

# 血中イオン化カルシウム分画への血清アルブミン濃度による影響

前田 益孝 椎貝 達夫

Blood ionized calcium fraction in various serum albumin levels surveyed in non-dialysis patients

Yoshitaka MAEDA and Tatsuo SHIIGAI

Nephrology Section, Department of Internal Medicine, Toride Kyodo General Hospital, Ibaraki, Japan

Blood ionized calcium (iCa) fraction is affected by the serum albumin (Alb) level, even though this effect might not be appropriately estimated by the formulae proposed previously. To clarify a reasonable regimen for predicting iCa from serum total Ca (tCa), we investigated the relationship of blood iCa, tCa, and serum Alb levels through 124 samples from 116 non-dialysis patients requiring iCa measurement at the Nephrology Section of Toride Kyodo General Hospital. The patients comprised 61 males and 55 females with the mean age of  $66.9 \pm 1.4$  years, including 9 cases of hypercalcemia, 110 of normocalcemia, and 5 of hypocalcemia based on their iCa levels. Their background diseases were 25 cases of chronic glomerulonephritis, 17 of nephrotic syndrome, 40 of diabetes mellitus, 4 of collagen diseases, and 30 of others. Their mean serum Cr was  $2.44 \pm 0.21$  mg/dl, and 77 patients showed elevated Cr levels.

Four adjustment formulae : one derived from Payne's, two from the proposal of K/DOQI Clinical Practice Guidelines, and a theoretical one based on the previous *in vitro* experiments, were compared with the non-adjusted value (tCa itself) with respect to their suitability for estimating iCa. The correlation coefficient of tCa with iCa was higher than the values adjusted by the above four formulae. The difference of iCa from tCa divided by eight, which concisely predicted iCa based on the assumption that half the serum Ca is bound to protein, was less than 1/8th of the other adjusted Ca levels. Hence none of the adjusted Ca by the above formulae was superior to nonadjusted tCa from the point of estimating the iCa level. Moreover, the sensitivity for predicting hypocalcemia was the highest in tCa, even though its specificity was lower than the other adjusted values.

In conclusion, no adjustment formula is required to predict ionized Ca from tCa, and to screen hypo- or hypercalcemia.

Jpn J Nephrol 2005 ; 47 : 821-827.

**Key words** : ionized calcium, albumin, hypocalcemia, hypercalcemia, adjustment formula

## 緒言

血液中のカルシウム (Ca) はその約 40% がアルブミン (Alb) を主とした蛋白質に結合し、10% はリン酸などの陰イオンと複合体を形成し、残りのほぼ 50% がイオン化カルシウム (iCa) の状態で存在する。実際の臨床現場において、これらを区別して測定することは困難であり、生体内

でのカルシウム動態の評価は多くの場合、血清総カルシウム (tCa) を代表値として論じられている。しかし生理的な多くの反応に関与するのは iCa であるため、電解質異常や骨代謝の病態においては、tCa だけでなく iCa を測定するか推定する必要が生じる。このため、わが国では Payne の式<sup>1)</sup> が最も用いられているが、Payne の式は本来、iCa の推定に提唱されたものではなく、実際われわれは、透析

患者において Payne の式よりも補正しない実測の tCa 値のほうがより iCa 値を反映することを報告した<sup>3)</sup>。また非透析患者の血清サンプルを用いた検討でも、同様に tCa 値が最も iCa 値に近似することを報告した<sup>4)</sup>。

今回はより pH の影響を受けづらい全血検体で iCa を測定し、対象を非透析患者として tCa 値と iCa 値の関係を検討した。

## 対象と方法

### 1. 対象

当院で外来、入院加療中の非透析患者のうち、iCa の測定を要した 116 例を対象とした。患者には通常の tCa に加え iCa を測定し、値を比較・検討することを説明し同意を得た。

### 2. 測定方法

血清 Alb の測定は通常の静脈血を抗凝固薬の入っていないスピッツ(10 ml ポリアクリル製試験管)に採取し、3,000 rpm、7 分間の遠心により血清を分離したうえで Bromocresol Green(BCG)法(クリニメイト ALB, 第一化学薬品)により行った。tCa の測定は、同様に遠心分離したうえで  $\alpha$ -amylase を用いた酵素法を原理とした Autoanalyzer(TBA-200FR, 東芝メディカル)により測定した<sup>5)</sup>。iCa の測定にはヘパリンリチウム 7 単位/2.5 ml を充填してある血液ガス測定用採血キット、プレザパック II (テルモ)を用い、静脈、動脈のいずれかを採血したうえでイオン電極法(Bayer 348, Bayer Medical, USA)により測定した。

