

27^e journées nationales du CNBH

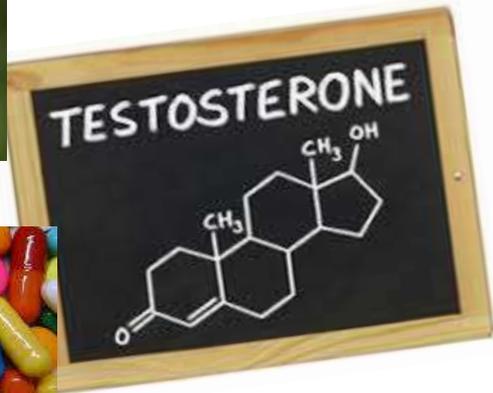
25 janvier 2018

Spectrométrie de masse : les apports de cette technologie pour nos laboratoires

Diane Dufour

Laboratoire Médecine Nucléaire In Vitro, CHRU de Tours

Beaucoup d'applications... et beaucoup d'équipements



Beaucoup d'applications... et beaucoup d'équipements

Opérations réalisées par un spectromètre de masse :

1- Volatiliser

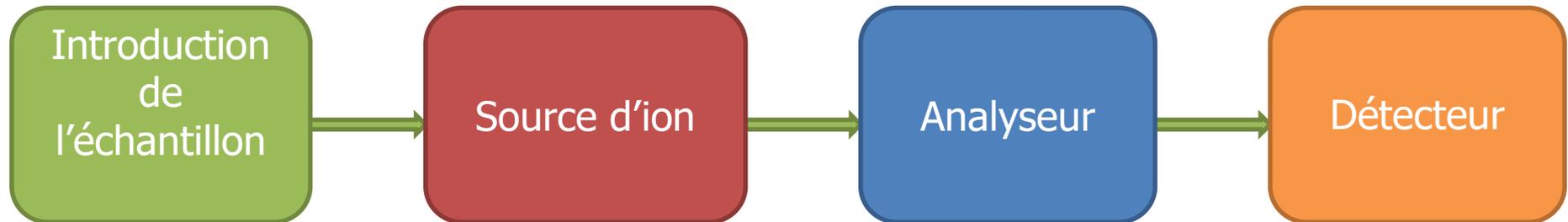
Séparer les molécules les unes des autres : passage à un état gazeux

2- Ioniser

Transformer les molécules en ions (grâce aux champs électriques et magnétiques)

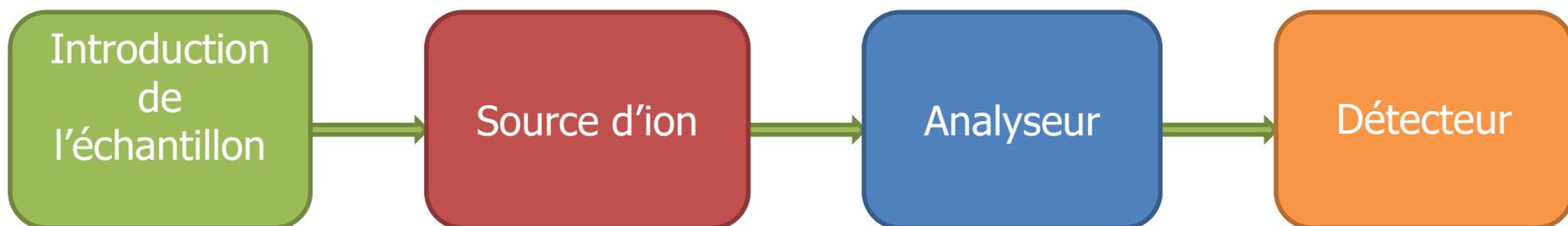
3- Mesurer les rapports m/z

Calculer la masse moléculaire à partir du rapport masse (m) / charge (z)



Choix du spectromètre (source / analyseur) selon les applications souhaitées

Beaucoup d'applications... et beaucoup d'équipements



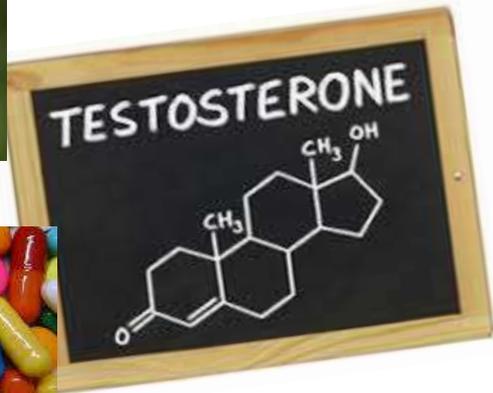
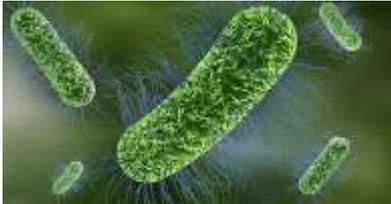
Critères de choix principaux de la source :

- la **volatilité** et la **stabilité thermique** du composé à analyser
- les **fonctions chimiques** présentes et leur aptitude à induire une ionisation
- la **taille** des molécules
- les **quantités** de produits disponibles

Critères de choix principaux de l'analyseur :

- la **résolution**
- la gamme de **masse** (m/z) analysée
- la fréquence de **balayage**
- la **sensibilité**

Beaucoup d'applications... et beaucoup d'équipements

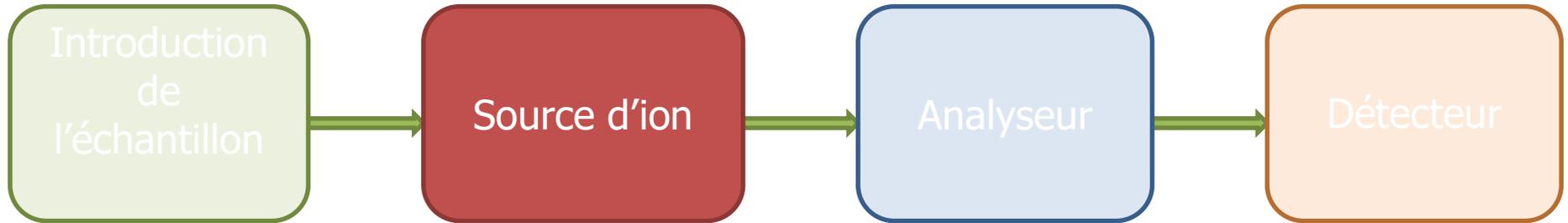


1^{er} exemple : Analyse qualitative

Exemple : identification de bactéries



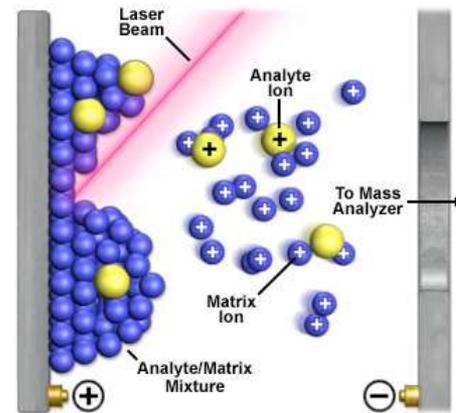
Beaucoup d'applications... et beaucoup d'équipements



Source MALDI (désorption-ionisation laser assistée par matrice)

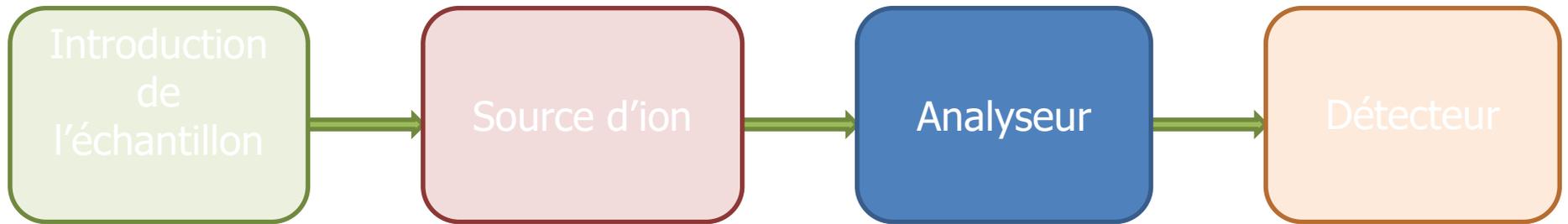


Mélange matrice +
échantillon co-cristallisé sur
une surface métallique



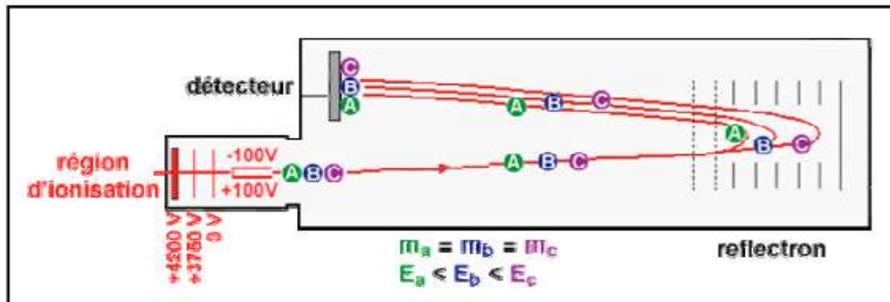
Energie du laser => ionisation de la matrice =>
dissociation + passage en phase gazeuse +
transfert de la charge à l'échantillon => ionisation
et volatilisation de l'échantillon

Beaucoup d'applications... et beaucoup d'équipements



TOF

Mesure d'un temps de vol (Time Of Flight)

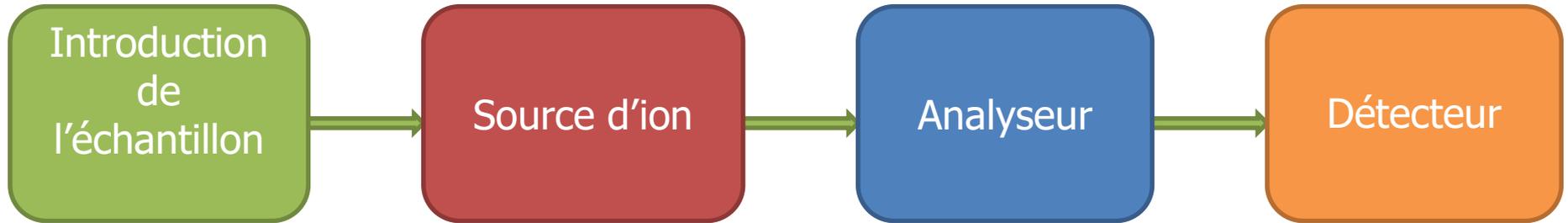


ions de m/z différents = vitesses différentes

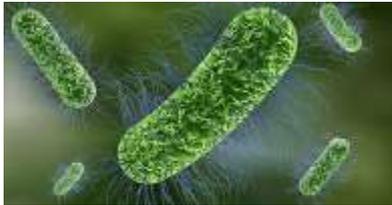
Les ions de rapport m/z le plus petit parviendront au détecteur les premiers



