



Contrôle de la contamination chimique inhérente au processus de fabrication des microplaques à puits profonds

Stephen Knight et Tony Castleman

Porvair Sciences Ltd, Leatherhead, UK

www.porvair-sciences.com

Pour en savoir plus : int.sales@porvair-sciences.com

Introduction

Dans un précédent rapport d'évaluation indépendant («*Extractables Testing in Deep Well Plates*», Ireland, Castleman et al, Porvair Sciences, 2005), nous avons démontré que plusieurs microplaques à puits profonds disponibles sur le marché pouvaient comporter des niveaux significatifs de composés extractibles provenant de l'usage de polypropylène de moindre qualité.

Une nouvelle étude, réalisée pour le compte de Porvair Sciences R&D par le département de chimie de l'Université du Kent, détaille de façon plus approfondie cette problématique sur plusieurs échantillons de microplaques à puits profonds disponibles à la vente. Une fois encore, elle a permis de détecter une contamination significative de nombreuses plaques distribuées dans le commerce.

Cette fois, l'étude s'est ouverte non seulement aux microplaques en polypropylène standard mais également aux plaques colorées et noires et à une plus vaste gamme de

produits de différents fabricants. Cette nouvelle étude, réalisée début 2013, fournit donc de nombreuses données sur une large gamme de microplaques en provenance de plusieurs fabricants européens, américains et chinois. La spectrométrie de masse montre que plusieurs composés présents dans le polymère brut restent décelables dans de nombreuses microplaques examinées.

Contexte

Les effets des composés extractibles identifiés par cette étude sont complexes et dépendent de l'utilisation prévue de ces plaques. Il est toutefois évident que de longues chaînes de molécules hydrocarbonées contaminantes provoqueront des signaux de fluorescence parasites lors de n'importe quelle analyse spectroscopique et pourront même induire des faux positifs lors de la recherche d'apoptoses ou de stases cellulaires par un criblage à grande échelle. En médecine légale, ces petites molécules indésirables

peuvent facilement masquer des stupéfiants ou leurs métabolites et causer la destruction d'ions, menant à une quantification inexacte. Les scientifiques faisant usage de microplaques à puits profonds doivent veiller à une analyse régulière des plaques qu'ils utilisent, s'ils souhaitent éviter une telle contamination. Ces analyses peuvent être menées sur site. L'alternative est de choisir des microplaques à puits profonds provenant de fabricants réputés capables de garantir l'absence de tels composés au sein de leurs produits.

Méthode

Les microplaques testées proviennent de tous les grands fabricants. Une plaque neuve, vierge de toute utilisation, a été systématiquement sélectionnée dans chaque lot échantillon et soumise à un flux d'air comprimé propre afin d'en éliminer toutes les particules éventuellement accumulées. Le dépistage de toute contamination du polymère a été réalisé en incubant durant une nuit un volume approprié de méthanol de qualité CLHP dans trois puits sur chaque plaque, méthanol complété par 10 µg/ml de caféine au titre de procédure interne standard. Les plaques ont ensuite été scellées par un joint de friction et laissées au repos pendant une nuit.

Après l'incubation d'une nuit, une fraction d'1 µl issue de chaque puits a été soumise à l'analyse par chromatographie/spectrométrie GC-MS en utilisant une injection sans division à 250°C.

La séparation a été effectuée sur une colonne capillaire avec le gradient de température approprié, avec détection des ions positifs EI-MS.

Dans un but de simplification, les résultats de chacun des trois puits par plaque testée ont été additionnés et réduits à la moyenne. Les plaques/tubes testés durant cette étude proviennent de différents fabricants situés aux États-Unis et en Europe.

Identification des contaminants

Les contaminants détectés, comparés aux bases de données du NIST pour les identifier chimiquement, se sont avérés être des molécules destinées à améliorer le plastique ainsi que des agents facilitant le moulage par injection. (Voir tableau)

D'autres substances chimiques, en quantités inférieures, sont apparues dans certains produits. Dans le cadre de cette étude, ils n'ont pas été entièrement identifiés.

Il est probable que les molécules citées plus haut sont intégrées au polymère à un stade précoce afin d'en faciliter le moulage et accélérer le temps d'obtention du produit fini.

Conclusion

L'étude démontre qu'en dépit de la disponibilité de polypropylène de qualité médicale pour la fabrication de microplaques à puits profonds, plus de la moitié des plaques testées présentaient une certaine forme de contamination par des composés capables de s'échapper du plastique.

Mais, comme déjà démontré par l'étude indépendante datant de 2005, toutes les plaques à puits profonds de Porvair Sciences se sont avérées vierges de toute contamination.

L'étude 2013 a mis à jour une quantité significative de plaques à puits profonds en provenance de fournisseurs différents contaminées par des composés extractibles. Cela nous amène à conclure qu'un polypropylène de qualité inférieure a été utilisé dans la production de ces microplaques. Un tel polypropylène contient souvent des additifs modificateurs de flux ou des « agents de démoulage » mis en œuvre, respectivement, pour faciliter le processus de fabrication ou faciliter le démoulage des microplaques. L'utilisation de méthanol dans cette étude est significative. Solvant polaire, il est excellent pour dissoudre de petites molécules et a permis d'extraire la plupart des composés indésirables des microplaques en polypropylène. Il est également très approprié comme solvant pour la chromatographie/spectrométrie de masse (GC-MS). Toutefois, un solvant encore plus puissant, comme le DMSO, aurait probablement révélé davantage de substances extractibles.

Recommandations

Il est recommandé d'évaluer régulièrement les microplaques destinées au stockage à long terme d'échantillons dans des solvants organiques afin d'en évaluer la possible contamination par des molécules extractibles. Il est donc important de bien comprendre ce phénomène avant d'analyser les composés et échantillons stockés. Des efforts devraient être consentis afin d'obtenir des fabricants des certificats de pureté lors de la validation. En cas d'impossibilité, des tests devraient être entrepris pour prévenir le risque de contamination de composés et d'échantillons précieux.

Contaminants	Usage industriel
Eucrylamide	Anti-agglomérant, lubrifiant
Acide dodécanoïque	Agent démoulant
Acide hexadécanoïque, ester méthylique	Adoucissant, accélérateur, activateur
Acide stéarique, ester méthylique	Lubrifiant
Acide 9-octadécanoïque, acide oléique	Lubrifiant, agent démoulant



Auriez-vous besoin d'un MiniVap™ ?

Bien entendu, il ne vous viendrait pas à l'idée d'utiliser un sèche-cheveux pour évaporer vos échantillons de chromatographie sur une seule microplaque, mais vous pourriez bien en avoir assez d'attendre votre tour pour utiliser pour cela le gros évaporateur de votre service. Si tel est votre cas, vous avez besoin d'un MiniVap de Porvair. Cet appareil est petit, rapide, adaptable, et n'endommagera pas vos échantillons. Allez sur www.telechargements.microplaques.fr pour de plus amples informations.



porvair
sciences

Téléphone +33 (0) 5.63.03.19.89

Email: ventes@microplaques.fr

www.microplaques.fr

L'article complet est accessible sur <http://www.porvair-sciences.com/fr/download/>