### 3. 補正式

補正式は下記のごとく Payne の式のほかに、K/DOQI<sup>6)</sup>で提唱されている二式(KDOQI-1, KDOQI-2)を検討した。

Payne の式: Total serum Ca + (4 - serum Alb)

KDOQI-1: Total serum Ca + 0.704 × (3.4 - serum Alb)

KDOQI-2: Total serum Ca + 0.8 × (4 - serum Alb)

これに加え、後述するが Kragh-Hansen らが算出した試験管内での Alb と iCa との結合比<sup>7)</sup>から導いた理論式

theoretical Ca: tCa + 0.61 × (4 - serum Alb)

も併せて検討した。

### 4. 診断精度

iCa の測定値が電極法による iCa の正常範囲(0.94~1.26 mmol/l)を越えている場合、下回っている場合をそれぞれ真の高 Ca 血症、低 Ca 血症とし、tCa あるいは補正値が当院の血清 Ca 値の正常範囲を越えている場合、下回って

Table 1. Patients characteristics

Characteristics	Mean ± SEM (min~max) or Number of patients: n=116
age	66.9 ± 1.4 (16~94)
male/female	61/55
sampling route	venous: 107 arterial: 17
total Ca (mg/dl)	9.1 ± 0.1 (6.7~12.0)
ionized Ca (mmol/l)	1.15 ± 0.01 (0.63~1.50)
serum Alb (g/dl)	3.6 ± 0.1 (1.2~4.8)
serum Cr (mg/dl)	2.44 ± 0.21 (0.48~10.72)
pH	7.346 ± 0.006 (7.218~7.550)
diseases	
CGN	25
NS	17
DM	40
CD	4
others	30

CGN: chronic glomerulonephritis, NS: nephrosclerosis, DM: diabetes mellitus, CD: collagen diseases

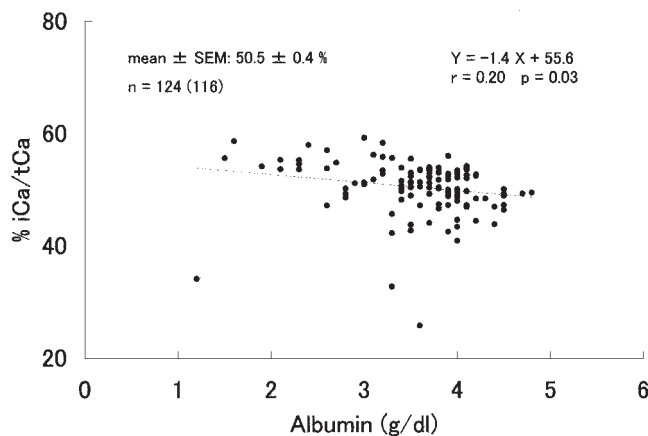
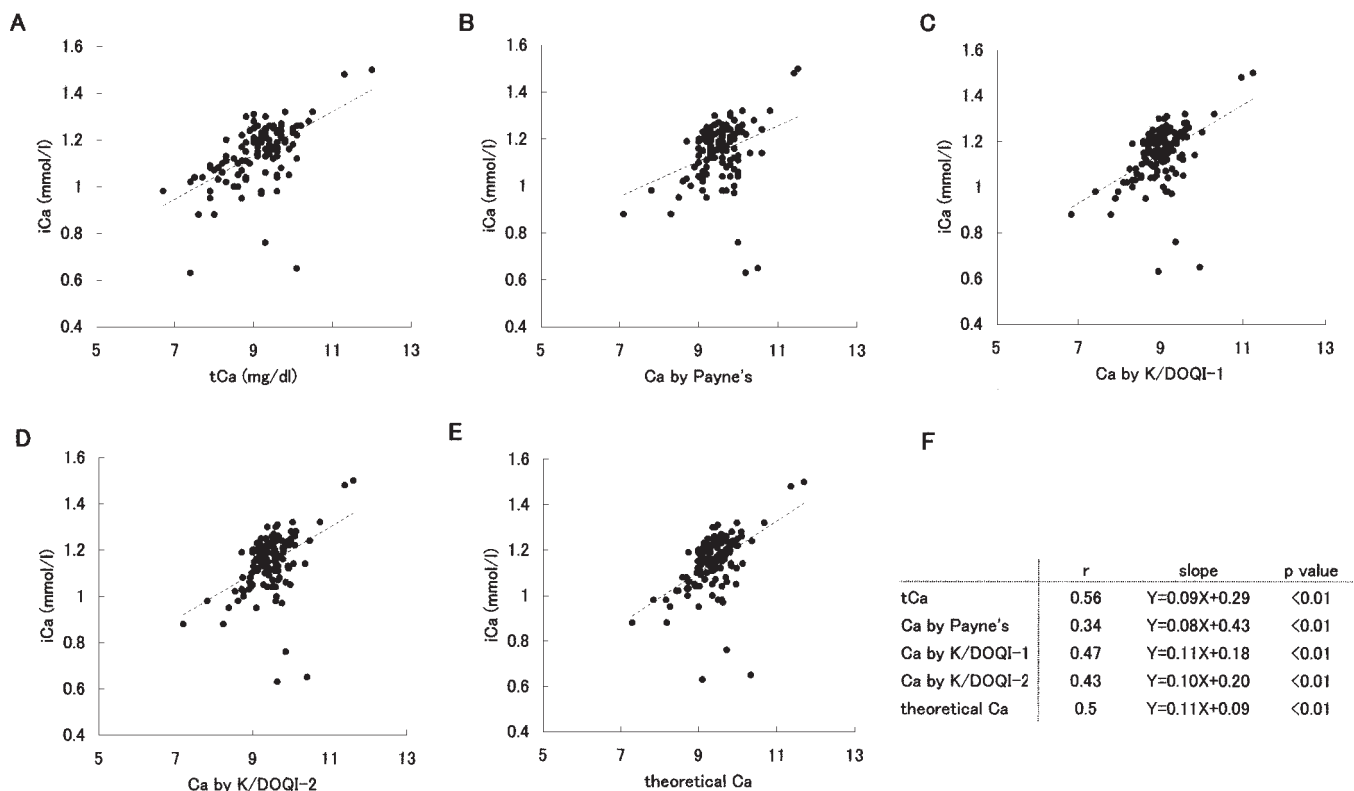


