

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
—
**INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE**
—
COURBEVOIE
—

①1 N° de publication : **3 065 652**

(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

②1 N° d'enregistrement national : **17 53705**

⑤1 Int Cl⁸ : **B 01 L 3/06** (2017.01), B 32 B 15/12, G 01 N 1/28,
G 01 N 33/68, H 01 J 49/04

⑫

BREVET D'INVENTION

B1

⑤4 PLAQUE D'ANALYSE MALDI-TOF A SUPPORT PAPIER ET SON UTILISATION.

②2 Date de dépôt : 27.04.17.

③0 Priorité :

④3 Date de mise à la disposition du public
de la demande : 02.11.18 Bulletin 18/44.

④5 Date de la mise à disposition du public du
brevet d'invention : 23.07.21 Bulletin 21/29.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de
recherche :

Se reporter à la fin du présent fascicule

⑥0 Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

○ Demande(s) d'extension :

⑦1 Demandeur(s) : *BIOMERIEUX Société anonyme —
FR et ARJO WIGGINS FINE PAPERS LIMITED — GB.*

⑦2 Inventeur(s) : BROYER PATRICK, PERROT
NADINE, BLAZE JEROME et BAUMLIN JEAN-
MAIRE.

⑦3 Titulaire(s) : BIOMERIEUX Société anonyme, ARJO
WIGGINS FINE PAPERS LIMITED.

⑦4 Mandataire(s) : CABINET BEAU DE LOMENIE
Société civile.

FR 3 065 652 - B1



La présente invention concerne le domaine de la microbiologie. Plus précisément, l'invention concerne l'analyse d'un échantillon biologique en utilisant la spectrométrie de masse, et en particulier, la spectrométrie de masse par désorption-ionisation assistée par matrice et mesure du temps de vol dite MALDI-TOF.

La technique MALDI-TOF est utilisée depuis quelques années pour réaliser une identification rapide de micro-organismes, au niveau de l'espèce.

L'identification d'un micro-organisme est réalisée à partir du spectre de masse MALDI-TOF des protéines les plus abondantes dans le micro-organisme, par comparaison avec des données de référence permettant (identification de la famille, du genre et le plus souvent de l'espèce du micro-organisme). En routine, le protocole mis en œuvre comprend le dépôt d'au moins une portion de colonie du micro-organisme sur une plaque MALDI, l'ajout d'une matrice adaptée à la technique MALDI, l'acquisition du spectre de masse et l'identification de l'espèce par comparaison avec des données de référence stockées dans une base de données. Plus récemment, la technique MALDI a également été utilisée pour permettre de détecter la résistance d'un micro-organisme à un antibiotique, et notamment pour identifier un phénotype, responsable de l'hydrolyse des antibiotiques du type bêta-lactamine, du fait de la sécrétion d'enzymes de type bêta-lactamase, et notamment, de type carbapénémase.

Différents appareillages adaptés à une telle caractérisation sont commercialisés par la demanderesse, et par les sociétés Bruker Daltonics et Andromas notamment, ces appareils comprenant notamment une source d'ionisation laser et un spectrographe de masse à temps de vol. Ces appareils sont donc prévus pour fonctionner avec une plaque d'analyse sur laquelle on dépose, sur au moins une zone d'analyse, un échantillon biologique à analyser qui est ensuite recouvert de la matrice adaptée à la technique MALDI. Ensuite, la plaque d'analyse est introduite dans une chambre d'analyse de l'appareil qui est amenée à un niveau de vide

relativement important, avec une pression qui est par exemple inférieure à 10^{-5} millibar, par exemple comprise dans la gamme allant de 10^{-6} à 10^{-9} millibars.

Dans ces conditions de vide, la population de micro-organisme(s) placée au sein de la matrice MALDI est soumise à une ionisation douce par laser. Le rayon laser utilisé pour l'ionisation pourra avoir tout type de longueur d'onde favorable à la sublimation ou à la vaporisation de la matrice. De préférence, une longueur d'onde ultraviolette ou même infrarouge sera utilisée. Cette ionisation pourra, par exemple, être réalisée avec un laser à azote émettant un rayon UV à 337.1 nm.

La matrice absorbe alors l'énergie photonique et la restitution de cette énergie entraîne la sublimation de la matrice, la désorption des molécules présentes dans la population de micro-organisme(s) et l'apparition de matière dans un état qualifié de plasma. Au sein de ce plasma, il se produit des échanges de charges entre des molécules issues de la matrice et des molécules issues des micro-organismes. Par exemple, des protons peuvent être arrachés à la matrice et transférés aux protéines, peptides et composés organiques présents au niveau de la zone d'analyse. Cette étape permet une ionisation douce des molécules présentes sans induire leur destruction. La population de micro-organisme(s) libère ainsi des ions de différentes tailles. Ces derniers sont alors accélérés par un champ électrique et volent librement dans un tube sous pression réduite, nommé tube de vol. Les ions les plus petits vont alors « voyager » plus rapidement que les ions plus gros, permettant ainsi leur séparation. A l'extrémité terminale du tube de vol est situé un détecteur. Le temps de vol (ou TOF pour « Time Of flight » en anglais) mesuré par les ions est utilisé pour calculer leur masse. Ainsi, un spectre de masse est obtenu, représentant l'intensité du signal correspondant au nombre de molécules ionisées d'une même masse sur charge $[m/z]$, en fonction du rapport m/z des molécules qui frappent le détecteur. Le rapport masse sur charge $[m/z]$ est exprimé en Thomson [Th]. Après que la plaque d'analyse a été introduite dans le spectromètre de masse et que le niveau de

vide requis a été atteint, le spectre peut être obtenu très rapidement, le plus souvent en moins d'une minute.

