

# **Rapport d'activités**

## **Bourse Fondation Saint Luc**

**Dr. Damien Gruson**

**Service de Biologie Endocrinienne**

**Département de Biologie Clinique**

**Cliniques Universitaires St-Luc,**

**Tour Rosalind Franklin,**

**Avenue E. Mounier,**

**B-1200 Brussels, Belgium**

Les structures de santé sont en pleine mutation et doivent faire face à de nouveaux enjeux stratégiques et économiques. Dans ce contexte, les laboratoires universitaires doivent continuer de se positionner comme vecteurs d'innovation afin de préserver leur attractivité et leur compétitivité. La réalisation de dosages d'endocrinologie par spectrométrie de masse fait clairement partie de cet axe stratégique.

En 2011, la fondation Saint Luc m'a octroyé une bourse « professionnel de santé ». Cette bourse m'a permis de passer trois mois, entre le 1<sup>er</sup> Juillet et le 1<sup>er</sup> Octobre 2012, au sein du laboratoire de l'Université d'Utah à Salt Lake City, Utah, Etats Unis. Ce laboratoire est considéré comme un laboratoire de référence aux Etats Unis et propose un répertoire de plus de 3000 tests différents, allant des tests de routine aux tests ésotériques. Depuis plusieurs années, ce laboratoire applique la spectrométrie de masse à de nombreux dosages hormonaux, y compris le dosage des stéroïdes.

Les hormones de structure stéroïdienne sont synthétisées à partir du cholestérol par une série de réactions enzymatiques et comprennent entre autres les glucocorticoïdes, les minéralocorticoïdes, les stéroïdes sexuels et nous pouvons également y inclure la vitamine D et ses métabolites. La détermination des concentrations circulantes de ces hormones stéroïdiennes peut aujourd'hui être réalisée par un grand nombre de méthodes différentes dont les performances sont très variables. Les radioimmunoassays (détection isotopique) (RIA) sont encore largement utilisés. Néanmoins, les méthodes RIA requièrent des aménagements spéciaux et une expérience spécifique, sont consommatrices de temps et nécessitent une quantité importante de plasma pour atteindre un niveau de sensibilité satisfaisant. Des dosages automatisés sont également disponibles et sont utilisés par un nombre croissant de laboratoires. Ce type de méthode permet une cadence de dosages importante, l'utilisation d'un volume limité de plasma et se réalise sans extraction préliminaire. Les performances de ces méthodes, tant en terme de précision et de susceptibilité aux interférences, restent sujet au débat et particulièrement pour des mesures réalisées chez la femme et l'enfant. Le recours à des méthodes de dosage par spectrométrie de masse permet d'améliorer très nettement la spécificité et la sensibilité des dosages de stéroïdes et d'hormones. Dès lors, la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) représente un bon choix pour la quantification des stéroïdes à de vastes concentrations en limitant les réactions croisées avec d'autres stéroïdes de structure fortement similaire.

Mon séjour dans l'Utah m'a donc permis de parfaire mon apprentissage aux dosages des stéroïdes par spectrométrie de masse et d'acquérir de nouvelles compétences en terme de gestion des activités pré-, per- et post analytiques associées aux dosages d'endocrinologie par spectrométrie de masse. Le pré-analytique pour les dosages LC-MS/MS est crucial et la préparation de l'échantillon est particulièrement importante afin de maximiser la sensibilité et la précision. Ces dosages comprennent donc au préalable une étape d'extraction et de séparation chromatographique. Mon expérience au laboratoire de l'Université d'Utah m'a donc permis d'assimiler les compétences nécessaires pour cette étape d'extraction. Les techniques les plus utilisées au laboratoire de l'université d'Utah étant l'extraction liquide-liquide (LLE) et l'extraction en phase solide (SPE). Mon attention fut aussi attirée sur l'utilisation des méthodes de dérivation permettant de faciliter l'ionisation des composés cibles et donc leur détection.

En terme d'applications analytiques, ce séjour dans l'Utah m'a permis de participer à la routine de nombreux dosages de stéroïdes tels que ceux de la testostérone (totale et libre), de la dihydrotestostérone, de l'androstenedione, des estrogènes, du cortisol (total et libre), de la cortisone, de la 25-hydroxy vitamine D et de la 1,25-OH vitamine D. Il est important ici de mentionner qu'avec une préparation appropriée de l'échantillon, les méthodes LC-MS/MS permettent de doser simultanément plusieurs stéroïdes et de concevoir différents profils de dosages. Ces dosages simultanés permettant de réduire le volume de sang à prélever chez un patient. Plusieurs des applications étudiées m'ont également permis de voir l'intégration des méthodes de dialyse à l'équilibre, nécessaire pour une quantification précise des hormones libres, avec les méthodes LC-MS/MS.

D'un point de vue post-analytique, ma formation dans l'Utah a consisté dans l'assimilation des outils informatiques de pilotage des systèmes LC-MS/MS, d'interprétation des données et d'intégration des résultats patients.

Ce séjour aux Etats-Unis m'a également permis de suivre une formation « e-learning » en spectrométrie de masse proposée par l'AACC (American Association for Clinical Chemistry), et de recevoir le certificat de réussite associé, et de développer un réseau de contacts dans le domaine de la spectrométrie de masse.

Enfin ce séjour m'a permis d'établir quelques points clés et perspectives pour les dosages d'endocrinologie par LC-MS/MS tant sur le plan de l'opérationnalité que médicale comme :

- L'automatisation et la robotisation des phases pré-analytique et d'extraction, avec des automates proche du Tecan que nous utilisons actuellement au laboratoire des Cliniques Universitaires Saint Luc.
- Un accès continu sur le nycthémère aux méthodes par spectrométrie de masse
- La nécessité d'outils informatiques de haut niveau autorisant un transfert automatique entre les softwares LC-MS/MS et le système informatique du laboratoire, ce qui permet de prévenir les erreurs liées à une retranscription manuelle, et l'intégration multiparamétrique des données.
- L'importance d'un groupe de recherche et développement au sein du laboratoire, autonome et indépendant de la production, et permettant de mettre au point des dosages innovants et indispensables à la compétitivité des structures universitaires.
- La mise au point et la validation par LC-MS/MS de dosages d'endocrinologie autres que les stéroïdes la comme la T4 libre, T3 libre, les oestrogènes, la thyroglobuline, l'hormone parathyroïde et les métanéphrines plasmatiques.

Pouvoir déployer une structure LC-MS/MS de grande cadence en endocrinologie permettra donc de garantir directement un accroissement de la qualité, de la sécurité du patient, du service clinique, de la rentabilité et de préserver la compétitivité à long terme.

Je tiens finalement à remercier la Fondation Saint Luc et les Cliniques Universitaires Saint Luc de m'avoir donné la possibilité d'acquérir de nouvelles compétences et de vivre cette expérience enrichissante et passionnante.