

ETUDE DE CONCORDANCE DES MESURES D'ALBUMINE PAR L'ELECTROPHORESE CAPILLAIRE ET LE VERT DE BROMOCRESOL

BOUFAMMA A^(1,2), HAMMA A.S^(1,2,3), BENATALLAH A^(1,2).

1) Service de Biochimie, CHUC.

2) Faculté de Médecine, Université Salah Bounider Constantine 3.

3) Laboratoire de Biologie et Génétique Moléculaire.

E-mail: Boufama A : ba21-boufama@hotmail.fr; Hamma S.A. :
siamhamma@yahoo.fr; Benatallah A: anouareb@yahoo.fr

RÉSUMÉ :

Du fait de son importance biologique, l'albuminémie est de plus en plus demandée dans différentes situations pathologiques, tel que le diagnostic de la dénutrition, correction d'une calcémie, adaptation posologique d'un traitement ou encore comme un facteur pronostique de mortalité et comorbidité dans les affections cardiovasculaires. D'où la nécessité d'une standardisation de dosage de ce paramètre. Nous avons mené une étude prospective de Avril à Mai 2019 au niveau du Service de Biochimie CHU Constantine Benbadis. Les albuminémies de 92 échantillons de sérum frais ont été mesurées d'une part par l'électrophorèse capillaire des protéines sériques Alb-ECP (Capillarys® 2 Flex piercing Sébia), et d'autre part par le vert de Bromocrésol Alb-BCG (Cobas® 400 Intégrat). Résultats : les albuminémies mesurées par les deux méthodes étaient fortement corrélées ($r = 0,96$; $p < 0,001$). Le graphe de Bland et Altman a montré que Alb-BCG est surestimé par rapport à l'Alb-ECP avec une moyenne de 4,45 g/l (DS = 1,67g/l) et un biais plus élevé pour les valeurs plus hautes. Lorsque Alb-ECP été inférieurs à 30 g/l, les biais calculés entre Alb-BCG et Alb-ECP ont montré une corrélation moyenne ($r = 0,64$; $P = 0,006$) et forte ($r = 0,79$, $P = 0,0002$) avec les $\alpha 1$ et $\alpha 2$ successivement. Aucune corrélation n'a été trouvée entre ces biais et les gammas globulines. Conclusion : notre étude a montré une discordance des mesures de l'albuminémie par la ECP et BCG, ce dernier a tendance à surestimer les valeurs d'albumine, il en résulte de ce fait une surévaluation de l'état nutritionnel, et un mauvais scoring des pathologies, qui peut mener à des confusions cliniques. D'autres études sont donc, nécessaires pour déterminer l'origine de cette discordance ainsi pour améliorer l'accord entre les différentes méthodes de dosage d'albumines.

Mots clés : Albumine, Vert de bromocrésol, Electrophorèse capillaire, Biais, Globulines.

ABSTRACT : AGREEMENT STUDY OF ALBUMIN MEASUREMENTS BY CAPILLARY ELECTROPHORESIS AND BROMOCRESOL GREEN.

As a result of its biological importance, albuminemia is more and more demanded in different pathological situations. Such as diagnosis of undernutrition, correction of calcemia, dosage adjustment of a treatment or even as a prognostic factor of morbidity and mortality in cardiovascular diseases. Hence the need for a standardization of the dosage of this parameter. We have made a cross-sectional study from April to May 2019 at the Biochemistry laboratory of university hospital center of Constantine Ibnbadis. Albuminemia of 92 fresh serum samples was measured by using on the one hand capillary electrophoresis of serum proteins Alb-ECP (Capillarys® 2 Flex piercing Sébia), and on the other hand Bromocresol green Alb-BCG (Cobas® 400 Integrat). Results: the albuminemas measured by the two methods were highly correlated ($r = 0,96$; $p < 0,001$). Altman and Bland analysis of results showed that Alb-BCG was overestimated compared to Alb-ECP with an average of 4,45 g/l (SD: 1,67g/l) with a great bias at higher albumin concentrations. When Alb-ECP levels were below 30g/l, calculated bias between Alb-BCG and Alb-ECP showed a moderate ($r = 0,64$; $P = 0,006$) and a high correlation ($r = 0,79$, $P = 0,0002$) with $\alpha 1$ and $\alpha 2$ globulins successively. No correlation has been found between these biases and gamma globulin. Conclusion: our study has shown a discrepancy in the albumin measurements by ECP and BCG. Measures with BCG have tendency to overestimate albumin value. It results of this fact an overestimation of the nutritional status, an inappropriate scoring of diseases, which may lead to a clinical confusion. Other studies are then necessary to determine the origin of this discrepancy thus to improve the agreement between the different albumin determination methods.