Fig. 1. Ionized Ca fraction and serum albumin levels. Ionized Ca fraction; iCa/tCa (%) from 124 samples among 116 patients is depicted along with its serum albumin level. Ionized Ca fractions were negatively correlated with serum albumin levels. However their correlation was more weak than that of predicted by Payne's formula.

いる場合をそれぞれ診断上の高 Ca 血症、低 Ca 血症とし、感度、特異度など診断精度の指標を計算した。

### 5. 統計学的処理

代表値は平均 ± 標準誤差で示し、有意水準は p-value を



**Fig. 2. Ionized Ca and Ca with/without adjustment using the formulae**

The relationship of iCa with the Ca adjusted by the formula listed below were depicted :

A : tCa (not adjusted), B : Ca adjusted by Payne's formula, C : Ca adjusted by K/DOQI-1, D : Ca adjusted by K/DOQI-2

E : theoretical Ca, F : Summarized statistical values.

Ionized Ca was well correlated with tCa. The adjustments by four formulae failed in improving the correlation with iCa.

用い、 $p < 0.05$  を有意とした。回帰分析は Pearson の方法を用いた。

## 結果

対象となった 116 症例の概要を Table 1 に示した。血清 Cr が当院での正常値(男:0.50~1.10 mg/dl, 女:0.30~0.80 mg/dl)を超えた症例は 77 例であり、平均血清 Cr 値は  $2.44 \pm 0.21$  mg/dl だった。これらの症例で計 124 回(静脈血 107 回, 動脈血 17 回)測定し解析を行った。

tCa 値が当院の正常範囲を越えたものは 3 例, 未満だったものは 20 例だった。iCa 値は正常範囲を越えたものは 9 例, 未満だったものは 5 例だった。