Dans le cadre de l'invention, l'analyse par MALDI-TOF peut être une analyse par MALDI-TOF simple, ou encore une analyse par MALDI-TOF TOF
5 MALDI TOF-TOF.

Une plaque d'analyse MALDI présente, au moins une et, en général plusieurs zones d'analyse. Les zones d'analyse forment un spot, le plus souvent de forme circulaire. Afin de favoriser l'ionisation ultérieure la surface de la plaque est généralement conductrice, au moins au niveau de la ou des
10 zones d'analyse. A titre d'exemple, une telle plaque d'analyse est généralement formée d'un métal, ou formée d'un polymère tel que le polypropylène, ledit polymère étant recouvert d'une couche d'acier inoxydable. Le polymère peut contenir un matériel conducteur tel que le noir de charbon. Une telle plaque peut-être, par exemple, celle commercialisée
15 par la société Shimadzu, sous la référence Fleximass™ DS disposable MALDI targets.

Différentes plaques MALDI sont disponibles dans le commerce telles que les plaques VITEK® MS de BioMérieux (jetables) et les plaques Maldi Biotarget de Bruker Daltonics (réutilisables). De telles plaques comprennent
20 le plus souvent de 48 à 96 zones d'analyse ou spots, et au moins une, voire deux ou trois zones d'analyse de référence, qui peuvent être de taille différente des zones d'analyse.

De manière générale, il est considéré que les plaques d'analyse destinées à une analyse par MALDI-TOF doivent présenter des
25 caractéristiques géométriques très rigoureuses, notamment des caractéristiques d'épaisseur de la plaque d'analyse et de planéité de la face d'essai parfaitement maîtrisées. En effet, l'analyse MALDI-TOF repose notamment sur la comparaison des temps de vols des différentes particules issues de l'ionisation. On conçoit très aisément que le temps de vol est
30 affecté par la distance à parcourir, et donc par une bonne maîtrise de la position initiale de l'échantillon. Le document EP-2.106.858 décrit une plaque

d'analyse dont la surface est structurée pour modifier le mouillage. Cette plaque d'analyse est destinée à permettre une analyse par spectrométrie de masse, mais la nature de l'analyseur envisagé pour cette analyse n'est pas précisée. L'homme du métier n'envisagerait donc certainement pas d'utiliser
5 une telle plaque d'analyse structurée pour une analyse de spectrométrie de masse dans laquelle l'analyse est basée sur la mesure d'un temps de vol des particules ionisées.

Le document EP-1.814.137 décrit une plaque d'analyse comprenant un substrat et un élément de mesure distincts qui sont en contact électrique. Le
10 document EP-2.792.471 décrit une plaque d'analyse MALDI fabriquée en matériau polymère, avec un agent hydrophobe. La plaque d'analyse est par ailleurs revêtue d'une strate de matériau métallique. Le document EP-2.808.887 décrit une plaque d'analyse destinée à l'analyse MALDI-TOF qui comporte une plaque de base en matériau métallique recouverte d'une
15 couche de graphite fortement orienté, qui est assemblée à la plaque de base par un adhésif conducteur de l'électricité.

Certaines plaques d'analyse MALDI-TOF sont réutilisables. Cela implique que la plaque d'analyse soit nettoyée et décontaminée, par exemple avec un solvant, entre deux utilisations. Il faut donc que la plaque supporte
20 le processus de nettoyage / décontamination sans altération, ce qui alourdit la procédure manuelle d'utilisation de ce type de plaque d'analyse et le temps nécessaire au processus complet d'utilisation du MALDI-TOF, notamment en nécessitant un temps de préparation plus long et plus coûteux en main d'œuvre. D'autres plaques d'analyse sont à usage unique,
25 par exemple fabriquées en matériau polymère. Jusqu'à présent, le coût unitaire de telles plaques reste élevé. Il apparait le besoin de réduire le coût de fabrication de telles plaques d'analyse.

Dans ce but, l'invention propose une plaque d'analyse comportant au moins une zone d'analyse destinée à recevoir un échantillon à analyser par
30 spectrométrie de masse selon la technique MALDI-TOF, du type comprenant au moins une face d'essai sur laquelle est délimitée au moins une zone

d'analyse, et du type dans lequel la plaque comporte un support plan, caractérisée en ce que le support comporte au moins une feuille de matériau papier comprenant des fibres cellulosiques, et en ce que la plaque d'analyse comporte au moins une strate de matériau métallique.

5 Selon d'autres caractéristiques optionnelles de l'invention, prises seules ou en combinaison :

- La strate de matériau métallique est rapportée sur la feuille de matériau papier du côté de la face d'essai.

10 - La strate de matériau métallique est rapportée sur la feuille de matériau papier par métallisation sous vide de la feuille de matériau papier.

- La strate de matériau métallique est rapportée sur la feuille de matériau papier par métallisation par transfert.

- La strate de matériau métallique présente une épaisseur inférieure à 0,5 micron.

15 - La strate de matériau métallique comporte de l'aluminium.

- La feuille de matériau papier comprend, en tant que fibres, exclusivement des fibres cellulosiques.

