

Etude de la concordance entre la mesure de l'albumine sérique par la technique colorimétrique verte de bromocrésol et densitométrique après migration électrophorétique sur gel.

- Mehdi Ztoute, Hôpital Universitaire Cheikh Zaid Laboratoire d'analyses médicales Rabat –Maroc .
Université Internationale Abulcasis des Sciences de la Santé
- Omar Askander, Hôpital Universitaire Cheikh Zaid Rabat –Maroc.
Université Internationale Abulcasis des Sciences de la Santé
- Soufiane Nader, Hôpital Universitaire Cheikh Zaid Rabat –Maroc.
Université Internationale Abulcasis des Sciences de la Santé
- Adam Bentahila, Hôpital Universitaire Cheikh Zaid Rabat –Maroc.
Université Internationale Abulcasis des Sciences de la Santé
- Youssef N'mili, Hôpital Universitaire Cheikh Zaid Rabat –Maroc.
Université Internationale Abulcasis des Sciences de la Santé
- Abdelhamid Zrara, Hôpital Universitaire Cheikh Zaid Rabat –Maroc.
Université Internationale Abulcasis des Sciences de la Santé
- Amina Benouda, Hôpital Universitaire Cheikh Zaid Rabat –Maroc.
Université Internationale Abulcasis des Sciences de la Santé

Résumé :

Divers techniques sont utilisées pour la mesure de l'albuminémie notamment les techniques immunochimiques, colorimétrique et électrophorétique. L'objectif de cet article est de réaliser une étude de corrélation de la mesure de l'albumine entre la méthode du vert de Bromocrésol (Alb-BCG) et la technique de l'électrophorèse sur gel (ALB-EPP), afin de déduire la différence statistique entre les deux techniques d'une part et d'autre part d'établir des équations de corrélation permettant de convertir les résultats des deux systèmes. L'étude de corrélation a été faite sur 80 échantillons en deux étapes d'abord une Analyse de corrélation exhaustive incluant toutes les valeurs protidémiques pathologiques et normales en utilisant le T-test student et en fixant la valeur de $p < 0,05$ comme une différence statistiquement significative, ensuite, nous avons classé les 80 échantillons en trois groupes en fonction de leur protidémie (hypoprotidémie, normoprotidémie et hyperprotidémie) et sur chaque groupe nous avons appliqué une étude statistique en utilisant le T-test student (effectif inférieur à 30). Pour l'analyse exhaustive notre étude a montré une différence très hautement significative entre les deux méthodes avec un $p < 0,0001$ et une différence de moyenne de 3.73 g/l. Concernant l'analyse des groupes, une différence significative a été retrouvée dans les groupes normo et hyperprotidémique, Par contre elle est légèrement significative dans le groupe hypoprotidémique. Les résultats trouvés montrent une différence très hautement significative entre les deux méthodes ALB-BCG et ALB-EPP cette dernière est plus marquée quand le taux de protéides dépasse 65 g/l et ceci peut entraîner des confusions d'interprétation.

Mots clefs : Albumine, Concordance, Electrophorèse des protéines, Protidémie ; Vert de Bromocrésol, T test student .

Abstract :

Different techniques are used to measure albuminaemia especially the immunochemical ones, colorimetric and electrophoretic. The objective of this article is to carry out a correlation study between the measurement of albumin serum by the green of bromocresol method (Alb-BCG) and the technique of gel electrophoresis (ALB-EPP), first; to deduce the statistical differences between the two methods, and second; to establish correlation equations in order to convert their results. The correlation study was on 80 samples in two stages.

At first, an analysis of an exhaustive correlation including all pathological and normal protidemic values using the T-Test student with a $p < 0,05$ as a statistically significant difference.

At second, we have classified the 80 samples in 3 groups depending on their protidaemia (Hypoprotidaemia, normoprotidaemia and hyperprotidaemia), and we have applied a statistical study on each group using the T-test student (effective < 30).

According to the exhaustive analysis, our study has showed a very significant difference between the two methods with ($p < 0,0001$) and a difference with an average $= 3,73$ g/L. Regarding to the group analysis, a significant difference was found in normo and hyper protidemic groups, however it was lightly significant in the hypoprotidemic group.

The result found show a very significant difference between the two methods ALB-BCG and ALB-EPP, this later is more marked when the protids level is higher than 65 g/L, and this to lead to confusions of interpretation.

