

Originalarbeit/Original Paper

Nachevaluierung des Referenzbereiches für Albumin im Serum/Plasma mit Farbstoffbindungsmethoden (Bromkresolgrün und Bromkresolpurpur)

Update of reference values for albumin in serum/plasma with bromcresol green or bromcresol purple methods

Alexander von Meyer^{1*}, Karl-Heinz Pick² und Jürgen Hallbach¹

¹ Städtisches Klinikum München GmbH, MEDIZET, Department Klinische Chemie, München, Deutschland

² Abbott GmbH & Co. KG, Wiesbaden, Deutschland

new reference interval for albumin measurement in adults from 3.0 g/dL to 5.0 g/dL (30–50 g/L) can be recommended.

Keywords: albumin; bromcresol green (BCG) method; ERM DA470k; reference interval.

Zusammenfassung

Der gebräuchliche Referenzbereich für die Farbstoffbindungsmethoden von Albumin nach Tietze (3,5–5,0 g/dL) ist für die mit ERM DA470k restandardisierte Albuminmethode mit Bromkresolgrün (BCG) nicht anwendbar. Die Untersuchung eines Blutspenderkollektivs (120 Proben) zeigte eine wesentliche Verschiebung des Medians und des 95%-Vertrauensbereiches für die neue Methode gegenüber der gegen humanes Serumalbumin standardisierten Albumin BCG Methode. Die Übereinstimmung mit der Albuminmethode mit Bromkresolpurpur (BCP) ist gut. Als Referenzintervall für das restandardisierte BCG-Verfahren sowie für das BCP-Verfahren wird für die Altersgruppe von 20 bis 60 Jahren für gesunde Personen ein Intervall von 3,0 g/dL bis 5,0 g/dL empfohlen.

Schlüsselwörter: Albumin; Referenzbereich; BCG-Methode; ERM DA470k.

Abstract

The albumin bromcresol green (BCG) method was recently restandardized with ERM DA470k. The commonly used reference interval according to Tietze (3.5–5.0 g/dL, 35–50 g/L) can no longer be used with this method. A study with samples from 120 blood donors showed a shift between the BCG methods calibrated with human albumin and ERM 470k. For the restandardized method, a good correlation with the bromcresol purple (BCP) method was found. An adapted

Einleitung

Die Bestimmung von Albumin im Serum bzw. Plasma über die Komplexbildung mit Bromkresolpurpur (BCP) und Bromkresolgrün (BCG) wird routinemäßig auf diversen Analysensystemen (z.B. Architect der Firma Abbott) im medizinischen Labor eingesetzt. Die Absorption der Farbkomplexe ist direkt proportional der Albuminkonzentration in der Probe.

Allerdings werden in der Literatur Unterschiede zwischen den verschiedenen Farbstoffbindungsmethoden beschrieben. Als Ursache ist die unspezifische Bindung von anderen Plasmaproteinen wie Fibrinogen zu nennen [1–4]. Zwischenzeitlich wurden die Farbstoffbindungsmethoden überarbeitet und mit dem seit 2009 verfügbaren europäischen Referenzmaterial ERM[®]-DA470k/IFCC restandardisiert.

ERM[®]-DA470k/IFCC ist rückführbar zu dem bisherigen Referenzmaterial ERM DA 470 und wird diesen Standard zukünftig ersetzen. ERM[®]-DA470k/IFCC basiert auf Humanserum und wurde für 12 Proteine unter Verwendung von ERM DA 470 als Kalibrator validiert. Zur Festlegung der Referenzkonzentrationen wurden immunnephelometrische, immunturbidimetrische und für Albumin auch spektralphotometrische Methoden eingesetzt und an verschiedenen Geräte- und Reagenzsystemen (Abbott ARCHITECT, Beckman Image, BN II und BN ProSpec, verschiedene Hitachi-Systeme, Roche Integra, LX 2200 und Olympus AU640) gemessen. Zwischen offenen und geschlossenen Verfahren zur Überführung der Messwerte gab es keinen Unterschied, sodass robuste Ergebnisse für 12 Proteine erhalten wurden [5, 6].

Für die Farbstoffbindungsmethoden wird heute zumeist noch ein Referenzbereich aus der Literatur nach Tietz [7] verwendet, obwohl die Methoden zwischenzeitlich modifi-

*Korrespondenz: Dr. Alexander von Meyer, Department Klinische Chemie, Städtisches Klinikum München GmbH, Kölner Platz 1, 80804 München, Deutschland
Tel.: +49 (089) 3068 5552
Fax: +49 (089) 3068 3911
E-Mail: alexander.meyer@klinikum-muenchen.de

ziert wurden. Die Referenzbereiche zur Bewertung der Ergebnisse sind häufig für BCG und BCP nicht differenziert worden [4].

Diese Studie untersucht die drei Albuminmethoden BCG nach Restandardisierung mit ERM[®]-DA470k/IFCC, BCG standardisiert gegen humanes Serum Albumin und BCP standardisiert mit ERM[®]-DA470 hinsichtlich der Werteverteilung in einem Blutspenderkollektiv.