- La feuille de matériau papier comprend des fibres cellulosiques et des fibres synthétiques, notamment des fibres polymères synthétiques.

20 - La feuille de matériau papier comprend des fibres cellulosiques et des fibres synthétiques, avec, en masse, plus de fibres cellulosiques que de fibres synthétiques.

- Le matériau papier de la feuille de matériau papier comporte au moins un agent hydrophobe.

25 - La feuille de matériau papier présente un grammage supérieur ou égal à 120 grammes par mètre carré, de préférence supérieur ou égal à 150 grammes par mètre carré.

- La feuille de matériau papier présente un grammage inférieur ou égal à 400 grammes par mètre carré, de préférence inférieur ou égal à

30 300 grammes par mètre carré.

- Le support est constitué exclusivement de matériau papier.

- Le support comporte au moins une lame support sur laquelle est rapportée la feuille de matériau papier.

- Le support comporte au moins une lame support en matériau polymère sur laquelle est rapportée la feuille de matériau papier.

5 - Le support comporte deux lames de matériau polymère superposées, et la feuille de matériau papier est rapportée sur une face d'une des deux lames superposées.

- La lame de matériau polymère présente une épaisseur comprise dans la gamme allant de 0,2 à 2 millimètres.

10 - La feuille de matériau papier présente un grammage compris dans la gamme allant de 60 grammes par mètre carré à 200 grammes par mètre carré.

- La feuille de matériau papier est collée sur la lame support.

15 - La feuille de matériau papier comporte au moins une déformation obtenue mécaniquement selon le contour d'au moins une zone d'analyse, délimitant ainsi l'au moins une zone d'analyse.

- Au moins une zone d'analyse sur la feuille de matériau papier comporte une déformation obtenue mécaniquement, sur toute l'étendue de ladite zone d'analyse.

20 - La plaque d'analyse comporte un marquage par une encre délimitant au moins une zone d'analyse.

L'invention concerne aussi l'utilisation d'une plaque d'analyse ayant l'une quelconque des caractéristiques précédentes en tant que support d'échantillon dans un procédé d'analyse de l'échantillon par spectrométrie de
25 masse selon la technique MALDI-TOF.

Dans une telle utilisation la plaque d'analyse peut être utilisée avec un adaptateur qui maintient la feuille de matériau papier par son pourtour. Un tel adaptateur peut comporter un plateau, un cadre et un mécanisme de serrage qui provoque le serrage de la plaque d'analyse entre le cadre et le
30 plateau, le cadre coopérant avec le pourtour de la plaque d'analyse et

comportant une ouverture laissant apparaître au moins une zone d'analyse de la plaque d'analyse.

Diverses autres caractéristiques ressortent de la description faite ci-dessous en référence aux dessins annexés qui montrent, à titre
5 d'exemples non limitatifs, des formes de réalisation de l'objet de l'invention.

La **Figure 1** est une vue schématique en perspective d'une plaque d'analyse selon l'invention.

Les **Figures 2, 3A et 3B** illustrent schématiquement, en coupe
10 transversale, trois variantes de réalisation d'une plaque d'analyse selon l'invention, sans lame de support.

Les **Figures 4A et 4B** illustrent schématiquement, en coupe transversale, deux variantes de réalisation d'une plaque d'analyse selon l'invention, avec respectivement une et deux lame(s) de support.

La **Figure 5A** est une vue de dessus d'une portion de la face d'essai
15 d'une plaque d'analyse selon l'invention, illustrant plus particulièrement un premier mode de réalisation d'un marquage d'une zone d'essai.

La **Figure 5B** est une vue schématique partielle en coupe transversale, avec arrachement, illustrant la réalisation par déformation
20 mécanique du marquage de la **Fig. 5A**.

Les **Figures 6A et 6B** sont des vues similaires à celles des **Figs. 5A et 5B**, illustrant une variante de réalisation.

Les **Figures 7A et 7B** sont des vues similaires à celles des **Figs. 5A et 5B**, illustrant une autre variante de réalisation.

La **Figure 8** illustre de manière schématique la réalisation de
25 plusieurs plaques d'analyse par découpe d'une bande.

La **Figure 9A** est une vue schématique en perspective éclatée illustrant l'utilisation d'une plaque d'analyse selon l'invention avec un adaptateur, les éléments étant vus du côté de leur face inférieure,
30 notamment du côté de la face d'appui de la plaque d'analyse.

La **Figure 9B** est une vue schématique en perspective illustrant l'utilisation d'une plaque d'analyse selon l'invention avec l'adaptateur de la **Fig. 9A**, vue du côté de la face d'essai de la plaque d'analyse.

La **Figure 10** est une vue schématique en coupe transversale éclatée
5 de l'ensemble de la **Fig. 9B**.

La **Figure 11** est une vue schématique en coupe transversale illustrant l'ensemble de la **Fig. 9B** en configuration d'utilisation.

Les **Figures 12A** à **12E** sont des vues schématiques illustrant différentes variantes de structuration de la plaque d'analyse.

10 Diverses autres caractéristiques ressortent de la description faite ci-dessous en référence aux dessins annexés qui montrent, à titre d'exemples non limitatifs, des formes de réalisation de l'objet de l'invention.

On a illustré sur les **Figs. 1** et **2** un premier exemple d'une plaque
15 d'analyse **10** réalisée selon l'invention.