Beaucoup d'applications... et beaucoup d'équipements



Spectromètre MALDI-TOF

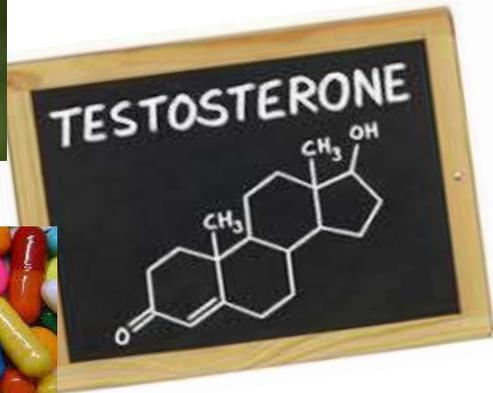


1^{er} exemple : Analyse qualitative

Exemple : identification de bactéries



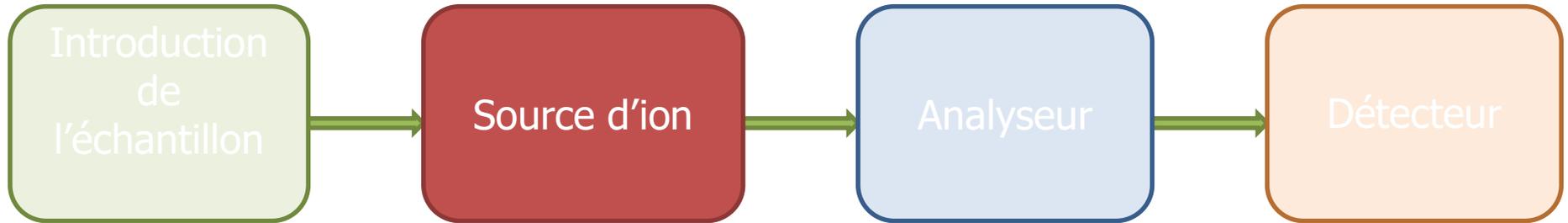
Beaucoup d'applications... et beaucoup d'équipements



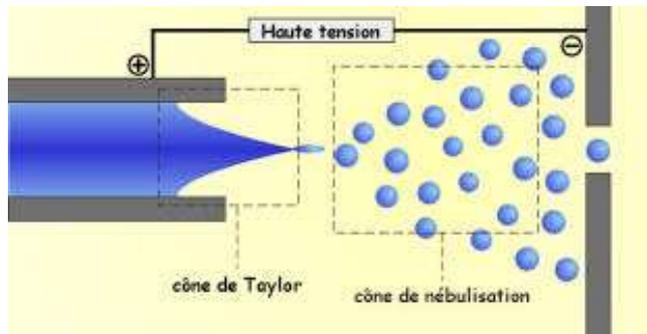
2^{ème} exemple : Analyse quantitative



Beaucoup d'applications... et beaucoup d'équipements

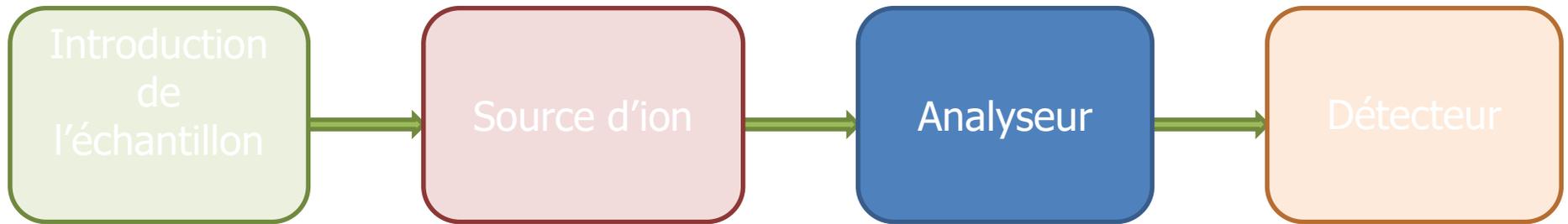


Source d'ionisation douce, à pression atmosphérique
Ex: **ESI Electropray ionisation**



L'échantillon est évaporé par un courant gaz (N_2)
+ ionisé par application d'une ddp

Beaucoup d'applications... et beaucoup d'équipements



Classiquement : Analyseur de type **Quadripôle**



Beaucoup d'applications... et beaucoup d'équipements

Analyseur

Principe d'un analyseur quadripolaire :

Application potentiels électriques

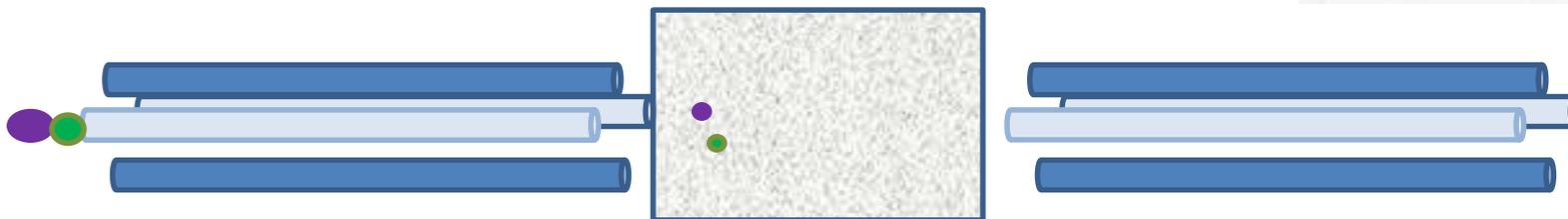
=> parcours de l'ion selon m/z

=> sélection



Mais problème si des ions ont le même m/z ...

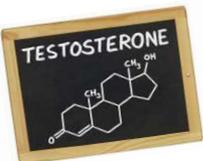
... SM en tandem



Mais problème si des ions fils ont le même m/z ...

... séparation chromatographique en amont

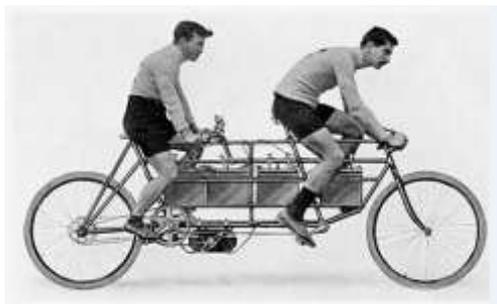
Beaucoup d'applications... et beaucoup d'équipements



Pour les « petites molécules » type hormones stéroïdiennes, acides aminés, toxico-pharmacologie etc.



Spectrométrie de masse en tandem + Chromatographie liquide LC-MS/MS

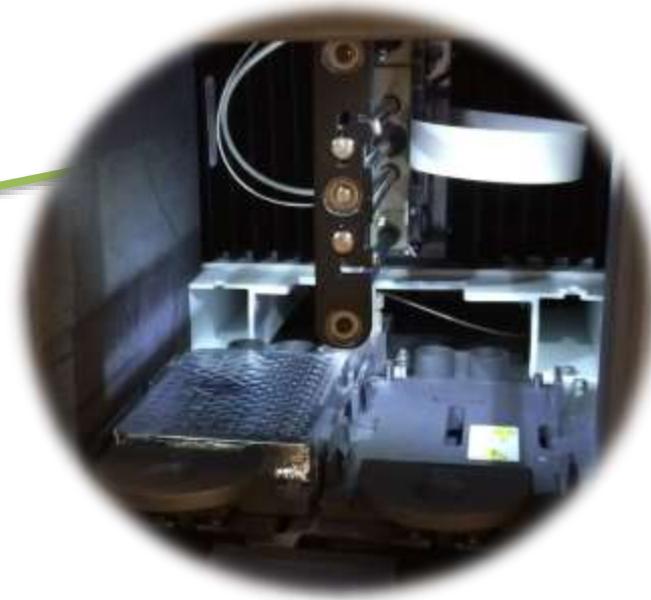


Classiquement type triple quadripôle



La technologie

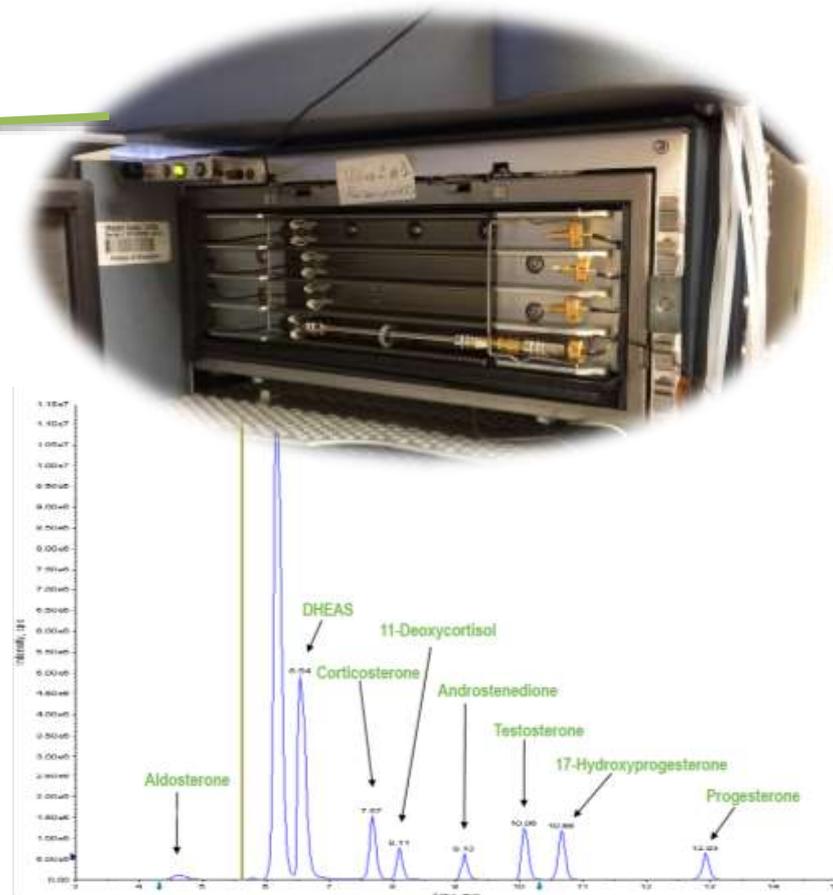
Association : Chromatographie liquide + spectrométrie triple quadripôle



Introduction de l'échantillon

La technologie

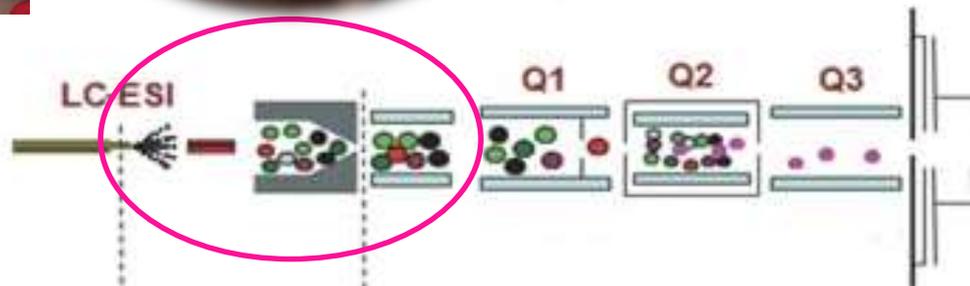
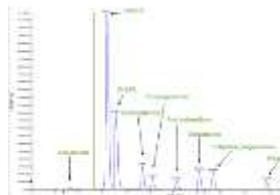
Association : Chromatographie liquide + spectrométrie triple quadripôle



Chromatographie liquide :
séparation selon affinité phase
mobile / phase stationnaire

