

HPLC

Autres désignations

Chromatographie en phase liquide haute pression

Anglais

HPLC
High Performance (or High Pressure) Liquid Chromatography



Applications médicales

Utilisation principale

L'HPLC (nous emploierons l'acronyme anglo-saxon, le seul utilisé) a de multiples applications dans de nombreux domaines, seule son utilisation en biologie nous intéressera, elle permet :

- en biochimie, le dosage de l'hémoglobine A1c, marqueur primordial du suivi du diabète de type 2.
- en hématologie, la reconnaissance et quantification des hémoglobines anormales, et le diagnostic de la drépanocytose, des alpha et béta thalassémies de type hétérozygote ou homozygote.
- en toxicologie, la mise en évidence et le dosage des substances lors d'intoxication volontaire ou accidentelle, des drogues, des amphétamines, de la méthadone etc...
- en pharmacologie, le dosage de nombreux médicaments pour un suivi efficace du traitement.
- ✓ - en hydrologie, dans le domaine de la potabilité des eaux destinées à l'alimentation, la séparation et le dosage des principaux anions : sulfates, nitrates, nitrites, fluorures,...

Domaines d'application

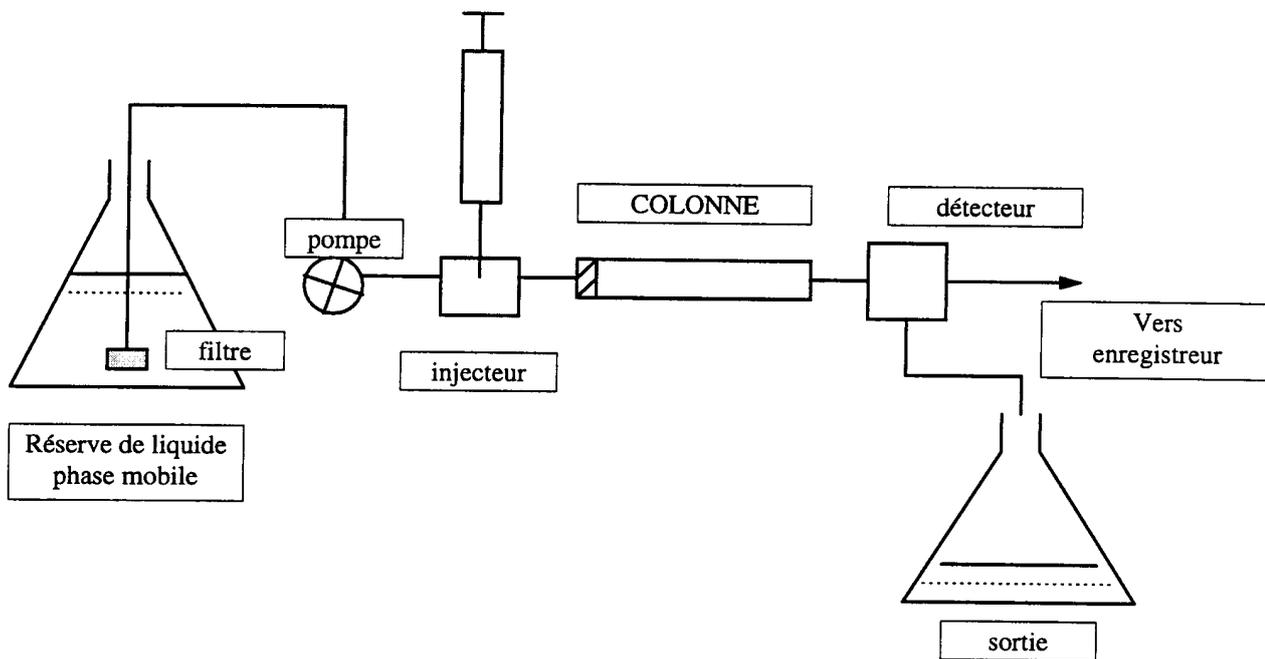
Suivant l'importance et l'orientation de la structure de santé, elle sera appliquée dans différents domaines (biochimie, hématologie, toxicologie,).

Principe de fonctionnement

Un fluide (phase mobile) parcourt une colonne remplie de granulés poreux (phase fixe). A l'instant initial, le mélange à étudier est injecté à l'entrée de la colonne, où il se dilue dans la phase mobile qui l'entraîne à travers la colonne. Les constituants du mélange, étant inégalement retenus par la phase fixe de la colonne, se déplacent à des vitesses différentes. Ils sont élués, en sortie de colonne, les uns après les autres et donc séparés. Un détecteur couplé à un enregistreur permet d'obtenir un tracé appelé chromatogramme, où chaque constituant conduit à l'enregistrement d'un pic.