La plaque d'analyse **10** présente par exemple de manière connue une forme plane dans un plan d'extension. La plaque d'analyse **10** présente une épaisseur selon la direction perpendiculaire à son plan d'extension qui est par exemple inférieure à un dixième de la plus petite dimension de la plaque
20 mesurée dans le plan d'extension, couramment appelée largeur. La plaque d'analyse **10** présente ainsi une face d'essai **12** et une face d'appui **14** qui s'étendent parallèlement au plan d'extension. La face d'essai **12** est celle sur laquelle on prévoit au moins une zone d'analyse, dans l'exemple illustré plusieurs zones d'analyse **16** destinées à recueillir chacune un échantillon
25 biologique à analyser. Dans l'exemple illustré, la plaque d'analyse **10** présente ainsi 48 zones d'analyse disposées en quatre colonnes de douze zones d'analyse. Cependant, grâce au faible coût d'une plaque d'analyse **10** selon invention, on peut prévoir que celle-ci comporte un nombre réduit de zones d'analyse, par exemple une, deux, quatre, cinq ou huit zones
30 d'analyse **16**.

Par exemple, la plaque d'analyse **10** peut présenter, dans son plan d'extension, une plus petite dimension comprise entre 10 et 50 millimètres, par exemple 25 millimètres, et une plus grande dimension comprise entre 50 et 100 millimètres, par exemple 75 millimètres.

5 Par convention, on considère pour la suite du texte que la plaque d'analyse **10** s'étend dans un plan horizontal, et que la face d'essai **12** est une face supérieure et que la face d'appui **14** est une face inférieure de la plaque d'analyse **10**.

De préférence, chaque zone d'analyse **16** est délimitée visuellement du
10 reste de la face d'essai **12** de la plaque d'analyse **10**. Dans l'exemple illustré, chaque zone d'analyse **16** est sensiblement de forme circulaire.

La plaque d'analyse **10** peut aussi comporter des zones d'analyse de référence (non représentées sur les figures), qui peuvent être par exemple utilisées pour la calibration de l'appareillage dans le cadre de l'analyse
15 MALDI-TOF.

Selon l'invention, la plaque d'analyse **10** comporte un support plan **18**, lequel comporte au moins une feuille de matériau papier **20** comprenant des fibres cellulosiques. La feuille de matériau papier **20** présente donc un plan d'extension correspondant au plan d'extension de la plaque d'analyse **10**.

20 Le matériau papier est un matériau qui est constitué de fibres agglomérées, les fibres comprenant des fibres cellulosiques. Les fibres cellulosiques sont par exemple d'origine végétale. L'agglomération des fibres du matériau papier est obtenue par la technique papetière. Selon cette technique, les fibres sont dispersées dans une solution aqueuse,
25 éventuellement avec adjonction de matières auxiliaires (charges, colorants, colle, etc...), formant ainsi une pâte à papier. La pâte à papier est déposée en une fine nappe sur une table ajourée permettant l'égouttage d'une grande partie de l'eau contenue dans la pâte à papier. Diverses opérations de pressage et de séchage de la nappe permettent l'agglomération des fibres
30 donnant à la feuille de matériau papier **20** sa cohésion. De manière connue, une feuille de matériau papier **20** peut subir des traitements de surface

visant par exemple à déposer, en surface de la feuille, une ou plusieurs couches de matériaux additifs permettant de modifier l'état de surface de la feuille de matériau papier. La feuille de matériau papier peut aussi subir des traitements mécaniques, notamment calandrage, embossage, etc... visant à

5 aussi à modifier l'état de surface de la feuille de matériau papier.

Dans certains modes de réalisation de l'invention, la feuille de matériau papier **20** pourra comprendre, en tant que fibres, exclusivement des fibres cellulosiques. On entend par là que la feuille de matériau papier **20** comprend, en tant que fibres, uniquement des fibres cellulosiques, à

10 l'exception toutefois de la possible présence d'impuretés fibreuses. De préférence, la masse de ces impuretés fibreuses représente moins de 2% de la masse de matériau papier. Cette grandeur peut être mesurée selon la norme TAPPI T401.

Dans la présente demande, la masse par mètre carré de la feuille

15 de matériau papier, aussi appelé grammage, est mesurée selon la norme ISO 536.

Toutefois, dans certains modes de réalisation, on pourra prévoir que la feuille de matériau papier comprend des fibres cellulosiques et des fibres non-cellulosiques, notamment des fibres de verre et/ou de polymères

20 synthétiques. Des fibres de polymères synthétiques peuvent notamment comprendre des fibres de polyester, polyéthylène ou d'acide polylactique. Un des avantages de l'adjonction de fibres non-cellulosiques telles qu'envisagées ci-dessus est de permettre à la couche de papier de moins retenir d'humidité en cas d'exposition à une atmosphère humide. Parmi les fibres non-

25 celluloses, on peut par exemple prévoir :

- des microfibrilles de verre de la société Lauscha Fiber International, par exemple fibres B-08-F ayant un diamètre de 0,8 microns en borosilicate ;
- des fibres polymères synthétiques Cyphrex de la société Eastman,

30 par exemple Cyphrextm 10001 de diamètre 2,5 microns et de longueur 2,5 millimètres en PET

- des fibres polymères synthétiques de la société Advansa, par exemple les fibres Advansa 328 NSD de longueur 6mm et avec un dtex de 1,7 en polyester ou les fibres Advansa PLA de longueur 3 mm ayant un dtex de 1,7 en PLA.

