

CALCIO IÓNICO

Artículo cedido por:

Capítulo Bioquímico de la Sociedad Argentina de Terapia Intensiva, a través de su comisión de normalización coordinada por las Dras Gabriela D'Isa y Guillermina Sand

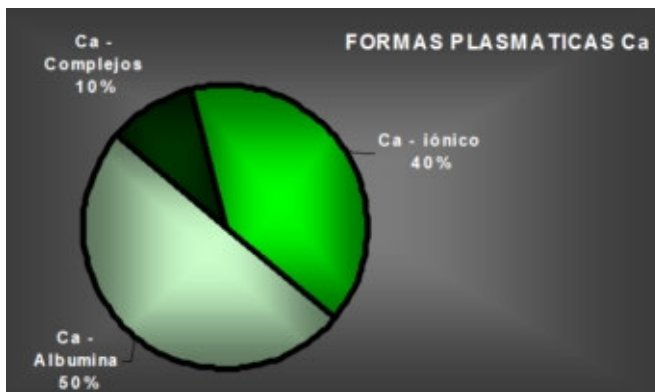
INTRODUCCIÓN

El calcio es uno de los constituyentes iónicos importantes en el organismo. Se combina con el fósforo para formar las sales que constituyen el componente principal de los huesos y los dientes. Tiene un rol esencial en la transmisión neuromuscular del impulso nervioso. Es un componente clave en la cascada de la coagulación, cofactor de muchas enzimas del organismo, influye en la secreción de gastrina y es participe sustancial en la contractilidad muscular.

En el adulto, el calcio corporal total asciende a unos 1.200 g. Más del 90% está fijo en los huesos, principalmente en forma de cristales de hidroxapatita. Apenas el 0.1% del 10% restante se halla en el líquido extracelular. El calcio de los huesos está en equilibrio dinámico permanente con el calcio del líquido extracelular.

El nivel normal de calcio en el plasma es de 8.5 a 10.5 mg/dL. El calcio total en suero es la suma de los componentes ionizados y no ionizados.

Aproximadamente el 50% del calcio sérico total está unido a proteínas (albúmina principalmente), el 10% está unido a otros elementos (citrato, fosfato, lactato, heparina, bicarbonato, sulfato) y el 40% en forma ionizada.



La concentración de calcio y calcio iónico en plasma está controlada principalmente por la acción de la paratohormona (PTH) secretada por la glándula paratiroidea. Son los niveles séricos de calcio iónico los que estimulan o inhiben la producción de PTH.

El calcio iónico es la fracción activa, desde el punto de vista metabólico, fisiológico y bioquímico. Es el responsable de los signos, síntomas y trastornos que se producen cuando se alteran los niveles plasmáticos del calcio.

Las modificaciones del nivel sérico de albúmina producen alteraciones en el nivel del calcio sérico total, pero no influyen sobre la fracción ionizada. La unión del calcio con la albúmina está relacionada con la concentración de protones:

- Al aumentar la concentración de protones, disminuye la cantidad de calcio unido a albúmina y aumenta la concentración de calcio iónico.
- Al disminuir la concentración de protones, aumenta la cantidad de calcio unido a albúmina y disminuye la concentración de calcio iónico.

La relación pH-Calcio iónico es lineal entre valores de pH 7,20 y 7,60 con concentraciones normales de albúmina y proteínas totales.

Por ello es que puede presentarse sintomatología de hipocalcemia sin disminución del calcio total en pacientes que hiperventilan o en aquellos que se ha corregido rápidamente la acidosis metabólica con bicarbonato de sodio. Estas razones, entre otras, determinan que el calcio sérico total, puede no ser un indicador adecuado de una alteración en la homeostasis del calcio.

Consideraciones Preanalíticas:

Aseverar la realidad de un resultado, requiere asegurar la calidad de la muestra analizada y ello exige evaluar las variables preanalíticas que afecten el delicado equilibrio entre el calcio ionizado, calcio unido a ligandos y calcio unido a albúmina.