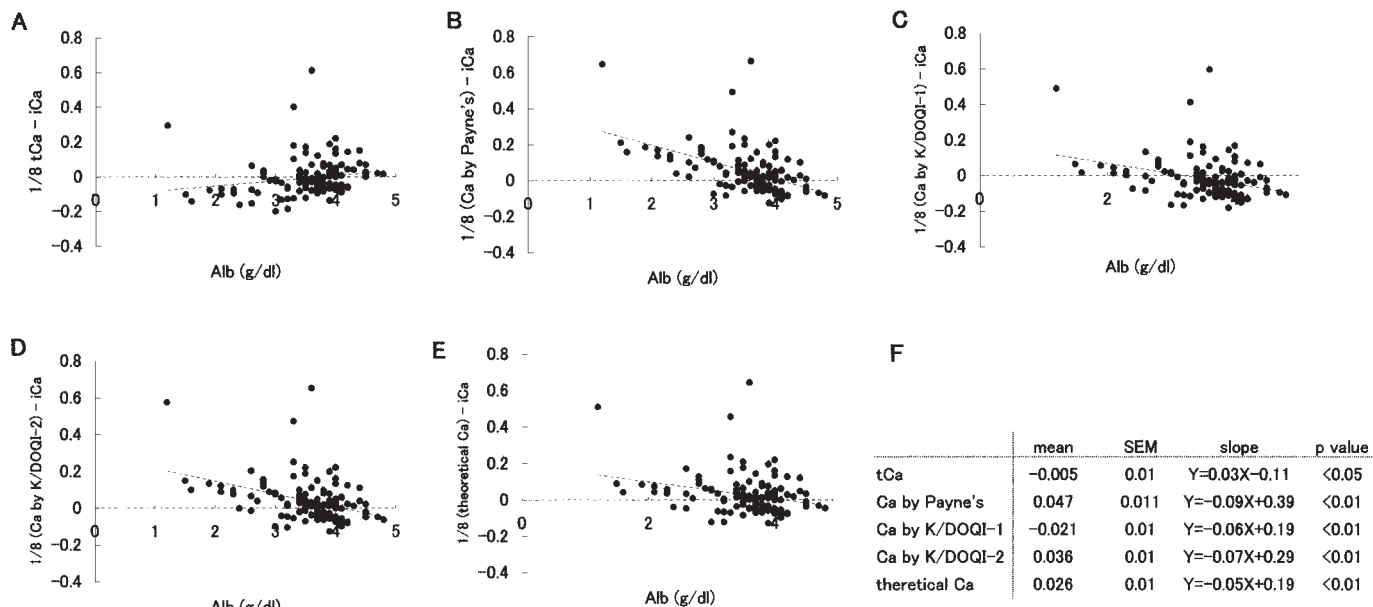
### 1. iCa 分画の血清 Alb 値による影響

各患者の血清 Alb 値と血清 Ca 値に対する iCa の割合(%iCa/tCa)を Fig. 1 に示した。多くの症例は 50%前後に集中しており、平均±標準誤差は  $50.5 \pm 0.4$  %だった。また、回帰分析から 1 g/dl の血清 Alb 値低下によりイオン

化 Ca の割合は 1.4%低下した。Payne の式では血清 Alb 値の g/dl での変動がそのまま Ca 値(mg/dl)に反映されるため、血清 Ca 値が 10 mg/dl の場合、血清 Alb 値 1 g/dl の低下で血清 Ca 1 mg/dl の上昇とみなされ、10%の変化となり過大評価と考えられた。3 例が 40%未満の iCa 分画を示した。これらの症例は原発性アミロイドーシス(62 歳女性, Cr 0.82 mg/dl), 慢性糸球体腎炎による腎不全(78 歳女性, Cr 2.67 mg/dl), 腎機能低下を伴う糖尿病(63 歳男性, 血清 Cr 1.69 mg/dl)で、pH も 7.35~7.40 の間にあり、iCa 分画が低かった理由は特定できなかった。

### 2. イオン化 Ca 値と各補正值の相関

Fig. 2 に示したごとく、イオン化 Ca 値と最も強い相関が得られたのは tCa であった( $r=0.56$ ,  $p < 0.01$ )。以下、theoretical Ca( $r=0.50$ ,  $p < 0.01$ ), K/DOQI-1 の補正值( $r=0.47$ ,  $p < 0.01$ ), K/DOQI-2 の補正值( $r=0.43$ ,  $p < 0.01$ ), Payne の補正值( $r=0.34$ ,  $p < 0.01$ )の順に相関が強い結果が得られた。



**Fig. 3. Difference of ionized Ca from 1/8 Ca with/without adjustment using four formulae**

Concise prediction for ionized Ca ; measured or adjusted value divided by eight was applied to non-adjusted/adjusted Ca, and their differences from iCa along serum Alb were shown.

A : 1/8 tCa, B : 1/8(Ca adjusted by Payne's formula), C : 1/8(Ca adjusted by K/DOQI-1), D : 1/8(Ca adjusted by K/DOQI-2), E : 1/8(theoretical Ca), F : Summarized statistical data of differences

The obtained difference was the least in tCa/8.

