



LABORATOIRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DE BRUXELLES
LHUB-ULB
UNIVERSITAIR LABORATORIUM BRUSSEL

Fiabilité du dosage de l'albumine par méthode colorimétrique et impact clinique (Corata Belgique 2025)

Slavka Penickova

laboratoire de chimie médicale LHUB-ULB

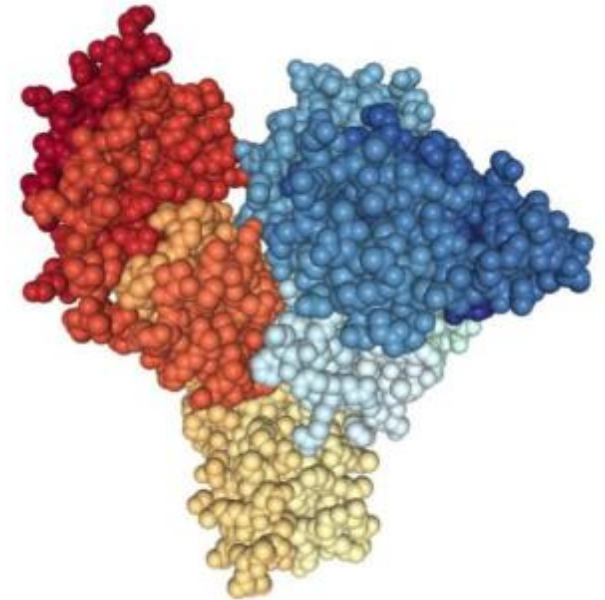
Structure

- **albumine**
- **méthodes de dosage de l'albumine**
- **notre étude**
- **littérature + discussion**
- **conclusion**

ALBUMINE

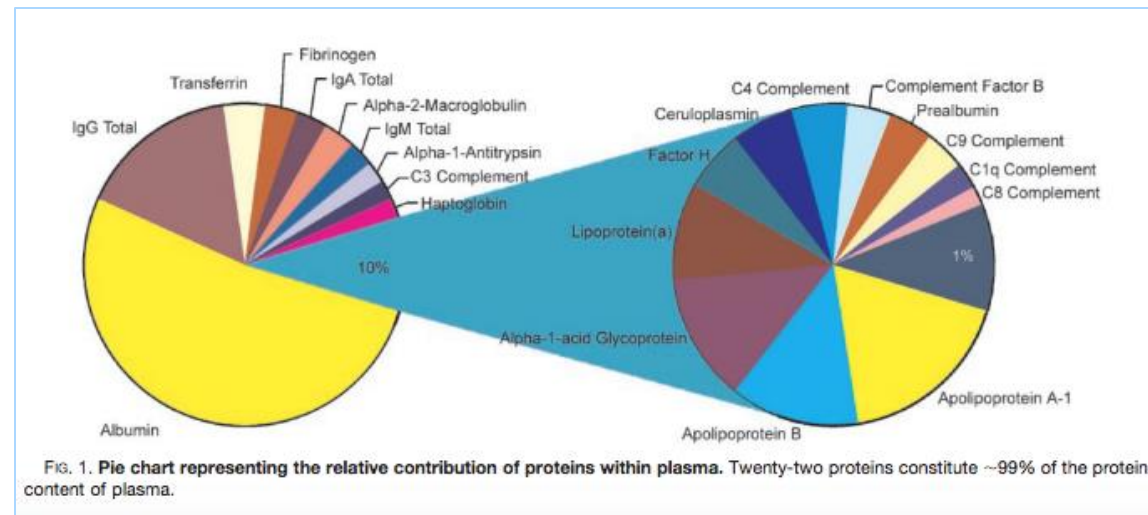
Albumine : définition

- ❑ protéine plasmatique majeure (35-50 g/L)
> 60 % le liquide interstitiel; effectue ~28 « voyages » dans et hors du système lymphatique au cours de sa vie
- ❑ synthétisée exclusivement dans le foie (120 mg/kg de poids corporel/24 h, ↑ si baisse de la pression oncotique, ↓ IL 6)
- ❑ poids moléculaire 66,3 kDa, 585 acides aminés
- ❑ la demi-vie plasmatique 20 jours



Albumine : fonctions

- ❖ la pression oncotique du plasma
(80% de la pression osmotique colloïdale du sang)
- ❖ maintien de la distribution du liquide extracellulaire entre les compartiments vasculaire et extravasculaire



Albumine : intérêt clinique

- ❖ reflète la fonction hépatique
- ❖ marqueur de l'état nutritionnel
- ❖ protéine de transport pour de nombreuses substances : les acides gras libres, certains ions (Ca^{++} , Zn^{++} , cuivre), bilirubine et de nombreux médicaments (la warfarine, l'ibuprofène, la chlorpromazine et le naproxène, ...)
- ❖ pronostic des patients atteints de myélome multiple, la décision de transplanter des patients en hémodialyse, calculer les valeurs corrigées du calcium sérique, des hormones libres et de l'index des immunoglobulines G

Albumine : applications cliniques

- ❖ restauration hydrique :
après le paracentèse, la plasmaphérèse thérapeutique, en cas de péritonite bactérienne spontanée, de choc hypovolémique, de syndromes hépatorénal ou néphrotique, après certaines interventions chirurgicales et transplantation, et chez les patients souffrant d'entéropathie/perte de protéines ou d'ascite réfractaire (La Society of Critical Care Medicine (États-Unis), et la European Society of Intensive Care Medicine : colloïde de choix lors de la réanimation des patients atteints de **septicémie** et de **choc septique**)
- ❖ souvent un traitement de seconde intention, surtout si l'albumine **< 20 g/L**, lorsque sa fonction oncotique est déjà altérée



MÉTHODES DE DOSAGE DE L'ALBUMINE

Méthodes de dosage de l'albumine

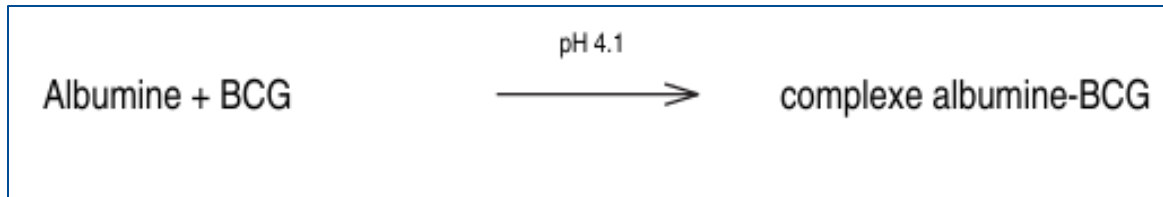
- ✓ méthodes colorimétriques au vert de bromocrésol (BCG) et au violet de bromocrésol (BCP)
- ✓ immunoturbidimétrie (IT) ou immunonéphélémétrie (NM)
- ✓ estimation : électrophorèse des protéines sériques



Test au vert de bromocrésol (BCG) Cobas

Principe : test colorimétrique à un pH de 4.1

l'albumine se combine avec le vert de bromocrésol pour former un complexe bleu-vert



Traçabilité:

standardisée par rapport à la préparation de référence de l'IRMM (Institute for Reference Materials and Measurements) **BCR470/CRM470** (RPPHS - Reference Preparation for Proteins in Human Serum).

L'intensité de la coloration bleu-vert est proportionnelle à la concentration en albumine et mesurée par photométrie

Test Tina-quant Albumin Cobas

Principe :

Les anticorps anti-albumine réagissent avec l'antigène -> formation de complexes antigènes-anticorps. L'agglutination qui en résulte est mesurée par turbidimétrie.

Anticorps (polyclonaux de mouton)
anti-albumine humaine

Traçabilité: La méthode a été standardisée par rapport à la préparation de référence de l'IRMM (Institute for Reference Materials and Measurements)

ERM-DA470k/IFCC

Électrophorèse des PS : électrophorèse capillaire

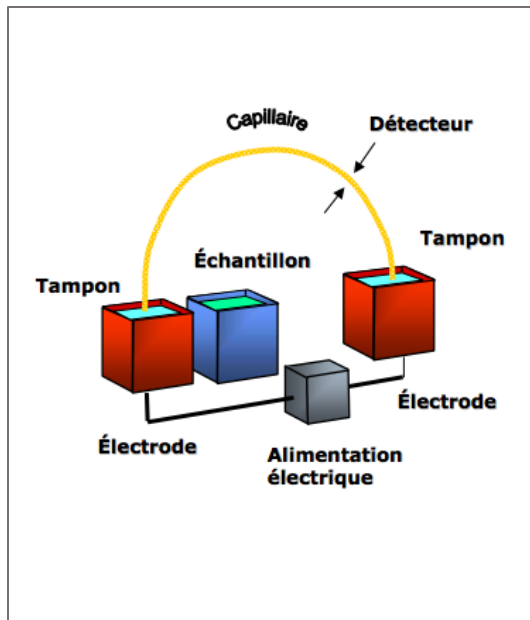
- séparation basée sur la migration différentielle sous l'influence d'un champ électrique
- des tubes de silice fondue de petit diamètre (+ double couche électrique)
- hauts voltages et champs électriques appliqués aux extrémités du capillaire

le mouvement d'un soluté chargé à travers le capillaire est la somme des deux phénomènes :

électrophorèse

électro-osmose

=> l'ordre de migration inversé par rapport à l'électrophorèse sur gel



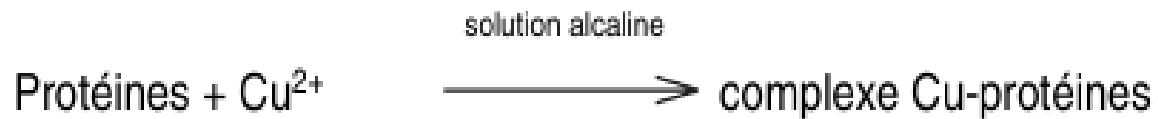
- analyse (UV) % chaque fraction (la détection par spectroscopie UV; absorbance)
- protéines totales => calcul => concentration de chaque fraction

Protéines totales : Cobas

Principe: Test colorimétrique

Les ions cuivriques réagissent en solution alcaline avec les liaisons peptidiques des protéines avec formation d'un complexe violet caractéristique (réaction du biuret).