La problemática se relaciona principalmente con:

- 1) Factores que afecten el pH de la muestra (ejemplo: contacto prolongado con aire).
- 2) Factores que afecten la quelación (ejemplo: anticoagulante inadecuado o en exceso)
- 3) Dilución de la muestra (ejemplo: exceso de anticoagulante líquido)

Con el fin de aportar elementos que permitan diagramar adecuadamente la etapa preanalítica y así lograr estandarizar esta metodología, se realizaron: búsqueda bibliográfica, consultas de normas internacionales, encuestas y experiencias prácticas.

* Tipo de muestra

Suero en condiciones de anaerobiosis: internacionalmente recomendado para muestreo en rutina o investigación. Es una muestra estable, puede conservarse 24hs a 4°C. No tiene anticoagulantes que ejerzan efecto de quelación sobre el ión calcio. Es apta para otras determinaciones que se realizan habitualmente en la rutina de laboratorio y permite detectar rápidamente hemólisis. Tiene como desventaja la demora en la obtención del suero y que el volumen real es aproximadamente la mitad del volumen obtenido de sangre entera.

Sangre entera: es recomendada en pacientes internados, cuando se requieren resultados inmediatos y generalmente en forma simultánea a análisis de gases en sangre y electrolitos. Tiene la ventaja del procesamiento inmediato, aprovechamiento total del volumen de la muestra y de la obtención de todos los resultados del medio interno en caso de utilizar un equipo multiparamétrico. Las principales desventajas son que no puede visualizarse hemólisis inmediatamente, debe procesarse antes de los 30 minutos a temperatura ambiente, resulta difícil estandarizar el tipo de anticoagulante y su dilución adecuada y presenta el riesgo de quelación.

Plasma: no tiene ventajas analíticas sobre el suero o la sangre entera. A semejanza de la sangre entera, debe considerarse la posibilidad de quelación del calcio por el anticoagulante.

Las normas NCCLS no recomiendan esta muestra.

* Anticoagulantes:

Se debe utilizar únicamente HEPARINA.

En el mercado nacional existen diferentes posibilidades:

- 1) Heparina liofilizada balanceada electrolíticamente: es la recomendada. Se utilizan 15 UI/mL de sangre
- 2) Heparina líquida balanceada electrolíticamente: se utilizan 20-25 UI/mL de sangre.
- 3) Heparinas líquidas de sodio o litio: se utilizan 10-15 UI/mL de sangre.

Esta última opción fue la elegida para realizar las experiencias prácticas, por ser la que mejor se adapta a nuestra realidad operativa.

* Toma de muestra

La muestra debería ser extraída sin torniquete. Si esto no resultase posible, la toma de muestra no debería demorar más de 2 minutos. El éxtasis venoso y la actividad muscular (como de bombeo) producen una variación en la concentración de Ca iónico.

No se debe extraer de un brazo en el cual se haya pasado alguna solución o infusión durante la hora previa.

La muestra tomada de vía arterial requiere el lavado previo del catéter para asegurar la ausencia de heparina en la misma.

Si se utiliza anticoagulante, la muestra de sangre obtenida debe agitarse suave e inmediatamente a fin de permitir que se mezcle con él y así evitar la formación de coágulos.

La formación de burbujas o descarga brusca de sangre en el contenedor, puede producir hemólisis, que genera resultados disminuidos de Ca iónico.

Para una toma de muestra capilar se debe arterializar el lecho capilar calentando el área a 42° C antes de realizar la punción. Luego de punzar, eliminar la primer gota y colectar la sangre desde el centro de la gota formada en capilares con heparinas balanceada con calcio.

* Conservación:

La estabilidad del calcio iónico depende del tipo de muestra, de la demora en el procesamiento y de la temperatura de conservación o almacenamiento.