La technologie

Association : Chromatographie liquide + spectrométrie triple quadripôle



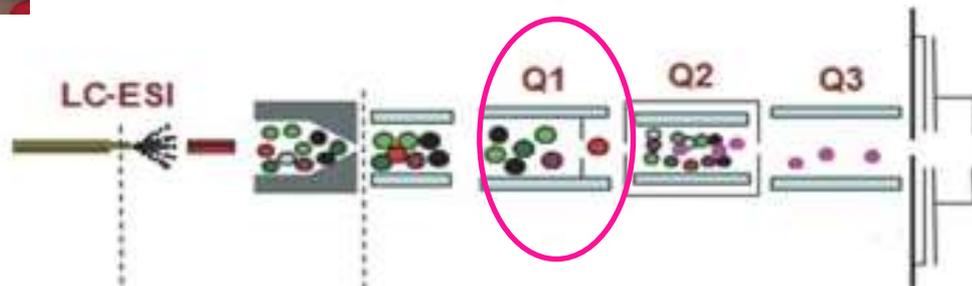
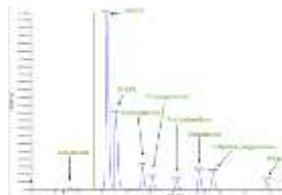
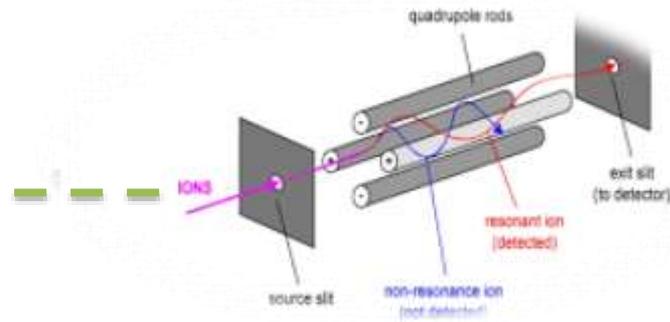
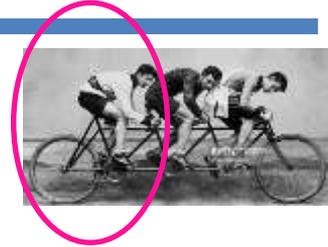
Source d'ionisation :

Nébulisation / désolvatation / ionisation

molécules dans solvant => molécules ionisées désolvatées

La technologie

Association : Chromatographie liquide + spectrométrie triple quadripôle

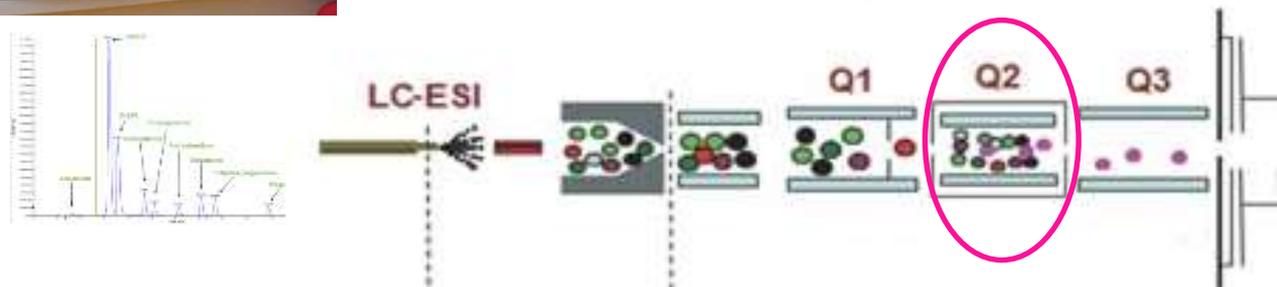
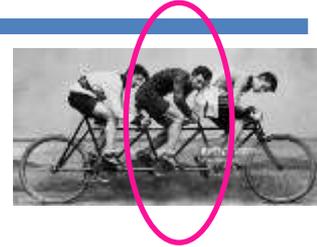


1^{er} quadripôle : sélection de l'ion parent

Sélection, successivement, d'1 ion parent selon son m/z
molécules ionisées => 1 ion parent de m/z choisi

La technologie

Association : Chromatographie liquide + spectrométrie triple quadripôle



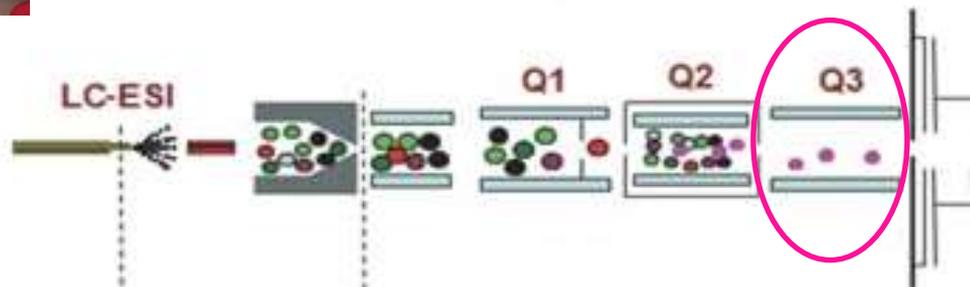
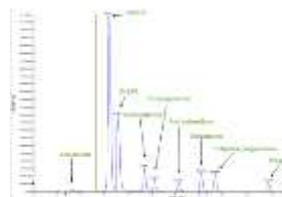
2^{ème} quadripôle : fragmentation de l'ion parent

Fragmentation de l'ion parent induite par collision

1 ion parent de m/z choisi => plusieurs ions fils

La technologie

Association : Chromatographie liquide + spectrométrie triple quadripôle

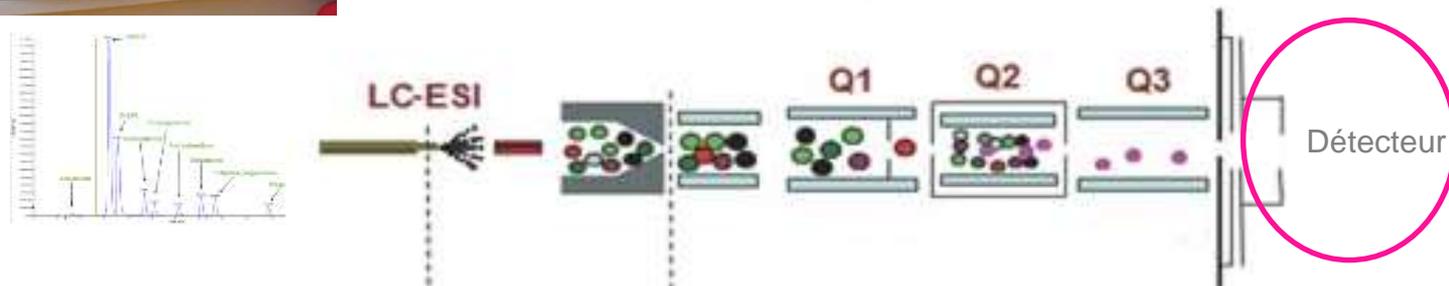
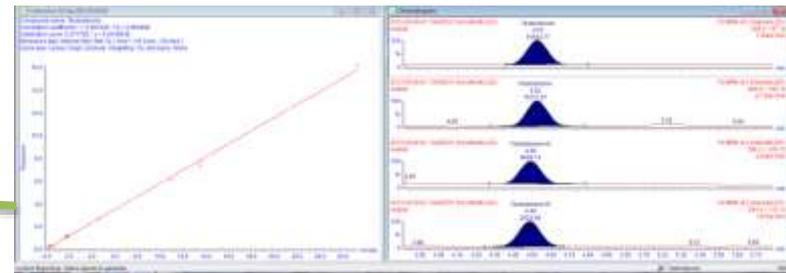


3^{ème} quadripôle : sélection de l'ion fils

Sélection, successivement, d'1 ion fils selon son m/z
plusieurs ions fils => 1 ion fils de m/z choisi

La technologie

Association : Chromatographie liquide + spectrométrie triple quadripôle



Détecteur + traitement informatique

1 ion fils de m/z choisi => 1 chromatogramme

Quantification

Association : Chromatographie liquide + spectrométrie triple quadripôle



Pour s'assurer de la qualité des différentes étapes :
Standard interne

Ajout en quantité connue un standard interne, marqué d'un isotope stable, dans tous les échantillons

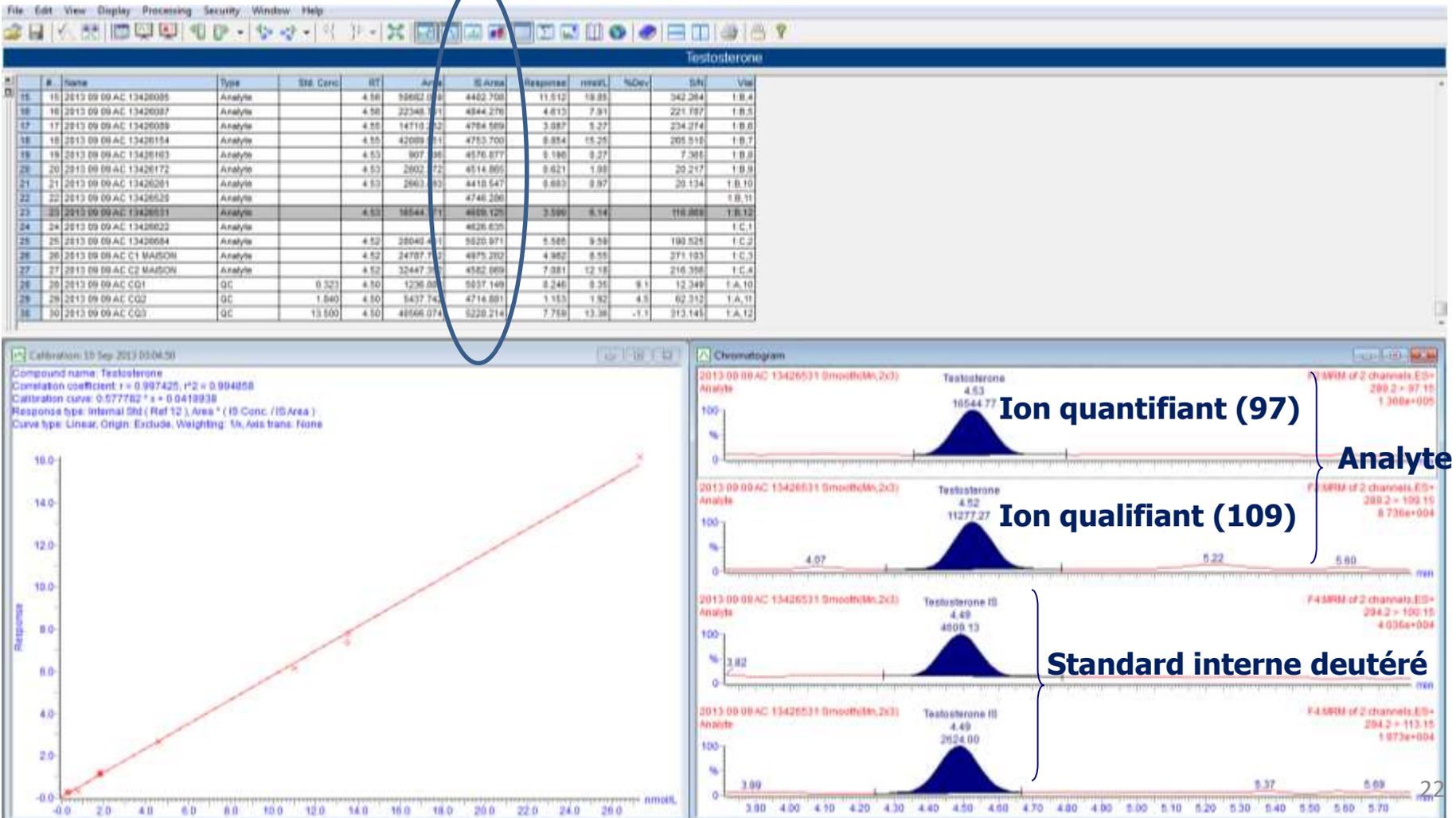
=> Quantification relative de l'analyte :
$$\frac{\text{Aire pic analyte}}{\text{Aire pic standard interne}}$$

Analyte	Standard interne
testostérone	$^2\text{H}_5$ -testostérone

Permet de s'affranchir des variations d'ionisation, de matrices etc.