5 En effet, il est apparu que, lors de l'utilisation de la plaque d'analyse selon l'invention, comprenant au moins une feuille de matériau papier **20**, l'humidité absorbée par la feuille de matériau papier **20** pouvait ralentir l'étape de mise sous vide de la chambre d'analyse dans laquelle la feuille d'analyse est introduite pour l'analyse MALDI-TOF. Ce ralentissement peut
10 être contrebalancé par une augmentation de la capacité de pompage de l'installation MALDI-TOF. Il peut aussi être contrebalancé par un conditionnement adéquat de la plaque d'analyse avant son utilisation. Ainsi, une plaque d'analyse **10** selon l'invention sera avantageusement conservée dans un emballage étanche vis-à-vis de l'humidité. On peut par exemple
15 former un emballage comportant une feuille d'aluminium enfermant complètement la plaque d'analyse **10**. On peut prévoir que la plaque d'analyse soit emballée sous atmosphère contrôlée, de préférence en prévoyant que l'atmosphère interne à l'emballage soit la plus sèche possible, et éventuellement en prévoyant à l'intérieur de l'emballage un agent
20 dessicant. Notamment, on prévoira avantageusement une atmosphère interne ayant une humidité relative inférieure à 5%. La mesure d'humidité relative mesure peut s'effectuer à l'aide d'un hygromètre calibré. L'humidité relative peut alors être calculée à partir des formules définies dans la norme NF X 15-110.

25 Ainsi, en construisant la feuille de matériau papier **20** de telle sorte qu'elle soit moins susceptible de retenir de l'humidité en cas d'exposition à une atmosphère humide, on améliore les caractéristiques de la plaque d'analyse **10** comportant une telle feuille de matériau papier, notamment en diminuant le temps de mise sous vide pour la réalisation de l'analyse.

30 Cependant, dans le cas de la présence de fibres synthétiques, on prévoira de préférence que, pour la feuille de matériau papier, le ratio entre

la masse de fibres non-cellulosique et la masse totale des fibres de la feuille de matériau papier soit inférieur à 50 %. Cette valeur peut être mesurée pour un papier donné selon la méthode Tappi 401.

La résistance de la feuille de matériau papier à l'absorption d'humidité
5 peut être obtenue aussi par d'autres moyens.

Selon une variante, on peut prévoir de traiter une feuille de matériau papier, préalablement formée, en l'imprégnant d'un matériau hydrophobe, par exemple un matériau contenant de la paraffine. Parmi les matériaux hydrophobes envisageables, on peut citer :

- 10
- Vapor Coat® 2200.E de la société Michelman ;
 - Diofan® A050 de la société Solvay à base de Chlorure de Polyvinylidene (PVDC). ;
 - Aquacer 497 de la société BYK Additives & Instruments qui est une émulsion de cire à base de paraffine.

15

Selon une autre variante, on peut prévoir de traiter une feuille de matériau papier, préalablement formée, par exemple par trempage dans un acide, par exemple un acide sulfurique. Au contact de l'acide, une partie de la cellulose des fibres cellulosiques est transformée, ce qui résulte en une
20 plus grande résistance de la feuille de matériau papier ainsi traitée à la reprise d'humidité.

Comme on le verra par la suite, la plaque d'analyse **10** peut comporter d'autres éléments que la feuille de matériau papier **20**.

La plaque d'analyse **10** peut comprendre plusieurs feuilles de matériau
25 papier. Dans ce cas, les feuilles de matériau papier sont avantageusement superposées les unes sur les autres, de préférence sur l'ensemble de l'étendue de la plaque d'analyse **10** dans son plan d'extension. Les différentes feuilles de matériau papier peuvent être assemblées les une aux autres, par exemple par collage. De préférence, on utilisera dans ce cas une
30 colle polyuréthane à un composant ou une colle polyuréthane à deux composants à base solvant (de préférence non aqueux) ou sans solvant.

L'application de la colle peut se faire par aspersion ou par couchage au rouleau. Il est possible d'utiliser une colle activable aux ultraviolets. Il est également possible d'utiliser un film adhésif double face. On préférera alors un film de la plus faible épaisseur possible.

- 5 Dans le cas d'une plaque d'analyse **10** comprenant plusieurs feuilles de matériaux papier, les feuilles de matériaux papier peuvent être identiques ou pas. Les matériaux papier constitutifs de ces feuilles de matériau papier, leur grammage, et/ou leur épaisseur, etc... peuvent être identiques ou différents. De même, les feuilles de matériaux papier peuvent avoir des dimensions
10 différentes, par exemple au moins une dimension différente dans le plan d'extension de la plaque d'analyse **10**.

 Dans certains cas, comme illustré aux **Figs. 2, 3A** et **3B**, le support **18** de la plaque d'analyse **10** est constitué exclusivement de matériau papier. Ce cas n'empêche pas que la plaque d'analyse **10** comporte par ailleurs des
15 couches ou strates supplémentaires telles que cela sera décrit plus loin. Toutefois, on considère dans ce cas que le support **18**, qui donne l'essentiel de sa rigidité mécanique à la plaque d'analyse, est constitué exclusivement de matériau papier. Dans le cas de figure d'un support constitué
20 exclusivement de plusieurs feuilles de matériau papier, la présence d'un adhésif, notamment d'une colle, ou autre moyen d'assemblage entre les différentes feuilles de matériau papier n'empêchera pas de considérer le support comme constitué exclusivement de matériau papier.