### 3. イオン化 Ca 値と各補正値を 8 で除した値の差

Alb による補正の妥当性は、血清 Alb レベルによって広がるであろう iCa と tCa の差を補正により縮小できているか否かにより検証できる。iCa と tCa の差は単純計算では得られないため、下記のような手法をとった。

tCa 値(mg/dl)に対する iCa 値(mmol/l)の割合を 50% とすると、tCa 値を 8 で割った値が iCa となる。この簡易推定法は日常臨床でしばしば用いられているが、この方式により実測値・補正値を 8 で割った値と iCa の差を血清 Alb 値にそって比べてみた<sup>3,4,8)</sup>。Fig. 3 に示したごとく、実測値が最小(-0.005±0.010)となり、以下、K/DOQI-1 (-0.021±0.010), theoretical Ca (0.026±0.010), K/DOQI-2 (0.036±0.010), Payne の補正値 (0.047±0.011) となり、相関と同じく Payne の補正値が最も iCa を反映しない結果が得られた。また、差の平均値から実測値、K/DOQI-1 の補正値が過小評価、Payne, K/DOQI-2, theoretical Ca の補正値が過大評価となった。

### 4. pH との関連

Fig. 4A, B に示したごとく、iCa と %iCa/tCa の pH との相関係数はそれぞれ  $r=0.13$  ( $p=0.15$ ),  $r=0.08$  ( $p=0.39$ ) で有意な相関を示さなかった。

### 5. Cr との関連

Fig. 4C, D に示したごとく、iCa と %iCa/tCa の血清 Cr 値との相関係数はそれぞれ  $r=0.19$  ( $p=0.03$ ),  $r=0.03$  ( $p=0.75$ ) で、iCa が血清 Cr 値の上昇に伴い低下する可能性を示したが、その相関は弱く、%iCa/tCa は有意な相関を示さなかった。

### 6. 診断精度

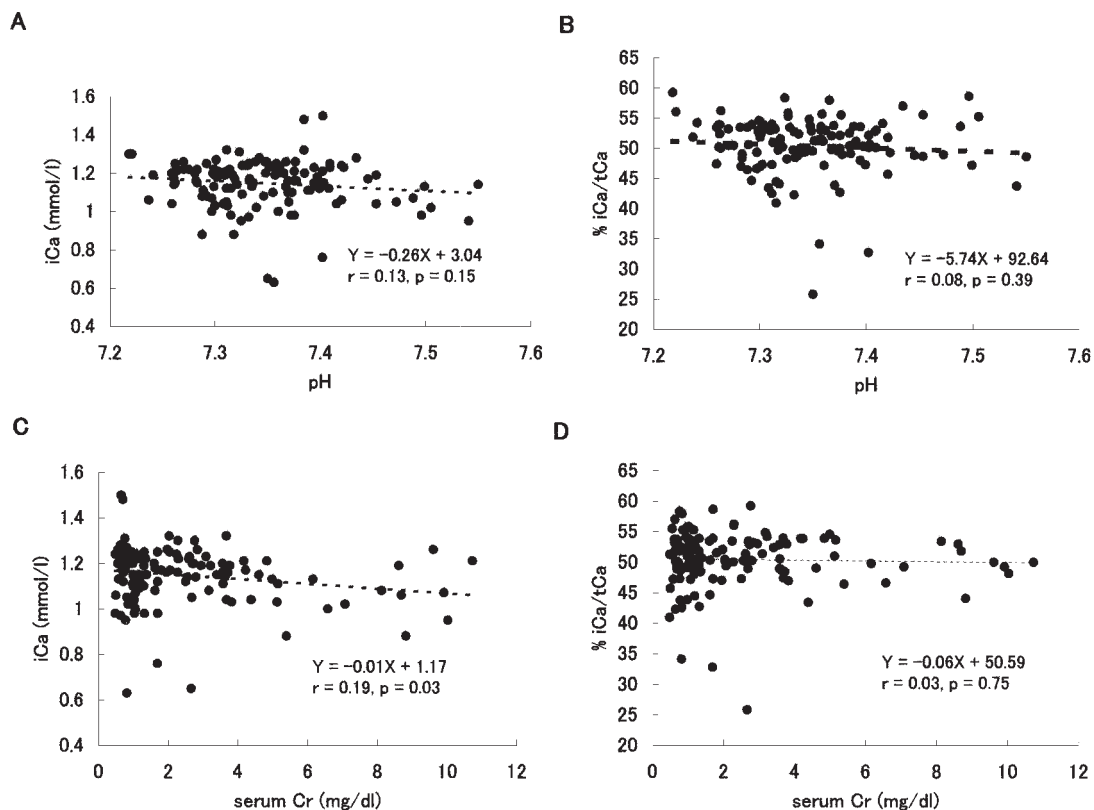
Table 2 に示したごとく、高 Ca 血症の診断精度は KDOQI-1 のみが 11% と感度が低く、他は 33% で同一の結果であった。