Material und Methoden

Einhundertundzwanzig Serumproben von Blutspendern (50 weiblich, 70 männlich) im Alter zwischen 20 Jahren und 69 Jahren wurden parallel am Abbott ARCHITECT c8000 System mit den folgenden Abbott Albuminmethoden gemessen:

Albumin BCG (alt), Best. Nr. 7D53-20 (stand. gegen humanes Serum Albumin)

Albumin BCG (neu), Best. Nr. 7D53-21 (stand. gegen ERM[®]-DA470k/IFCC)

Albumin BCP, Best. Nr. 7D54-21 (stand. gegen ERM[®]-DA470)

Zur internen Qualitätskontrolle wurde Multiquel, Best. Nr. 694, Fa. Biorad, München, in drei verschiedenen Konzentrationsbereichen (Charge: 45571, 45572 und 45573) eingesetzt.

Ergebnisse

Interne Qualitätskontrolle (Multiquel Charge 45570)

Zwischen den zwei BCG-Methoden der Firma Abbott zeigten sich relevante Unterschiede bei allen drei Kontroll-Level. Dagegen ergaben die Ergebnisse der internen Qualitätskontrolle eine gute Übereinstimmung zwischen der restandardisierten BCG-Methode und dem BCP-Verfahren (Tabelle 1).

Überprüfung der Referenzbereiche

Die Werteverteilung der Messungen von Blutspenderproben mit den verschiedenen Albuminmethoden zeigt einen deutlichen Unterschied zwischen Albumin BCG alt und Albumin

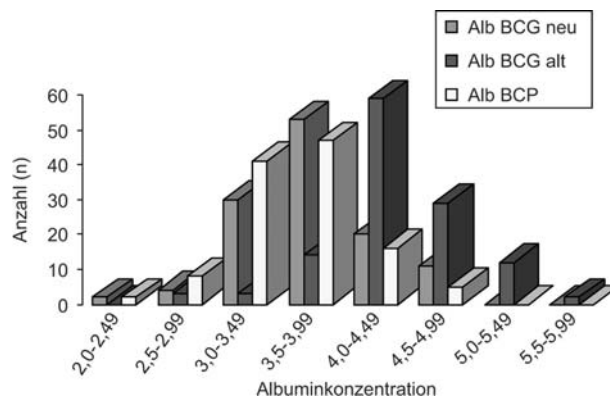


Abbildung 1 Werteverteilung Albumin bei 120 Blutspendern mit drei Methoden.

BCG neu. Dagegen stimmten Albumin BCG neu kalibriert gegen ERM[®]-DA470k/IFCC und Albumin BCP kalibriert gegen ERM[®]-DA470, gut überein (Abbildung 1).

Zur Bewertung der Ergebnisse beziehen sich bisher alle Abbott-Albumin-Methoden in den Beipackzetteln (Inlets) auf die Referenzbereichsangabe aus Tietz et al., Textbook of Clinical Chemistry [7]:

Erwachsene: 3,5 g/dL bis 5,0 g/dL

Tabelle 2 zeigt die Mediane und die 2,5%- und 97,5%-Perzentilen aus dem Blutspenderkollektiv. Hieraus lässt sich für die ERM[®]-DA470/ERM[®]-DA470k/IFCC standardisierten Methoden ein neuer Referenzbereich von 3,0 bis 5,0 g/dL ableiten. Dabei wird die bisherige obere Referenzbereichsgrenze beibehalten.

Tabelle 2 Median und Vertrauensbereich von Albumin BCG neu, Albumin BCG alt und Albumin BCP.

Methode	Median, g/dL	2,5% Perzentile, g/dL	97,5% Perzentile, g/dL
Albumin BCG neu	3,70	2,90	4,80
Albumin BCG alt	4,32	3,49	5,38
Albumin BCP	3,53	2,79	4,54

Tabelle 1 Interne Qualitätskontrolle der ARCHITECT Albumin Methoden.

Kontrolle	Zielwert BCG, g/dL	Bereich, g/dL	akt. Wert ALB BCG alt, g/dL	akt. Wert ALB BCG neu, g/dL
Multiquel L1 45571	2,72	2,09–3,35	2,96	2,40
Multiquel L2 45572	3,69	2,84–4,54	3,91	3,33
Multiquel L3 45573	4,66	3,59–5,73	4,83	4,25
Kontrolle	Zielwert BCP, g/dL	Bereich, g/dL	akt. Wert ALB BCP alt, g/dL	akt. Wert ALB BCG neu, g/dL
Multiquel L1 45571	2,45	1,89–3,01	2,40	2,40
Multiquel L2 45572	3,32	2,55–4,08	3,20	3,33
Multiquel L3 45573	4,18	3,22–5,15	4,00	4,25

Diskussion

Die in der Literatur belegte zu hohe Wiederfindung der Albumin-BCG-Methode in Bezug auf die Referenzmethode (Immun-Turbidimetrie) wird für die gegen humanes Albumin standardisierte Abbott Albumin-BCG-Methode bestätigt. Der Median und der 95%-Vertrauensbereich für diese Methode reflektieren gut den in der Literatur angegebenen Referenzbereich, wobei die Referenzbereichsobergrenze eher mit der 95% Perzentile (5,27 g/dL) übereinstimmt. Die obere Referenzbereichsgrenze wird bis 5,3 g/dL für Erwachsene bis zum 60. Lebensjahr referiert [8].

