Fust<sup>1,2</sup> \*(PQ), Michele F. Silva<sup>1</sup> (PG), Renata F. D. Vale<sup>1</sup> (PQ), Fernanda S. Fernandes<sup>1</sup> (IC), Silvana do C. Jacob<sup>2</sup> (PQ), Mary Nei de M. Freitas<sup>1</sup> (IC) \*anna.fust@incqs.fiocruz.br @incqs.fiocruz.br

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Av. Brasil, 4365 - Mangueiras, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, CEP: 21.040-900. 1) Departamento de química; 2) Programa de pós-graduação em vigilância sanitária

Palavras Chave: ácido cítrico/citrato de sódio; validação analítica.

## Introdução

As bolsas de sangue são produtos destinados a coleta, armazenamento, processamento, e administração do sangue e seus componentes e, podem conter ou não soluções anticoagulantes e/ou preservadoras. O regulamento técnico utilizado para o registro deste produto é a RDC N° 35 de 12 de junho de 2014, que estabelece o controle da qualidade das bolsas de sangue no Brasil e preconiza os ensaios físico-químicos que devem ser realizados.<sup>1</sup> Um destes ensaios é a determinação de citrato total, que atua como uma solução tampão de modo a garantir a viabilidade e a função de cada constituinte sanguíneo durante o armazenamento. O objetivo deste estudo foi desenvolver e validar uma metodologia para determinação do teor de citrato total em soluções anticoagulantes, com base na Resolução RE n° 899 de 29 de maio de 2003 da Anvisa, e o documento INMETRO DOQ-CGCRE-008 de fevereiro de 2011, foram avaliados os seguintes parâmetros de validação: especificidade, linearidade e faixa linear de trabalho, limite de detecção, limite de quantificação, exatidão, precisão e robustez.<sup>2,3</sup>

## Resultados e Discussão

A solução amostra escolhida foi do tipo "CPD". Para realização dos ensaios, utilizou-se cromatógrafo líquido de alta eficiência da marca Shimadzu, com os seguintes parâmetros cromatográficos: Coluna cromatográfica: Shodex SH1011; Temperatura do forno: 40°C; detecção em UV a 230 nm; Fase móvel: 0,009 M de ácido sulfúrico; Fluxo de fase móvel: 0,5 mL/min; Volume de injeção: 20 µL. A linearidade foi comprovada após o preparo de uma curva padrão com 7 níveis de concentrações. Verificou-se a homocedasticidade, ausência de desvio de linearidade e significância da regressão. Determinando o Limite de detecção 4,05E - 02 (mg/mL) e de quantificação 1,2E-01(mg/mL). No teste de especificidade, as amostras após autoclavação, mostraram resultados cromatográficos com ausência de interferentes e/ou produtos de degradação na região de interesse. Na exatidão foi realizada e os valores obtidos na determinação da recuperação, indicou que todos os níveis de concentração estavam em conformidade com o estudo desenvolvido por Horwitz(1995) com a recuperação. Para o ensaio da precisão, foi feita uma curva analítica com preparo de 10 amostras na

concentração de 5,0mg da solução anticoagulante CPD, diluídos em 50,00 mL da fase móvel. Foram avaliados os sinais cromatográficos obtidos do analito, observou-se que a variabilidade não interferiu na avaliação apresentando-se dentro dos critérios aceitáveis, Anvisa e Inmetro. Os resultados obtidos de repetitividade permitiram determinar o desvio padrão relativo (DPR), que foi 0,3381%. Na robustez foi avaliada a influência das alterações analíticas sobre os cinco parâmetros de eficiência de separação, foi observada que a coluna cromatográfica, a concentração ácida e a temperatura do forno indicaram maiores influências sobre a quantificação do citrato, mas apresentou valores de DPR inferiores a 2% em todas as combinações analíticas, comprovando que o método é robusto pois não é afetado por pequenas alterações em seus parâmetros.

Tabela 01: Relação de figuras de mérito e resultados obtidos na Validação analítica.

Figuras de Mérito	Resultados
Especificidade	Único sinal no $\lambda$ máx (230 nm)
Efeito matriz	Ausência de efeito matriz
Linearidade	Linear de 1,8 a 2,4 mg/mL
Exatidão	96,7 a 110,5% - Método de adição padrão
Precisão-Repetitividade	$DPR_r = 0,3381\%$
Precisão Intermediária	$DPR(Si) = 0,8255\%$
Robustez	Robusto à pequenas variações

## Conclusões

O estudo comprovou o desempenho do método de acordo com os critérios estabelecidos pela Anvisa e pelo Inmetro. O método proposto foi incorporado na rotina de controle de qualidade para análise de citrato total em soluções anticoagulantes em bolsa de sangue, publicados na RDC N° 35 de 2014.

## Bibliografia

<sup>1</sup>BRASIL. Resolução n° 35, de 12 de junho de 2014. Dispõe sobre bolsas plásticas para coleta, armazenamento e transferência de sangue humano e seus componentes. DOU, Brasília, Seção 1, 16 jun. 2014.

<sup>2</sup>\_\_\_\_\_. Resolução RE N° 899, de 29 de maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e Bioanalíticos. Diário Oficial da União, Brasília, 2 jun. 2003.

<sup>3</sup>INMETRO. Orientações sobre validação de métodos analíticos. Documento de caráter orientativo. Rio de Janeiro, 2011.