Sangre entera: la muestra debe procesarse dentro de los 30 minutos o con un margen de tiempo no superior a 4 hs si está refrigerada a 4° C (los elementos figurados de la sangre, como consecuencia de los procesos metabólicos "in vitro", generan el incremento de pCO₂ lo cual modifica el pH y el aumento de ácido láctico lo que aumenta el secuestro de calcio iónico)

Suero: usar tubos de recolección al vacío o tubos comunes llenos al máximo para evitar la formación de cámara de aire. Mantener en anaerobiosis y centrifugar tapados antes de las 3 hs, preferentemente en centrífuga refrigerada debido a que la temperatura afecta el pH resultado. El coeficiente de variación por temperatura para calcio iónico es de 0,006 mmol/L por cada 1° C. El suero en anaerobiosis (tubos de recolección al vacío exclusivamente) puede ser guardado, a 4°C, hasta 70 hs.

* Transporte

La muestra debe transportarse refrigerada. No usar hielo seco ya que causa sobresaturación de CO₂ y ello modifica el pH.

* Metodología

Potenciometría con electrodo ión selectivo.

* Informe

Deben constar los siguientes datos:

- 1) Tipo de muestra: sangre entera o suero
- 2) Ca iónico medido y, si el equipo lo permitiese, el corregido a pH 7,40 (expresa el valor independiente del efecto por protones) y pH medido. Nunca informar solo el Ca iónico a pH 7,40
El Ca iónico puede ser reportado como concentración o actividad. Se recomienda informar los valores de Ca iónico como concentración expresada en mmoles/L.
- 3) Valores de Referencia

- En suero (mmol/l)

Sangre de cordón		1.30-1.60
Neonato	2 hs	1.21-1.46
	24 hs	1.10-1.36
	3 días	1.15-1.42
	5 días	1.22-1.48
Adultos jóvenes		1.20-1.38
Adultos		1.16-1.32

- En sangre capilar (mmol/l)

Recién nacido a término		
hs de vida		
	6-36	1.05-1.37
	60-84	1.10-1.42
	108-132	1.20-1.48

"Clinical Guide to Laboratory Tests" de Norbert W. Tietz

* Valores críticos

Son resultados de laboratorio que deben ser transmitidos con máxima prioridad al médico a cargo del paciente porque indican situaciones patológicas que requieren decisiones médicas de carácter inmediato con el fin de corregir la alteración.

Cada institución establecerá los límites por debajo o por encima de los cuales debe existir una notificación inmediata, debido a que los valores críticos son muy dependientes del tipo de pacientes y enfermedad.

Este tipo de resultados debe ser notificado sólo después de haberse confirmado el valor en otro equipo que pueda realizar la misma determinación, en caso de que esto no resulte posible, se repetirá en el mismo instrumento previa verificación que las condiciones operativas son absolutamente válidas. El laboratorio debe registrar la hora en que se realizó la comunicación y el nombre del profesional que recibe la información.

Valores críticos sugeridos para calcio iónico:

- Límite inferior: menores a 0.78 mmol/L
- Límite superior: mayores a 1.60 mmol/L

* Causas de alteración

Las razones por las cuales se pueden hallar valores plasmáticos alterados son:

- Valores aumentados: hiperparatiroidismo primario o secundario, tumores secretores de PTH, ingesta aumentada de vitamina D, mieloma múltiple, disminución de pH plasmático, tratamiento con hidroclorotiazida, tratamiento con litio, reposo prolongado, hipertiroidismo.

- Valores disminuidos: hipoparatiroidismo primario o secundario, pseudohipoparatiroidismo, deficiencia de vitamina D, deficiencia de magnesio, postransfusiones de sangre, pancreatitis, quemaduras, sepsis, posquirúrgicos complicados, falla multiorgánica, diarrea, aumento de pH plasmático, aumento de la fuerza iónica plasmática (aumento Na plasmático), tratamientos con: anticonvulsivantes, danazol, foscarnet, furosemida (etapa inicial), heparina. Hemólisis.

* Experiencias prácticas

Se basaron en los siguientes conceptos:

- 1) La heparina en el espacio muerto de la jeringa produce efecto de dilución.
- 2) La heparina ejerce efecto de quelación sobre calcio iónico.
- 3) La heparina de uso frecuente en clínica es de 5000UI/mL.