 Dans le cas où le support **18** de la plaque analyse **10** est constitué d'une unique feuille de matériau papier **20**, comme illustré aux **Figs. 2**
25 et **3A**, celle-ci présente de préférence un grammage supérieur ou égal à 120 grammes par mètre carré, plus préférentiellement supérieur ou égal à 150 grammes par mètre carré. Dans le cas où le support **18** de la plaque d'analyse comporte plusieurs feuilles de matériaux papier, comme illustré à la
Fig. 3B, la somme des grammages des feuilles de matériaux papier du
30 support est de préférence supérieure ou égale à 120 g par mètre carré plus préférentiellement supérieure ou égale à 150 grammes par mètre carré. Il a

été en effet constaté que ce grammage permet d'obtenir une rigidité suffisante pour une manipulation aisée de la plaque d'analyse dans le cadre de son utilisation dans une analyse MALDI-TOF, mais surtout pour garantir ainsi une géométrie suffisamment plane, y compris après manipulation, pour
5 ne pas perturber les mesures par MALDI-TOF.

De préférence, la plaque d'analyse **10** présente un grammage de matériau papier inférieur ou égal à 400 grammes par mètre carré, de préférence inférieur ou égal à 300 grammes par mètre carré, en une feuille ou réparti entre plusieurs feuilles. En effet, il apparaît que, même en
10 présence d'une seule feuille de matériau papier et/ou même dans le cas où le support de la plaque d'analyse **10** est constitué exclusivement de matériau papier, un tel grammage permet d'obtenir une rigidité plus que suffisante de la plaque d'analyse. Au-delà d'un tel grammage, on risque d'augmenter la susceptibilité de la plaque d'analyse **10** à emmagasiner de l'humidité, ce
15 dont on a vu qu'il s'agissait d'un frein à l'utilisation, en nécessitant une augmentation du temps de mise au vide de la chambre d'analyse dans un appareillage d'analyse MALDI-TOF.

Ainsi, la feuille de matériau papier **20** mise en œuvre dans la plaque analyse **10** selon l'invention présente de préférence une épaisseur qui peut
20 être comprise entre 100 et 450 microns, mesurée selon la norme NF EN ISO 534. Dans le cas d'une plaque d'analyse comprenant plusieurs feuilles de matériau papier, l'épaisseur cumulée des feuilles de matériaux papier, après leur assemblage pour former la plaque d'analyse, est de préférence comprise entre 100 et 1000 microns, mesurée selon la norme
25 NF EN ISO 534.

De préférence, la feuille de matériau papier **20** présente, au moins sur sa face tournée du côté de la face d'essai **12** de la plaque d'analyse **10**, une faible rugosité. Par exemple cette rugosité, mesurée selon la méthode Bendtsen définie dans la norme ISO 8791-2:2013, peut avoir une valeur
30 inférieure à 750 millilitres par minute, de préférence inférieure à 500 millilitres par minute.

Dans certains modes de réalisation de l'invention, on peut prévoir que le support **18** comporte au moins une lame support **22** sur laquelle est rapportée la feuille de matériau papier **20**. Dans ce cas, le support **18** comporte ainsi au moins deux éléments, à savoir la lame support **22** et la
5 feuille de matériau papier **20**, comme illustré par exemple à la **Fig. 4A**.

Dans un tel cas, la lame support **22** présente de préférence une forme plane s'étendant parallèlement au plan d'extension de la plaque d'analyse **10**. La lame support **22** présente une épaisseur selon la direction perpendiculaire à son plan d'extension qui est par exemple inférieure à un
10 dixième de la plus petite dimension de la plaque mesurée dans le plan d'extension.

De préférence, en considérant la convention énoncée ci-dessus, la lame support **22** est agencée en dessous de la feuille de matériau papier **20** ou de la pluralité de feuilles de matériau papier. Ainsi, la lame support **22** présente
15 de préférence une face inférieure qui forme la face d'appui **14** de la plaque d'analyse **10**.

La lame support **22** est par exemple réalisée en matériau polymère, par exemple en polypropylène ou en matériau à base de polypropylène. Selon un exemple, la lame support est une plaque de Polypropylène Priplak® Classic
20 noir 800, d'épaisseur 800 micron.

Une telle plaque support peut être contrecollée avec une plaque de même type à l'aide d'une colle Super-Lok® 364 de la société National Starch.

Des particules et/ou fibres ou autres additifs peuvent être noyés dans le matériau polymère, notamment des particules et/ou fibres conductrices de
25 l'électricité, notamment des particules et/ou fibres métalliques ou à base de métal et/ou des particules et/ou fibres de carbone.

Avantageusement, la lame support **22** peut être issue d'une bande de matériau obtenue par extrusion. Avantageusement, la lame support **22** peut ainsi être obtenue en bande de très grande longueur, conditionnée en
30 rouleau ou en plaque, donc sous une présentation analogue à du matériau papier obtenu en sortie d'une machine à papier.

Avantageusement, la feuille de matériau papier **20** et la lame support **22** peuvent être assemblées l'une à l'autre, par exemple par collage. De préférence, on utilisera dans ce cas une colle polyuréthane à un composant ou une colle polyuréthane à deux composants à base solvant (de préférence non aqueux) ou sans solvant. L'application de la colle peut se faire par aspersion ou par couchage au rouleau ou par gravure directe. Il est possible d'utiliser une colle activable aux ultraviolets. Il est également possible d'utiliser un film adhésif double face. On préférera alors un film de la plus faible épaisseur possible.