L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en protéines et mesurée par photométrie



Traçabilité:

la méthode a été standardisée par rapport au **SRM 927** :
bovine serum albumin 7 % solution

- Trois acides aminés au moins sont nécessaires dans le peptide pour que la couleur caractéristique soit produite.



NOTRE ÉTUDE

...différence de 7-8 g/L entre résultat de l'albumine par électrophorèse des protéines sériques et l'albumine mesurée en laboratoire ???



Notre étude : objectif

- ✓ **identifier les patients présentant des divergences significatives entre les différentes méthodes**
- ✓ **étudier la fiabilité de la méthode BCG dans différents groupes de patients, en particulier chez les patients présentant de faibles taux d'albumine**

Notre étude : design

- ✓ **320 échantillons**
- ✓ **217 : alpha-1 globuline (a1G) et/ou alpha-2 globuline (a2G) > RV**
(insert kit Capi 3 Protein 6 2019/07 Sebia)
- ✓ **227 : hypoalbuminémie par la méthode BCG**

- ✓ **les niveaux d'albumine ont été déterminés par plusieurs méthodes dans le sérum et le plasma**
- ✓ **les différences obtenues ont été comparées entre les patients présentant différents profils de protéines sériques**

Notre étude : design

BCG plasma/serum x **CE** serum

BCG plasma x **BCG** serum

IT serum/plasma x **CE** serum

IT serum x **IT** plasma

BCG serum/plasma x **IT** serum/plasma

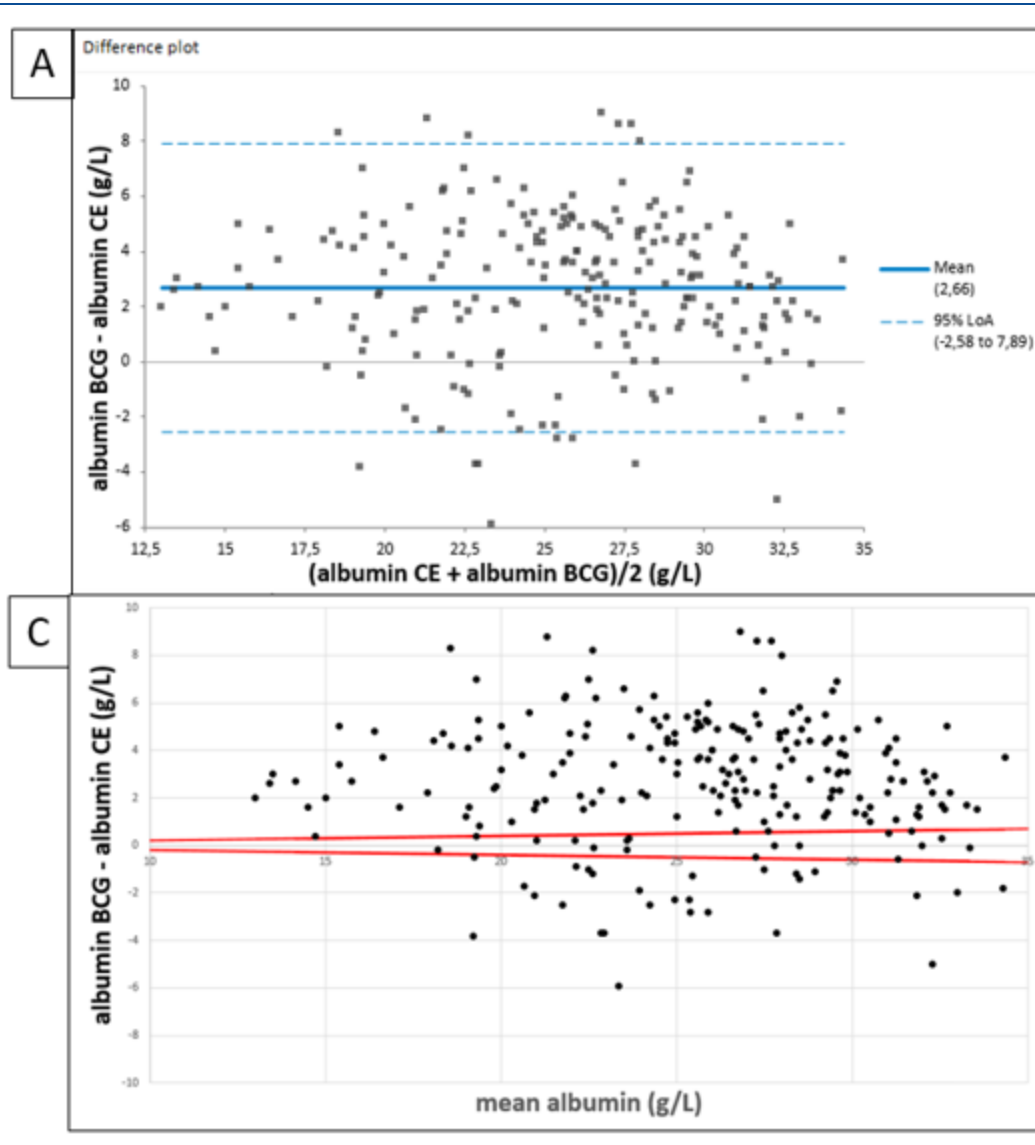
- tous les patients
- patients présentant une hypoalbuminémie
- patients présentant des taux élevés d'Alpha-1 globulines, d'Alpha-2 globulines, de Gammaglobulines, de CRP

Comparaison : plasma BCG et sérum CE

tous les patients (320 échantillons)

- ✓ **BCG (albBCG) plus élevées** que **CE (albCE)**
(Wilcoxon, $p < 0,0001$)
- ✓ **(albBCG-albCE)** plus importante si des taux **élevés d'a1G et d'a2G (>RVs)**
(Mann-Whitney, $p < 0,0001$)
- ✓ la différence moyenne **4,4 g/L**, soit 13% de la moyenne alb-BCG (**34 g/L**)
- ✓ pas de différence cliniquement significative (albCE < 20 g/L) lors de la réanalyse avec CE

Comparaison : plasma BCG et sérum CE



patients hypoalbuminémiques (227)

- ❖ albBCG > l'albCE (Wilcoxon, $p < 0,0001$)
biais moyen de **2,7 g/L**
(10 % de l'albBCG moyen de **26,9 g/L**)
- ❖ Bland-Altman
le biais maximal acceptable pour l'albumine selon l'EFLM en rouge

Comparaison : plasma BCG et sérum CE

**patients hypoalbuminémiques +
élévation de CRP, d'a1G et d'a2G**

hypoalbuminémie et CRP >100 mg/L
(Wilcoxon, $p < 0,0001$)
biais moyen **3,7 g/L** de l'albBCG moyen **26,8 g/L**