Experiencia 1 Objetivo: evaluar se correlacionen los valores de Calcio iónico medidos en muestras de suero en anaerobiosis y en sangre entera con heparina sódica diluida:

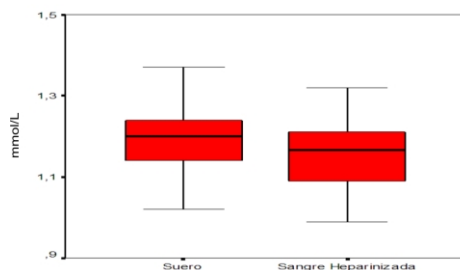
- Teniendo en cuenta la concentración en UI/mL de heparina que no interfieren en la determinación y producen una anticoagulación efectiva, se preparó una dilución 1/7 de heparina 5000 UI/mL con agua destilada.
- Se procesaron en paralelo muestras de sangre entera tomadas con heparina diluida 1/7, en jeringas de 1.0 mL a volumen completo y muestras de suero obtenidas en tubos de vacío.
- Las muestras se procesaron dentro de los 30 minutos de realizada la extracción.
- Las muestras no presentaron hemólisis aún después de 3 horas.
- No hubo muestras de sangre entera coaguladas.

Resultados:

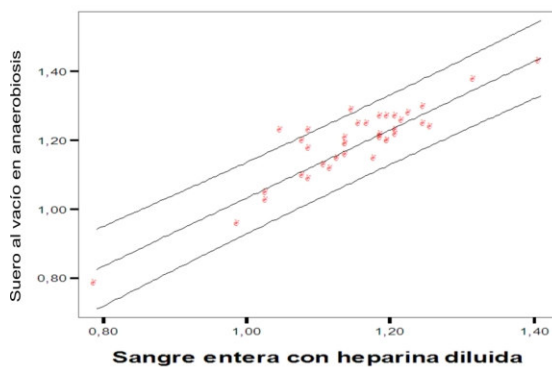
Número de muestras analizadas: 38

Grupo	N	Media Ca ⁺⁺ mmol/l	Desviación Standard
Suero	38	1,18	0,11
Sangre heparina 1/7	38	1,15	0,10

Grafico comparativos (box plot) del Ca⁺⁺ medido en suero y sangre heparinizada



Regresión y Correlación Linea $r = 0,90$ $r^2 = 0,81$ $p < 0,001$



Conclusiones:

- No se observaron diferencias significativas entre las mediciones de Ca⁺⁺ empleando suero en anaerobiosis y sangre entera con heparina diluida ($p=0,208$).
- La correlación y la regresión lineal en la medición de Ca⁺⁺ en los dos tipos de muestra son altas (r y r^2).

- Es válida la medición de Ca^{++} en muestras de sangre entera con heparina 5000 UI/ mL diluida 1/7 en anaerobiosis.

Experiencia 2 Objetivo: evaluar si el efecto dilutorio del anticoagulante (heparina 5000 UI/mL diluido 1/7) en el espacio muerto de la jeringa altera el valor del Ca iónico si la jeringa no es llenada con sangre a volumen completo .

- Se prepararon jeringas de 1 mL y 5mL con heparina diluida 1/7 en agua destilada..
- Se cargaron 2 jeringas, una con volumen completo y la otra 50% de la capacidad de la jeringa.
- Las muestras se procesaron antes de los 30', previa agitación por rotación e inversión, descartándose la primera porción.
- No hubo muestras coaguladas.
- Se comprobó ausencia de hemólisis en ambas jeringas

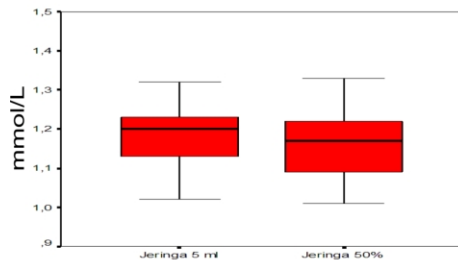
Experiencia 2A: Jeringas de 5 mL a volumen completo y al 50%:

Resultados:

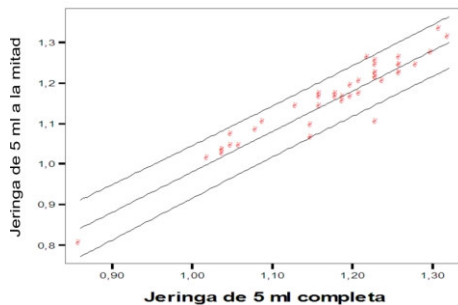
Número de muestras analizadas: 42

Grupo	N	Media	Desviación Standard
Jeringa 5 mL	42	1,18	0,10
Jeringa 5 mL al 50%	42	1,16	0,10

Gráfico comparativo (box plot) del Ca^{++} medido con jeringas de 5 mL



Regresión y Correlación Lineal $r = 0,95$ $r^2 = 0,91$ $p < 0,001$



Conclusiones:

- No se observaron diferencias significativas en la medición de Ca iónico en sangre entera con heparina diluida con jeringa de 5mL a volumen completo y al 50% del volumen ($p=0,376$).
- La correlación y regresión lineal entre las mediciones en las dos condiciones de llenado de jeringa son altas.
- En jeringa de 5 mL al 50 % del volumen no se observa el efecto de dilución.
- Es válida la medición de Ca iónico en muestras de sangre entera con heparina 5000 UI/mL diluida 1/7 en jeringas de 5 mL, cuyo volumen se haya completado a un 50% o más del total.

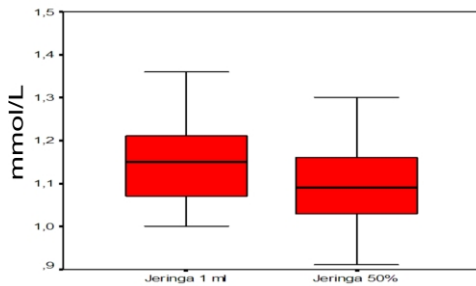
Experiencia 2B: Jeringas de 1 mL a volumen completo y al 50% del volumen.

Resultados:

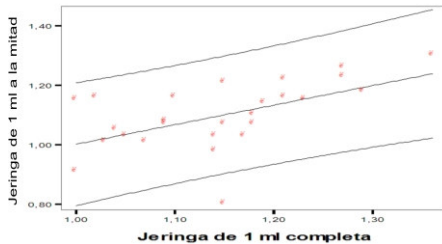
Número de muestras analizadas: 26

Grupo	N	Media	Desviación Standard
Jeringa 1 ml	26	1,15	0,09
Jeringa 1 ml al 50%	26	1,10	0,11

Gráfico comparativo (box plot) del Ca⁺⁺ medido con jeringa de 1 mL



Regresión y Correlación Lineal $r = 0,56$ $r^2 = 0,31$ $p < 0,001$



Conclusiones:

- No se observaron diferencias significativas en la medición de Ca⁺⁺ en sangre entera con heparina diluida con jeringa de 1ml a volumen completo y al 50% del volumen ($p=0,108$).
- Si embargo, la correlación y regresión lineal entre las mediciones en las dos condiciones de llenado de jeringa son bajas ($r^2=0,31$ y $r = -0,56$)
- Por consiguiente no se correlacionan los valores de Ca⁺⁺ obtenidos en jeringas de 1 mL al 50% y a volumen completo. En este caso el efecto dilutorio de la heparina en el espacio muerto de la jeringa es significativo e influye en el resultado final de la medición.
- NO es válida la medición de Ca iónico en muestras de sangre entera con heparina 5000 UI/ mL en jeringas de 1 mL si el volumen no es completo.

Experiencia 3 Objetivos: * Verificar si el tubo al vacío es reemplazable por una muestra obtenida en microtubo completo a volumen total de manera de evitar atmósfera de aire.

* Comprobar la influencia de la exposición al aire con el paso del tiempo.

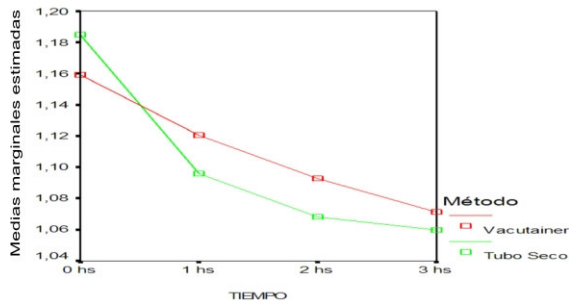
- Se cargó la misma muestra en un tubo al vacío y en un microtubo completo a volumen total.
- Se centrifugaron dentro de las tres horas.
- Se les midió calcio iónico a tiempo 0 (momento de destaparlo) y luego a la hora, 2hs y 3 hs después de destapado.