低 Ca 血症の診断では実測値が 60% と最も感度が高かったが、特異度は 86% で最低だった。

## 考 察

われわれは、血清検体の iCa が補正しない tCa 値と最も相関することをすでに報告した<sup>4)</sup>。しかし、血清検体は空気の混入などにより pH の変動を受けやすい可能性があり<sup>9)</sup>、今回は凝固剤を添加し密封した全血でイオン化 Ca を測定し、血清 tCa 値との関連を検討した。

現在のわが国の医療施設において、血清中の tCa 測定は自動化が簡便で安価な比色法 (o-CPC 法) により行われ



**Fig. 4. iCa and %iCa/tCa in relation with pH and serum Cr**

A : iCa and pH, B : %iCa/tCa and pH, C : iCa and serum Cr, D : %iCa/tCa and serum Cr  
 Ionized Ca was not affected by pH. Serum Cr was faintly correlated with iCa, but no correlation was detected between serum Cr and %iCa/tCa.

**Table 2. Diagnostic values of non-adjusted/adjusted calcium levels**

	tCa	Ca by Payne's	Ca by KDOQI-1	Ca by KDOQI-2	theoretical Ca
<b>Hypercalcemia</b>					
sensitivity	33% (3/9)	33% (3/9)	11% (1/9)	33% (3/9)	33% (3/9)
specificity	100 (115/115)	100 (115/115)	100 (115/115)	100 (115/115)	100 (115/115)
FPR	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/0)
PPV	100 (3/3)	100 (3/3)	100 (1/1)	100 (3/3)	100 (3/3)
NPV	95 (115/121)	95 (115/121)	94 (105/123)	95 (115/121)	95 (115/121)
<b>Hypocalcemia</b>					
sensitivity	60% (3/5)	40% (2/5)	40% (2/5)	40% (2/5)	40% (2/5)
specificity	86 (102/119)	99 (118/119)	91 (108/119)	98 (117/119)	98 (116/119)
FPR	14 (17/119)	1 (1/119)	9 (11/119)	2 (2/119)	3 (3/119)
PPV	15 (3/20)	67 (2/3)	15 (2/13)	50 (2/4)	40 (2/5)
NPV	98 (102/104)	98 (118/121)	97 (108/111)	98 (117/120)	98 (116/119)

FPR : false positive rate, PPV : positive predictive value, NPV : negative predictive value

ていることが多く、o-CPC法を採用する施設はほぼ全体の60%を占めている<sup>10)</sup>。しかし、比色法はCaへの特異性や規準線の直線性の面から酵素法に劣り、通常の血清では酵素法や原子吸光法に比し、0.5 mg/dl程度低い値をとる

ことが知られている<sup>10)</sup>。同様の傾向は約1/4の医療施設で採用されているMXB法でもみられるため、現時点では酵素法が最も正確なCa値を測定できる臨床現場での方法と考えられる。酵素法はCa測定の標準法である原子吸光法



Table 3. Summary of previous reports

Year	Author	Study population	Formulae	Analysis tools	Reference
1978	Ladenson	55 of healthy subjects 404 of patients with various disorders of calcium metabolism**	13*	CC, Average of absolute residuals or deviations	12
1988	Sorva	558 of geriatric patients	3*	CC, reference limits, sensitivity/ specificity	13
1991	Morton	66 of dialysis patients	4	CC, sensitivity/specificity	14
2000	Clase	54 of hemodialysis patients	5	intraclass correlation coefficients	15
2002	Sato	86 of hemodialysis patients	1*	CC, modified Bland-Altman's plot	3
2003	Slomp	36 of ICU patients	6	CC, sensitivity/specificity	16

The all reports<sup>3,12-16)</sup> shown on the table did not support any benefit by adjusting Ca with the examined formulae from the point of predicting iCa.

