

# Serum albumin düzeylerinin ölçümünde bromkrezol yeşili ve bromkrezol moru yöntemlerinin karşılaştırılması

## Comparison of bromcresol green and bromocresol purple methods for measuring serum albumin levels

Tevfik HONCA<sup>1</sup> (ID), Nesibe Nur AYDIN<sup>2</sup> (ID), İbrahim AYDIN<sup>3</sup> (ID), Fatih BAKIR<sup>4</sup> (ID)

### ÖZET

**Amaç:** Albumin, kanda bulunan proteinlerin %55-60'ını oluşturan ana taşıyıcı moleküldür. Karaciğerde sentezlenir ve dolaşıma buradan salınır. Kanda yağ asitleri başta olmak üzere pek çok molekülün taşınmasında görev almaktadır. Klinik uygulamalarda serum, idrar ve vücut sıvılarındaki düzeyleri ölçülmektedir. İdrarla albumin kaybı ve/veya karaciğerde üretiminin azalması durumunda, kan albumin düzeyleri azalmaktadır, fakat serum albumin düzeylerini arttıran sebepler; yoğun ilaç kullanımı ve kan alımı esnasında işlemin uzamasından dolayı oluşan konsantrasyon artışı gibi birkaç olası nedenle sınırlıdır.

**Yöntem:** Bu çalışmayı, hastanemiz laboratuvarında yapılan albumin ölçümleri hakkında, test istemi yapan hekimler tarafından, sonuçların klinik tablo ile uyumsuz olduğu yönündeki geri bildirimleri nedeniyle, yöntem karşılaştırma çalışması olarak planladık. Çalışmaya 40 hasta dahil edildi, alınan serum örneklerinde albumin düzeyleri bromkrezol yeşili ve bromkrezol moru yöntemleri ile aynı günde ölçülerek, veriler SPSS 26.0 paket programıyla değerlendirildi. Ölçümler Alinity c-series

### ABSTRACT

**Objective:** Albumin is the main carrier molecule that makes up 55-60% of the proteins in the blood. In clinical applications, its levels are measured in serum, urine and body fluids. In the case of urinary albumin loss and/or decreased liver production, albumin levels in the blood decrease, but the reasons for increasing serum albumin levels are very limited. We planned this study as a method comparison study due to the feedback that albumin measurements made in our hospital's laboratory were relatively high.

**Methods:** Forty patients were included in the study, albumin levels in serum samples were measured with bromcresol green and bromcresol purple methods on the same day, and the data were evaluated with SPSS 26.0 package program. Measurements were made on the Alinity c-series (Abbott Laboratories, Chicago, IL, USA) autoanalyzer using their kit. Average Bias was 0.535 and % Bias was 14.22 between the two methods.

<sup>1</sup>Özel Lokman Hekim Akay Hastanesi, Biyokimya ve Klinik Biyokimya Bölümü, Ankara

<sup>2</sup>Bilkent Şehir Hastanesi Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara

<sup>3</sup>Memorial Hastanesi Biyokimya Bölümü, Ankara

<sup>4</sup>Lokman Hekim Üniversitesi, Biyokimya ve Klinik Biyokimya Bölümü, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Tevfik HONCA

Beytepe Mah. Acarbeytepe Evleri 1712. Sokak No:2/15 Ankara - Türkiye

E-posta / E-mail : drth16@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 19.05.2023

Kabul Tarihi / Accepted : 13.07.2023

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2023.36675

Honca T, Aydın NN, Aydın İ, Bakır F. Serum albumin düzeylerinin ölçümünde bromkrezol yeşili ve bromkrezol moru yöntemlerinin karşılaştırılması  
Türk Hij Den Biyol Derg, 2023; 80(3): 323 - 328

(Abbott Laboratories, Chicago, IL, USA) otoanalizöründe Abbottfirmasının kitleri kullanılarak yapıldı.