Quantification

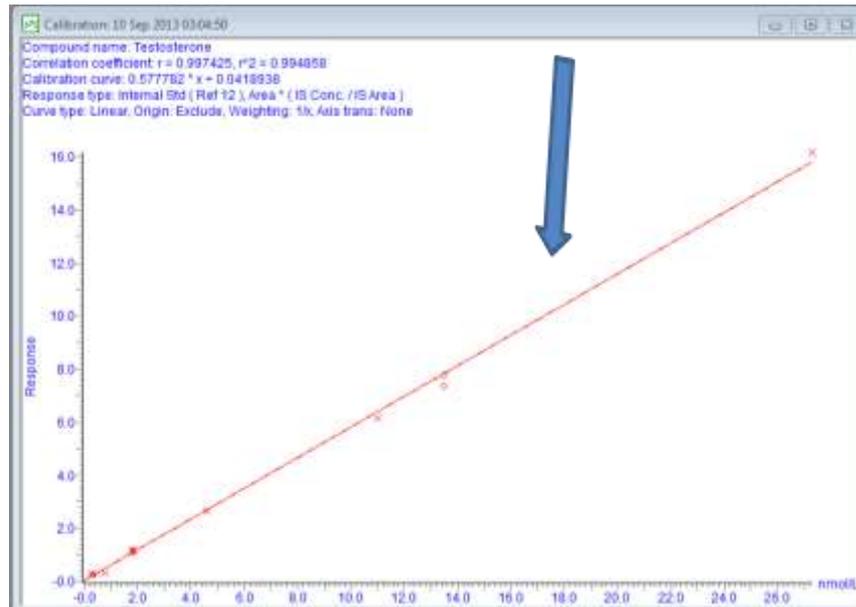
Pour s'assurer de la qualité des différentes étapes :
Standard interne



Quantification

Pour permettre la quantification :

Droite de calibration



Disposer de calibrateurs pour déterminer les droites de calibration

=> **Quantification**

Quantification

17ME11 / 17 ALPHA OH PROG. (nmol/L)

Limites acceptables à $\pm 29,7\%$ (Ricos souhaitable)
Statistiques robustes (algorithme A - norme ISO 13528:2015)

Groupes techniques/pairs	Codage	Histogramme
ENSEMBLE DES RESULTATS	J	
BECKMAN "RIA directe"	AO	
BECKMAN "RIA avec extraction"	AZ	
BIO ADVANCE - ELISA Elispeed	NV	
CISBIO Bioassays "CT"	AN	
- dont " Sans Extraction "	AN XXX	<i>SE</i>
- dont " Avec Extraction "	AN XXX	<i>AE</i>
DIASource "RIA CT"	AR	
LC-MSMS	3M	
Divers "TRITIUM"	WX	
Autres	XX	

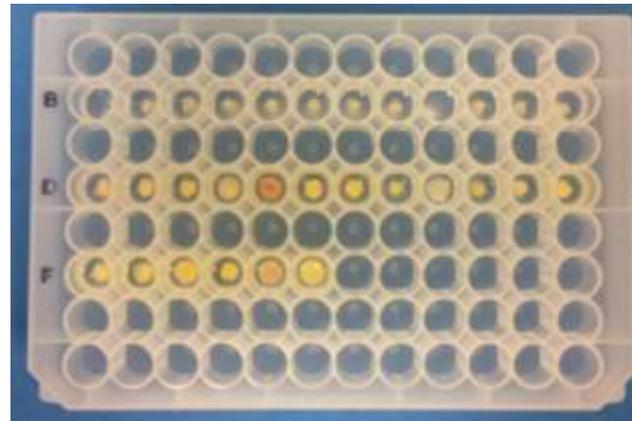
< 0,000 1,250 2,500 3,750 5,000 >

Alors, quelles sont les sources de variations ?

Difficultés

Alors, quelles sont les sources de variations ?

Etalonnage



Pré-analytique



Perspectives

Bientôt des modules de spectrométrie de masse embarqués sur les chaînes automatisées ?



Arrived in clinical diagnostics?



MS for diagnostics development



MS for special applications



Pre-clinical drug
Targeted drug development
Toxicology
Pharmacokinetics and pharmacodynamics
Pharmacovigilance

Stage of safety and Public Health
Doping
Forensic toxicology
Environmental monitoring
Food safety
Pharmaceutical quality control
Pharmaceutical research and development
Pharmaceutical quality control

Research
Metabolomics
Nutrition
Environmental monitoring
Pharmaceutical quality control
Pharmaceutical research and development
Pharmaceutical quality control

Market research



MS for clinical routine in the core lab



Fin de la 1^{ère} partie...

Schéma extrait de la présentation de Roche Diagnostics, Mass Spectrometry in Clinical Diagnostics Industry point of view Munich June 2012

27^e journées nationales du CNBH

25 janvier 2018

2^e partie :
**Application de la spectrométrie
de masse au dosage des stéroïdes**

Diane Dufour

Laboratoire Médecine Nucléaire In Vitro, CHRU de Tours

Un peu d'histoire...

Dosages radio-immunologiques



Immunoanalyse (automatisée ou non)

Gain de temps

Gain de reproductibilité

Affranchissement de la radioactivité

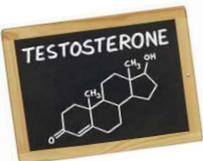


Limites persistantes :

- **Sensibilité** : concentration faible de certains stéroïdes
- **Spécificité** :
 - homologie de structure au sein des stéroïdes
 - présence potentielle de molécules interférentes
- Nécessité de **volume** conséquent pour l'ensemble du panel (stt si extraction préalable)

La spectrométrie de masse, une alternative ?

Pour les « petites molécules » type hormones stéroïdiennes



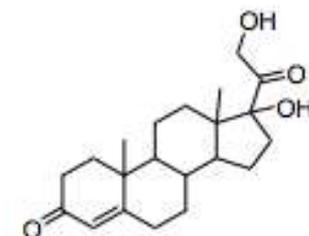
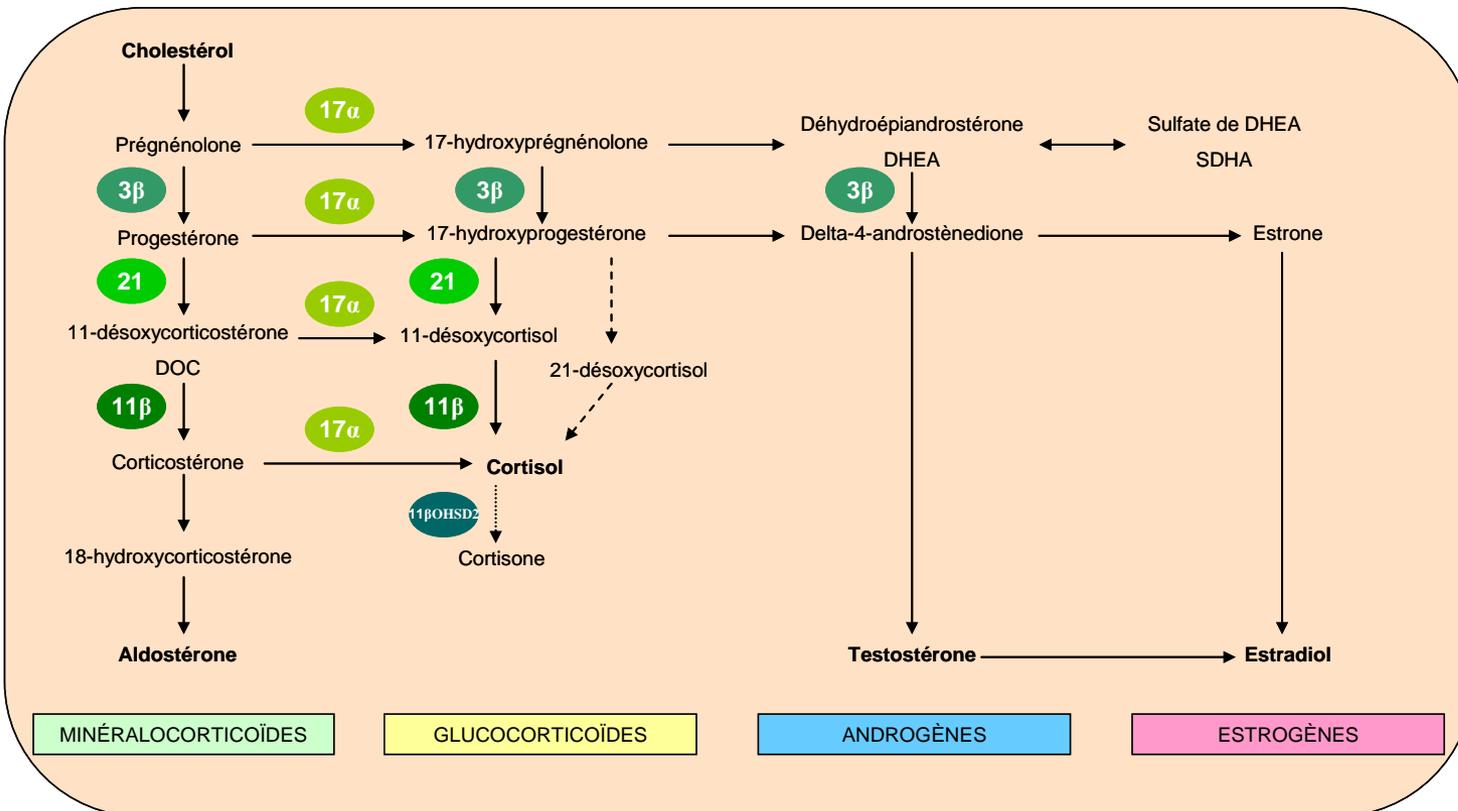
Spectrométrie de masse en tandem + Chromatographie liquide LC-MS/MS



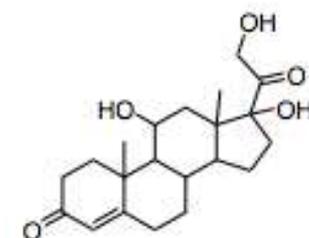
Classiquement type triple quadripôle



Application de la SM au dosage des stéroïdes



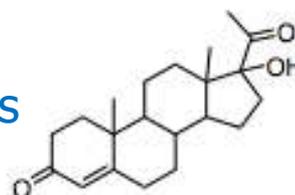
Exact Mass: 346,21
11-DC



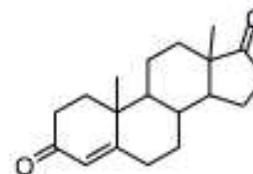
Exact Mass: 362,21
Cortisol

3β : 3β-hydroxystéroïde-déshydrogénase ; 11β : 11β-hydroxylase ; 11βOHS2 : 11β-hydroxystéroïde-déshydrogénase type 2 ; 17α : 17α-hydroxylase ; 21 : 21-hydroxylase

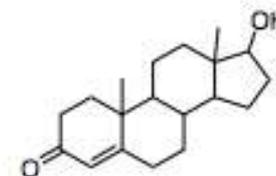
Intérêt de disposer du **panel** de stéroïdes
Mais structures proches +++



Exact Mass: 330,22
17-OHP



Exact Mass: 286,19
D-4-A



Exact Mass: 286,21
Testostérone

Application de la SM au dosage des stéroïdes

Préparation des standards

Kits « prêts à l'emploi », choix selon :

- Panel de stéroïdes proposé
- Volume échantillon nécessaire
- Accréditation souhaitée



Méthode « maison »

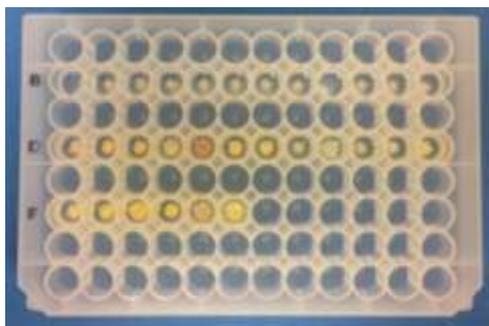
- Souplesse sur les analytes,
- Souplesse du domaine de concentration etc.