\* : including Payne's formula. \*\* : comprising 41 of chronic renal diseases, 363 of non-renal diseases ; hyperparathyroidism, malignancies, etc. CC : correlation coefficients

ときわめて高い相関があり、近似値をとる<sup>5,11)</sup>ため、今回はこの酵素法により tCa の測定を行った。

Payne の補正式はわが国での臨床研究や治験に幅広く採用されている。しかし、この式は本来肝疾患患者で測定された血清 Ca 値が正規分布により近い形の分布をとる<sup>1)</sup>、あるいは測定された血清 Ca 値の分布のばらつきを少なくする<sup>2)</sup>ための補正式であり、iCa との関連は調べられておらず、補正の妥当性の検証も不十分であった。このため、Payne の式を含めた Ca の補正に批判的な報告が数多く出されており、その一部を Table 3 に要約した<sup>3,12-16)</sup>、補正式は依然として多くの臨床的研究で採用されている。このため、血清 Ca レベルの判断を誤り、不要な薬剤の投与や逆に必要な薬剤が打ち切られる可能性もあり、早急な検討が必要と考えられる。

K/DOQI では前述の 2 つの式が勧められている<sup>6)</sup>。しかし KDOQI-1 は補正が不要との論文<sup>15)</sup> から得られており、式そのものも引用論文の式と異なっている。KDOQI-2 は Payne の検討よりさらに古いもの<sup>17)</sup> で、この式が他の式より勝っているとのエビデンスはない。

実際の生体内で Ca が蛋白質とどのような動態を示すかを解析することは困難である。Alb と Ca の結合部位は 12 ~ 23 カ所と推測されており、Kragh-Hansen らは数種の異なる緩衝液を用い、pH 7.4 の状態で iCa が生理的濃度に近い 1.2 mM では Alb との結合はモル比でほぼ 1 : 1 になることを示している<sup>7)</sup>。この実験では Alb 濃度を一定 (10 g/l) に保ち血清 Ca 濃度を変化させており、残念ながら Alb 濃度の変化に伴う iCa の変動は検討されていない。しかし同様な 1 : 1 の結合が血清内でも成り立つとすると、血清 Alb 値の 1 g/dl の変化は iCa 0.151 mmol (6.1 mg) / l

に相当することになる。これから得られる補正式は血清 Alb 4 g/dl を基準とすると、前述したごとく、

$$\text{補正 Ca (mg/dl)} = \text{tCa (mg/dl)} + 0.61 \times \{4 - \text{血清 Alb (g/dl)}\}$$

となり、Payne の式や K/DOQI-2 式よりも血清 Alb 値の影響が緩やかな補正となる。この補正で得られた値 (theoretical Ca) と iCa の相関係数は Fig. 2 に示したごとく、 $r = 0.50 (p < 0.01)$  となり、実測値には劣るものの他の補正式よりは優れた相関となった。また、他の補正式と同様にその 1/8 の値とイオン化 Ca の差をみると  $0.026 \pm 0.010$  となり、実測値、KDOQI-1 式に次ぐ低さとなった (Fig. 3)。

緒言で述べたごとく、血清中の Ca のうち約 10% は陰イオンと複合体を形成している。しかしこの Ca 分画のみを測定することは困難であり、いまだその動態に関しての検討はなされていない。腎不全などではリン酸や炭酸との錯塩の量変動している可能性があり、今後の検討が望まれる。

ビタミン D 投与時などの高 Ca 血症の予見として Payne の式がしばしば用いられているが、今回の検討では、高 Ca 血症の診断精度は補正・非補正間で有意な違いはみられなかった。低 Ca 血症の診断精度は非補正 Ca 値が最も感度が高かった。特異度では補正值に劣ったが、スクリーニング検査としての価値は非補正值が最も優れていると言わざるをえない。

血清中 Ca のイオン化比率は pH によっても影響されることが知られている<sup>18)</sup>。これは H<sup>+</sup>イオンと Ca<sup>2+</sup>イオンが Alb 結合部位で競合するためであり、H<sup>+</sup>イオンが増える酸性下では Ca<sup>2+</sup>イオンの Alb 結合部位が減り、Ca のイオン化比率は上昇する。今回は全血を用いて検討しており、

各症例の pH は 7.218~7.550 にあり、極端な pH を示す例は含まれていないが、pH の低下とともに Ca のイオン化比率が上昇する傾向がみられた。しかし、その回帰直線は Ca のイオン化比率 (%) =  $-5.7 \times (\text{pH}) + 92.6$  ( $r=0.077$ ,  $p=0.39$ ) で有意性のないわずかな変化であった。同様に、iCa と pH の関係は  $i\text{Ca}(\text{mmol/l}) = -0.26 \times (\text{pH}) + 3.04$  ( $r=0.13$ ,  $p=0.15$ ) であった。この関係は検体の pH を変えて iCa の変動をみた過去の報告<sup>18)</sup> とほぼ同程度のものであり、いずれにしても pH のイオン化 Ca への影響はきわめて小さいと考えられた。