**Bulgular:** İki yöntem arasında ortalama bias 0,535, % Bias ise 14,22 bulunmuştur. İki yöntem ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı iken ( $p<0.001$ ), yöntemler arasında pozitif yönde, güçlü ( $r=0.959$ ) ve istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.001$ ) korelasyon tespit edildi,  $p<0.05$  düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

**Sonuç:** Her iki yöntem için ölçüm sonuçlarının tıbben müsaade edilen hata sınırları içerisinde olduğu, ancak yöntemlerin her ikisinin ayrı ayrı referans yöntemle karşılaştırılması maksadıyla ileri bir çalışmaya ihtiyaç olduğu değerlendirildi.

**Anahtar Kelimeler:** Albumin, yöntem, karşılaştırma

**Results:** While the difference between the means of the two methods was statistically significant ( $p<0.001$ ), there was a positive, strong ( $r=0.959$ ) and statistically significant ( $p<0.001$ ) correlation between the methods, and the  $p<0.05$  level was considered statistically significant.

**Conclusion:** It was evaluated that the measurement results for both methods were within the limits of medically permissible error, but further study was needed to compare both methods separately with the reference method.

**Key Words:** Albumin, method, comparison

## GİRİŞ

Albumin, globüler yapıda bir protein ailesinin ismidir. Tıpta kullanım şekliyle serum albumini; kanda bulunan proteinlerin %55-60'ını oluşturan ana taşıyıcı molekülü ifade etmektedir. Albumin karaciğerde sentezlenir ve dolaşıma buradan salınır (1). Kanda albumin, yağ asitleri başta olmak üzere pek çok molekülün taşınmasında görev almaktadır. Bununla birlikte damar içi ve ekstrasellüler matriks arasındaki sıvı dengesinde, damar içi onkotik basıncın oluşturulmasında esas fonksiyonu üstlenen moleküldür. Klinik uygulamalarda karaciğer ve böbrek fonksiyonlarının test edilmesi maksadıyla serum ve idrarda düzeyleri takip edilmektedir (2). Normalde idrarda bulunmaz, ancak renal süzme fonksiyonunun bozulduğu hastalıklarda idrarla kaybı, kandaki düzeylerinde de azalmaya neden olabilir. Ayrıca, karaciğeri etkileyen ileri düzeylerdeki patolojilerde, karaciğerden üretiminin azalması sonucunda yine serum albumin düzeylerinde azalma gözlenmektedir

(3).

Serum albumin düzeylerindeki düşüklük klinik olarak anlamlı iken, albumin düzeylerinin yükseldiği klinik durumlar; yoğun ilaç kullanımı ve kan alımı esnasında işlemin uzamasından dolayı oluşan konsantrasyon artışı gibi birkaç olası nedenle sınırlıdır (4).

Albumin düzeylerinin ölçümünde referans kabul edilen metod elektroimmün ölçümdür. Bununla birlikte klinik laboratuvarlarda bromkrezol yeşili (BCG) en sık kullanılan metod olarak öne çıkmaktadır (5). Fakat son dönem böbrek yetmezliği, yoğun ilaç kullanımı veya nefrotik sendrom gibi bazı hasta gruplarında BCG metodunun spesifitesi tartışmalı olup, bu durumlarda bromkrezol moru (BCP) yönteminin dış etkenlerden daha az etkilendiği ifade edilmektedir (6). Biz de çalışmamızda, hastanemize başvuran hastaların albumin ölçümlerinde klinik tabloyla uyumsuz bir şekilde, yüksek olduğu düşünülen sonuçların bulunduğu yönündeki geri bildirimlerden dolayı, BCG ve BCP yöntemlerinin performanslarını