Key words: Albumin, Bromocresol green, Capillary electrophoresis, Bias, Globulins.

INTRODUCTION

Du fait de son importance biologique, l'albuminémie est de plus en plus demandée dans différentes situations pathologiques, tels que le diagnostic et suivi de la dénutrition [1], correction d'une calcémie, adaptation posologique d'un traitement ou encore comme un facteur pronostique de mortalité et comorbidité dans les affections cardiovasculaires [2]. Plusieurs méthodes de dosage de l'albumine plasmatique sont disponibles, citant d'une part les méthodes colorimétriques [3]: le Vert de Bromocrésolé (BCG) et le Pourpre de Bromocrésolé (BCP), où une substance chromogène se fixe spécifiquement à l'albumine et libère un complexe coloré. Il existe d'autre part, les méthodes immunologiques: Immunoturbidimétrie (IT) et Immunonéphélométrie (IN), l'albumine est alors captée par des anticorps spécifiques et forme des complexes immuns en augmentant la turbidité du milieu réactionnel. Des méthodes électrophorétiques sont également utilisées dont l'électrophorèse capillaire (ECP) préférée pour sa sensibilité et sa précision. Les techniques immunologiques, sont souvent considérées comme des méthodes de référence pour le dosage de l'albuminémie [4]. Malheureusement elles restent des méthodes peu automatisées et coûteuses [5].

Parmi les méthodes colorimétriques, le dosage par le BCG est la méthode la plus utilisée au niveau du Service de Biochimie CHU Constantine Benbadis. L'objectif de la présente étude était de comparer les mesures d'albumine par le BCG et l'électrophorèse capillaire et de déterminer les sources d'éventuelles différences.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nous avons mené une étude transversale du 07 Avril à 13 Mai 2019 sur des prélèvements reçus au niveau du Service de Biochimie CHU Constantine Benbadis. L'albuminémie de 92 échantillons de sérum frais a été mesurée d'une part par l'électrophorèse capillaire des protéines sériques (Alb-ECP) (Capillarys® 2 Flex piercing Sébia), et d'autre part par le vert de Bromocrésolé (Alb-BCG) (Cobas® 400 Intégrat). La concentration des protéides totaux a été mesurée par la méthode du Biuret sur Expand Siemens, cette valeur a été utilisée pour la détermination des concentrations des différentes fractions des protéines en g/l.

Les sérums hémolysés, ictériques, lipémiques ou ayant un pic monoclonal détecté par ECP étaient exclus de l'étude.

L'analyse statistique a été réalisée par Excel. La comparaison entre les deux méthodes de mesure d'albumine a été effectuée par un diagramme de différence de Bland-Altman.

RÉSULTATS

Les albuminémies mesurées par les deux méthodes sont fortement corrélées ($r = 0,96$; $p < 0,001$) (figure 1). L'équation de la courbe de régression est : $\text{Alb-ECP} = (0,9033 \text{ Alb-BCG}) - 0,838$. Le graphe de Bland et Altman a montré que Alb-BCG est surestimé par rapport à l'Alb-ECP avec une moyenne de 4,45 g/l (DS = 1,67g/l), [l'intervalle de confiance de 95% ; 1,11-7,79], avec un biais plus élevé pour les valeurs plus hautes (figure 2).