Application de la SM au dosage des stéroïdes

Préparation des échantillons

Exemple 1- Extraction liquide / liquide et précipitation



Ajout standards internes deutérés + solution d'extraction et précipitation



Récupération du surnageant

Evaporation

Reconstitution



Injection

Add DPS to wells	
Add serum sample, control, or calibrator to wells containing DPS	
Cover plate	
Shake plate	
Centrifuge plate	
Transfer supernatant	
Dry sample	
Reconstitution	
Cover plate and shake	
Load plate onto autosampler	
HPLC-MSMS Analysis	HPLC-MSMS

Application de la SM au dosage des stéroïdes

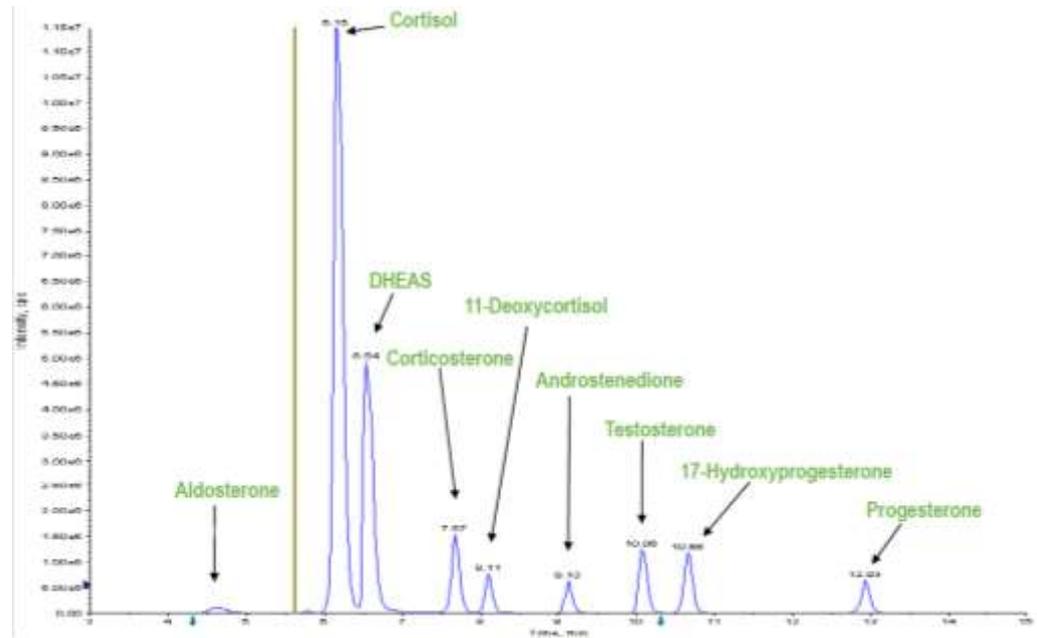
Préparation des échantillons

Exemple 2- Extraction sur colonne



Application de la SM au dosage des stéroïdes

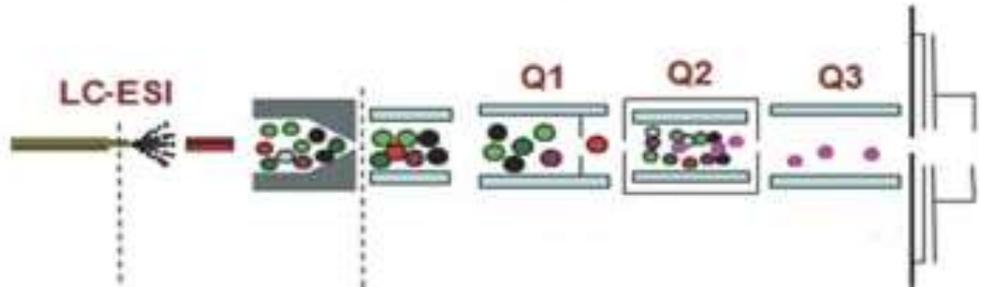
Chromatographie liquide



Séparation chromatographique sur colonne de silice de type C8 ou C18 à l'aide d'un gradient d'élution

Application de la SM au dosage des stéroïdes

Spectrométrie de masse en tandem



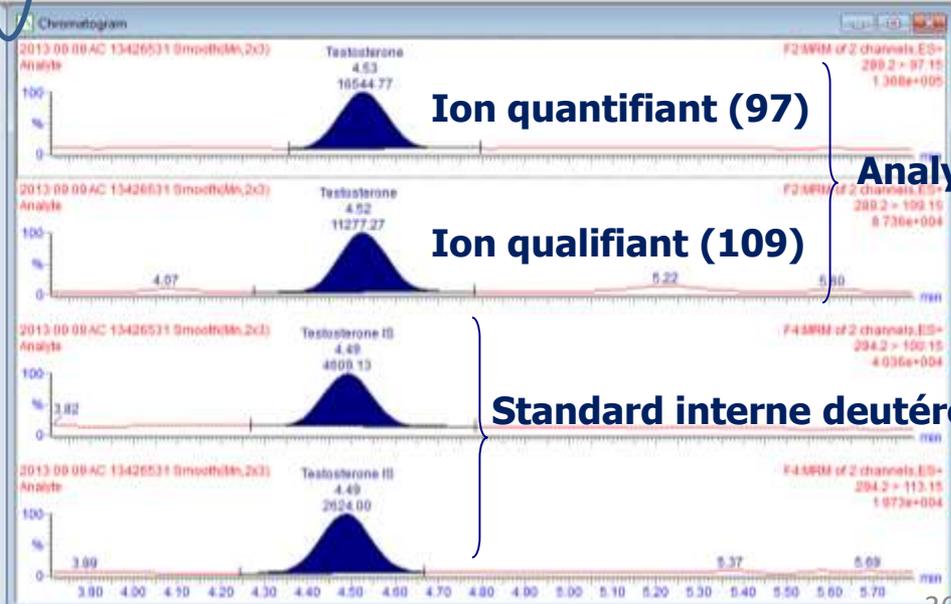
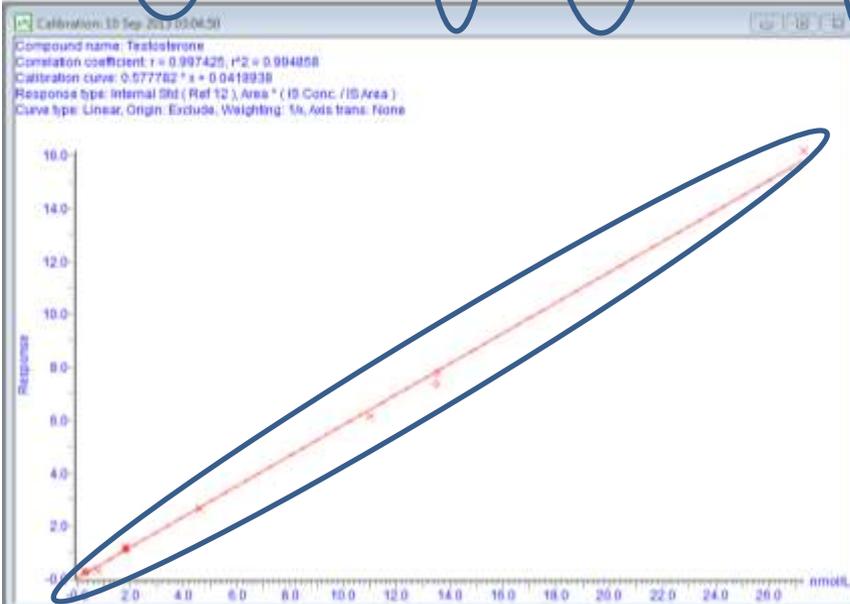
Durée totale :
3-10 min / échantillon
pour l'ensemble du panel

Application de la SM au dosage des stéroïdes

Validation d'une série

#	Name	Type	Std. Conc.	RT	Area	%Area	Response	nmol/L	%Dev	S/N	Val
15	2013 09 09 AC 13426095	Analyte		4.56	10662.03	4462.700	11.512	18.85		342.204	1.8,4
16	2013 09 09 AC 13426097	Analyte		4.56	22345.71	4544.276	4.613	7.91		221.197	1.8,5
17	2013 09 09 AC 13426098	Analyte		4.55	14710.22	4784.959	3.087	5.27		234.374	1.8,6
18	2013 09 09 AC 13426154	Analyte		4.55	42009.71	4753.700	8.854	15.25		205.510	1.8,7
19	2013 09 09 AC 13426163	Analyte		4.53	907.98	4576.877	5.180	9.27		7.385	1.8,9
20	2013 09 09 AC 13426172	Analyte		4.53	2902.72	4514.805	8.621	1.88		20.217	1.8,9
21	2013 09 09 AC 13426281	Analyte		4.53	2663.83	4418.547	8.683	9.97		20.134	1.8,10
22	2013 09 09 AC 13426629	Analyte				4746.200					1.8,11
23	2013 09 09 AC 13426631	Analyte		4.53	16544.71	4609.125	3.599	6.14		118.803	1.8,12
24	2013 09 09 AC 13426623	Analyte				4626.630					1.8,1
25	2013 09 09 AC 13426684	Analyte		4.52	26043.41	5020.971	5.568	9.58		180.525	1.8,2
26	2013 09 09 AC C1 MASON	Analyte		4.52	24787.73	4975.202	4.962	8.55		271.193	1.8,3
27	2013 09 09 AC C2 MASON	Analyte		4.52	32447.35	4582.869	7.081	12.18		216.398	1.8,4
28	2013 09 09 AC CQ1	QC	0.32	4.10	1236.03	5937.149	8.246	8.25	9.1	12.349	1.8,10
29	2013 09 09 AC CQ2	QC	1.840	4.10	5437.74	4716.881	1.153	1.82	4.5	62.312	1.8,11
30	2013 09 09 AC CQ3	QC	13.500	4.10	48566.074	6320.214	7.759	13.30	-1.1	313.145	1.8,12

- Temps de rétention LC
- Aire standard interne
- S/B suffisant
- Droite de calibration
- CIQ



Application de la SM au dosage des stéroïdes

Validation d'une série

Analyte ex.	Tr (min)	ion moléculaire (m/z)	ion quantifiant (m/z)	ion qualifiant (m/z)
Androstènedione	4,22	287	97	109
11-Désoxycortisol	3,37	347	97	109
Testostérone	4,53	289	97	109
17-OHP	5,0	331	97	109
Cortisol	2,10	363	97	121

Application de la SM au dosage des stéroïdes

Qualités et limites de ces dosages par spectrométrie de masse ?