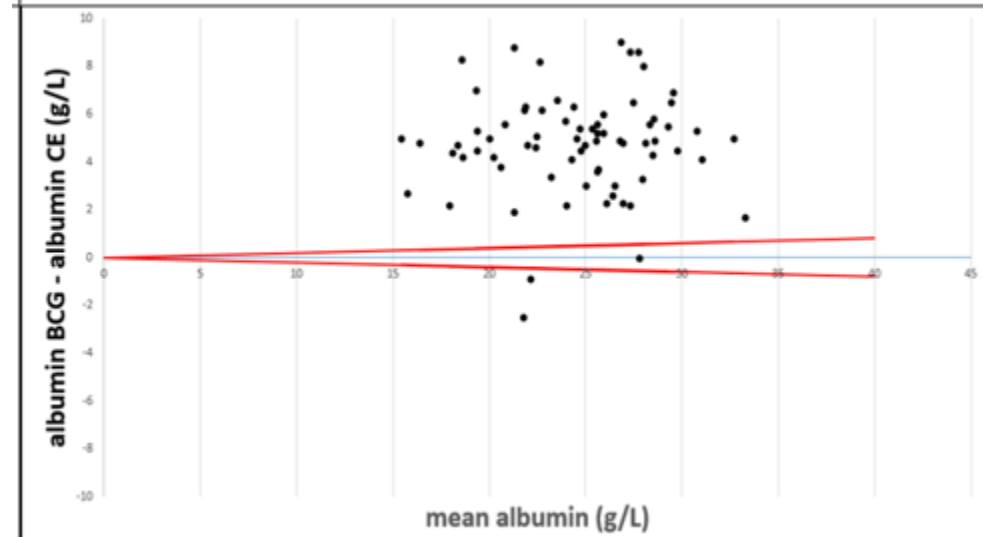
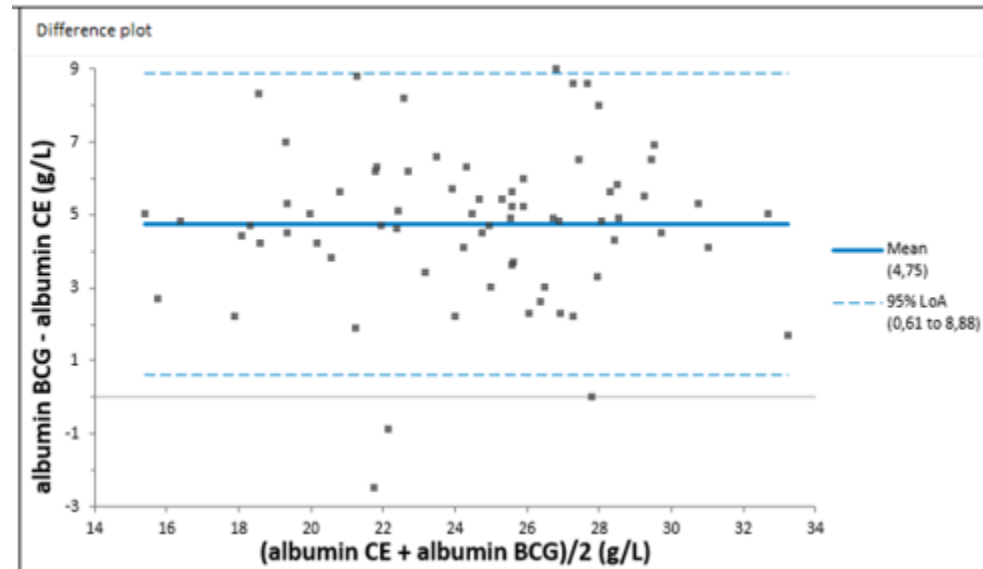
hypoalbuminémie et **d'a1G et d'a2G > VR**
(t test paired, $p < 0,0001$)
biais moyen **4,7 g/L** de l'albBCG moyenne **26,8 g/L**

biais maximal acceptable selon l'EFLM en rouge (7% atteint objectif)

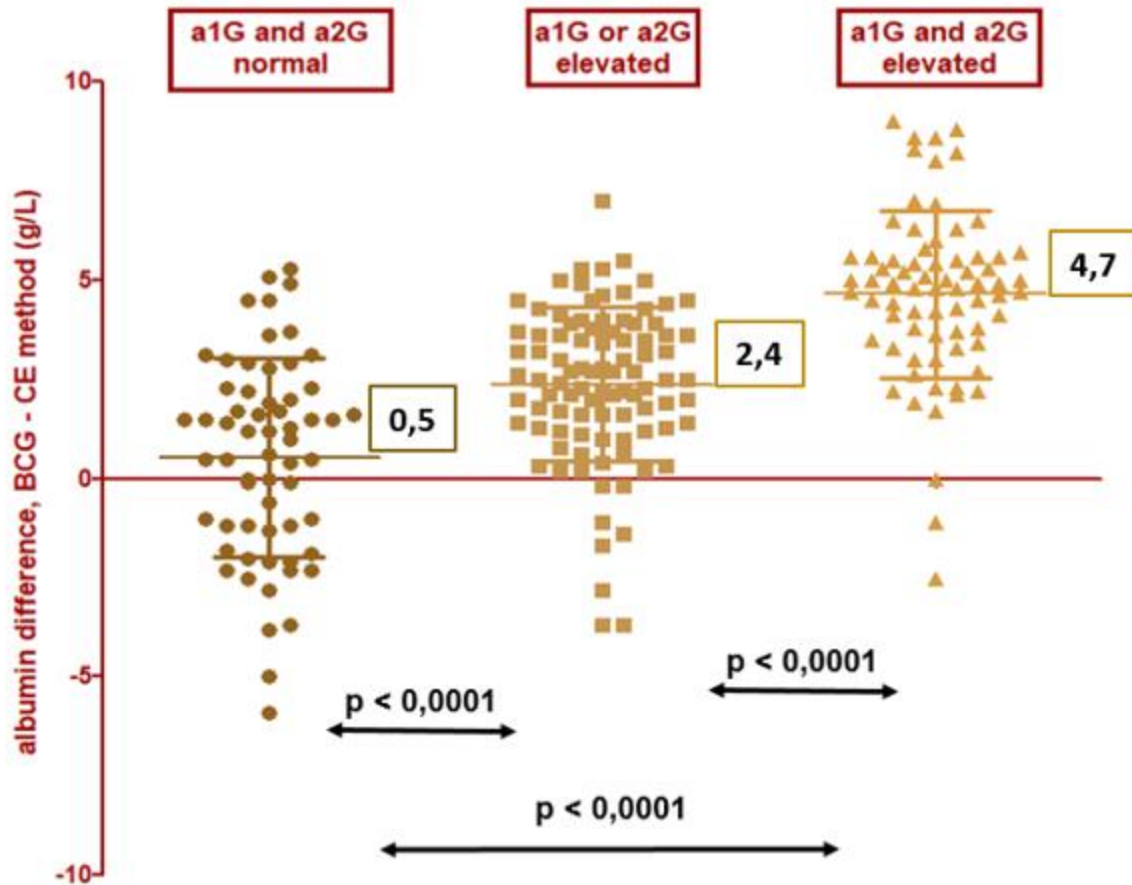
--> 26% une différence cliniquement significative après une nouvelle analyse par la méthode CE

B

D



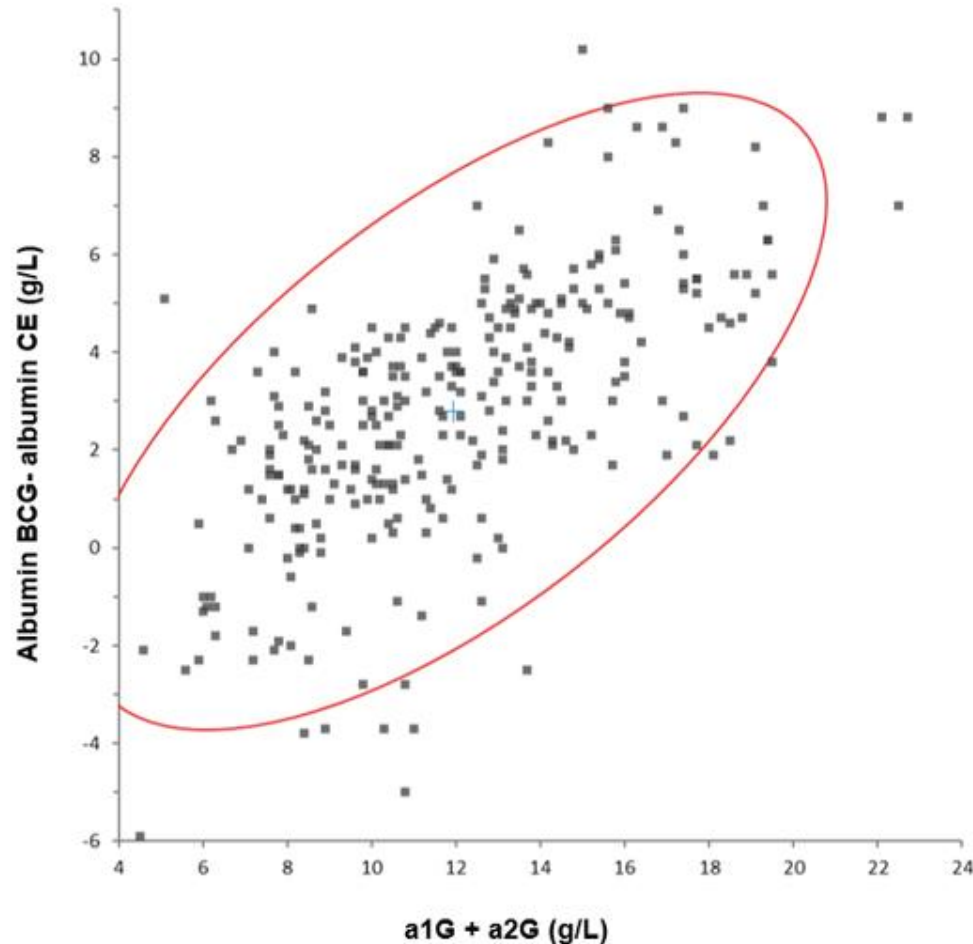
Comparaison : plasma BCG et sérum CE



■ surestimation de l'albumine par la méthode BCG (albBCG-albCE)