今回の検討では多くの腎機能障害例が含まれており、血清 Cr 値と iCa の回帰分析も行った。Fig. 4C, D に示したごとく、iCa は血清 Cr 値の上昇とともにわずかに低下する傾向があったが、iCa 分画は有意な関連は得られず、腎機能が直接 iCa (分画) に影響する可能性は少ないと考えられた。

今回の検討では iCa が tCa の 40% となっている症例が 3 例認められた。このように低いイオン化比率を示すのは極端な高蛋白(アルブミン)血症やアルカローシスの影響が考えられるが、結果で述べたごとく 3 例ともそれらには該当しない。pH の変動も乏しく technical failure の可能性も考えにくいので、今回の検討からは除外しなかった。tCa からの iCa の推定の限界を示す例でもあり、今後 iCa の測定をより広範囲に行っていく過程で明らかにしていくことができると考える。

## 結 論

酵素法による tCa 測定値では血清 Alb の変動に伴う iCa の変化は従来の予測よりも少なく、iCa 値の推定に補正式を用いる必要はない。

## 謝 辞

Ca 測定法に関し貴重なご示唆をいただきました当院検査技師平沢 博、臨床工学技士佐藤長典、菊地浩之の各氏に深謝致します。

## 文 献

1. Payne RB, Little AJ, Williams RB, Milner JR. Interpretation of serum calcium in patients with abnormal serum proteins. *BMJ* 1973; 4: 643-646.
2. Payne RB, Carver ME, Morgan DB. Interpretation of serum total calcium: effects of adjustment for albumin concentration on frequency of abnormal values and on detection of change in the individual. *J Clin Pathol* 1979; 32: 56-60.

3. 佐藤長典, 前田益孝, 椎貝達夫. 透析患者の血清カルシウム値は、補正せずともイオン化カルシウムを反映する。—カルシウム補正式の必要性について—。透析会誌 2002; 35: 1523-1525 & 2003; 36: 293 (correspondence).
4. 前田益孝, 椎貝達夫. 血清アルブミン値によるカルシウム補正は必要か? —非透析患者での検討—。日内会誌 93 (Suppl): 229, 2004.
5. 風間 武, 油井知華, 伊藤順子, 大澤 進, 飯田眞司, 米満 博. カルシウムの酵素的測定試薬の原子吸光法による評価。日本臨床検査自動化学会会誌 1994; 19: 827-831.
6. National Kidney Foundation. Clinical practice guideline for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 42 (Suppl 3): S1-S202.
7. Kragh-Hansen U, Vorum H. Quantitative analysis of the interaction between calcium ions and human serum albumin. *Clin Chem* 1993; 39: 202-208.
8. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; 1 (Feb 8): 307-310.
9. Boink ABTJ, Buckley BM, Christiansen TF, Covington AK, Maas AHJ, Sachs M-PCh, Siggaard-Andersen O. Recommendation on sampling, transport, and storage for the determination on the concentration of ionized calcium in whole blood, plasma, and serum. *JIFCC* 1992; 4: 147-152.
10. 日本医師会. 平成 15 年度第 37 回臨床検査制度管理調査結果報告書. 2003; 47.
11. 浅井孝道. カルシウムの測定法. *検査と技術* 1982; 10: 31-37.
12. Laderson J, Lewis JW, Boyd JC. Failure of total calcium corrected for protein, albumin, and pH to correctly assess free calcium status. *J Clin Endocrinol Metabolism* 1978; 46: 986-993.
13. Sorva A, Elfving S, Pohja P, Tilvis RS. Assessment of calcaemic status in geriatric hospital patients: serum ionized calcium versus albumin-adjusted total calcium. *Scand J Clin Lab Invest* 1988; 48: 489-494.
14. Morton AR, Herez C. Hypercalcemia in dialysis patients: Comparison of diagnostic methods. *Dialysis Transplant* 1991; 20: 661-667 & 694.
15. Clase CM, Norman GL, Beercroft, Churchill DN. Albumin-corrected calcium and ionized calcium in stable haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 1841-1846.
16. Slomp J, Voort PHJ, Gerritsen RT, Berk JAM, Bakker AJ. Albumin-adjusted calcium is not suitable for diagnosis of hyper- and hypocalcemia in the critically ill. *Crit Care Med* 2003; 31: 1389-1393.
17. Raman A. The calcium fractions of normal serum. *Clin Biochem* 1971; 4: 141-146.
18. Wan S, McDonnell EH, Sedor FA, Toffaletti JG. pH effects on measurements of ionized calcium and ionized magnesium in blood. *Arch Pathol Lab Med* 2002; 126: 947-950.