karşılaştırmayı, elde edilen verilerle hangi yöntemin klinik kararda daha faydalı olabileceği konusunda literatüre katkı sağlamayı amaçladık.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Memorial Ankara Hastanesine başvuran hastalardan, muayene sonrası klinisyen tarafından serum albumin testi istenen randomize olarak seçilmiş NCCLS EP9A2 protokolüne uygun olarak (7) 40 hasta çalışmaya dahil edildi. Randomizasyonu sağlamak adına çalışma gününde albumin test isteği olan tüm örnekler çalışmaya dahil edildi. Hasta serumlarında albumin düzeyleri BCG ve BCP yöntemlerinin her ikisiyle birlikte, aynı günde, Alinity c-series (Abbott Laboratories, Chicago, IL, USA) otoanalizöründe kendi kitleri kullanılarak ölçüldü. Her iki yöntem çalışma öncesinde üretici firmanın direktiflerine uygun şekilde kendi kalibratörü kullanılarak kalibre edildi. İç kalite kontrol materyali olarak da yine üretici tarafından sağlanan kalite kontrol materyali kullanıldı. Her iki testin iç kalite kontrol okumalarının  $\pm 1$  standart

sapma içerisinde olduğu görüldükten sonra çalışmaya başlandı. Çalışma, günlerarası tekrarlanabilirliğin interfere edici etkisinin de dışlanabilmesi maksadıyla üç farklı günde tamamlandı. Çalışma için Lokman Hekim Üniversitesi, Ankara Yerel Etik kurulundan onay alındı ve Helsinki Deklarasyonu prensiplerine uygun olarak yapıldı. Albumin ölçümü yapılacak hastalara çalışma içeriği anlatılarak aydınlatılmış onam formları alındı.

Bu çalışma, Lokman Hekim Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun onayı ile gerçekleştirildi (Tarih: 06.01.2023, Karar no: 2022/217).

## BULGULAR

Her iki yöntemle yapılan serum albumin düzeylerine ait ölçüm sonuçlarının ana tanımlayıcı parametreleri Tablo 1'de verilmiştir.

Abbott Alinity-c cihazında kullanılmak üzere BCG ve BCP yöntemlerine ait üretici firma tarafından beyan edilmiş olan yöntem performans parametreleri Tablo 2'de sunulmuştur.

**Tablo 1.** BCG ve BCP ile yapılan ölçüm sonuçlarına ait tanımlayıcı veriler

	Alb. BCG Yöntemi	Alb. BCP Yöntemi
Ortalama	3,87	3,34
Standart Sapma	0,67	0,67
Ortanca	3,90	3,50
Min./Max	2,3 / 4,9	1,5 / 4,4

BCG: Bromocresol Green, BCP: Bromocresol Purple

**Tablo 2.** BCG ve BCP yöntemlerine ait performans parametreleri

	BCG Yöntemi	BCP Yöntemi
Linearite (g/dL)	0,3-9,4	0,4-9,0
LoB/LoD/LoQ* (g/dL)	0,01/0,3/0,3	0,01/0,4/0,4
% Bias**	4,8 %	-1,9 %
Tekrarlanabilirlik	2,6 g/dL için %CV=1,6 9,2 g/dL için %CV=0,4	2,5 g/dL için %CV=0,5 8,6 g/dL için %CV= 0,3

BCG: Bromocresol Green, BCP: Bromocresol Purple,

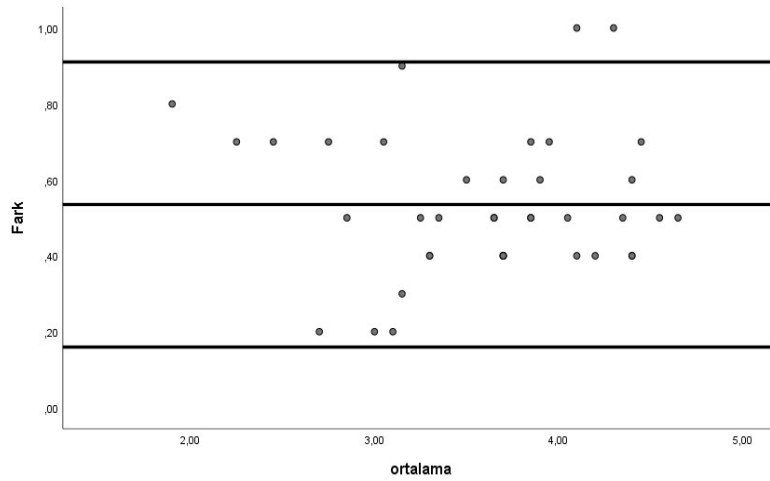
\*LoB (Limit of Blank), LoD (Limit of Detection), LoQ (Limit of Quantitation),