Key words: Albumin, Concordance, Protein electrophoresis, Green of bromocresol, T-test student.

Date of Submission: 15-06-2022

Date of Acceptance: 30-06-2022

I. Introduction

L'électrophorèse des protéines sériques (EPP) est un examen simple, réalisé en routine pour dépister et participer au suivi de nombreuses pathologies^[1]. L'utilité de cet examen se manifeste sur le plan qualitatif par la révélation des dysglobulinémies et sur le plan quantitatif orienté sur différents syndromes (syndrome néphrotique, syndromes inflammatoire aigu ou chronique, dysfonctionnement hépatique, dénutrition, carence martiale et déficit en alpha1 antitrypsine...)^{[2], [3]}, notre étude se focalisera sur l'aspect quantitatif de ce test, en étudiant la concordance entre la mesure de l'albumine par EPP et par la méthode ALB(BCG). Le choix de l'albumine comme élément de comparaison, parmi les autres fractions des protéines sériques, découle du fait que c'est la seule fraction qui migre individuellement au cours de l'électrophorèse des protéines sériques, et du fait aussi que c'est un marqueur biologique vitale intervenant dans le diagnostic de nombreuses pathologies.

II. Matériel Et Methode

Recueil et conservation des échantillons

Prélèvement

80 échantillons sanguins, sont tous prélevés chez des patients consultant au niveau du centre Hospitalier Universitaire CHEIKH ZAID (HCZ) Rabat (Maroc).

Les prélèvements sanguins sont effectués tant au niveau du laboratoire (unité de prélèvement), qu'au niveau des services d'hospitalisation et aussi en unité des urgences de (HCZ); sur des tubes de prélèvement sec avec gel séparateur.

Transport et conservation

Les échantillons une fois prélevés, sont acheminés au laboratoire d'analyse médicale de (HCZ) en respectant les règles du GBEA en vigueur. Les séries de tests sont effectuées au rythme de la capacité des gels mis à notre disposition par multiple de sept dans notre cas, les échantillons non analysés dans la journée sont conservés entre +2 et +8 °C.

Équipements

Pour chaque échantillon, les mesures de l'albumine ont été réalisées parallèlement par les deux techniques :

➤ Pour la mesure de l'albumine par EPP « ALB(EPP) » technique basée sur une séparation électrophorétique de l'albumine des autres globulines et suivi d'une lecture densitométrique à 570 nm par un spectrophotomètre qui définit les concentrations relatives (en pourcentage) des fractions protéiques dont celle de l'albumine, et ce n'est qu'à travers le taux de protéines préalablement mesuré et introduit, que les concentrations massiques de l'albumine et les autres fractions sont calculées^[4].

➤ la technique ALB(BCG) utilise la propriété du vert de bromocrésol à se lier à l'albumine humaine pour former un complexe coloré dont la concentration est directement proportionnelle à son absorbance à 628 nm cette technique a un domaine de linéarité de 4 g/l jusqu'à 105 g/l^[5].

Méthodes

La collecte des données et l'analyse statistique ont été effectuées à l'aide du logiciel Excel le même logiciel a été sollicité pour l'étude de la corrélation (régression) entre les deux méthodes.

Dans un premier temps l'étude de corrélation entre les deux méthodes a été faite sur 80 échantillons incluant toutes les valeurs des protéines sériques normales et pathologiques, le T-test student a également été utilisé pour la comparaison des valeurs moyennes obtenues par les deux systèmes et une valeur de $p < 0,05$ a été considérée comme une différence statistiquement significative.

Dans un deuxième temps afin d'étayer et d'expliquer le résultat obtenu lors de la première étude de corrélation, nous avons classé les 80 échantillons en trois groupes en fonction de la protidémie (hypoprotidémie, normoprotidémie et hyperprotidémie) où sur chaque groupe nous avons appliqué une étude statistique en utilisant le T-test student (effectif inférieur à 30) pour la comparaison des valeurs moyennes obtenues par les deux systèmes, nous avons fixé la valeur de $p < 0,05$ comme un seuil de différence statistiquement significative.