Comme illustré à la **Fig. 4B**, le support **18** peut comporter plusieurs lames support, notamment deux lames support en matériau polymère superposées, et la feuille de matériau papier **20** est rapportée sur une face des deux lames superposées.

La lame support **22** de matériau polymère, ou la pluralité de lames supports, présente(nt) par exemple une épaisseur comprise dans la gamme allant de 0,2 à 2 millimètres. Dans ce cas de présence d'au moins une lame support **22**, la feuille de matériau papier **20** peut présenter un grammage inférieur à celui envisagé dans le cas où le support **18** est constitué exclusivement de matériau papier. Par exemple, la feuille de matériau papier peut présenter un grammage compris dans la gamme allant de 60 grammes par mètre carré à 200 grammes par mètre carré.

La plaque d'analyse **10** comporte au moins une strate de matériau métallique. Une strate est entendue comme étant un élément ou une partie d'un élément de la plaque d'analyse **10** qui s'étend dans le plan d'extension de la plaque d'analyse **10**. Les matériaux métalliques incluent les métaux et leurs alliages.

La strate **24** de matériau métallique est rapportée sur la feuille de matériau papier **20**.

De manière préférentielle, la strate **24** de matériau métallique peut être rapportée directement sur la feuille de matériau papier **20**, avec seulement

interposition d'une éventuelle couche de matériau adhésif tel qu'une colle ou un film adhésif, sans interposition d'autre couche support, comme cela est illustré à la **Fig. 2**.

De préférence, une strate de matériau métallique peut être rapportée sur la feuille de matériau papier **20**, du côté de la face d'essai **12**.

La strate **24** de matériau métallique peut être par exemple une strate d'aluminium, ou d'un alliage d'aluminium. Cependant, d'autres matériaux métalliques peuvent être envisagés, par exemple l'argent ou les alliages d'argent.

Une strate **24** de matériau métallique peut être rapportée sur la feuille de matériau papier **20** par métallisation sous vide de la feuille de matériau papier **20**. Dans ce cas, la strate **24** de matériau métallique peut former la surface de la face d'essai **12** de la plaque d'analyse **10**. La technique de métallisation sous vide est une technique de dépôt de couche mince largement utilisée dans l'industrie papetière. Le métal à déposer est évaporé à partir d'une source de métal solide, par chauffage à haute température dans une chambre de dépôt sous vide dans laquelle un substrat, par exemple une bande de matériau papier, est introduite selon un déroulement continu. Les particules résultant de l'évaporation viennent se déposer directement sur le matériau papier sur lequel elles se condensent à l'état solide. Une telle métallisation sous vide est obtenue typiquement dans un métalliseur sous vide.

Selon une autre technique, une telle strate **24** de matériau métallique peut être rapportée sur la feuille de matériau papier **20** par métallisation par transfert. Un exemple de réalisation d'une métallisation par transfert est décrit en détail dans le document FR-2.406.523 auquel l'homme du métier pourra se rapporter. On note que dans ce cas, comme illustré aux **Figs. 3A** et **3B**, la plaque d'analyse **10** peut comporter, en partant de la face d'essai **12** :

- une couche de résine, par exemple une résine acrylique ou époxy-acrylique **26** ;

- la strate de matériau métallique **24** ;
- une couche de colle **28**, par exemple une colle Polyuréthane mono composant en phase solvant ;
- la feuille de matériau papier **20**.

5

Un exemple d'un mode de réalisation d'un plaque d'analyse **10** selon l'invention, dans la variante de la **Fig. 3A**, est construit de la manière suivante. Une feuille de matériau papier **20** constituée de fibre de cellulose est obtenue à l'aide d'une machine à papier du type Foudrinier. Le papier **20** comporte de préférence au moins un agent hydrophobe qui est mélangé à la

10 pâte à papier avant la formation de la feuille. L'agent hydrophobe qui a été utilisé est une émulsion aqueuse de Dimère d'Alkyl Cétène (AKD).

Cette feuille de papier est couchée sur ses deux faces par une solution pigmentaire (non visible sur les dessins), par exemple une solution de carbonate de calcium et de Kaolin, par la technique de couchage lame d'air. La dépose est d'environ 10 g/m² par face. Cette feuille de matériau papier **20** possède un grammage de 250 g/m². Sur une face supérieure de cette feuille de matériau papier **20**, on applique une métallisation par métallisation transfert suivant l'enseignement du document FR-2.406.523. On

20 forme un complexe stratifié constitué d'un film de base PET (polyéthylène téréphtalate), d'une couche de séparation (release), une couche de résine **26** acrylique d'environ 2 microns et un dépôt d'alliage d'aluminium **24** (d'une épaisseur de 10 à 100 nanomètres, de préférence 15 à 50 nanomètres, de préférence environ 20 nanomètres), déposé sous vide sur la

25 couche de résine **26** pour former la strate de matériau métallique **24**. Cette couche métallique peut être mesurée par des appareillages commerciaux de mesure d'épaisseur, notamment ceux utilisant les méthodes radiométriques (fluorescence X ou rétrodiffusion β) permettant d'accéder à des résolutions de mesure comprises entre 100 nanomètres et quelques Angströms. Ce

30 complexe est assemblé, avec la strate de matériau métallique **24** tournée vers la feuille de papier, à l'aide d'une couche de colle solvant à un

composant **28**, contre la face supérieure de la feuille de papier **20**. La colle **28** peut être l'une de celle évoquée plus haut. La quantité de colle utilisée peut être par exemple de 3 à 12 grammes par mètre carré. Par la suite, grâce à la couche de séparation, par exemple à base de stéaro-chlorure de chrome, le film de base est détaché afin de laisser la couche de colle **28**, la métallisation **24** et la couche de résine **26** sur le papier. On note que, dans ce mode de réalisation, la surface de la face d'essai **12** de la plaque d'analyse **10** est formée par la couche de résine **26**, non conductrice de l'électricité, qui recouvre la strate **24** de matériau métallique.