Resultados :

Número de muestras analizadas: 42

	Método	Media	Desvio Standard
Tiempo 0 minuto	Vacutainer	1,16	,087
	Tubo Seco	1,18	,090
	Total	1,17	,089
Tiempo 60 minutos	Vacutainer	1,12	,084
	Tubo Seco	1,10	,085
	Total	1,11	,085
Tiempo 120 minutos	Vacutainer	1,09	,084
	Tubo Seco	1,07	,092
	Total	1,08	,088
Tiempo 180 minutos	Vacutainer	1,07	,091
	Tubo Seco	1,06	,084
	Total	1,07	,087

Gráfico de Ca⁺⁺ medido en tubo al vacío (vacutainer) y tubo de suero tapado en función del tiempo.



Vacutainer: medición con 60 minutos de diferencia:

	Media	N	Desviación ttp.
Tiempo 0 minuto	1,1652	42	,08808
Tiempo 60 minutos	1,1240	42	,08018

Diferencia altamente significativa (p<0,0001)

Microtubo: medición con 60 minutos de diferencia:

	Media	N	Desviación ttp.
Tiempo 0 minuto	1,1762	37	,09010
Tiempo 60 minutos	1,0943	37	,07876

Diferencia altamente significativa (p<0,0001)

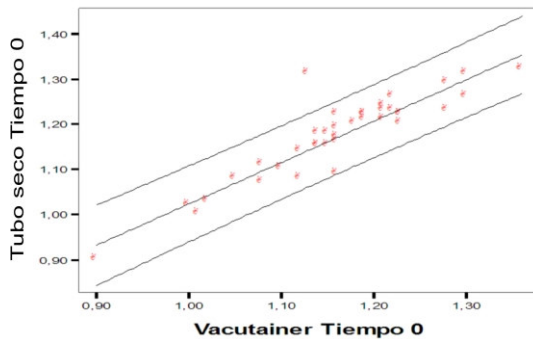
Tanto para las mediciones de muestras obtenidas con vacutainer como las obtenidas en tubos de suero a su volumen total, se observan diferencias significativas entre las mediciones a 0 y 60 minutos.

Se compararon los valores obtenidos a tiempo 0 con vacutainer y microtubo.

Resultados

Regresión y Correlación Lineal a tiempo 0 entre Ca iónico medido en tubo seco y vacutainer

R= 0,95 r²= 0,91 p<0,001



Conclusiones:

- No se observaron diferencias significativas en la medición de Ca^{++} con tubo seco y vacutainer ($p < 0.001$).
- La correlación y regresión lineal entre las mediciones en las dos condiciones a tiempo 0 es alta ($r^2 = 0,91$ y $r = 0.95$).
- Los valores de Ca varían significativamente a través del tiempo (1h) tanto con vacutainer como con tubo seco.

* Es válida la medición de Ca iónico en muestras de suero obtenidas en microtubo a volumen completo para evitar cámara de aire.

* NO es válida la medición después que se ha destapado el mismo, verificándose la variación de los resultados por el contacto de la muestra con el aire.

* Sugerencias

- Instruir adecuadamente al personal a cargo de la extracción respecto a procedimientos que pudiesen afectar los resultados.
- Elegir adecuadamente tipo de muestra a analizar. Es aconsejable suero en anaerobiosis (tubo al vacío) o sangre entera usando heparina diluida (1/7 como mínimo) como anticoagulante. Puede usarse tubo común, llenando completamente hasta volumen total del contenedor, sin dejar cámara de aire.
- Las muestras de suero deben centrifugarse tapadas. Se destapan recién en el momento de procesamiento analítico.
- Las muestras de sangre entera deben ser tomadas en jeringas preparadas con heparina diluida y contener un volumen de sangre superior al 50% de la capacidad de la misma. NO procesar muestras remitidas en jeringas de 1.0 ml cuyo volumen de sangre sea inferior a 1.0 mL.
- En caso de utilizarse heparina diluida debe estandarizarse rigurosamente el proceso de dilución y preservación de esterilidad.
- No deberían procesarse especímenes de los que se desconozca composición y concentración de la heparina.
- Si existiese demora prevista, conservar la muestra refrigerada.