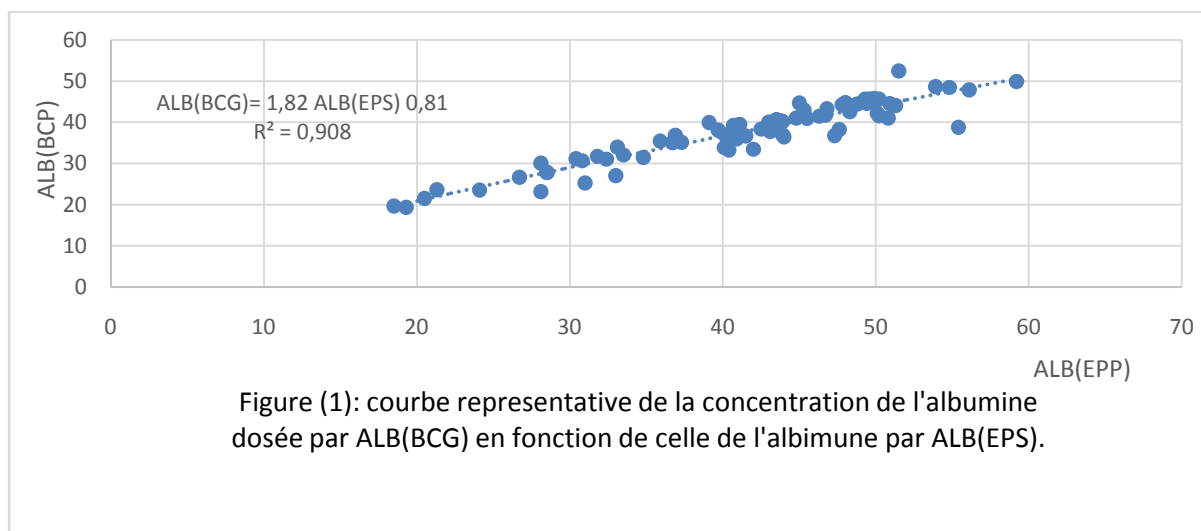
III. Resultats Et Discussion

Résultats

A) Résultats pour toutes valeurs des protéines sériques confondues

Dans notre étude, nous avons trouvé une différence **très hautement significative** entre les deux méthodes avec un ($p < 0,0001$), une différence de moyenne de 3,73 g/l et un intervalle de confiance à 95%] -4,501 ; -2,956 [

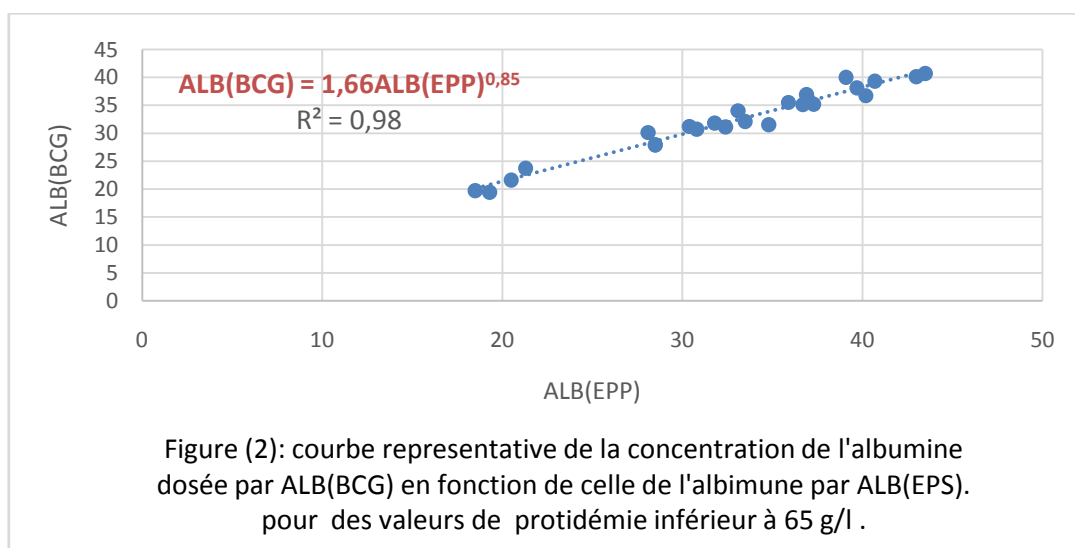
L'étude de la corrélation entre les deux méthodes réalisées sur les 80 échantillons a montré que l'équation de corrélation la plus explicative est la fonction puissance $ALB(BCG) = 1,82 ALB(EPP)^{0,81}$ Figure (1) en raison de son coefficient de détermination $R^2 = 0,91$ le plus élevé. Ainsi les résidus sont encadrés par un intervalle de confiance autour de la moyenne et sont cernés entre -0,69 et 0,48.