\*\*%Bias, ERM-DA470k/IFCC referans materyali ile tek cihaz ve tek yöntem kullanılarak yapılan ölçümlere dayanarak hesaplanmıştır.

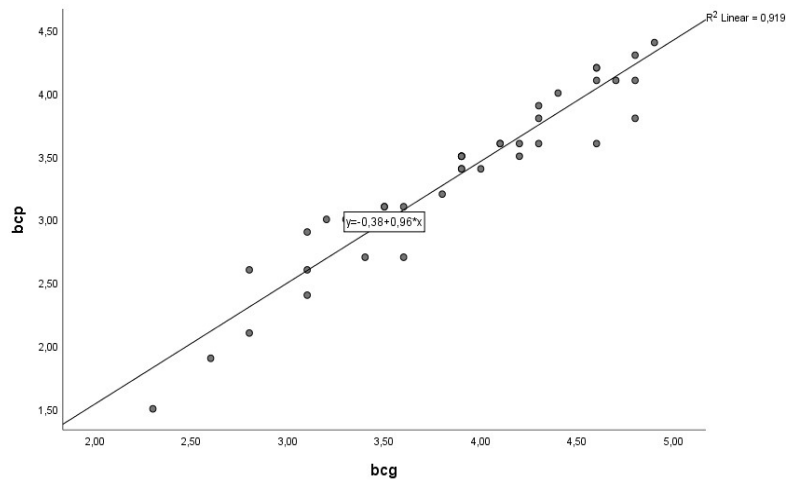
Serum albumin ölçümünde BCP yönteminin dış etkenlerden daha az etkilendiği rapor edildiğinden, her iki yöntemle yapılan ölçüm sonuçları için BCP yöntemi esas alınarak bias hesaplaması yapılmıştır (8). 40 hastaya ait serum albumin düzeyi ölçümleriyle yapılan hesaplamada iki yöntem arasında Ortalama Bias 0,535, % Bias ise 14,22 bulunmuştur. Albumin ölçüm sonuçlarına ait biasın değerlendirildiği Bland Altman grafiği ve Lineer Regresyon analizi Şekil 1-2 de sunulmuştur.

Sürekli değişkenlerin grup içi iki ölçüm (BCG -

BCP) karşılaştırmalarında, Bağımlı gruplarda t testi kullanılmıştır. BCG ve BCP ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ). Değişkenler arası doğrusal ilişki pearson korelasyon testi ile değerlendirilmiştir, BCG ve BCP yöntemleri arasında pozitif yönde, güçlü ( $r=0.959$ ) ve istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.001$ ) doğrusal ilişki (korelasyon) tespit edilmiştir. Ölçüm ortalamalarının ölçümler arası farklar üzerine etkisi Lineer regresyon analizi ile değerlendirilmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi tespit edilmemiştir ( $p=0.963$ ).



