

Pierre-Alain Binz¹

Applications et futur de la spectrométrie de masse en médecine de laboratoire

La spectrométrie de masse regroupe un ensemble d'outils dont l'importance ne fait que croître en médecine de laboratoire. Certaines méthodes y sont utilisées depuis plusieurs décennies. La technologie continue d'évoluer et offre aujourd'hui des perspectives d'application et d'automatisation très attrayantes.

La spectrométrie de masse, technologie plus que centenaire, s'est imposée dans un grand nombre de domaines et applications tels que la recherche et le contrôle de qualité en chimie, pharmaceutique ou pétrochimie, le contrôle des denrées alimentaires, la lutte contre le dopage, l'authentification de pièces d'art, la parfumerie, l'aérospatiale, la défense militaire, la recherche en protéomique et métabolomique, etc.

Son utilisation en médecine de laboratoire n'est pas récente et son importance ne fait que croître. De la chimie clinique à la microbiologie, de la pharmacologie clinique à la toxicologie, elle démontre des propriétés et caractéristiques uniques. Elle est choisie comme méthode de référence pour un nombre d'analytes et supplante dans ce sens certains immunoessais [1].

Mais qu'est-ce qu'un spectromètre de masse ?

Un spectromètre de masse (MS) est un appareil de laboratoire qui permet de séparer des ions et mesurer leurs masses, plus précisément leurs rapports masse sur charge. En fonction de son architecture, il peut également fragmenter ces ions et analyser les fragments produits. Il peut travailler en mode ciblé (sélection d'un nombre limité d'analytes) ou screening (mesure de tous les analytes détectables de l'échantillon).

Outre des systèmes d'introduction d'échantillon et de traitement de données, il est constitué d'une source d'ionisation, d'un analyseur et d'un détecteur. Pour faire face à la diversité des propriétés physico-chimiques des analytes, à la complexité des échantillons et aux besoins de types d'analyses demandées, les constructeurs ont développé une grande variété d'instruments à partir de ces éléments génériques.

Un MS est souvent couplé à une technologie séparative de type chromatographie liquide ou gazeuse, ce qui permet de limiter la complexité de l'échantillon à analyser à un temps donné. L'étape de pré-traitement des échantillons (précipitation, de capture par affinité ou de trapping sur des sorbants) est importante pour limiter la complexité de la solution à soumettre à l'instrument et pour éliminer des composés interférents.

Quelles instrumentations pour la médecine de laboratoire ?

Dans le domaine de la médecine de laboratoire, l'instrumentation MS est variée et est utilisée pour un nombre d'applications croissant. Ci-après nous allons décrire quelques exemples.

Le couplage de la chromatographie en phase gazeuse à un spectromètre de masse (GC-MS) est une composition utilisée depuis plusieurs décennies pour l'identification et la quantification de nombreux analytes de polarité plutôt faible et susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. L'échantillon est vaporisé à haute température puis emporté à l'aide d'un gaz porteur sur une colonne de séparation également chauffée. Les analytes ainsi élués sont ionisés par impact d'électron (EI) qui les fragmentent de manière très reproductible. Les spectres de masse sont comparés à des bases de données de spectres de référence pour les buts d'identification. La quantification elle se base sur des mesures de rapport d'intensité de fragments spécifiques. Aujourd'hui, la GC-MS est couramment utilisée pour l'analyse de profils d'acides organiques, de stéroïdes ou de drogues d'abus.

Le couplage de la chromatographie en phase liquide à un spectromètre de masse (LC-MS) est devenu une méthode de choix dans l'analyse de fluides biologiques. La LC permet de séparer un grand nombre de composés (métabolites, peptides, petites protéines), et de les

soumettre en ligne au MS. Les molécules sont ionisées de manière douce (electrospray, APCI). En fonction de la spécificité nécessaire, des analyseurs à basse (quadrupole, trappe linéaire ou 3D) ou haute résolution (TOF, Orbitrap) sont utilisés pour les mesures d'ions moléculaires. Les modes d'acquisition avec fragmentation sont classiquement utilisés pour de la quantification spécifique. Parmi eux, le mode SRM est très répandu. La Vitamine D, les immunosuppresseurs, les stéroïdes, les acylcarnitines, les médicaments, les acides aminés, les peptides sont des exemples d'analytes de la LC-MS (voir aussi articles «La détermination du taux de vitamine D avec la spectrométrie de masse – une dépense supplémentaire justifiée?» et «Le suivi pharmacologique réalisé au moyen de la CL-SM» dans cette issue).