B) Hypoprotidémie (Taux de protéine inférieur à 65 g/l)

Dans cet intervalle nous avons trouvé une différence **légèrement** significative entre les valeurs moyennes de l'albumine obtenues parallèlement avec les deux méthodes avec un p-value à 0,036 et une différence de moyenne de 0,746g/l et un intervalle de confiance à 95%] 0,05 ; 1,44 [.

L'étude de la corrélation entre les deux méthodes a montré que l'équation de corrélation la plus explicative est la fonction puissance $ALB(BC) = 1,66 ALB(EPP)^{0,85}$ figure (2) en raison de son coefficient de détermination $R^2 = 0,98$ le plus élevé. Ainsi les résidus sont encadrés par un intervalle de confiance autour de la moyenne et sont cernés entre -0,24 et 1,60

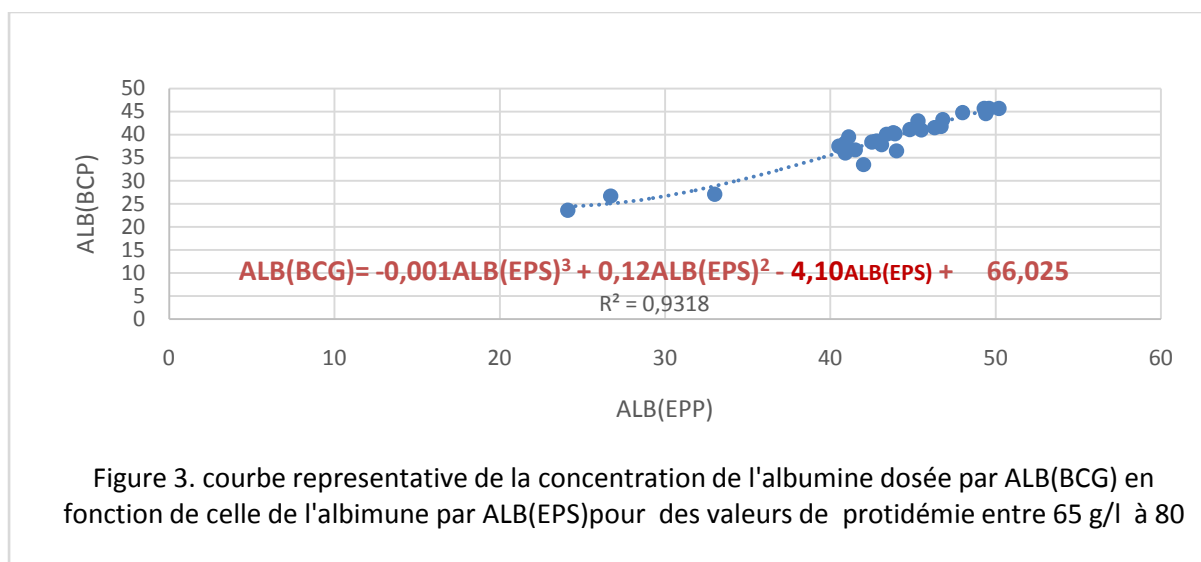


C) Normoprotidémie (Taux de protéine 65 g/l à 80 g/l)

Dans cet intervalle nous avons trouvé une différence significative entre les valeurs moyennes de l'albumine obtenues parallèlement avec les deux méthodes avec un p-value (bilatérale) < 0,0001 et une différence de moyenne de 3,97 g/l et un intervalle de confiance à 95%] 3,293 ; 4,657 [.