Şekil 1. BCG ve BCP yöntemlerine ait Bland Altman grafiği



Şekil 2. BCG ve BCP yöntemlerine ait Lineer Regresyon analizi

## TARTIŞMA

Bu çalışma, hastanemizde görevli klinisyen hekimler tarafından albumin ölçüm sonuçlarının, klinik tablo gözönüne alındığında beklenen değerlerden daha yüksek bulunduğu yönündeki geri bildirimler dikkate alınarak planlanmıştır. Albumin ölçümü klinik laboratuvarlarda sıklıkla yapılmaktadır. Şiddetli dehidratasyon, yoğun ilaç kullanımı ve kan alımı sırasında turnikenin uzun süre takılı kalması gibi durumlar dışında, serum albumin düzeylerindeki yükselme oldukça nadirdir (9). Çalışmamızda elde edilen verilerin istatistiksel analizinde, BCG ve BCP gruplarının anlamlı olarak farklı olduğu, bununla birlikte her iki grup arasında pozitif yönde güçlü bir korelasyon ( $r=0.959$ ) bulunduğu tespit edilmiştir, yani bir grubun değeri ne kadar yükselirse diğeri de benzer şekilde yükselmektedir. Bu doğrusallık ilişkisinde, ölçüm ortalamalarının ölçümler arası farklar üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi tespit edilmemiştir ( $p=0.963$ ). Dolayısıyla ölçümler arası farklar, ortalamadan etkilenmemektedir. Ortalamaların büyük veya küçük olmasının fark oluşumuna istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi yoktur. Sonuç olarak, ölçüm aralığının en alt değerinde de, en üst değerinde de ölçümlerin anlamlı olarak farklı olduğu görülmektedir.

Serum albumin ölçümünde CLIA 88 kriterlerinde toplam hata oranı, 3,5 g/dL düzeyi için %10 ( $\pm 0,35$  g/dL) olarak belirlenmiştir (10). Bu kriter gözönüne alındığında, çalışmamızda değerlendirilen her iki yöntem de ayrı ayrı olarak, tıbben müsaade edilen toplam hata oranını karşılamaktadır. Tıbben müsaade edilen hata oranı, bireysel varyasyonlar, ölçüm belirsizliği ve ölçüm yöntemine ait biası içermektedir. Westgard ekibinin yaklaşımında serum albumin ölçümü için hedeflenmesi gereken kalite standardı olarak, yöntemin biası hariç tutulursa, ölçüm belirsizliği ve biyolojik varyasyonların toplamı  $\pm 1,5-2,33$  oranında olmalıdır. Bu durumda yöntemine ait bias en fazla  $\pm 8,5$  olabilmektedir (11). Çalışmamızda iki yöntemin birbiriyle karşılaştırılması sonucu elde edilen %bias 14,22 bulunmuştur. Bu değer,  $\pm 8,5$  (toplamda %17 lik bir dilime karşılık gelir) olan Westgard ekibinin

kriterine uygun görünmektedir. Ancak bu kriterlerin tıbben müsaade edilen hata oranlarına karşılık geldiği unutulmamalıdır.

Diğer yandan, üretici firma tarafından beyan edilen yöntemlere ait % bias değerleri sırasıyla (BCG ve BCP) 4,8 ve -1,9'dur. Bu durumda üretici firma tarafından yapılan validasyona göre iki yöntem arasında % biasın 6,7 bulunması beklenmektedir. Oysa çalışmamızda bu değer 14,22 olarak bulunmuştur. Hesaplanan bu değer, her ne kadar tıbben müsaade edilen hata oranlarını içeren %17'lik bir dilim içerisinde bulunmakta ise de; BCG ve BCP yöntemlerinden her ikisinin de bu güvenlik aralığı içerisinde bulunduğu konusu kesin olarak teyit edilememektedir. Yöntemlerden birisi güvenlik aralığı içerisinde bulunurken, diğeri tıbben müsaade edilen hata sınırlarının dışında olabilir. Bu ihtimalin gerçek olması durumunda da yine aynı %bias değeri bulunabilir. Çalışmamızda referans yöntem kullanılmamış, öncelikle BCG ve BCP yöntemleriyle yapılan albumin düzeyi ölçümlerinin karşılaştırılması hedeflenmiştir. Ancak her iki yöntemle yapılan ölçümler arasındaki farklılık göz önüne alındığında, ileri bir çalışma planlanarak iki yöntemin de ayrı ayrı olarak tıbben müsaade edilen hata sınırları içerisinde sonuç verdiğinin teyit edilmesi gerekmektedir.