Une corrélation moyenne et positive des biais des mesures d'albumine a été notée avec les $\alpha 1$ globulines ($r = 0,64$; $P = 0,006$) (figure 3), ces mêmes biais entre Alb-BCG et Alb-ECP avaient une forte corrélation positive avec les $\alpha 2$ globulines ($r = 0,79$; $p = 0,0002$) (figure 4) pour des Alb-ECP inférieurs à 30 g/l. Aucune corrélation n'a été trouvée entre ces biais et les gamma globulines ($r = 0,09$; $p = 0,73$).

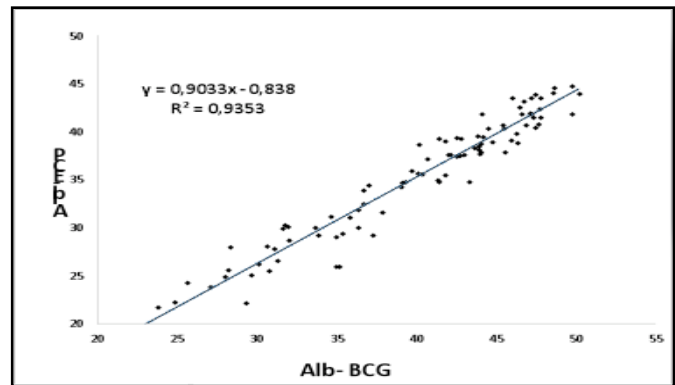


Figure 1. Courbe de corrélation entre la Alb-BCG et Alb-ECP.

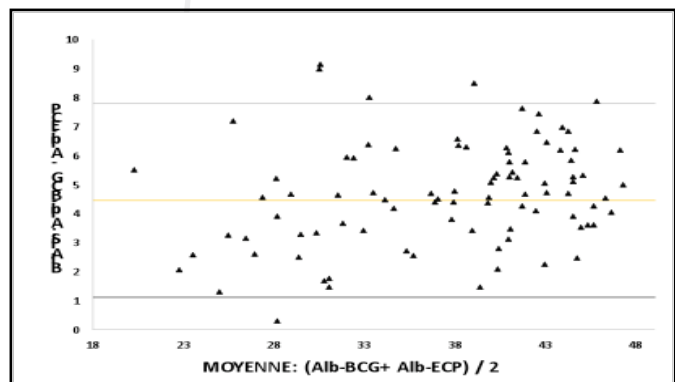


Figure 2. Concordance des mesures d'albumine par le Graphe de Bland et Altman.

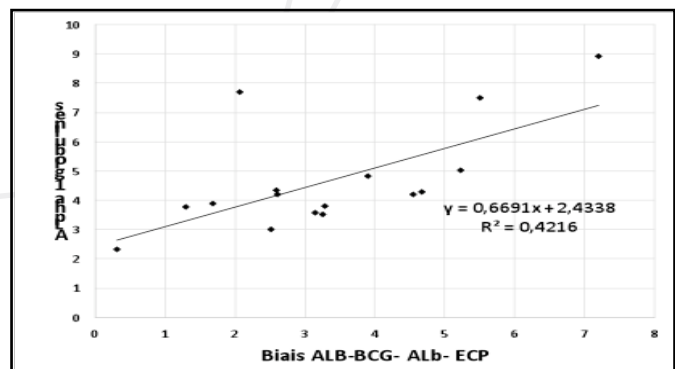


Figure 3. Corrélation entre le biais des mesures d'albumine et les valeurs d' $\alpha 1$ globulines.