L'étude de la corrélation entre les deux méthodes montre que l'équation de corrélation la plus explicative est la fonction polynomiale

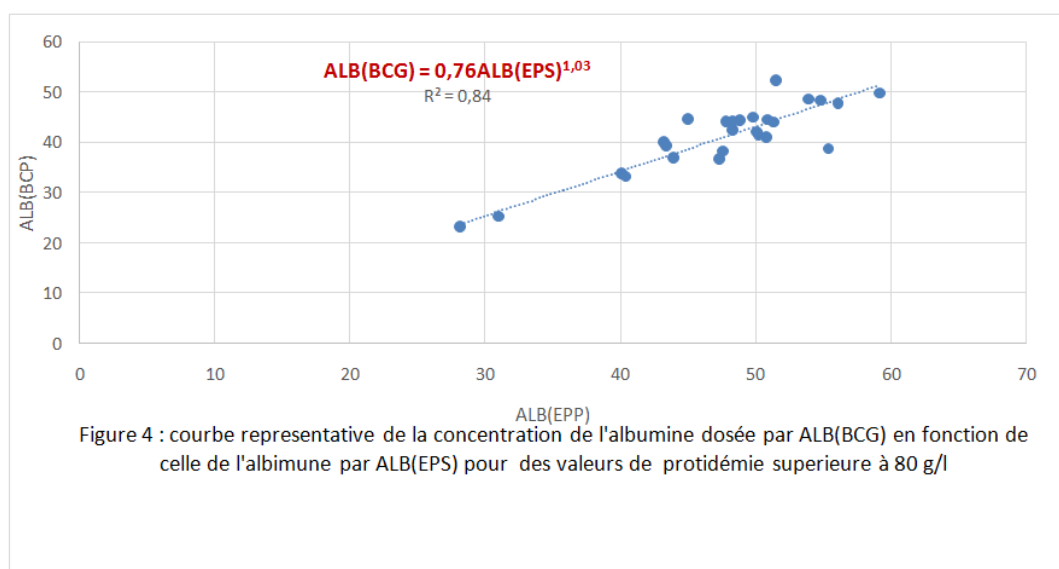
$ALB(BCG) = -0,001ALB(EPP)^3 + 0,12ALB(EPP)^2 - 4,10ALB(EPP) + 66,02$ en raison de son coefficient de détermination $R^2 = 0,93$ le plus élevé. Ainsi les résidus sont encadrés par un intervalle de confiance autour de la moyenne et sont cernés entre -4,671 et -3,157.



D) Hyperprotidémie (Taux de protéine supérieur à 80 g/l)

Dans cet intervalle nous avons trouvé une différence très largement significative entre les valeurs du mesure de l'albumine par les deux méthodes avec un p-value (bilatérale) < 0,0001, une différence de moyenne à 6,33g/l et un intervalle de confiance à 95%] -7,717 - -4,944 [.

L'étude de la corrélation entre les deux méthodes montre que l'équation de corrélation la plus explicative est la fonction puissance $ALB(BCG) = 0,76ALB(EPP)^{1,03}$ en raison de son coefficient de détermination $R^2 = 0,84$ le plus élevé. Ainsi les résidus sont encadrés par un intervalle de confiance autour de la moyenne et sont cernés entre -1,430 et 1,231.



Récapitulation des résultats

Le tableau ci-dessous donne un résumé des résultats trouvés :

Tableau 1 : tableau récapitulatif :

Taux de protéine	(P-Value)	La Différence des moyennes	Equation de corrélation	R ² coefficient de détermination
Globale	< 0,0001	3.73 g/l	ALB(BCG)=1,82 ALB(EPP)^{0,81}	0,91
Inférieur à 65 g /l	0.036	0,75 g/l	ALB(BCG)= 1,66ALB(EPP)^{0,85}	0,98
Entre 65et80 g /l	< 0,0001	3,97 g/l	ALB(BCG)= -0,001ALB(EPP)³ +0,12ALB(EPP)²-4,10ALB(EPP) 66,02	0,92
Supérieur à 80 g /l	< 0,0001	6,33g/l	ALB(PBG) = 0,76ALB(EPP)^{1,03}	0,84

IV. Discussion

A travers les résultats statistiques trouvés, on constate qu'il y a une différence statistique significative entre les deux techniques. Cette différence significative augmente avec le taux des protéines sériques, plus le taux est supérieur à 65 g/l est plus la différence est significativement grande tandis que pour des valeurs de protéine inférieures à 65g/l la différence entre les deux méthodes est légèrement significative.

Également on a noté que dans 82,5 % des cas la méthode ALB(EPP) surestime la valeur de l'albumine par rapport à la méthode ALB(BCG) ceci peut être expliqué par les principes analytiques de la technique électrophorétique (principe de l'électrophorèse de zone, résolution et sensibilité), aucune garantie ne peut être donnée quant à la détection totale de toutes les fractions et notamment l'albumine.