Sonuç olarak; çalışmamızda kullanılan BCG ve BCP yöntemlerinin her ikisi de CLIA 88 kriterleriyle uyumlu şekilde tıbben müsaade edilen hata oranlarını karşılamaktadır. Üretici tarafından beyan edilen bias değerlerinde, BCP referans yöntemine göre negatif yönde %1,9 değerine sahipken, BCG yöntemi ise %4,8 biasla sonuç vermektedir. Bu bakımdan BCP yönteminin BCG'ye oranla daha düşük ölçüm sonuçları vermesi beklenmektedir. Ancak hasta grubunda yoğun medikasyonun uygulandığı veya ileri dönem böbrek hastalıklarının yoğun bir şekilde başvuru yaptığı merkezlerde, serum albumin değerlerinin gerçekte olandan daha yüksek ölçülmesi, hypoalbumineminin ortaya konmasında problemlere yol açabilecektir. Bahsedilen hasta gruplarında BCG ve BCP yöntemlerinden hangisinin daha güvenli olarak kullanılabileceği yönünde ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

## ETİK KURUL ONAYI

\* Bu çalışma, Lokman Hekim Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun onayı ile gerçekleştirildi (Tarih: 06.01.2023, Karar no: 2022/217).

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

## KAYNAKLAR

1. Fanali G, di Masi A, Trezza V, Marino M, Fasano M, Ascenzi P. Human serum albumin: from bench to bedside. *Mol Aspects Med*, 2012;33(3): 209-90.
2. Ilenia I, Mauro P. Serum albumin: accuracy and clinical use. *Clin Chim Acta*, 2013; 419: 15-8.
3. Rabbani G, Ahn NS. Structure, enzymatic activities, glycation and therapeutic potential of human serum albumin: A natural cargo. *Int J Biol Macromol*, 2019; 123: 979-90.
4. Ulrich Kragh-Hansen. Molecular and practical aspects of the enzymatic properties of human serum albumin and of albumin-ligand complexes. *Biochim Biophys Acta*, 2013;1830(12):5535-44.
5. Kumar D, Banerjee D. Methods of albumin estimation in clinical biochemistry: Past, present, and future. *Clinica Chimica Acta*, 2017; 469: 150-60.
6. Adam B, Ardiçoğlu NY. Klinik Biyokimya Analiz Metodları, Albumin Tayin Metodları. ISBN: 975-7175-30-7, Ankara, Atlas Kitapçılık, 2002; 1.Baskı, syf.171-81.
7. NCCLS. Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline-Second Edition. NCCLS document EP-9A2 (ISBN 1-56238-472-4). Wayne, PA:NCCLS 2002;22:1-53.
8. Evans GO, Parsons CE. Comparison of two dye-binding Methods for the determination of dog, rat and human plasma albumins. *J Comp Path*, 1988; 98: 453-60.
9. Toyokuni S, Yamada S, Kashima M, Ihara Y, Yamada Y, Tanaka T, et al. Serum 4-hydroxy-2-nonenal-modified albumin is elevated in patients with type 2 diabetes mellitus. *Antioxid Redox Signal*, 2000; 2(4):681-5.
10. Aydın İ, Kurt YG, Çaycı T. Tıbbi Laboratuvarlarda Yöntem Validasyonu, 1.Baskı, ISBN:978-605-5065-06-5, Ankara, SAGE Matbaacılık, 2013; 9-26.
11. Ricos C, Alvarez V, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernandez A, Jimenez CV, et al. Current databases on biologic variation: pros, cons and progress. *Scand J Clin Lab Invest*, 1999; 59: 491-500.