Un appareil d'HPLC se compose donc d'une pompe (délivrant la phase mobile sous des pressions de 20 à 150 bars), d'un injecteur, d'une colonne, généralement en acier inox, de longueur et diamètre variables, remplie souvent de silice de différentes granulométries, éventuellement d'un four, d'un détecteur (UV-visible, réfractométrie, fluorimétrie, ou spectrométrie de masse), d'un enregistreur, et d'un logiciel d'exploitation des résultats

Pour plus de clarté, voir le schéma ci-dessous.



principe de fonctionnement de l'HPLC

Options et versions disponibles sur le marché

Selon les applications que l'on veut effectuer avec ce type d'appareil, les versions disponibles sur le marché sont très nombreuses, avec des choix de modules variés tels les pompes dont la pression délivrée varie de 20 à 150 bars, les injecteurs manuels ou automatiques (la majorité), les fours à température variable, les détecteurs (pas loin d'une dizaine de types). Il faut ajouter un outil informatique avec son logiciel. De cette diversité, il résulte des prix éminemment variables, s'étalant de 20 à 25 000 Euros à plus de 200 000 Euros. Cependant on trouve sur le marché de l'occasion, des appareils dont les prix débutent à un peu moins de 10 000 Euros.

Structures adaptées

- ✓ Ces appareils sophistiqués et onéreux doivent être réservés à des structures importantes : hôpitaux, CHU, grosses cliniques.
- ✓

Consommables et accessoires à prévoir

Désignation	Fourchette de prix
Les solvants utilisés soit seuls soit en mélanges sont très différents selon la technique et nous citerons quelques exemples parmi un choix très vaste :	Méthanol : 25 Euros/l Ethanol : 55 Euros/l Cyclohexane : 50 Euros/l DMSO : 100 Euros/l Acétonitrile : 75 Euros/L
Les colonnes de chromatographie ont une	Colonnes de silice de 400 à 600 Euros/pièce

durée de vie limitée. Elles peuvent être alors vidées, nettoyées et rechargés avec le support ad hoc ; le plus simple consiste en l'achat.

D'autres petites pièces, de moindre prix, sont à prévoir, telles des connecteurs divers, des filtres ...

Quelques dizaines d'Euros

Entretien

L'HPLC est une technique très spécialisée et l'entretien du matériel est primordial pour assurer fiabilité et qualité des résultats.

Les points les plus importants à entretenir sont la pompe, l'injecteur et la colonne. Le personnel doit suivre impérativement les préconisations du constructeur.

Maintenance

Niveau de formation requis

Ce type de matériel demande avant tout une formation du personnel, techniciens, biologistes, appelés à l'utiliser. Généralement, c'est le fournisseur qui se charge de cette formation et qui s'étale sur 4 à 5 jours. Encore faut-il avoir de bonnes bases pour en profiter. Dans le cas contraire, il existe des formations approfondies, sur une dizaine de jours, une moitié consacrée aux notions de base de l'HPLC, l'autre moitié à l'utilisation de l'appareil et interprétation des chromatogrammes.

Maintenance

Il faut suivre à la lettre le cahier de maintenance donné par le fournisseur, avec la maintenance journalière, hebdomadaire, mensuelle, avec visite du fournisseur au moins annuellement. Il faut de plus savoir changer les colonnes, débloquer une pompe, tous les incidents de parcours d'un matériel sophistiqué et fragile.

Utilisation

Niveau de formation requis

Le personnel utilisateur (biologiste, ingénieur, technicien de laboratoire) doit avoir suivi une formation à l'utilisation et à la maintenance de l'appareil dispensée par le constructeur, son représentant local agréé ou par une personne habilitée.

Précautions d'utilisation

Le personnel doit appliquer les consignes d'utilisation préconisées par le constructeur.
Port de gants obligatoire pour la protection du personnel.

Contraintes d'installation

Pièce climatisée, courant stabilisé et ondulé 220 V (ou 110) 50 Hertz.

Acheminement

Volume	D'un m ³ à plusieurs m ³
Poids	D'une trentaine de kg à plus d'une centaine.
Précautions particulières	Mise en caisse, de préférence par le fournisseur.

Personnes ressources

Personnes ressources :

André BAYLE, Biologie Sans Frontières : mca.bayle@orange.fr

Louis BERNY, Biologie Sans Frontières : louis.berny@sfr.fr

Roger LATER, Biologie Sans Frontières : r.later@wanadoo.fr

E-mail de B.S.F. courrier@bsf.asso.fr

REMARQUES

Cette fiche n'est mise à disposition qu'à titre informatif et ne constitue en aucun cas un mode d'emploi. Pour obtenir des renseignements supplémentaires sur un modèle précis de matériel, adressez-vous directement au fabricant concerné. Vous pouvez également contacter les personnes ressources dont les coordonnées sont indiquées en fin de fiche

La présente fiche a été élaborée avec l'aide de l'Union européenne. Son contenu relève de la seule responsabilité d'Humatem et de BSF et ne peut aucunement être considéré comme reflétant le point de vue de l'Union européenne.

Ce document fait partie d'une série de fiches-infos matériel développée et validée par le groupe de travail « le matériel médical dans les actions de coopération internationale » coordonné par l'association Humatem. Cette série est en accès libre sur les sites www.humatem.org et www.biologiesansfrontieres.org.

Fiche réalisée dans le cadre du programme d'action « Renforcement des outils de coopération et structuration du dialogue entre les acteurs du don de matériel médical : pour une amélioration des pratiques dans les projets d'appui à l'équipement des structures de santé des pays en développement » - DCI-NSA/2009/205-811. Ce programme est cofinancé par:



Rhône-Alpes