A noter également que la méthode ALB(BCG) présente une surestimation de l'albumine à des concentrations plus faibles et une sous-estimation à des concentrations plus élevées par rapport aux méthodes de référence^{[5][8][9]}, ce qui concorde avec les résultats trouvés dans notre étude.

Alors que dans 17.5% de cas c'est la méthode ALB(BCG) qui surestime la mesure de l'albumine par rapport à ALB(EPP) cet effet est peut-être dû d'une part au temps d'incubation plus long qui tend à augmenter la liaison du BCG à d'autres protéines^[6] et d'autre part, pour les spécimens ayant un taux d'albumine faible et des concentrations élevées en globulines le BCG n'est pas absolument spécifique à l'albumine et peut se fixer sur l'alpha-1 et alpha-2 globulines ce qui contribue à la surestimation de la concentration d'albumine^{[7][10]}.

L'exploitation des concentrations de l'albumine issues de la méthode ALB (EPP) dans le calcul de la concentration corrigée de certains paramètres qui dépend physiologiquement de l'albumine comme la calcémie corrigée et la concentration de certains médicaments, doit être prise avec beaucoup de réserve car la surestimation soulevée dans notre étude et donc peut être une source d'erreur entraînant une confusion clinique ainsi une prise en charge erronée du patient^[5].

Maguire et al^[8] et Clase et al^[9] ont conclu que la méthode de dosage de l'albumine par le pourpre de bromocrésol (ALB(BCP)) est plus spécifique et donne des résultats qui concordent étroitement avec ceux obtenus par des méthodes immunologiques sauf qu'elle sous-estime les valeurs de l'albumine en cas d'insuffisance rénale et chez les patients hémodialysés. Malgré cet inconvénient cette méthode reste une alternative pour la méthode ALB(BCG).

V. Conclusion :

En conclusion notre étude a montré que les résultats d'albumine obtenus par les deux méthodes ALB(EPP) et ALB(BCG) peuvent donner lieu à des différences considérables surtout pour des taux de protéines supérieures à 65 g/l. ces différences peuvent donner des retentissements sur les orientations diagnostiques ainsi que sur les paramètres calculés sur la base de la concentration de l'albumine.

Les équations de corrélation développées dans notre étude vont servir comme une alternative pour interchanger les résultats des deux systèmes.

- [1]. Peltre G. Électrophorèse, les trois principes de base. Technique et Biologie, 1990, 1, p. 16 à 23.
- [2]. Brouet J.C. Orientation diagnostiquée en cas d'anomalies des immunoglobulines plasmatiques (Ig E exclues). La Revue du Praticien, n° 9, 21/03/91, p. 782 à 785.
- [3]. Garnier J.P., Laurent D., Clauvel J.P., Danon F., Bousquet B., Dreux C. Mesures des protéines sériques : cause d'erreur en cas d'immunoglobuline monoclonale. Act. Pharm. Biol. Clin., 1987, 4, p. 275 à 278.
- [4]. Hydragel protein(e) k20-2014/01
- [5]. Vanessa Garcia Moreira , Overestimation of albumin measured by bromocresol green vs bromocresol purple method : influence of acute-phase globulins , Laboratory Medicine 2018 :00 :1-7
- [6]. Gustafsson JE. Improved specificity of serum albumin determination and estimation of « acute phase reactants » by use of the bromocresol green reaction. Clin Chem 1976 ;22(5) :616-622 .
- [7]. Xu Y, 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) : 120-125.
- [8]. Maguire GA , Price CP . Bromocresol purple method for serum albumin gives falsely low values in patients with renal insufficiency. Clin Chim Acta . 1986 ;155(1) : 83-87.

- [9]. Clase CM , St Pierre MW , Churchill DN . Conversion entre l'albumine mesurée au vert de bromocresol et au violet de bromocresol dans les maladies rénales . *Nephrol Dial Transplant* . 2001 ; 16 (9) : 1925-1929
- [10]. Speicher CE , Widish JR , Gaudot FJ , Helper BR . An evaluation of the overestimation of serum albumin by bromocresol green . *Am J Clin Pathol* .1978 ;69(3) : 347-350

Mehdi Ztoute, et. al. "Study of the concordance between the measurement of serum albumin by colorimetric green of bromocresol and densitometric techniques after electrophoretic migration on gel." *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS)*, 21(06), 2022, pp. 66-71.