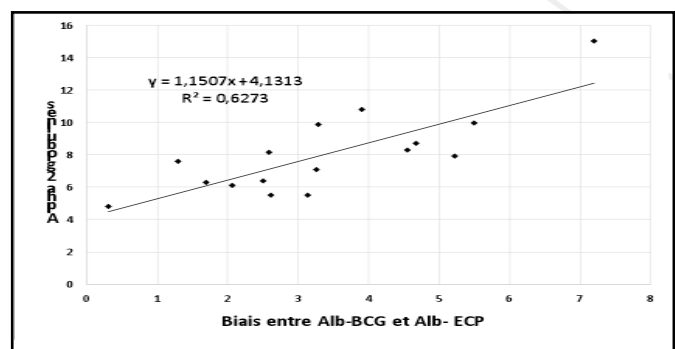


Figure 4. Corrélation entre les biais des mesures d'albumine et les $\alpha 2$ globulines.

DISCUSSION

L'albumine, de synthèse hépatique, est la protéine la plus représentée dans le sérum et dont les variations sont observées dans différentes situations pathologiques. La mise au point sur les discordances observées entre les mesures d'albuminémie obtenues par des techniques disponibles aux niveaux d'un laboratoire de biochimie est une nécessité.

Au niveau de notre service, la mesure d'albumine en routine est réalisée systématiquement par la méthode colorimétrique au BCG. Dans notre étude, les mesures d'albumine par cette méthode étaient comparées avec celles obtenues par l'ECP.

La détermination des protides totaux est indispensable pour la quantification d'albumine par l'ECP, il en résulte que les performances du dosage des protides totaux influencent directement celles de l'Alb-ECP. Les 92 échantillons traités dans notre étude ont été obtenus après exclusion de tous les sérums hémolysés, lipémiques et/ou ictériques, facteurs connus comme influençant le dosage des protides totaux.

Nos résultats montrent une très bonne corrélation des mesures d'albuminémie par l'ECP et la méthode colorimétrique au BCG. Ces méthodes restent tout de même non équivalentes. Le graphe de Bland et Altman démontre une mauvaise concordance entre ces deux méthodes avec une tendance de l'Alb-BCG à surestimer l'albumine avec un biais de 22,25%. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par d'autres études [6-8], ce biais pourrait être à l'origine d'une mauvaise prise en charge de pathologies plus ou moins graves.

Différentes études ont montré que les résultats d'albumine quantifiés par l'ECP s'accordent étroitement à ceux obtenus en utilisant une autre méthode colorimétrique utilisant le Bromocrésol pourpre BCP [8,9] et les méthodes néphélométriques [10]. Cette concordance est notée quelque soit l'étendu des valeurs d'albuminémie. Cependant, une proportion élevée d'immunoglobuline monoclonale surévalue le dosage des protéines totales par la méthode du Biuret et engendre secondairement une surestimation d'albumine quantifiée par l'ECP [11].

Parmi les indications du dosage d'albumine, la dénutrition, définie par un déséquilibre nutritionnel avec un bilan protéo-énergétique négatif [12]. Elle est décrite comme modérée ou sévère selon la présence de certains critères dont le degré d'hypoalbuminémie. Selon les recommandations de la Haute Autorité de santé (HAS) en novembre 2019 [13], l'albuminémie est obligatoirement mesurée par Immunonéphélométrie ou Immunoturbidimétrie. Ces méthodes sont indisponibles au niveau de notre laboratoire. La substitution par l'Alb-BCG est inévitable. Étant donné que cette méthode modifie l'estimation de la sévérité de la dénutrition en surévaluant l'état nutritionnel. Le recours aux méthodes électrophorétiques capillaires pour l'estimation d'albumine s'avère le meilleur équivalent aux méthodes immunologiques.