- NO informar sólo Ca iónico a pH 7,400.
- Cada laboratorio debe establecer sus propios Valores de Referencias.
- NO informar valores de Ca iónico calculados en base a concentración de Albúmina y Ca total.

*Bibliografía

- 1) IFCC recommendation on sampling, transport and storage for the determination of the concentration of ionized calcium in whole blood, plasma and serum.
Journal of Automatic Chemistry, Vol 13
- 2) Understanding the different values in electrolyte measurements.
Carl C. Holbek. -.Bloodgas.org, Oct 2002
- 3) Useful tips to avoid preanalytical errors in blood gas testing : electrolytes
Gitte Wennecke. -.Bloodgas.org., Oct 2003
- 4) IFCC recommended reference method for the determination of the substance concentration of ionized calcium in undiluted serum, plasma or whole blood.
Clin Chem. Med 2000;38 (12) : 1301-1314.
- 5) The quality of diagnostic samples
Walter Guder - ..Bloodgas.org, Junio 2001
- 6) Preanalytical errors in simultaneous blood gas, electrolyte, and metabolite analysis.
C.G. Clark - Bloodgas.org , Junio 1998.
- 7) Determination of electrolytes in serum and plasma
Wien Klin Wochenschr Suppl.1992;192:37-41
- 8) pH effects on measurements of ionized calcium and ionized magnesium in blood.
Arch Pathol Lab Med 2002 Aug;126:947-50.
- 9) The effects of heparin anticoagulants and fill volume in blood gas syringes on ionized calcium and magnesium measurements
Clinica Chimica Acta Vol 304 Issues 1-2 Feb 2001, Pages 147-151.
- 10) Dry electrolyte balanced heparinized syringes evaluated for determining ionized calcium and other electrolytes in whole blood.
Clin. Chem. 1991 Oct;37 (10 Pt1):1730-3.
- 11) Preanalytical errors in ionized calcium measurements induced by the use of liquid heparin
Ann Clin Biochem. 1991 Mar;28 (Pt 2):167-73
- 12) Ionized calcium: Its significance and clinical usefulness
D. T. Forman, L. Lorenzo - Annals of Clinical and Laboratory Science .Vol 21 nº5 1991.
- 13) Venopuncture for calcium assays: should we still avoid the tourniquet?
A.D. McMullan, J Burns and C.R. Paterson - Postgrad Med. J (1990)66,547-548
- 14) Manual del usuario - Corning 634
- 15) Manual del usuario - ABL 520 Radiometer Copenhagen

16) Manual del usuario - AVL 3 Compact

17) Manual del usuario - ABL 625 Radiometer Copenhagen

18) Improving the acceptance of "ionized calcium" for routine clinical practice
Oswald Müller-Plathe - Scand.J.Cli.Lab.Invest 1993;53,Suppl 214:95-

19) Preanalytical considerations: The Deep-Picture - .Radiometer Copenhagen

20) NCCLS document C31-A

21) Textbook Clinical Chemistry
Norbert W. Tietz-1995

* Actualización realizada por :

- Dra. Gabriela D'Isa
- Dra. Claudia Latorraga
- Dra. Guillermina Sand

Agradecimientos :

Hospitales : Italiano , Francés , Alemán ,Español (Capital Federal) , Español
(Mendoza) , Posadas , Fernández , de Clínicas

Sanatorios : Mitre , Trinidad (Palermo), Fundación Favalaro

Clínica San Lucas

Laboratorios : Dres.Ardiani , María Lucrecia Conti , Laura González (Córdoba)

Análisis Estadístico realizado por el Licenciado Pablo Salgado .