Klinisch bedeutsam sind jedoch Verminderungen der Albuminkonzentration. Es ist daher von Wichtigkeit, die untere Referenzbereichsgrenze exakt zu erfassen, um rechtzeitig entsprechende therapeutische Maßnahmen ergreifen zu können.

Hier hat die Bromkresolpurpur-Methode einen Vorteil, da sie nicht so anfällig für unspezifische Bindungen an andere Plasmaproteine zu sein scheint und mit der Referenzmethode auch in Patienten mit Nephropathien gute Übereinstimmung liefert [4].

Die mit dem ERM[®]-DA470k/IFCC restandardisierte Albumin-BCG-Methode ergibt eine der Albumin-BCP-Methode ähnliche Wertelage mit einer Schwelle von 2,9 g/dL für die 2,5% Perzentile. Das Referenzintervall sollte aufgrund dieser Wertelage entsprechend angepasst werden. Die Frage, inwieweit die BCP-Methode einen negativen Bias hat und damit Patientenwerte, speziell solche von Patienten aus der Hämodialyse, zu niedrig bestimmt werden, wurde nicht untersucht. Die Messwertunterschiede von 0,5 bis 0,6 g/dL zwischen Albumin-BCG und Albumin-BCP sind bereits gefunden worden [3] und konnten bestätigt werden (Median Alb. BCG alt vs. Median Alb BCP). Der in der vorliegenden Untersuchung ermittelte 95%-Vertrauensbereich für die restandardisierte Albumin-BCG-Methode liegt zwischen 2,9 g/dL und 4,8 g/dL.

Da eine direkte Überprüfung der Richtigkeit der Messung mit einer Referenzmethode nicht erfolgte, kann über die am unteren Entscheidungspunkt zu erwartende Bias keine Aussage getroffen werden. Weiterhin wurde der Überlappungsbereich zwischen Patienten mit Nephropathien und damit erniedrigten Albuminwerten und dem Kollektiv gesunder Blutspender nicht untersucht. Eine Festlegung der unteren Entscheidungsschwelle allein aus dem 2,5%-Perzentil erscheint damit schwierig.

In der Literatur wird die Festlegung der unteren Referenzbereichsschwelle für die Albumin-BCP-Methode mit 3,0 g/dL berichtet [4]. Aufgrund der Datenlage der vorliegenden

Studie kann diese Referenzbereichsgrenze auch auf die neu standardisierte Albumin-BCG-Methode angewendet werden.

Als Referenzintervall für das restandardisierte BCG-Verfahren sowie für das BCP-Verfahren wird für die Altersgruppe von 20 bis 60 Jahren für gesunde Personen ein Intervall von 3,0 g/dL bis 5,0 g/dL empfohlen.

Interessenkonflikt

Offenlegung potentieller Interessenkonflikte der Autoren: Der folgende Autor ist Mitarbeiter der Abbott GmbH & Co. KG: Karl-Heinz Pick.

Es gibt keine weiteren potentiellen Interessenkonflikte.

Die Durchführung der Studie wurde von Abbott GmbH & Co. KG unterstützt. Die geldgebende Organisation nahm keinen Einfluss auf das Studiendesign, die Auswahl der aufgenommenen Patienten, die Durchsicht und Interpretation der Daten oder die Vorbereitung des Manuskriptes.

Literatur

1. Hallbach J, Hoffmann GE, Guder WG. Overestimation of albumin in heparinized plasma. *Clin Chem* 1991;37:566–8.
2. Duly EB, Grimason S, Grimason P, Barnes G, Trinick TR. Measurement of serum albumin by capillary zone electrophoresis, bromocresol green, bromocresol purple and immunoassay methods. *J Clin Pathol* 2003;56:780–1.
3. Clase CM, St Pierre MW, Churchill DN. Conversion between bromocresol green and bromocresol purple measured albumin in renal diseases. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16:1925–9.
4. Carfray A, Patel K, Whitaker P, Garrick P, Griffiths GJ, Warwick GL. Albumin as an outcome measure in haemodialysis in patients – the effect of variation in assay method. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15:1819–22.
5. Zegers I, Schreiber W, Sheldon J, Blirup-Jensen S, Munoz A, Merlini G, et al. Certification report; certification of proteins in the human serum; certified reference material ERM[®]-DA470k/IFCC: EUR 23431 EN; ISBN 978-92-79-09490-3; Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities, 2008.
6. Institute for Reference Materials and Measurements. <https://irmm.jrc.ec.europa.eu/rmcatalogue/detailsrmcatalogue.do?referenceMaterial=DA470k%2B%2B%2B%2B%2B%2B>.
7. Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz textbook of clinical chemistry, 2nd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders, 1994:2177.
8. Johnson AM, Guder WG. In: Ritchie RF, Novolotskaia O, editors. Serumproteins in clinical medicine. Scarborough: Foundation for Blood research, 1996.