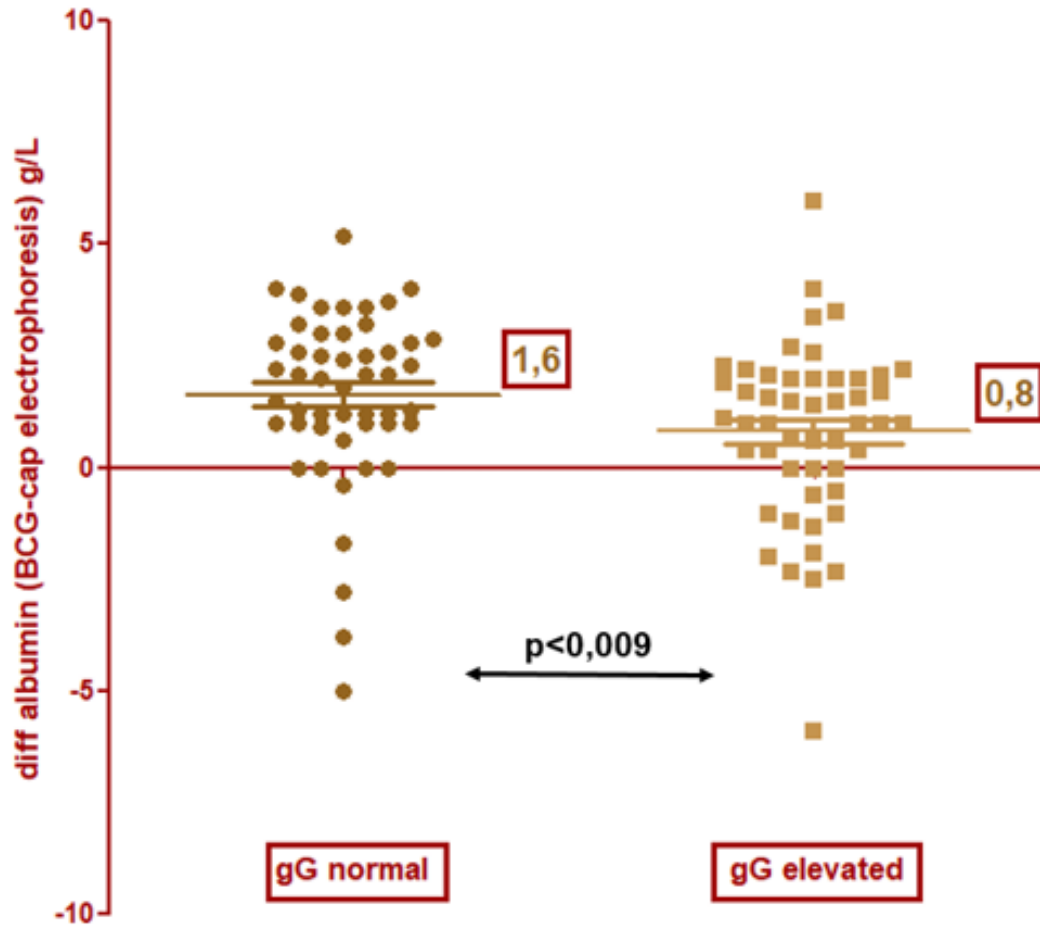
- ✓ plus importante si CRP élevée (>100mg/L) que si CRP basse (<30mg/L)
(Mann-Whitney, $p < 0,0001$)
- ✓ plus importante si hypoalbuminémie et de taux élevés d'a1G et d'a2G
(Mann Whitney , tous $p < 0,0001$)

Comparaison : plasma BCG et sérum CE



corrélation
entre alpha-1 + alpha-2 (x) et
la différence entre BCG et CE (y)
(Pearson = 0,66 Spearman = 0,68)

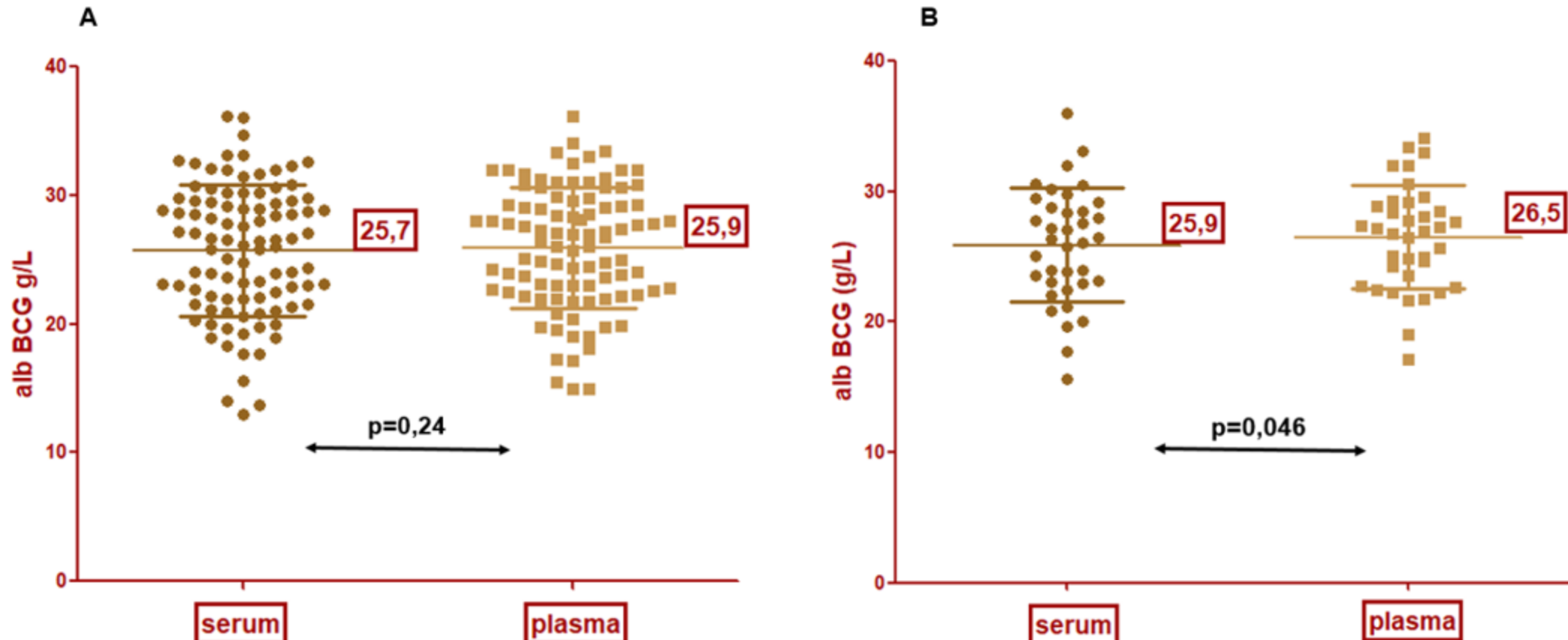
Comparaison : plasma BCG et sérum CE: hypergammaglobulinémie



si a1G et a2G normales
la méthode BCG a surestimé les valeurs
d'albumine de façon plus importante chez
les patients ayant des gamma globulines
normales

albBCG-albCE différence entre les patients ayant des gammaglobulines normales et élevées

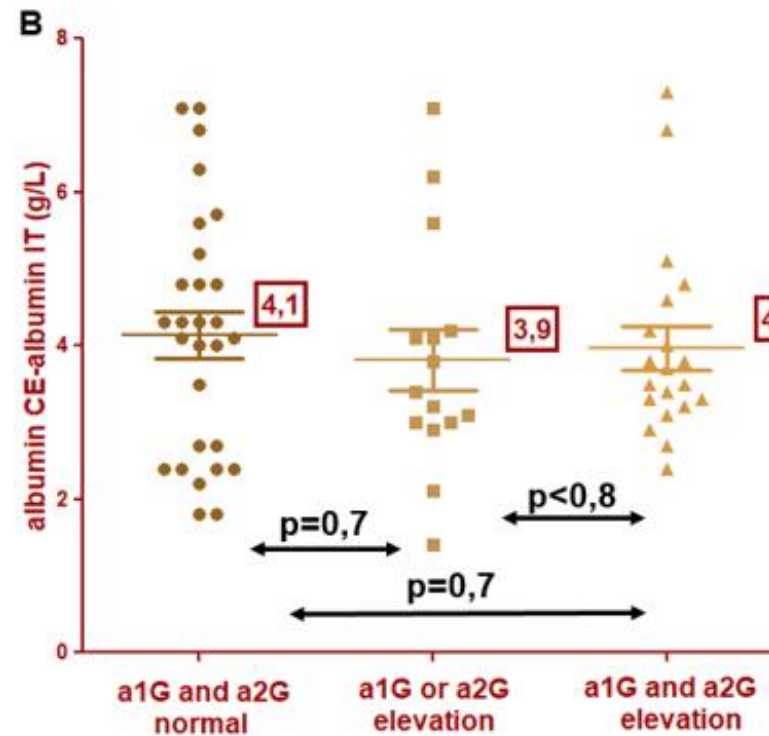
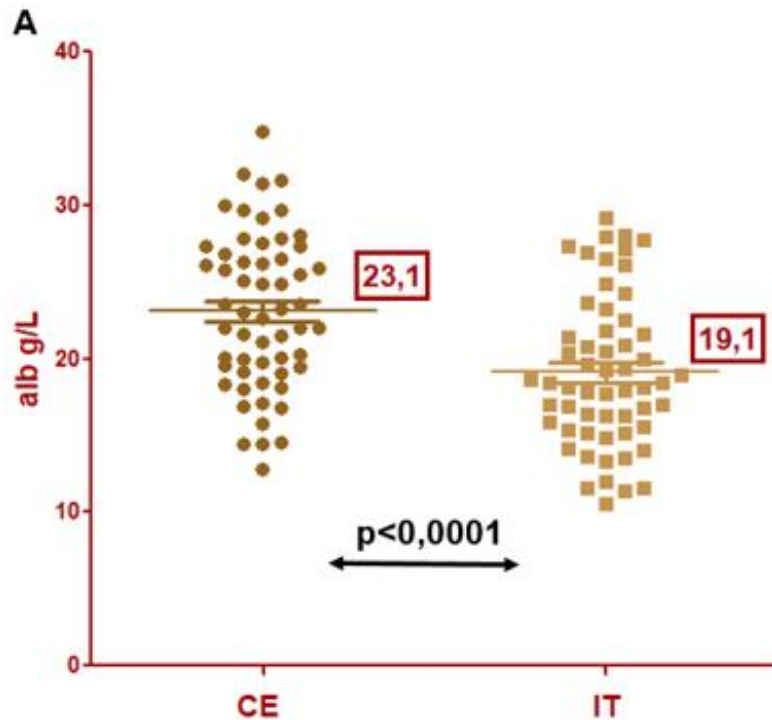
Comparaison : l'albumine plasmatique et sérique mesurée par la méthode BCG



