

Dosage du cortisol libre urinaire des 24h par LC-MSMS : comparaison des résultats obtenus par 4 techniques de dosages

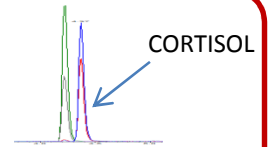
J. Brossaud^a, M. Leban^b, JB. Corcuff^a, V. Moal^c, AG. Le Loupp^d, K. Bach-Ngouh^d

^a CHU Bordeaux, Pessac ; ^b APHP, La Pitié-Salpêtrière, Paris ; ^c CHU Angers, Angers ; ^d CHU Nantes, Nantes.



INTRODUCTION

Le dosage du cortisol libre des urines de 24h (CLU) est un examen recommandé par les sociétés d'Endocrinologie pour le dépistage du Syndrome de Cushing. La technique d'immunodosage, bien que largement utilisée, manque de spécificité analytique. Les dosages réalisés par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MSMS) présentent de meilleures performances analytiques. Cette technique est néanmoins plus lourde à mettre en œuvre et, en l'absence de kit de dosage commercialisé, chaque laboratoire doit développer sa propre méthodologie. **Cette étude propose de comparer les résultats obtenus par 4 laboratoires afin de vérifier l'exactitude et la concordance des valeurs.**



MATERIEL ET METHODES

Le dosage du CLU d'un **groupe de témoins sains** (N = 78, [21-66] ans, 43/35 F/M) et un **groupe de patients** présentant un syndrome de Cushing (N = 20, [16-75] ans, 9/11 F/M) (maladie de Cushing, Sd de Cushing ectopique, corticosurrénalome, Cushing iatrogène) a été réalisé selon **4 techniques de LC-MSMS différentes, développées dans 4 laboratoires.**

Les laboratoires 1 et 2 utilisent une extraction liquide-liquide et un système Agilent Technology couplé à un spectromètre Sciex. Les laboratoires 3 et 4 utilisent une extraction liquide-solide et un système Waters. La transition de quantification est la même (363 > 121). Les standards de cortisol pour la courbe de calibration sont respectivement dilués dans le méthanol, l'urine, l'eau ou un mélange eau/méthanol pour les laboratoires de 1 à 4.

Performances analytiques des 4 techniques

Laboratoire n°	Intra-série				Inter-série			
	Niveau bas		Niveau haut		Niveau bas		Niveau haut	
	Moyenne	CV (%)	Moyenne	CV (%)	Moyenne	CV (%)	Moyenne	CV (%)
1	131	2,2	873	2,1	138	9,9	672	8,6
2	131	2,3	491	1,7	134	5,0	318	5,0
3	17,6	9,0	329	5,0	22,4	13,0	340	7,0
4	80	3,2	307	4,4	122	13,0	292	11,0

RESULTATS

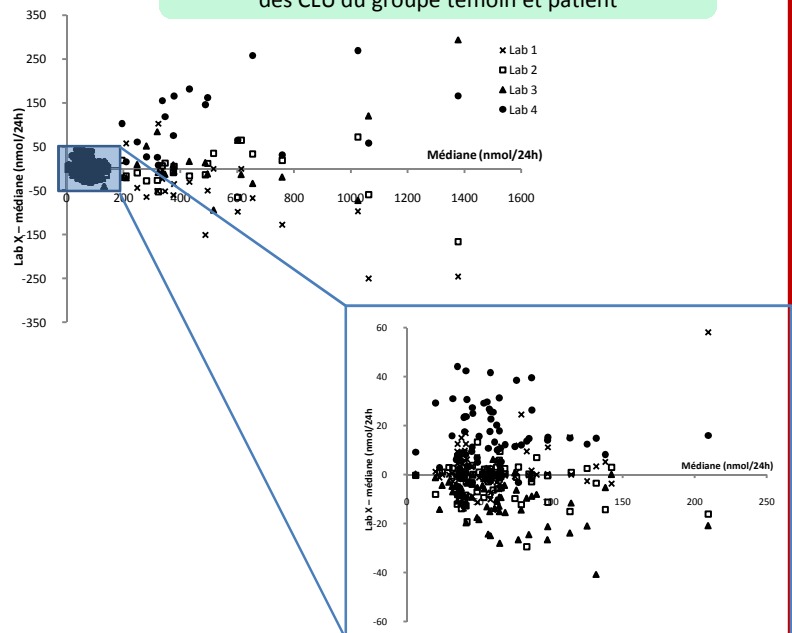
Les valeurs normales du CLU, c'est-à-dire les 5^{ème} et 95^{ème} percentile obtenus dans la population témoin, sont respectivement [16,6 ; 126,0], [14,6 ; 134,0], [12,4 ; 118,0] et [27,3 ; 157,0] nmol/24h pour les laboratoires 1 à 4. Seuls les résultats obtenus par le laboratoire n 4 diffèrent significativement de ceux obtenus par les 3 autres laboratoires (Kruskal-Wallis p<0,0001 + comparaison multiple de Dunn).

Régression de Passing-Bablok et corrélation de Pearson des résultats de chaque laboratoire pour les CLU du groupe témoin et patient

Laboratoire n	Pente (95% IC)	Ord. origine (95% IC)	r (95% IC)	N	Pearson
1	1,0276 (0,9945 ; 1,0766)	-0,8157 (-3,4561 ; 0,7401)	0,9689 (0,9518 ; 0,9800)	76	0,98
2	1,0268 (0,9939 ; 1,0787)	-2,2417 (-5,9837 ; -0,2390)	0,9748 (0,9608 ; 0,9838)	77	0,98
3	0,9648 (0,8824 ; 1,0309)	-5,8671 (-10,342 ; -1,3975)	0,9179 (0,8796 ; 0,9444)	78	0,96
4	1,1227 (1,0491 ; 1,2364)	5,1376 (-0,0552 ; 10,142)	0,8212 (0,7446 ; 0,8765)	62	0,94

Laboratoire n	Pente (95% IC)	Ord. origine (95% IC)	R (95% IC)	n	Pearson
1	0,9298 (0,8954 ; 0,9833)	4,0563 (1,0152 ; 6,7461)	0,9769 (0,9703 ; 0,9821)	96	0,99
2	1,0186 (0,9895 ; 1,0392)	-1,7439 (-3,6290 ; -0,1381)	0,9948 (0,9922 ; 0,9951)	97	0,98
3	1,000 (0,9782 ; 1,0373)	-7,3204 (-10,503 ; -4,6583)	0,9881 (0,9835 ; 0,9915)	98	0,99
4	1,1718 (1,1059 ; 1,2702)	3,3213 (-1,7506 ; 9,4483)	0,9693 (0,9577 ; 0,9778)	80	0,99

Bland-Altman des résultats inter-laboratoires des CLU du groupe témoin et patient



La corrélation entre les 4 techniques est bonne. Il existe néanmoins un biais pour les résultats de certains laboratoires

CONCLUSION

Malgré des méthodologies mises en œuvre différentes, la concordance des résultats obtenus par les 4 laboratoires est bonne.

Les résultats sont significativement corrélés dans les valeurs normales aussi bien que dans les valeurs hautes. La comparaison des protocoles des 4 laboratoires a permis d'identifier des explications possibles aux biais analytiques observés pour les résultats : matrice de dilution des standards et/ou des échantillons biologiques, utilisation d'un étalon interne deutéré et utilisation d'une transition de qualification semblent être des points clé.