Il est régulièrement rappelé aux cliniciens et biologistes d'interpréter la calcémie en fonction des taux d'albumine sérique [14]. La détermination d'une concentration précise du calcium est particulièrement importante pour la recherche et la détection des hypo ou des hypercalcémies. La correction de la calcémie est souvent obtenue par la formule de Payne (calcémie corrigée $\text{mmol/l} = \text{calcémie totale mmol/l} + 0,025 \times [40 - \text{albuminémie g/l}]$) [15,16]. La correction par l'utilisation des Alb-BCG sous-évalue les calcémies (avec une moyenne de biais de 0,11 mmol/l ; $\text{DS} = 0,04 \text{ mmol/l}$) [14]. En prenant en considération cette discordance entre les mesures d'albumine, le CMS (Centers for Medicare et Medicaid Services) a remplacé dans ces lignes directrices pour les centres de dialyse (2016) [17] le reportage des calcémies corrigées par les calcémies non corrigées chez les

dialysés. Labriola et al. [18] avaient étudié l'influence des deux méthodes colorimétriques de dosage d'albumine (BCG contre BCP) sur la correction de calcium chez le patient hémodialysé. En utilisant la formule de Payen recommandée par KDOQI (Kidney Disease Outcomes Quality Initiative), cette équipe a montré que dans un tiers des 89 patients, la correction à base de l'Alb-BCG tend à des hypocalcémies tandis que la même correction par l'albumine BCP mène à des hypercalcémies.

L'analyse de la régression linéaire a montré que pour une Alb-ECP inférieur à 30 g/l, les biais entre les Alb-ECP et les Alb-BCG sont corrélés positivement aux concentrations des α -globulines notamment les α_2 . Cette corrélation pourrait être due à la fixation non spécifique du BCG par les protéines de ces fractions. L'augmentation des α -globulines est caractéristique des syndromes inflammatoires qui s'accompagnent souvent d'une hypoalbuminémie résultant d'un hypercatabolisme. Ainsi de nombreuses études [7,19,20] ont rapporté une surévaluation de l'albumine dosée par le BCG par rapport aux autres méthodes (Immunométriques et colorimétrique à la BCP) qui se sont révélées plus précises que l'Alb-BCG essentiellement en cas de syndrome néphrotique.

CONCLUSION

Notre étude a montré une discordance des mesures de l'albuminémie par l'ECP et le BCG, ce dernier a tendance à surestimer les valeurs d'albumine. La méthode colorimétrique de vert de bromocrésol malgré qu'elle soit la plus utilisée, est peu spécifique pour l'albumine notamment pour les valeurs basses ($<30\text{g/l}$) s'accompagnant d'un syndrome inflammatoire. Il en résulte de ce fait une surévaluation de l'état nutritionnel entraînant un mauvais scoring des pathologies, voire des confusions cliniques et donc une prise en charge inappropriée des patients. D'autres études approfondies sont donc nécessaires pour déterminer l'origine de cette discordance et améliorer l'accord entre les différentes méthodes de dosage d'albumine. Une collaboration biologiste-clinicien est indispensable pour le choix des méthodes de dosage d'albumine selon le contexte clinique.

DATE D'ENVOI : 24/04/2021.

DATE D'ACCEPTATION : 10/10/2021.

DATE DE PUBLICATION : 22/12/2021.

RÉFÉRENCES

1. Haute Autorité de Santé. Stratégie de prise en charge en cas de dénutrition protéino-énergétique chez la personne âgée. Paris : HAS ; 2007.
2. Arques S. Albumine sérique et maladies cardiovasculaires : une revue approfondie de la littérature. Ann Cardiol Angeiol. 2018 Février ; 67 : 1-9.
3. Doumas BT, Peters T. Origins of dye-binding methods for measuring serum albumin. Clin Chem. 2009 Mars ; 55(3):583-584.
4. Bachmann LM, Yu M, Boyd JC, Bruns DE, Miller GW. State of harmonization of 24 serum albumin measurement procedures and implications for medical decisions. Clin Chem. 2017 Mars ; 63 (3): 770-779.
5. Thuillier F, Demarquilly C, Szymanowicz A, Gaillard C, Boniface M, Braidy C, et al. Turbidimétrie ou néphélométrie : quel choix pour les dosages de l'albumine, l'ApoA, la CRP, l'haptoglobine, l'IgM et la transthyréline?. Ann Biol Clin. 2008 Février ; 66 (1) : 63-78.
6. Maël P, Cyril L, Eymeric L R, Théo L, Nicolas G, Marion L et al. Is capillary zone electrophoresis a suitable method for estimating serum albumin: A comparison of four methods. Clin Chim Acta. 2018 December ; 487: 250-255.