Les données ci-après sont issues des résultats obtenus au CHRU de Tours (Spectromètre TQS (Waters®), Kit Stéroïdes (PerkinElmer®))



Spectrométrie de masse, qualités

Fidélité Intermédiaire

	Testostérone (nmol/L)		
niveaux	C1	C2	C3
Concentrations	0,34 - 0,45	1,62 - 2,14	12 - 16
n	37	37	37
moyenne	0,39	1,87	13,86
écartype	0,02	0,08	0,70
CV%	5,81	4,19	5,04
moy-2DS	0,35	1,71	12,46
moy+2DS	0,44	2,02	15,26

	17-hydroxyprogestérone (nmol/L)		
niveaux	C1	C2	C3
Concentrations	1,15 - 1,51	5,49 - 7,29	40,0 - 52,8
n	38	38	38
moyenne	1,31	6,16	46,68
écartype	0,06	0,24	1,75
CV%	4,32	3,97	3,75
moy-2DS	1,19	5,67	43,18
moy+2DS	1,42	6,64	50,19

Spectrométrie de masse, qualités

Limites de linéarité et domaine de mesure

Examen	Seuil inférieur (nmol/L)	Seuil supérieur (nmol/L)	Val de ref adulte à titre indicatif
11 désoxy-cortisol	0,08	165	< 3.9 nmol/L
17 hydroxy-progestérone	0,11	102	F: < 6.0 nmol/L H: < 5.6 nmol/L
Delta-4-androstènedione	0,12	121	F: < 7.5 nmol/L H: < 4.7 nmol/L
Testostérone	0,07	115	F: <1.9 nmol/L H: 7.2-24.2 nmol/L

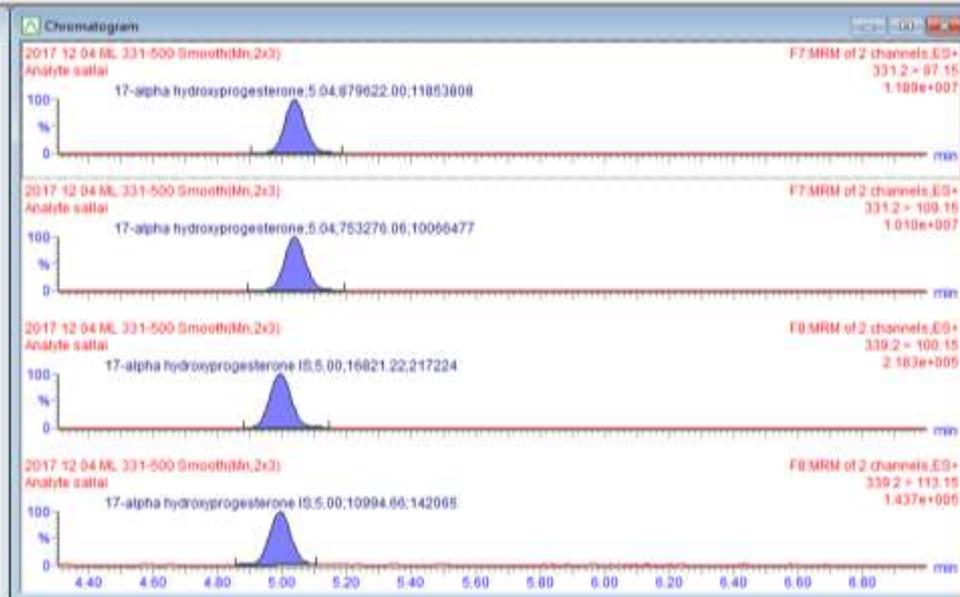
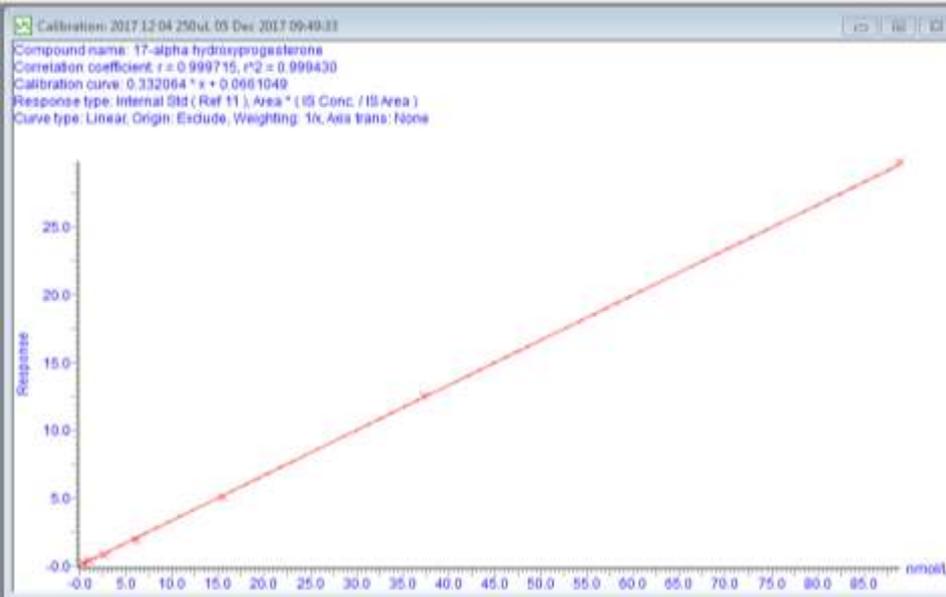
Spectrométrie de masse, qualités

Limites de linéarité et domaine de mesure

17-alpha hydroxyprogesterone

#	Name	Sample Text	Type	Std. Conc	RT	Primary Flags	Area	IS Area	Response	nmoVL	%Dev	S/N	Vial
1	2017 12 04 ML 331-224	Analyte	Analyte		5.04	bb	12388	18295	0.68	1.34		184	1:B,1
2	2017 12 04 ML 331-500	Analyte	Analyte		5.04	bb	879622	16821	52.29	157.28		9586	1:B,2

Pur => hors du domaine de mesure



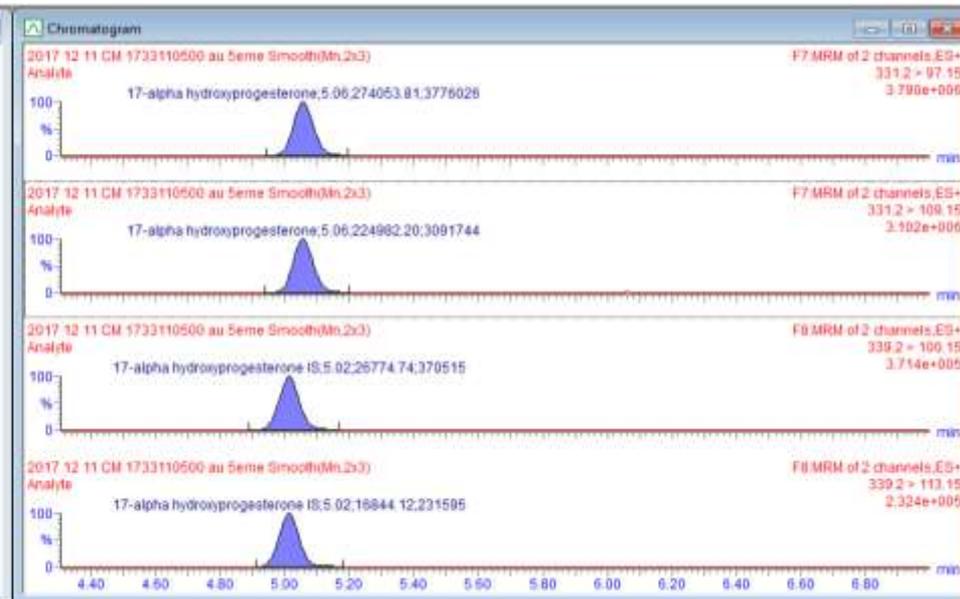
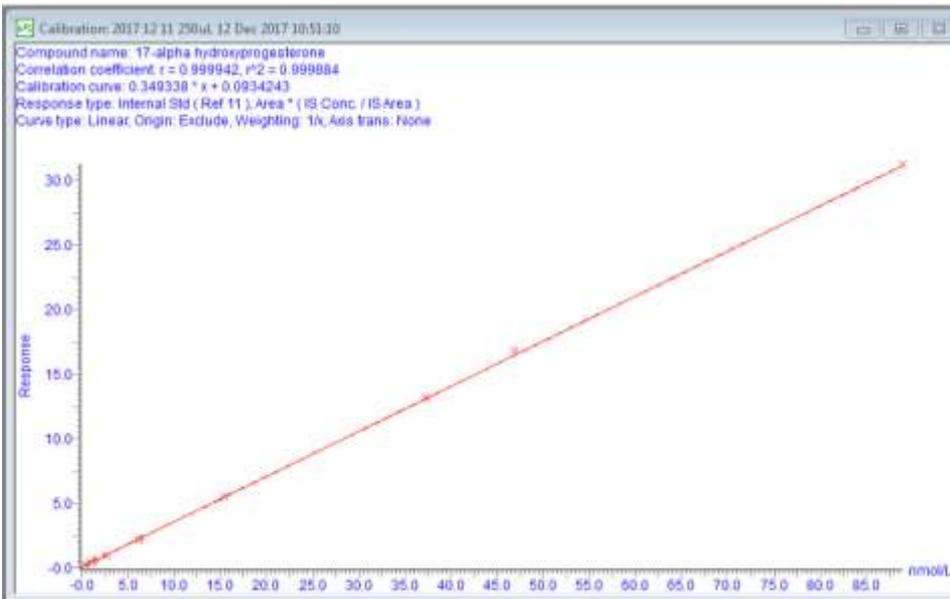
Spectrométrie de masse, qualités

Limites de linéarité et domaine de mesure

17-alpha hydroxyprogesterone

#	Name	ID	Sample Text	Type	Std. Conc	RT	Primary Flags	Area	IS Area	Response	nmol/L	%Dev	S/N	Vial
1	2017 12 11 CM 1733110500 au Seme		Analyte	Analyte		5.06	bb	274054	26775	10.24	29.03		3240	1:C,3
2	2017 12 11 CM 1733810607 au Seme		Analyte	Analyte		5.06	bb	46035	26663	1.73	1.97		986	1:C,4

Dilué 1/5 => soit 145 nmol/L (157 nmol/L pur hors gamme)



Spectrométrie de masse, qualités

Obtention d'un panel de stéroïdes

...en 1 analyse

...sur un volume réduit d'échantillon

...selon méthode adoptée et standards disponibles...

100 à 500 µL de sérum
selon la méthode utilisée
:) en pédiatrie

Intérêt d'un panel ?

Exemple :

Patiente de 68 ans, non suivie régulièrement.

Son médecin suspecte une insuffisance surrénalienne, dans le cadre d'une forme non classique d'hyperplasie des surrénales.

Devant l'hypocortisolisme, le médecin demande un test au synacthène®

Cortisol à T+60 min après Synacthène® = 96,7 nmol/L (< seuil)

Spectrométrie de masse, qualités

Obtention d'un panel de stéroïdes

Delta-4 >

Delta-4 Androstènedione

*Nature : Sérum.
Spectrométrie de masse (UPLC-MSMS)*

Résultat : **17,3** nmol/L
Valeurs de références Avant ménopause <7.5 nmol/L
Après ménopause <2.9 nmol/L

Testostérone >

Testostérone

*Nature : Sérum.
Spectrométrie de masse (UPLC-MSMS)*

Résultat : **2,1** nmol/L
Valeurs de références : Avant ménopause <1.9 nmol/L
Après ménopause <1.1 nmol/L

11C <

11-Désoxycortisol

*Nature : Sérum.
Spectrométrie de masse (UPLC-MSMS)*

Résultat : **0,61** nmol/L
Valeurs de références : <3.9 nmol/L
Valeurs de référence adulte et enfant à partir de l'âge de 1 an.