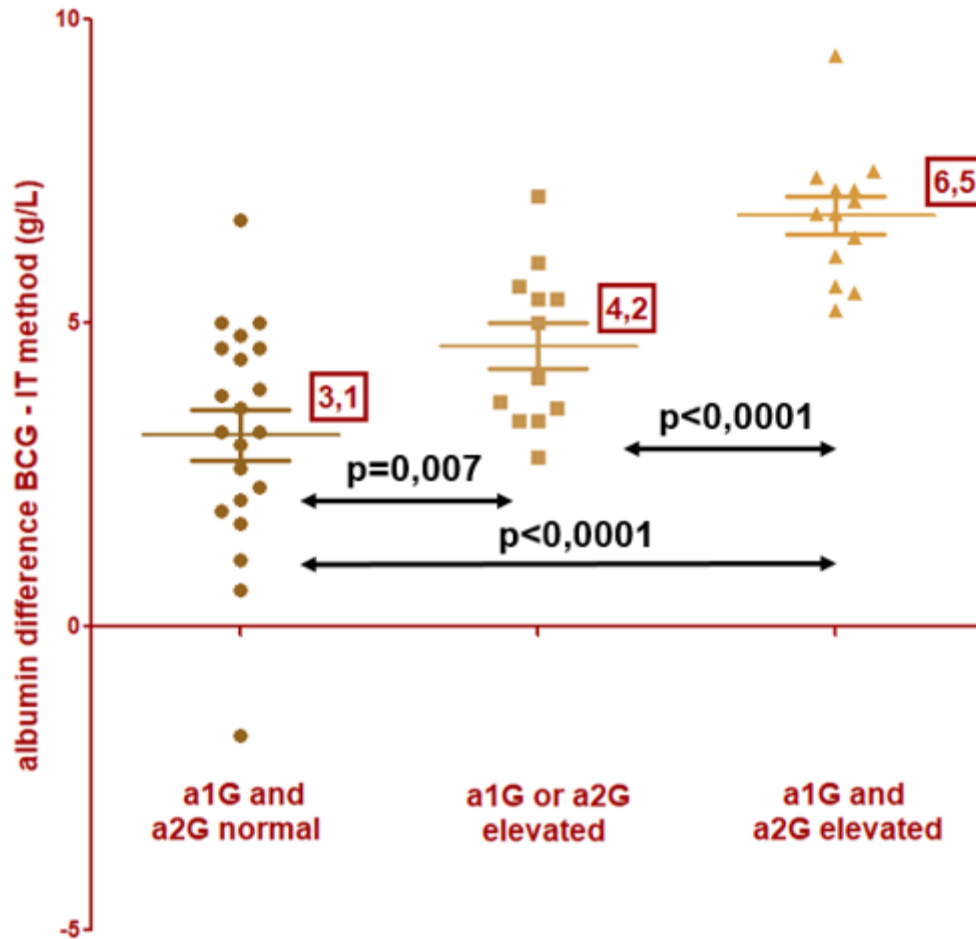
comparaison des résultats de l'albumine sérique BCG et de l'albumine plasmatique BCG chez tous les patients souffrant d'hypoalbuminémie (A) et dans le groupe de patients présentant une élévation de l'a1G et de l'a2G (B)

Comparaison : méthode CE et IT

- surestimation de l'albumine par la technique CE (Wilcoxon, $p < 0,00001$), différence moyenne de **4 g/L**, soit 17,3 % pour une valeur moyenne de l'albCE de **23 g/L**



Comparaison : méthodes BCG et IT



- ✓ BCG sérum : systématiquement plus élevés si hypoalbuminémie (Wilcoxon, $p < 0,0001$)
- ✓ différence moyenne augmentait avec les taux d'a1G et d'a2G
- ✓ surestimation moyenne de l'albumine (albBCG-albIT) : **4,6 g/L**, soit 19,4 % pour une valeur moyenne d'albumine BCG de **23,7 g/L**

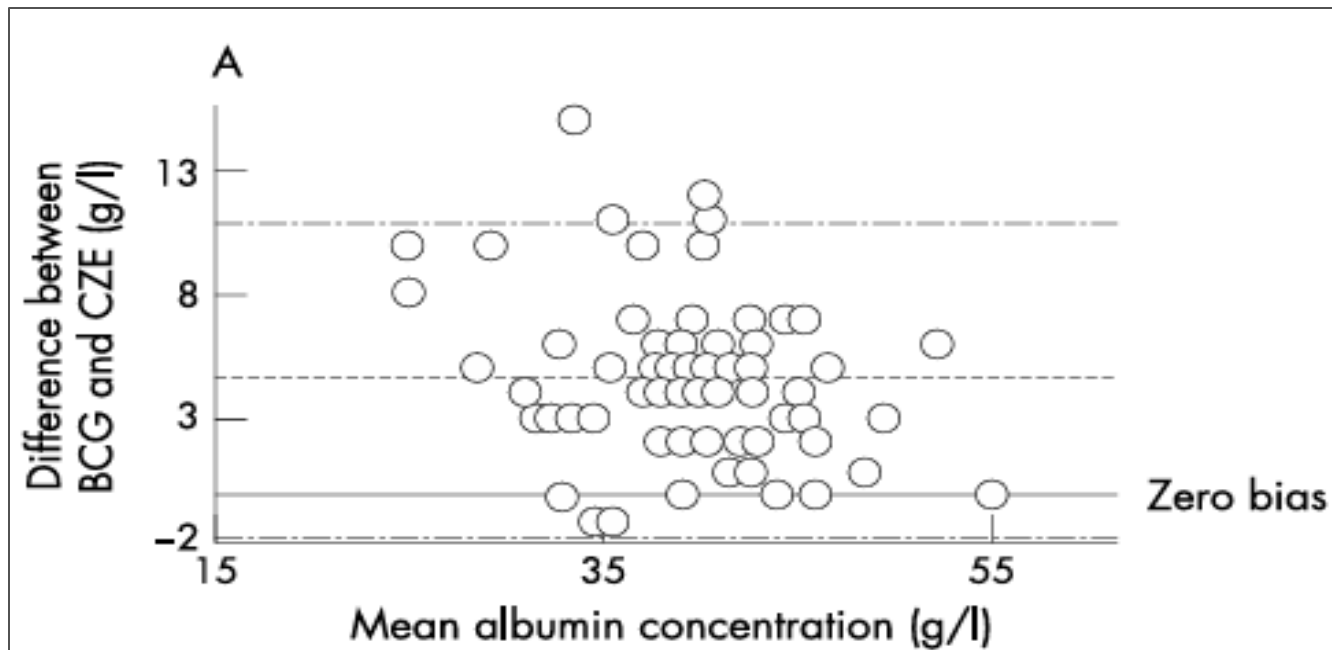


LITTÉRATURE + DISCUSSION

Surestimation par la méthode BCG : littérature

Measurement of serum albumin by capillary zone electrophoresis, bromocresol green, bromocresol purple, and immunoassay methods

...Toutefois, il a été constaté que, pour certains échantillons seulement, la concentration d'albumine calculée par ce moyen donnait des résultats inférieurs à l'albumine mesurée sur l'analyseur de routine Aeroset d'Abbott par la méthode au vert de bromocrésol (BCG)...