7. Vanessa G M, Nana B V, Maria D M G, Belen L G, Sara G A, Eloy FR. Overestimation of Albumin Measured by Bromocresol Green vs Bromocresol Purple Method: Influence of Acute-Phase Globulin. *Lab Med*. 2018 October;49 (4): 355-361.
8. Duly E B, Grimson S, Grimson P, Barnes G, Trinick T R. Measurement of serum albumin by capillary zone electrophoresis, bromocresol green, bromocresol purple, and immunoassay methods. *J Clin Pathol*. 2003 October;56 (10): 780-78.
9. Metha A, Andrew M, James P F, Shannon R H, Sean J P, Vanda AL. Comparison of Bromocresol Purple and Capillary Protein Electrophoresis for Quantification of Serum Albumin in Multiple Myeloma. *Clin Chem*. 2009 Mars; 55 (3): 594-596.
10. Didier L C, Kalyane B N. L'électrophorèse capillaire automatisée en biologie clinique. Colloque du SNBH 2004. *Spec Bio* ; 2005 juin ;146 : 47-52.
11. Maël P, Théo L, Marion L, Eymeric L R, Amélie R, Hélène K et al. Systematic overestimation of human serum albumin by capillary zone electrophoresis method due to monoclonal immunoglobulin interferences. *Clin Chim Acta*. 2019 Avril; 491: 74-80.
12. Aussel C, Cynober L. L'albuminémie est-elle un marqueur de l'état nutritionnel ? *Nutri clin méta*. 2013 Février ; 27 (1) :28-33.
13. Haute Autorité de Santé. Diagnostic de la dénutrition de l'enfant et de l'adulte. Paris : HAS ; 2019.
14. Vassault A. Calcium total et ionisé. *Encyclopédie Médico Chirurgicale, Biologie clinique*. Paris : Elsevier, 2006 : 90-10-0260.
15. Payne RB, Little AJ, Williams RB, Milner JR. Interpretation of serum calcium in patients with abnormal serum proteins. *Br Med J*. 1973 Decembre; 4(5893): 643-646.
16. Bilezikian JP, Brandi ML, Eastell R et al. Guidelines for the management of asymptomatic primary hyperparathyroidism: summary statement from the Fourth International Workshop. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014 October;99(10):3561-9
17. Centers for Medicare and Medicaid Services. Fiscal Year (FY) 2016 End Stage Renal Disease (ESRD) Core Survey. Baltimore: CMS; 2016.
18. Data Worksheet Labriola L, Wallemacq P, Gulbis B, Jadoul M. The impact of the assay for measuring albumin on corrected ('adjusted') calcium concentrations. *Nephrol Dial Transplant*. 2009 juin; 24 (6):1834- 8.
19. Xu Y1, Wang L, Wang J, Liang H, Jiang X. Serum globulins contribute to the discrepancies observed between the bromocresol green and bromocresol purple assays of serum albumin concentration. *Br J Biomed Sci*. 2011;68(3):120-5.
20. Tsuyoshi U, Satoshi H, Masami S, Takashi M. The bromocresol green assay, but not the modified bromocresol purple assay, overestimates the serum albumin concentration in nephrotic syndrome through reaction with 2-macroglobulin. *Ann Clin Biochem*. 2016 Janvier ; 53(1): 97-105.