L'analyse d'éléments traces par ICP-MS. Les bilans nutritionnels, les suivis de «leakage» des prothèses, le suivi des patients brûlés ou certaines analyses toxicologiques demandent la quantification d'éléments traces tels que: Zn, Se, Cu, Co, Cr, Mg érythrocytaire, Al, Pb, Li, etc. L'outil de choix est l'ICP-MS (Inductively coupled plasma mass spectrometry) [2]. Une torche à plasma chauffe les molécules en solution à des températures de 6000–10000° C et les «désintègre» en ions atomiques. Cette méthode permet l'analyse simultanée de jusqu'à 70 éléments avec une grande sensibilité (de l'ordre du ppb).

Typage microbien par MALDI-TOF. Cette méthode a amené une révolution dans le domaine de la microbiologie. Une colonie extraite d'une plaque de culture est déposée sur un puits d'une plaque métallique et additionnée d'une solution de matrice. Un pulse de laser de la source MALDI (Matrix-assisted Laser Desorption Ionisation) désorbe l'échantillon et ionise les molécules. Le domaine

¹ Dr. Pierre-Alain Binz, Service de Biomédecine, CHUV, Lausanne

de masses disponible de l'analyseur TOF (Time-of-Flight) permet de mesurer une empreinte protéique spécifique de la souche. Le spectre de masse obtenu est comparé à ceux d'une banque de données de spectres de référence, ce qui permet d'identifier la souche ou l'espèce du micro-organisme analysé [3–5].

Le futur de la MS dans le domaine de la médecine de laboratoire

L'amélioration des performances, de la sensibilité, de la vitesse d'analyse et de la puissance de résolution permet d'envisager de nouvelles pistes d'utilisation. Il est intéressant dans ce sens de suivre les activités de l'ASMS (l'American association of mass spectrometry, www.asms.org) et celles de la MSACL (The Association for Mass Spectrometry: Applications to the Clinical Laboratory, www.msaccl.org).

La recherche clinique, tout comme la métabolomique et la protéomique apprécient la **LC-MS à haute résolution** (analyseurs de type TOF et Orbitrap). Un échantillon produit une «image» à 3 dimensions (temps de rétention, masse, intensité) constituant une empreinte spécifique à plusieurs centaines voire milliers de points. Des analyses statistiques comparatives entre populations d'échantillons génèrent des classifications et des «biomarqueurs potentiels» [6, 7] (Voir aussi article Bovet dans cette issue de Pipette). L'implémentation dans le laboratoire de diagnostique n'est pas immédiate [8]. Par contre, dans l'esprit du développement d'une médecine personnalisée, une telle cartographie est un pendant du séquençage génomique, à ceci prêt qu'elle représente une photographie à un moment donné et non un encodage statique.

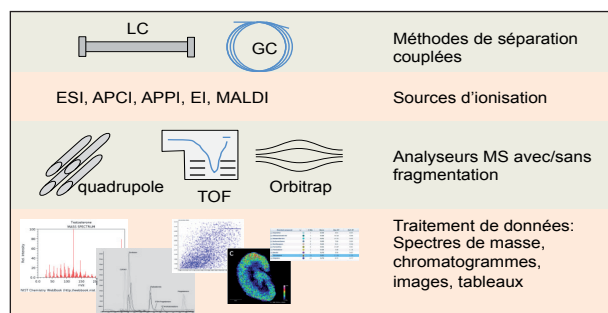
Parmi les approches prospectives prometteuses, on peut citer les **analyses en temps réel**: par exemple l'analyse in vivo de tissus durant une intervention chirurgicale [9] par couplage d'électrochimie et de Rapid Evaporative Ionization Mass Spectrometry (REIMS). Le domaine de **l'imagerie** fait également des progrès. Les instruments utilisant des méthodes de désorption et ionisation de type MALDI, DESI, AMS ou SIMS permettent de générer des «images» dont les résolutions spatiales s'approchent de celles des coupes histologiques, avec un avantage de pouvoir représenter un grand nombre de molécules différentes sans marquage particulier [10, 11].