RVs de l'albumine

REFERENCE INTERVAL STUDY FOR SERUM ALBUMIN USING DIFFERENT METHODS

Determination of Reference Intervals in 500 Human Samples

application	Albumin BCG	Albumin BCP	Tina-quant*[a] Albumin	Albumin Gen. 2 BCG	Tina-quant*[a] Albumin Gen. 2
Order No.	11970909	11815148	3576108	3183688	4469658
results new reference range study					
Unit	Roche/Hitachi 917			COBAS INTEGRA® 700	
	[g/l]	[g/l]	[g/l]	[g/l]	[g/l]
n (Subjects)	500	500	500	481	481
perc (1)	38,6	33,6	34,7	38,8	34,1
perc(2.5)	39,7	34,9	36,0	39,7	35,2
perc(5.0)	40,3	36,2	36,8	40,5	36,8
perc(50.0)	44,4	40,8	41,0	44,8	40,3
perc(95.0)	48,6	46,1	45,7	48,7	45,5
perc(97.5)	49,4	47,5	46,4	49,5	45,8
perc(99)	50,4	48,6	47,2	50,4	47,6

...Les méthodes BCP et Tinaquant confirment en général la valeur de consensus de 35 g/L, qui était à l'origine basée sur des méthodes immunologiques... En revanche, les résultats plus élevés de > 10 % de la BCG sont dus à la liaison de ce dernier colorant à d'autres protéines sériques que l'albumine... À partir de ces données, nous recommandons pour les méthodes BCG, d'adopter les nouvelles limites de référence...

Surestimation par la méthode BCG : littérature

State of Harmonization of 24 Serum Albumin Measurement Procedures and Implications for Medical Decisions

(3 méthodes IT, 9 BCG, 12 BCP)

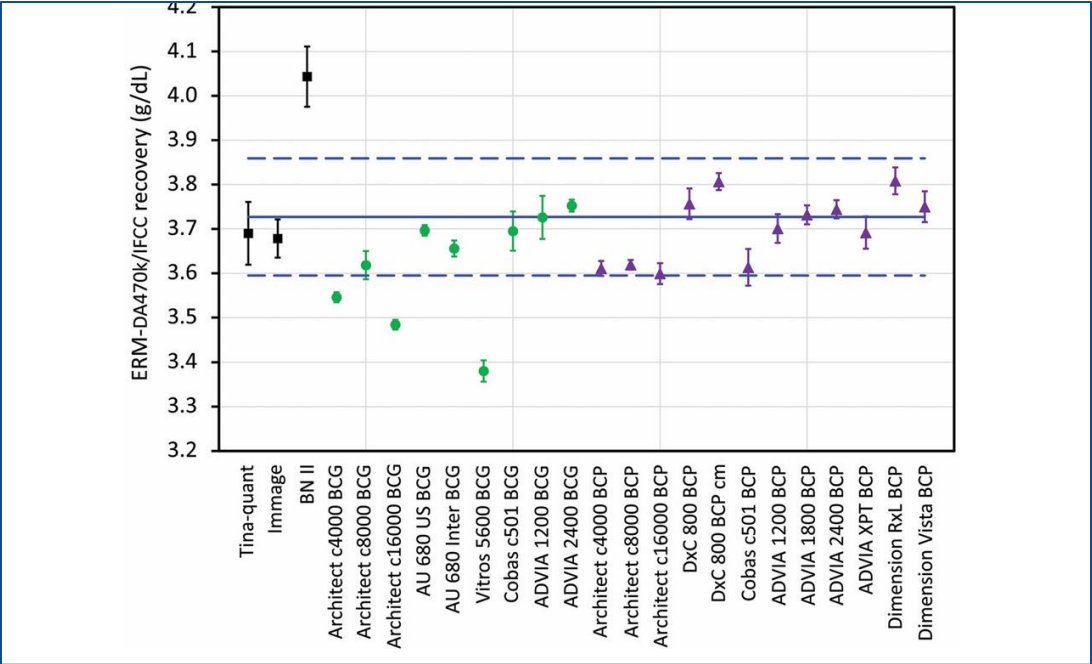


Fig. 1. Recovery of albumin vs target value for the pooled ERM-DA470k/IFCC RM.
 The solid line is the target value for the pooled RM and the dashed lines indicate its uncertainty ($k = 2$). Mean values are shown for immunochemical methods (black squares), BCG methods (green circles), and BCP methods (purple triangles). The error bars represent the uncertainty ($k = 2$) for the method mean values. To convert from g/dL to SI units (g/L), multiply g/dL \times 10.

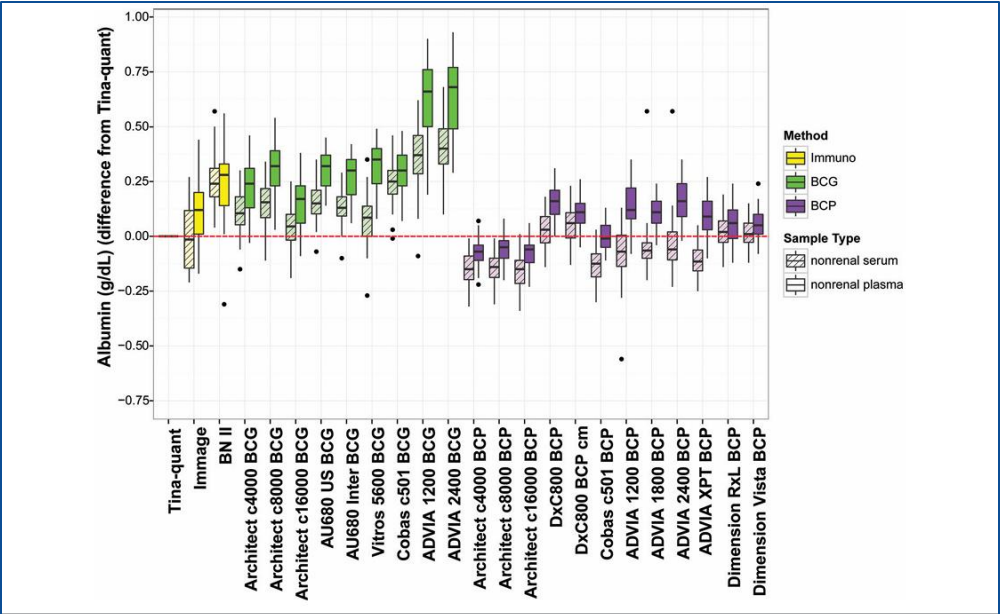
...procédure immunochimique Roche Tina-quant utilisée comme procédure de mesure de référence...

...Le sérum résiduel de patients (n 50) et le plasma d'héparine (n 48) de patients sans maladie rénale, et le sérum de patients souffrant d'insuffisance rénale avant l'hémodialyse (n 53)...

Surestimation par la méthode BCG : littérature

la différence dans les résultats pour chaque procédure de mesure par rapport au RMP pour les échantillons de plasma et de sérum ne souffrant pas de maladies rénales.

...il y avait une plus grande différences entre les méthodes BCG par rapport aux méthodes BCP, ce qui suggère que les méthodes BCG sont influencées par d'autres protéines ou substances dans les échantillons dans une plus grande mesure que les méthodes BCP...