17 OH-P >>>>

17-Hydroxyprogestérone

*Nature : Sérum.
Spectrométrie de masse (UPLC-MSMS)*

Résultat : **788** nmol/L
Valeurs de références : <6.0 nmol/L
Femme en activité génitale : pendant la phase lutéale, les taux de 17OHP sont 3 à 4 fois plus élevés qu'au cours de la 1ère semaine (J3) de la phase folliculaire

NB: Valeurs de référence pour taux de base

Spectrométrie de masse, qualités

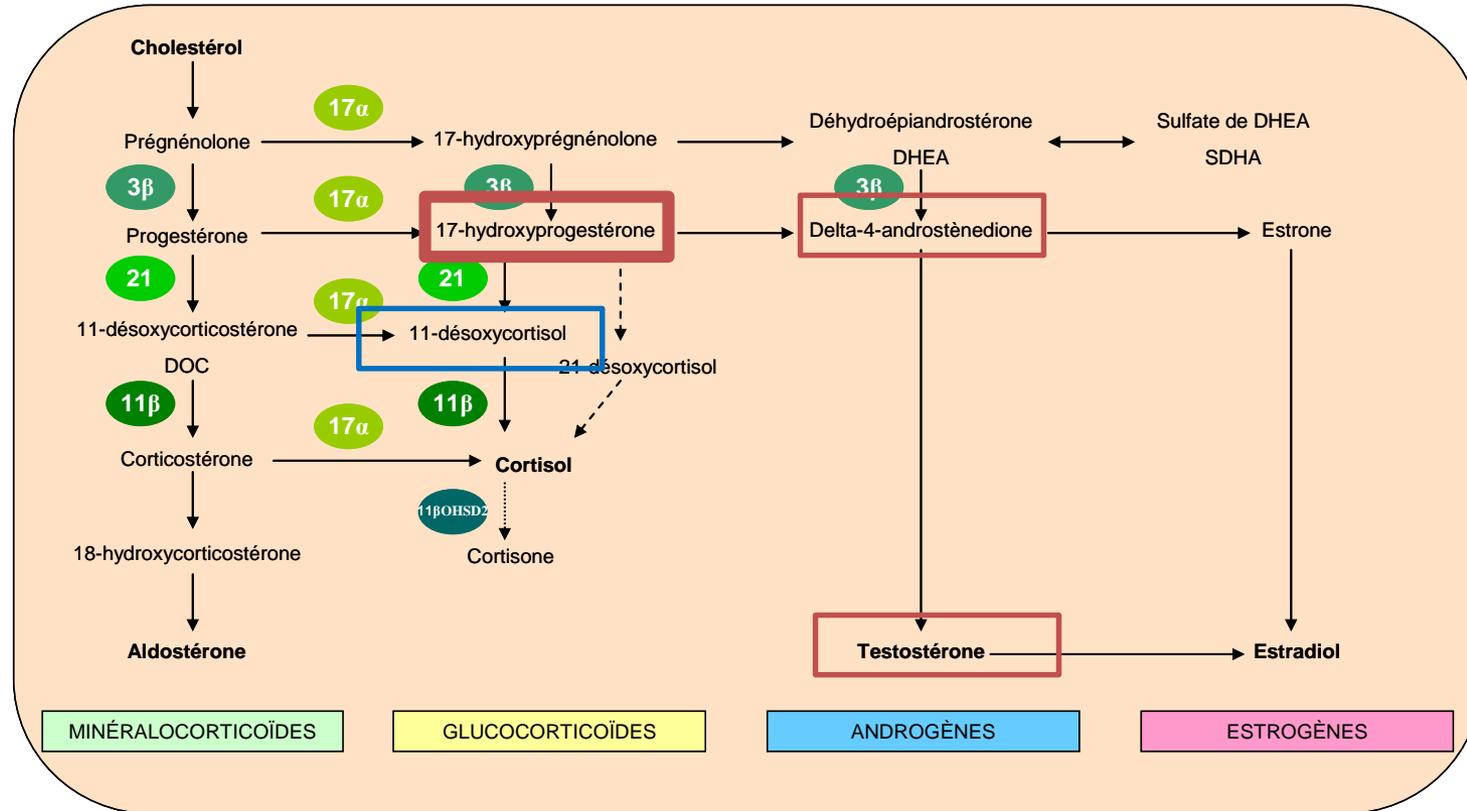
Obtention d'un panel de stéroïdes

Delta-4 >

Testostérone >

11C <

17 OH-P >>>>



3β : 3β-hydroxystéroïde-déshydrogénase ; 11β : 11β-hydroxylase ; 11βOHS2 : 11β-hydroxystéroïde-déshydrogénase type 2 ; 17α : 17α-hydroxylase ; 21 : 21-hydroxylase

Spectrométrie de masse, qualités

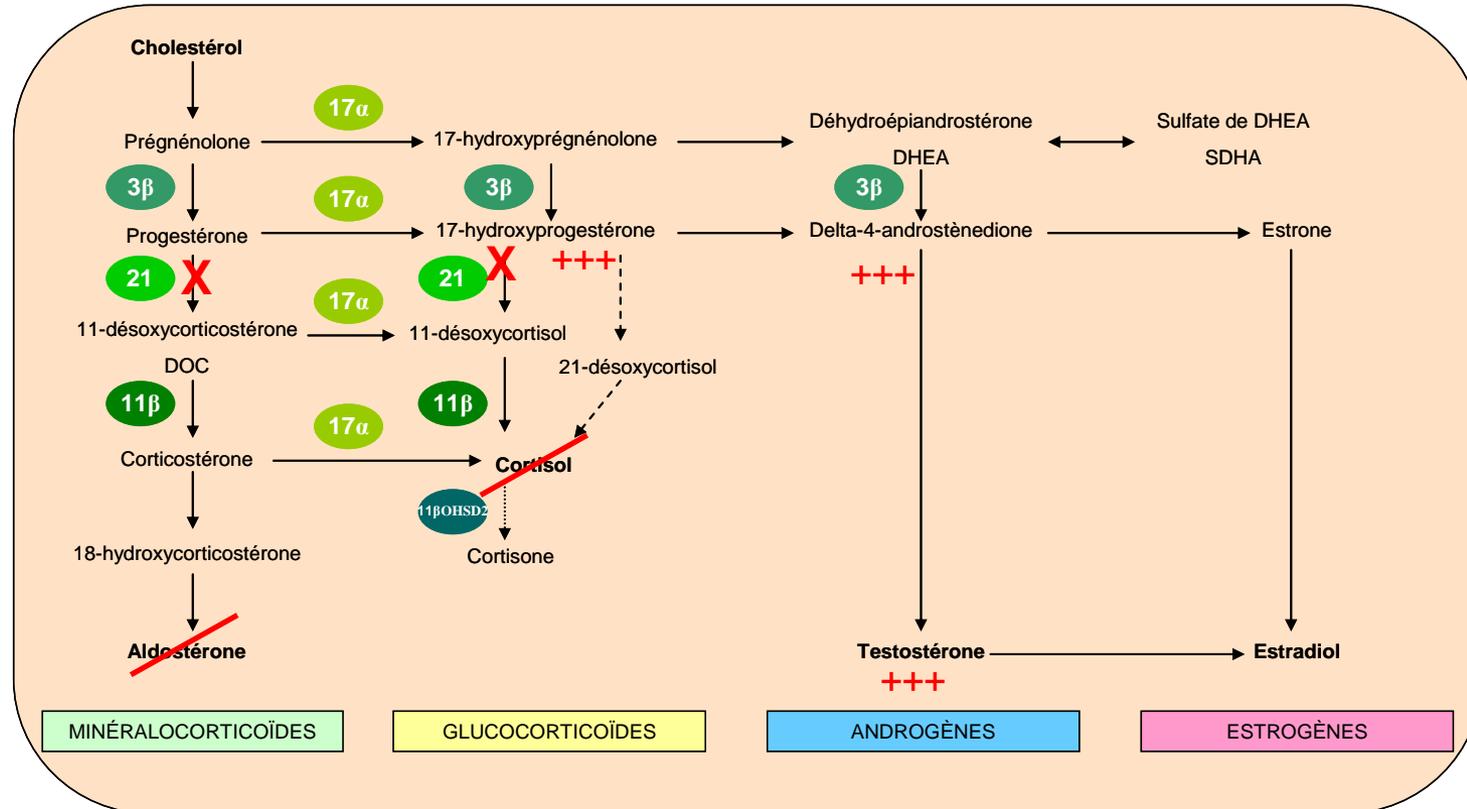
Obtention d'un panel de stéroïdes

Delta-4 >

Testostérone >

11C <

17 OH-P >>>>



3β : 3β-hydroxystéroïde-déshydrogénase ; 11β : 11β-hydroxylase ; 11βOHS2 : 11β-hydroxystéroïde-déshydrogénase type 2 ; 17α : 17α-hydroxylase ; 21 : 21-hydroxylase

Si **Hyperplasies congénitales des surrénales** par déficit en 21-hydroxylase

Spectrométrie de masse, qualités

Spécificité & Recherche d'interférences

LETTRE DE SECURITE
FSCA CC 17-06 / UFSN CC 17-06.A.OUS

Systemes ADVIA Centaur®
Systemes Dimension Vista®
Systemes IMMULITE®

Résultats de progestérone élevés dans des échantillons de patientes en raison d'une réaction croisée du sulfate de DHEA dans les dosages de progestérone

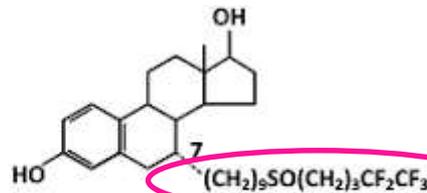
Description

Cette notification a pour objet de vous informer du risque potentiel d'interférence du dosage de l'œstradiol avec des médicaments dérivés des œstrogènes (par exemple le Fulvestrant, nom commercial : FASLODEX®) pouvant causer un biais positif sur les résultats du dosage.

Le Fulvestrant est un antagoniste des récepteurs aux œstrogènes qui bloque l'action des œstrogènes sur les tumeurs. Ce médicament est indiqué dans le traitement du cancer du sein métastasé, présentant des récepteurs hormonaux positifs, chez les patientes ménopausées.



Oestradiol



Fulvestrant

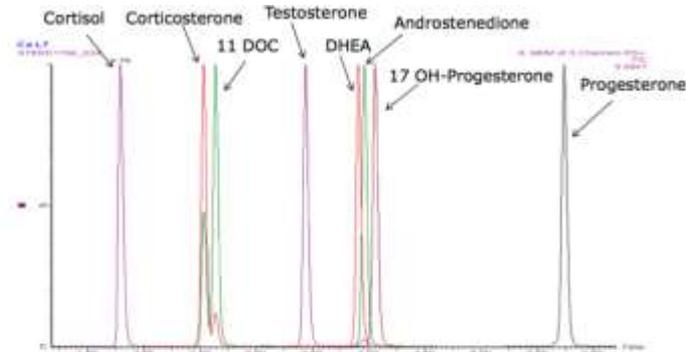
HSA's advisory

Healthcare professionals are advised to indicate if their patient is on fulvestrant when requesting blood tests that include E2 levels and to consider **alternative methods such as liquid chromatography-mass spectrometry** instead of immunoassays to detect E2.

Spectrométrie de masse, qualités

Spécificité & Recherche d'interférences

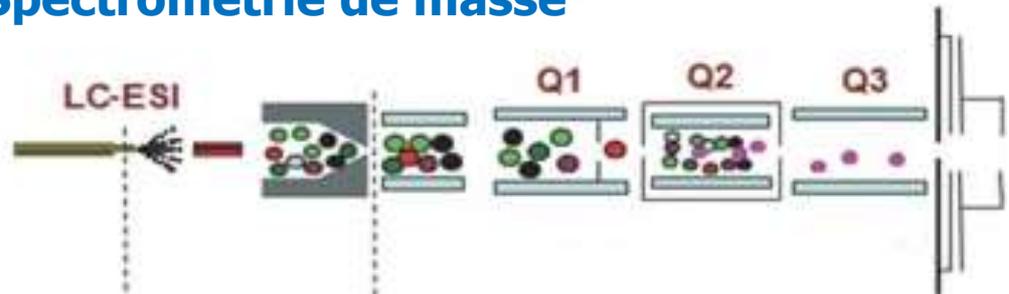
Chromatographie



Elution des composés entre 1.79min (Cortisol) et 5.75min (Progesterone)
Largeur des pics : 6 à 8 secondes

Spécificité assurée par :

Spectrométrie de masse



Seules des molécules qui auraient les mêmes temps de rétention en chromatographie (pas de séparation HPLC), isobares et donnant les mêmes fragments (pas de séparation SM) ne pourraient être séparées.

Spectrométrie de masse, qualités

Matrices variées

Possibilité d'adapter les protocoles d'extraction pour les **différentes matrices** (sang, urine, salive, buvard etc.)