L'automatisation constitue un grand défi pour les fournisseurs d'instruments. De nature complexe et versatile, l'instrumentation MS se dirige vers une configuration de type automate, où robustesse et simplification d'utilisation priment. Les constructeurs de MS se rapprochent des fournisseurs de kits et de système de pipetages. L'étape suivante est le système autonome comparable à un automate classique de chimie ou d'immunanalyse. Cette évolution attendue devrait apparaître sur le marché bientôt. On peut même rêver: attacher un module MS sur une grande chaîne analytique. Pour atteindre ce niveau d'intégration, où le MS devient un «simple détecteur» dans un système automatisé, il faut encore résoudre quelques questions d'ordre stratégique, technique et de modèle commercial. Rien n'est impossible, le laboratoire de demain se réjouit déjà de s'affranchir des difficultés du passé.

Correspondance:
Pierre-Alain.Binz@chuv.ch

Anwendungen und Zukunft der Massenspektrometrie in der Labormedizin

Die Massenspektrometrie ist ein Verfahren, dem auf zahlreichen Gebieten Bedeutung zukommt, darunter auch in der Labormedizin. Die verfügbaren Massenspektrometer (MS) unterscheiden sich in Aufbau, Funktionsprinzip und Leistung. Sie dienen der Identifizierung und Quantifizierung chemischer Verbindungen. Dabei werden Molekülionen getrennt und eventuell fragmentiert, daraufhin wird ihre Masse bestimmt. Massenspektrometrie wird häufig mit Flüssigchromatographie (LC) oder Gaschromatographie (GC) gekoppelt, wodurch eine weitere Auftrennung erfolgt und die Analyse der Probe im Gerät vereinfacht wird. In der Labormedizin sind die eingesetzten Gerätetypen und ihre Anwendungen vielfältig: So werden beispielsweise GC-MS und LC-MS zur Untersuchung unterschiedlicher Analyten eingesetzt, etwa von Aminosäuren, Steroiden, Drogen usw. Sie können ebenso gut für quantitative als auch für qualitative Bestimmungen, mit oder ohne Fragmentierung der Moleküle, verwendet werden. Die ICP-MS findet besonders zur Analyse von Spurenelementen Verwendung. Das MALDI-TOF-Verfahren ist eine bahnbrechende Methode zur Identifizierung von Mikroorganismen. Jüngste Entwicklungen eröffnen neue Möglichkeiten für bildgebende Verfahren und Unterstützung in Echtzeit bei chirurgischen Eingriffen. Die Technik wird für das Labor immer robuster und immer besser automatisierbar.



En fonction des molécules à analyser et de la question posée, les constructeurs proposent une variété d'instrumentation, en combinant les éléments qui constituent un système MS.

Références

Vous trouverez les références complètes en ligne sous: www.sulm.ch/f/pipette → Numéro actuel (n° 3-2015).



CDI is looking for a FAMH specialist to contribute to our laboratory catalogs uniformisation project.

Desired qualifications are:

- Good knowledge of the IUPAC and/or LOINC standards
- Interest in web-based data management
- Strong communication and relational skills
- Knowledge of French, German and English (Italian is a plus).

This is a part-time position (up to 20% occupation rate), ideally suited for a retired scientist.

Interested candidates may contact Mr Patrick Anthamatten (pan@cdi.ch) on 026 422 00 24. Conzeils et Développements Informatiques, route de Villars 37, 1700 Fribourg