

Dosage sanguin d'immunosuppresseurs. Mise au point d'une méthode d'analyse par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse

Résumé du travail

Le monitoring thérapeutique des immunosuppresseurs est un outil essentiel dans la prise en charge des patients après transplantation d'organes. Différents types de méthodes sont disponibles pour le dosage sanguin de ces médicaments, aussi bien selon des techniques immunologiques que chromatographiques (LC-UV, LC-MS ou LC-MS/MS). En raison de leur facilité d'emploi, les immunoessais sont largement utilisés pour le dosage de la ciclosporine et du tacrolimus (technique EMIT utilisée aux HUG). Ces techniques sont cependant très coûteuses et ne permettent pas de doser simultanément plusieurs molécules. Elles manquent surtout de spécificité en raison de réactions croisées avec certains métabolites inactifs (pour la ciclosporine et le tacrolimus), pouvant conduire chez certains types de patients (choléstase par exemple) à des surestimations des taux cliniquement significatives. Les consensus internationaux recommandent l'utilisation d'une méthode spécifique (comme la chromatographie) pour le dosage de ces médicaments. Aucun immunoessai n'est actuellement disponible pour le dosage du sirolimus, qui était initialement réalisé aux HUG par LC-MS avec une préparation de l'échantillon par extraction liquide-liquide off-line, et de son analogue l'everolimus, qui devrait être mis sur le marché prochainement et pour lequel aucune méthode de dosage n'était disponible aux HUG.

En réponse aux besoins du Laboratoire Central de Chimie Clinique des HUG de pouvoir disposer (1) d'une méthode spécifique et moins coûteuse pour le dosage de la ciclosporine et du tacrolimus, (2) d'une méthode comportant une préparation de l'échantillon plus rapide pour le sirolimus et (3) d'une nouvelle méthode pour l'everolimus, nous avons développé et validé une méthode spécifique par LC-MS permettant de doser simultanément ces quatre médicaments dans le sang complet. Le système de préparation de l'échantillon développé, qui consistait en une précipitation des protéines suivie d'une extraction on-line en phase solide selon un système de commutation de colonnes, était rapide et permettait d'automatiser le processus afin de le rendre compatible avec la quantité importante d'échantillons analysés chaque jour au laboratoire.

Des échantillons sanguins provenant de patients transplantés ont ensuite été analysés à l'aide de la méthode développée. La comparaison des résultats avec ceux obtenus à partir de la technique EMIT utilisée en routine a mis en évidence une surestimation par l'immunoessai des taux réels en molécule active s'élevant en moyenne à 23% pour la ciclosporine (n=38) et à 30% pour le tacrolimus (n=41). Ces écarts confirment les observations effectuées par d'autres auteurs et illustrent la nécessité de doser ces médicaments à l'aide d'une méthode spécifique.

La méthode développée est actuellement utilisée en routine avec satisfaction pour le dosage du sirolimus, ce qui devrait aussi se faire prochainement avec l'analyse de la ciclosporine et du tacrolimus, après évaluation clinique de l'impact sur l'interprétation des résultats, avec notamment une adaptation des marges thérapeutiques. Cette méthode pourrait également servir d'outil à d'éventuelles études pharmacocinétiques futures et être exportée vers d'autres laboratoires cliniques.