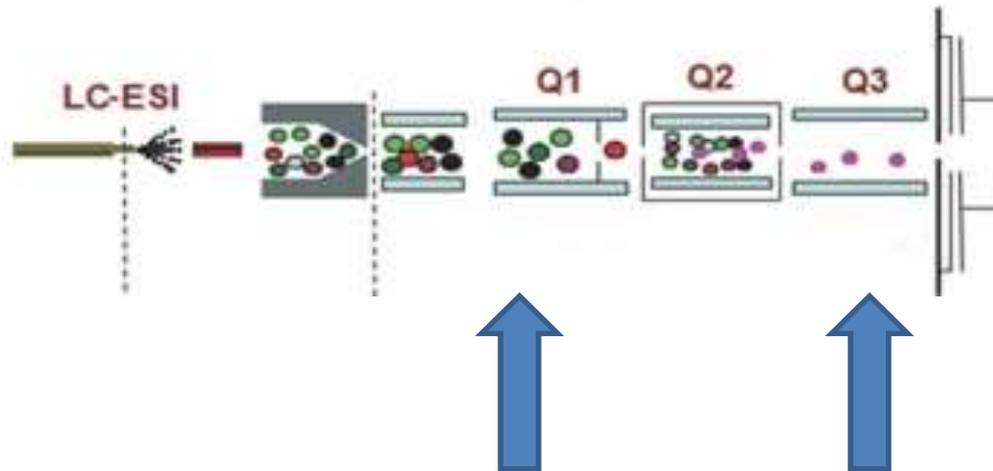


...mais pas sans difficultés pré-analytiques...

Spectrométrie de masse, ... mais aussi limites

Technologie délicate ++

= Peu de possibilités d'intervention par les techniciens en cas de panne



Exemple : Vide poussé, si ouverture 4 à 48h nécessaire pour recréer le vide...

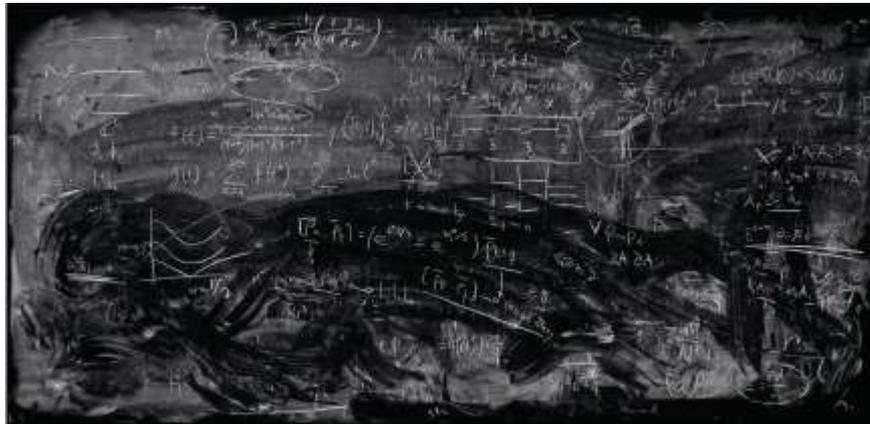
Spectrométrie de masse, ... mais aussi limites

Technologie délicate ++

= **Formation** ++ du personnel

surtout si développement de nouvelles méthodes ou matrices

Favoriser un passage fréquent sur le poste



Spectrométrie de masse, ... mais aussi limites

Technologie délicate ++

= **Coût** ++ des équipements

Alors... intérêt de la **mutualisation** des équipements

- => **compromis** sur le choix des équipements et des méthodes
- => plages dédiées par activité



Spectrométrie de masse, ... mais aussi limites

Pré-analytique à standardiser

Nécessiter **d'homogénéiser** les protocoles et de se comparer ... car...



Spectrométrie de masse, ... mais aussi limites

Pré-analytique à standardiser

17MD12 / TESTOSTERONE (nmol/L)				Limites acceptables à $\pm 13,6\%$ (Ricos souhaitable) Statistiques robustes (algorithme A - norme ISO 13528:2015)				
Groupes techniques/pairs	Codage	Histogramme	n	Cible	CV	E/M%	Limites	
ENSEMBLE DES RESULTATS	J		356	18,169	12,4			
ABBOTT Architect / Alinity "2ème génération"	RJ U4Y, U4Z		60	19,796	5,1	9,0	17,104-22,488	
BECKMAN Access/DxI/DxC	QE		55	15,462	4,7	-14,9	13,359-17,565	
- dont DxI 600 / 800	QE UCD		53	15,419	4,5	-15,1	13,322-17,516	
BECKMAN "RIA directe" (DM 1119)	AO		2	17,530	/			
BECKMAN "RIA avec extraction" (DM 1087)	AZ		6	20,832	/			
BIOMERIEUX Vidas/MiniVidas/Vidas 3 "Testo II"	DB UGV, UGW, UGT		28	15,644	10,4	-13,9	13,516-17,772	
CISBIO Bioassays "CT 2"	AN		10	17,620	8,8	-3,0	14,925-20,315	
DIASORIN Liaison	S8 UKW, UKV		5	11,570	/			
ORTHO CLINICAL Vitros	P5 U4V, U4W, FK1		7	21,844	20,9	20,2	16,615-27,073	
ROCHE Elecsys/Modular/Cobas	RD		121	18,811	5,0	3,5	16,253-21,369	
- dont Modular	RD UWH		8	18,962	9,8	4,4	15,911-22,013	
- dont Cobas e 411	RD UWL		3	18,767	/			
- dont Cobas e 601/e 602	RD UWR, UWT		106	18,776	4,8	3,3	16,222-21,330	
- dont Cobas e 801	RD UWS		4	19,278	/			
SIEMENS Advia Centaur CP/XP/XPT Trousse TST 0	SI U4S, U4E		5	14,030	/			
SIEMENS Advia Centaur CP/XP/XPT Trousse TST II	SI U4S, U4E		29	18,826	5,5	3,6	16,266-21,386	
SIEMENS Dimension Vista	SQ DFJ		4	16,945	/			
TOSOH AIA 360/600II/900/1800/2000	DL UEC, UEP, UER, UEN, UED		13	21,865	4,1	20,3	18,823-24,905	
LC-MSMS ou GC-MSMS	2A		9	17,698	10,2	-2,6	14,860-20,536	

Note : TB z' score 0,4 Biais 4,5%

Spectrométrie de masse, ... mais aussi limites

Pré-analytique à standardiser

17ME11 / 17 ALPHA OH PROG. (nmol/L)

Limites acceptables à $\pm 29,7\%$ (Ricos souhaitable)
Statistiques robustes (algorithme A - norme ISO 13528:2015)

Groupes techniques/pairs	Codage	Histogramme
ENSEMBLE DES RESULTATS	J	
BECKMAN "RIA directe"	AO	
BECKMAN "RIA avec extraction"	AZ	
BIO ADVANCE - ELISA Elispeed	NV	
CISBIO Bioassays "CT"	AN	
- dont " Sans Extraction "	AN XXX	<i>SE</i>
- dont " Avec Extraction "	AN XXX	<i>AE</i>
DIASource "RIA CT"	AR	
LC-MSMS	3M	
Divers "TRITIUM"	WX	
Autres	XX	

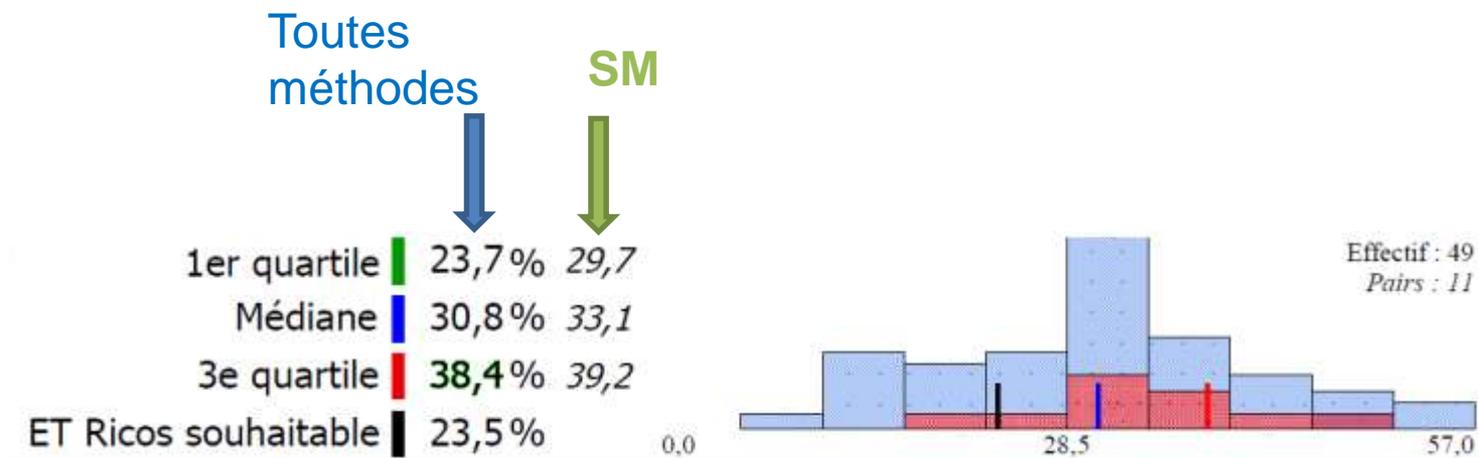
Mais aussi...

< 0,000 1,250 2,500 3,750 5,000 >

Spectrométrie de masse, ... mais aussi limites

Pré-analytique à standardiser

Incertitude de mesure :
(exemple de la delta-4-androstènedione)

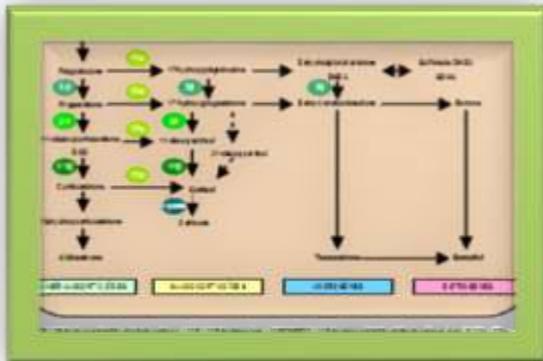
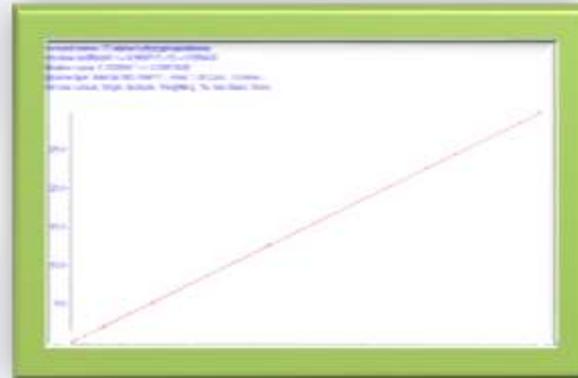


La spectrométrie de masse, en conclusion

Application de la SM au dosage des stéroïdes

	Spectrométrie de masse
Spécificité	
Sensibilité	
Reproductibilité	
Panel d'intérêt	
Volume d'échantillon	
Rapidité de réalisation	
Adaptation aux matrices	
Pré-analytique	
Coût	
Formation	

Application de la spectrométrie de masse au dosage des stéroïdes



Je vous remercie de votre attention

Remerciements



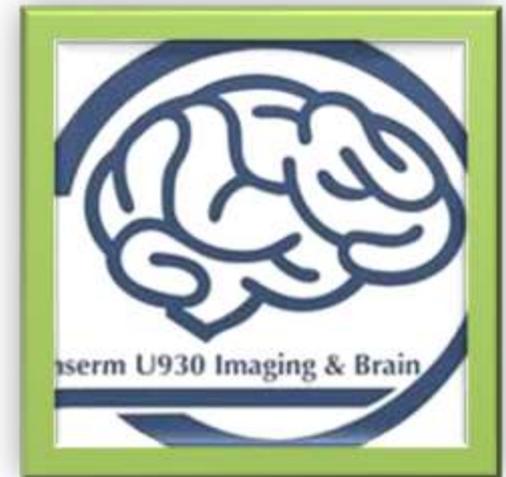
L'Université de Tours



Le CHRU de Tours...



...et le service de Médecine nucléaire



L'Unité Inserm
Imagerie & Cerveau



Le groupe de Biologie
Spécialisée de la SFMN