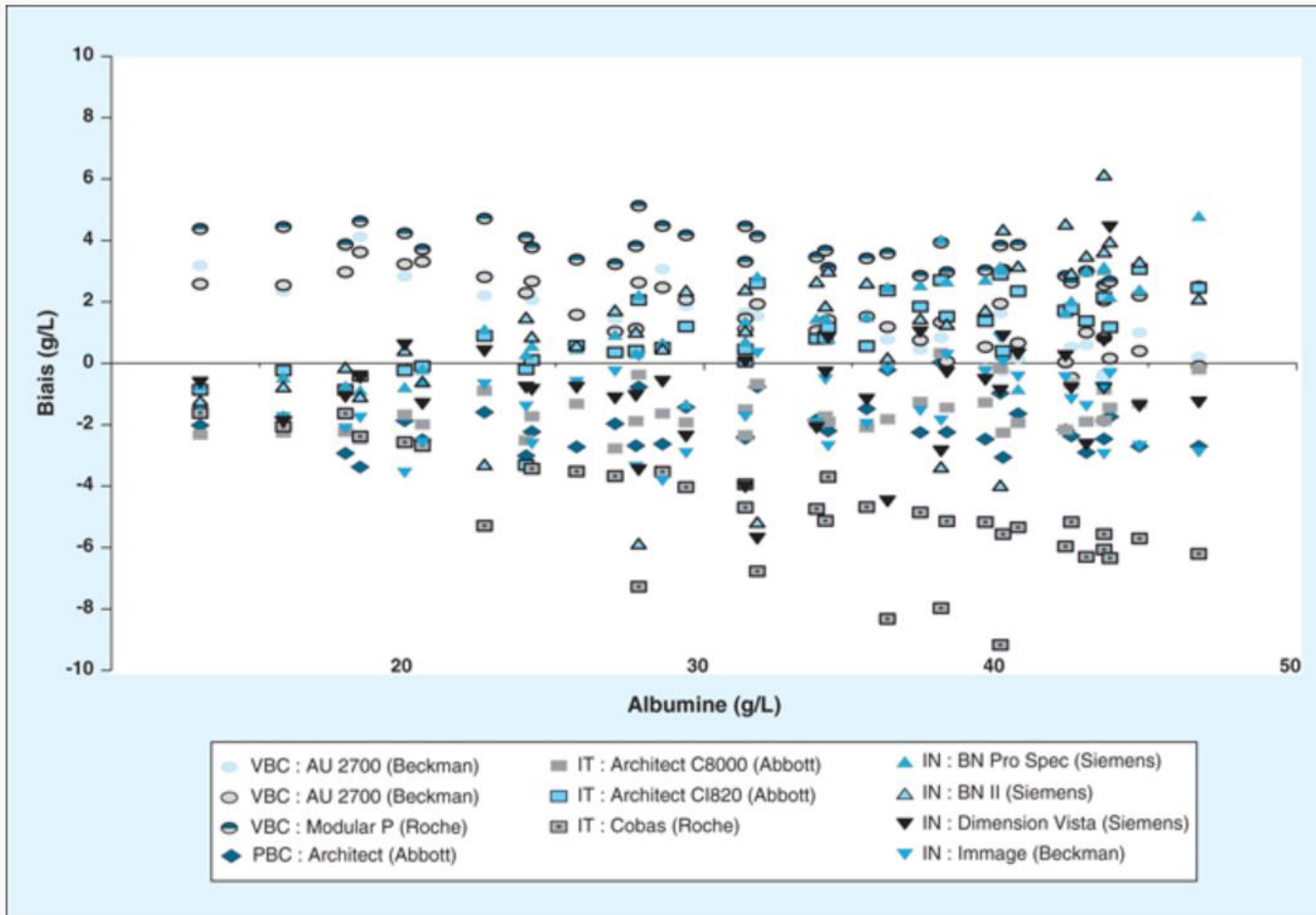


...les méthodes BCP ont des biais proportionnels ; ainsi, il est probable qu'une harmonisation des résultats puisse être réalisée.... le biais variable en fonction de la concentration des méthodes BCG impliquent que les méthodes utilisant la **BCG** ne peuvent pas être harmonisées et devraient donc être éliminées de l'utilisation dans les laboratoires cliniques...

Fig. 2. Difference in albumin results for each method vs the Tina-quant RMP for non-renal disease plasma (darker shade) and non-renal disease serum (lighter shade with stripes) samples. The boxes show the median, 25th, and 75th percentile values, and whiskers represent the 10th and 90th percentile values. Black circles indicate values that exceed the 10th and 90th percentiles. Median values for Tina-quant were 3.28 g/dL (32.8 g/L) and 2.95 g/dL (29.5 g/L) for serum and plasma, respectively. To convert from g/dL to SI units (g/L), multiply g/dL × 10.

Surestimation par la méthode BCG : littérature

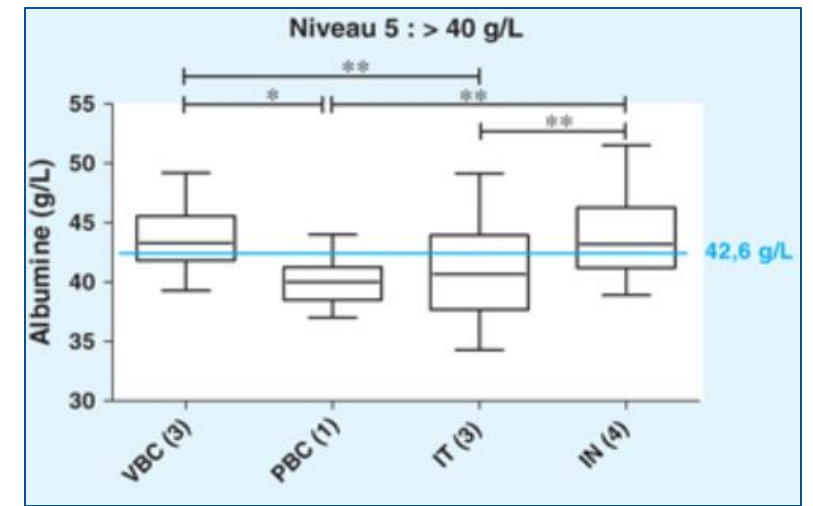
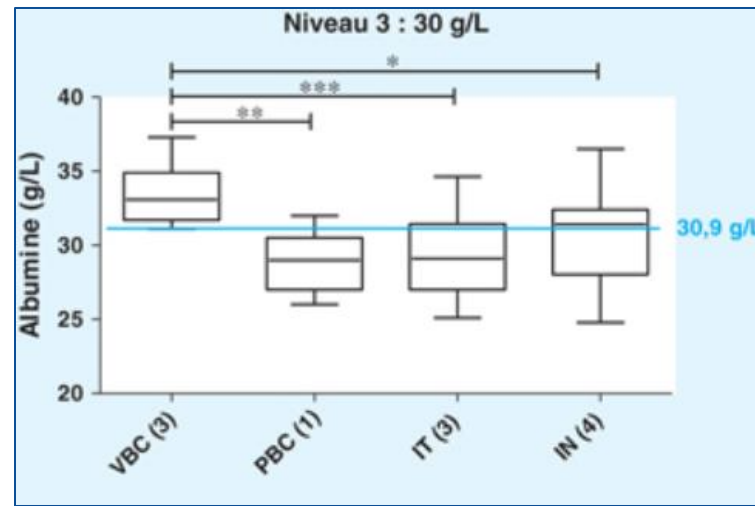
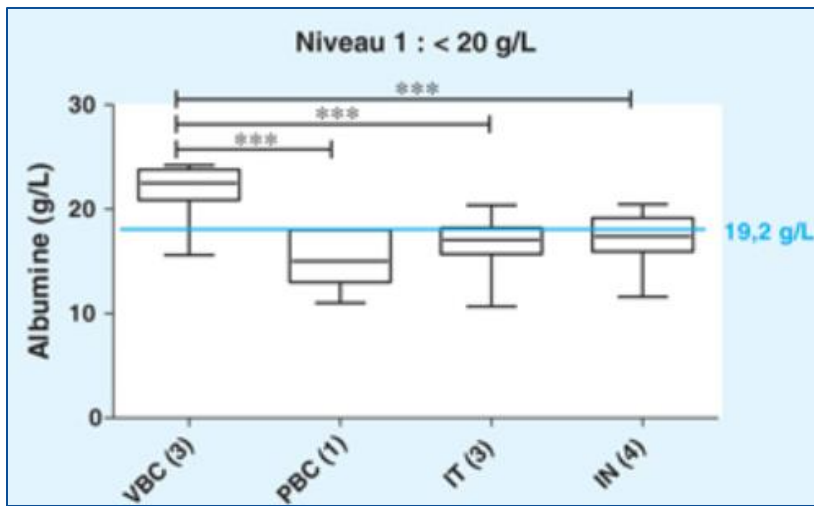
Albuminémie : les enjeux analytiques dans le cadre de l'évaluation nutritionnelle. Étude comparative multicentrique française



L'objectif de cette étude multicentrique (7 sites) du groupe de travail de la Société française de biologie clinique (SFBC) était d'évaluer si les valeurs d'albuminémie sont technique- et/ou analyseur-dépendantes.

Surestimation par la méthode BCG : littérature

...les résultats d'albumine sont liés au couple technique/analyseur. Cette variabilité n'est généralement pas prise en compte par le clinicien...

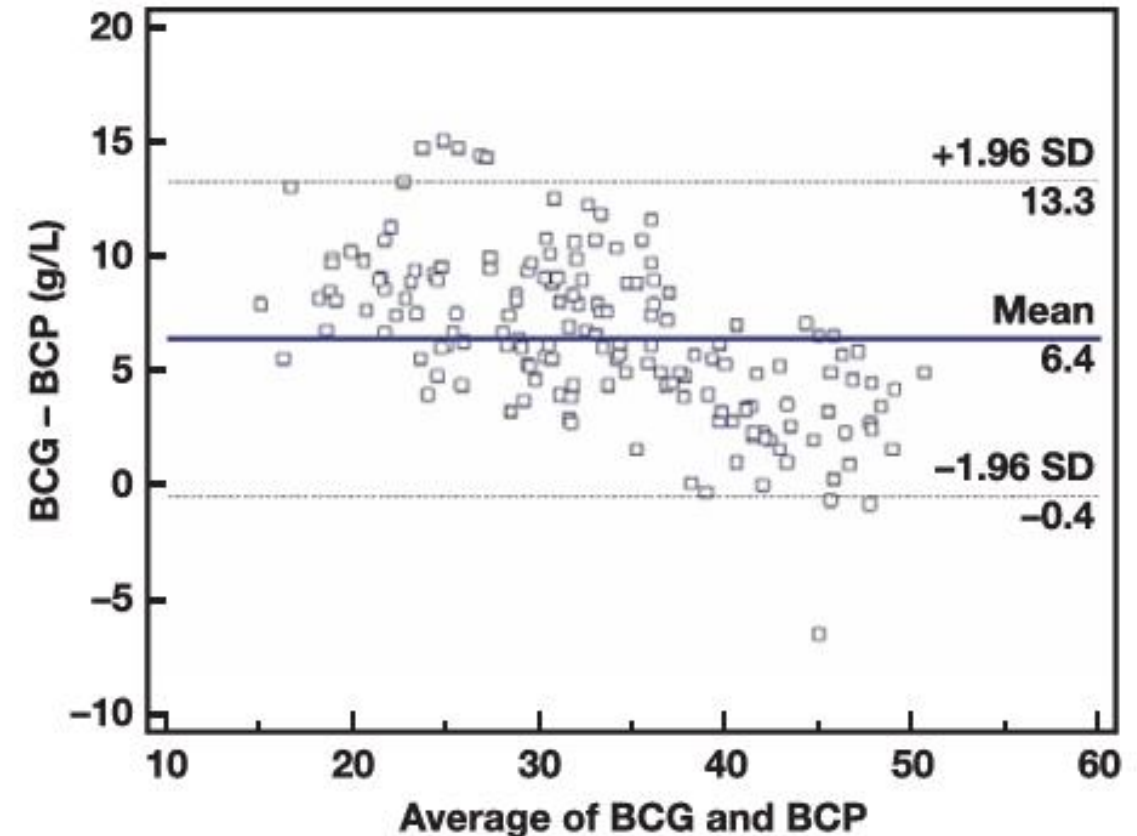


Surestimation par la méthode BCG : littérature

Overestimation of Albumin Measured by Bromocresol Green vs Bromocresol Purple Method: Influence of Acute-Phase Globulins

...le groupe à concentration normale (AlbBCP ≥ 35 g/L), une hypoalbuminémie légère (AlbBCP 30-35 g/L), une hypoalbuminémie modérée (AlbBCP 20-29 g/L) et une hypoalbuminémie sévère (AlbBCP ≤ 20 g/L), les différences moyennes de concentration étaient respectivement de 3,07 g par L, 6,33 g par L, 7,50 g par L et 9,92 g par L (ANOVA ; $P < 0,001$)...

...Le biais entre les résultats du BCG et du BCP semble être dû aux réactions non spécifiques des α -globulines (réactifs de la phase aiguë) dans la méthode BCG...



Surestimation par la méthode BCG : littérature

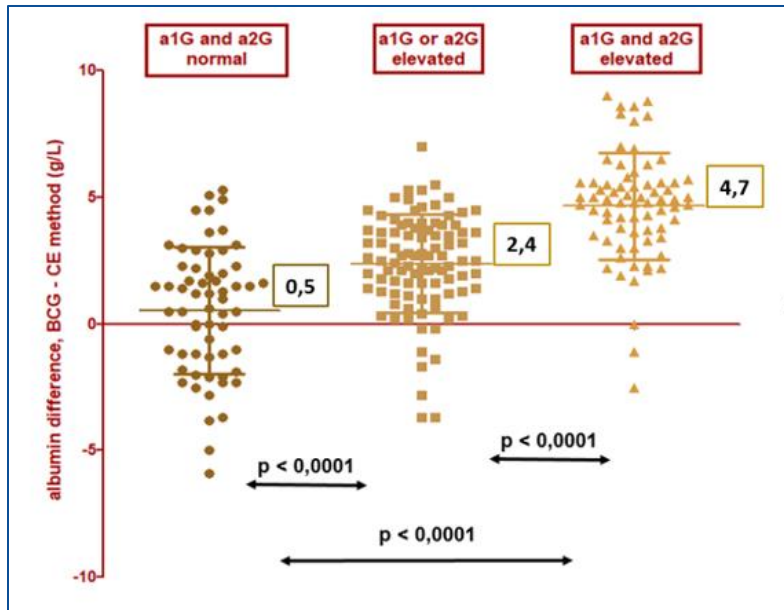
...peut-être dû au long temps de lecture du test BCG...
la méthode BCG n'est pas absolument spécifique de l'albumine... les globulines α -1 et α -2 contribuent à surestimer la concentration d'albumine ...

Bromocresol Purple (BCP)	Bromocresol Green (BCG)
Underestimates albumin level in kidney failure and hemodialysis	Overestimates at lower albumin levels and underestimates at higher concentrations
More specific because it joins human albumin, not globulins	Interference inherent to method. Binds human albumin but also α 1 and α 2 globulins
Immediate reaction	Longer incubation time tends to increase the binding of BCG to other proteins
Agree with nephelometry assays and serum proteinogram	Positively biases against nephelometry assays and serum proteinogram
Easily automated	Easily automated
Requires human serum calibrators and controls (low affinity for non-human albumin)	Can use animal based sera for controls and calibrators and controls (low affinity for non-human albumin)

...le BCP est une méthode supérieure... en raison de sa spécificité plus élevée que celle du BCG...(la méthode BCP sous-estime les concentrations d'albumine dans le sérum des patients souffrant d'insuffisance rénale, la sous-estimation est variable, ne semble pas liée au degré d'insuffisance rénale et la substance interférente n'a pas été clairement identifiée)...

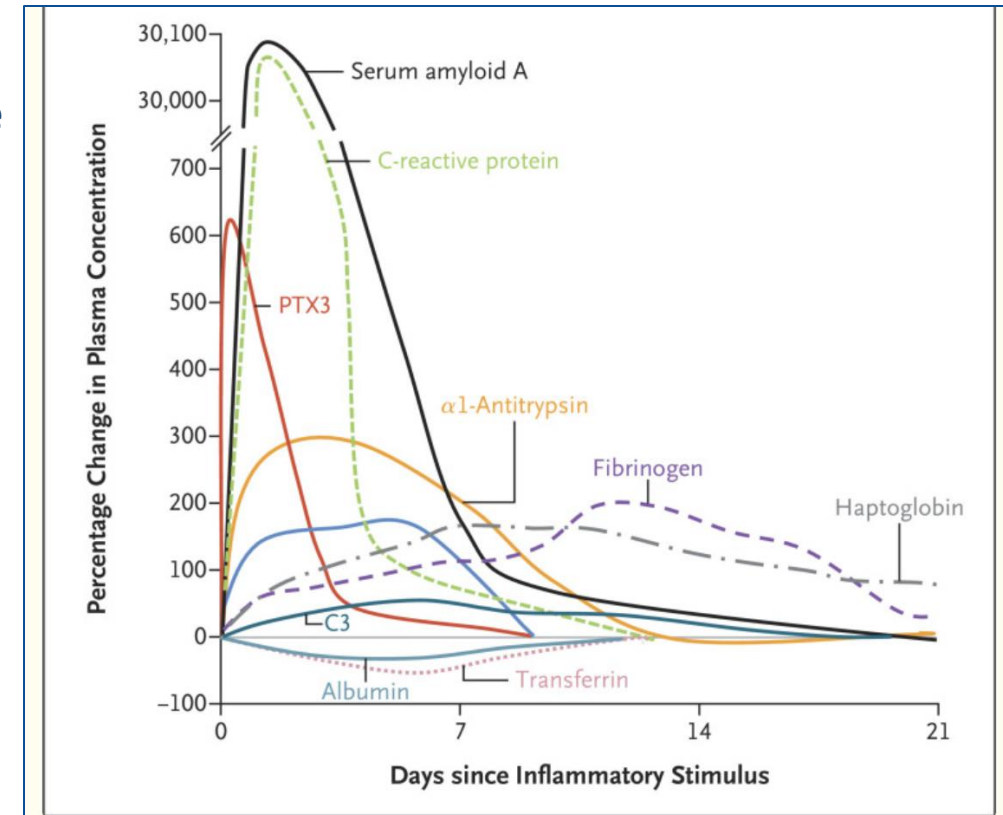
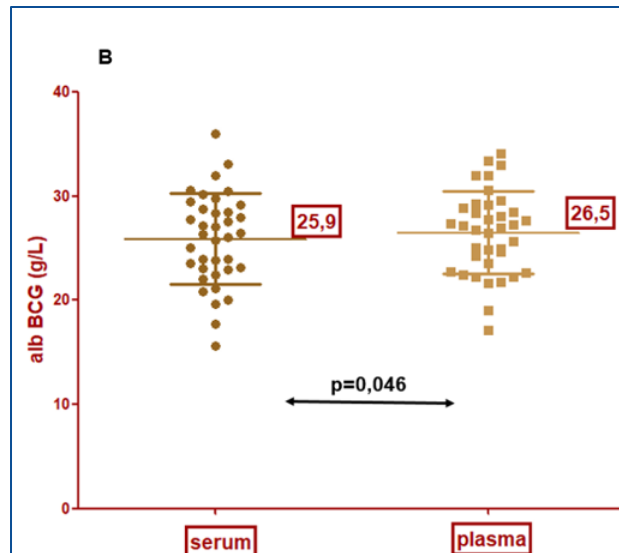
CONCLUSION : ÉTUDE

Alpha 1 et alpha 2 globulines, ...beta 2



Alpha 1 et Alpha 2 globulines :

- Alpha 1 glycoprotéine acide (orosomucoïde)
- Alpha 1 antitrypsine
- Haptoglobine
- Alpha 2 macroglobuline
- Alpha-1 fœtoprotéine
- Ceruloplasmine
- Sérum amyloid A



Surestimation par la méthode BCG : nous

- une surestimation significative de albBCG par rapport à albCE (albBCG-albCE), pas de conséquences cliniques dans la population ayant des taux d'albumine normaux
- hypoalbuminémie + élévation des deux fractions électrophorétiques de l'alpha-globuline, une différence moyenne (BCG et CE) de 4,7 g/L, soit 17,5 % de l'albBCG moyen de 26,8 g/L
- albBCG > 20g/L mais albCE < 20g/L chez 19/72 patients (26%), 66 % des patients dont les taux d'albBCG étaient inférieurs ou égaux à 26,7 g/L étaient concernés



- un syndrome d'inflammation aiguë et albumine < 26 g/L (BCG)
=> prise en charge des patients comme atteints d'hypoalbuminémie sévère

Limitation

Nous n'avons pas analysé notre cohorte en utilisant la méthode colorimétrique BCP, en raison de son indisponibilité sur notre plateau analytique, dans notre région géographique.



Merci !