Bien entendu, une telle plaque d'analyse **10** peut comporter comme indiqué plus haut d'autres feuilles de matériau papier et/ou éventuellement une ou plusieurs lames support.

Ainsi, on a illustré à la **Fig. 3B** une variante de réalisation qui comprend tous les éléments du mode de réalisation de la **Fig. 3A**, à part que la feuille de matériau papier **20** présente un grammage de 80 g/m², et qui comprend une feuille de matériau papier supplémentaire **20'** assemblée contre la face inférieure de la feuille de matériau papier **20**, donc la face opposée à celle sur laquelle est rapportée la strate **24** de matériau métallique. L'assemblage peut être fait par collage à l'aide d'une couche de colle **28'**. La colle **28'** peut être l'une de celle évoquée plus haut. La feuille de matériau papier supplémentaire **20'** présente par exemple un grammage de 170 g/m².

Dans un autre mode de réalisation, un film en PET préalablement recouvert d'une couche antiadhésive à base de stéaro-chlorure de chrome est couché avec une résine Epoxy/Acrylique qui est séchée. Cette face enduite est introduite dans un métalliseur afin d'y recevoir un dépôt d'aluminium d'environ 20 nanomètre. La face métallisée est enduite d'une colle polyuréthane mono composant en phase solvant par un couchage en gravure directe. Elle est séchée avant d'être contre collée avec un papier Satimat® 90 g/m² de la société Arjowiggins. Le lendemain, le film en PET

est pelé de la surface du papier laissant le dépôt métallique visible sur le papier. Cet ensemble est ensuite collé sur un ensemble de support comportant au moins lame support, par exemple à l'aide d'une colle Super-Lok® 364 de la société National Starch. De préférence, l'ensemble de support comporte deux lames support dont chacune est formée d'une plaque de Polypropylène Priplak® Classic noir 800, d'épaisseur 800 microns. Les deux lames support sont par exemple collées à l'aide d'une colle Super-Lok® 364 de la société National Starch.

De manière générale, des essais ont montré qu'une plaque d'analyse **10** comportant une strate de matériau métallique, notamment d'aluminium ou d'alliage d'aluminium, rapportée sur une face supérieure d'une feuille de matériau papier **20**, comme illustré aux **Figs. 3A** ou **3B**, peut former une plaque d'analyse **10** parfaitement satisfaisante permettant d'obtenir des résultats d'analyses avec la même fiabilité qu'une plaque de référence.

Notamment, des résultats satisfaisants ont été obtenus avec une strate de matériau métallique, notamment d'aluminium ou d'alliages d'aluminium, présentant une épaisseur inférieure à 0,5 micron, voir même inférieure à 0,1 micron, voir inférieure à 0,05 micron.

Cette strate de matériau métallique de faible épaisseur peut être la seule strate électriquement conductrice de la plaque d'analyse **10**, y compris en l'éventuelle présence, au-dessus de la strate de matériau métallique **24**, d'une couche de matériau non conducteur, en l'occurrence la couche de résine **26**.

Toutefois, des essais ont montré qu'une strate **24** de matériau métallique, et plus particulièrement d'aluminium ou d'alliage d'aluminium, présente de préférence une épaisseur supérieure à 0,01 micron. Une telle épaisseur permet notamment à la strate de ne pas être dégradée lors de la mise sous vide de la chambre d'analyse.

On notera que des essais réalisés en l'absence de strate de matériau métallique n'ont pas permis d'obtenir des résultats satisfaisants lors de l'analyse par spectrométrie de masse selon la technique MALDI-TOF.

Par exemple, une plaque d'analyse constituée exclusivement par une
5 feuille de papier Powercoat HD 230 de la société Arjowiggins, qui est un papier couché extrêmement lisse dont l'épaisseur est de 222 microns et le grammage 219 g/m², n'a pas donné satisfaction, avec seulement quelques pics détectés mais avec un spectre sans qualité. D'autres essais avec des
10 plaques d'analyse ne comprenant pas de strate de matériau métallique rapportée sur la surface d'essai n'ont pas donné satisfaction, y compris avec une feuille de matériau papier ayant un grammage de 300 g/m².

De préférence, chaque zone d'analyse **16** de la face d'essai **12** est repérée au moins visuellement sur la face d'essai **12**.

15 Pour cela, une zone d'analyse peut être délimitée sur la face d'essai par la présence d'une déformation mécanique de la plaque d'analyse **10**, notamment par une déformation mécanique de la feuille de matériau papier **20**.

Par exemple, dans l'exemple illustré sur les **Figs. 5A** et **5B**, pour
20 délimiter au moins une zone d'analyse **16**, la feuille de matériau papier **20** est déformée mécaniquement selon le contour de la zone d'analyse, dans ce cas précis selon une partie du contour de la zone d'analyse. En effet, on voit que la zone d'analyse **16** est une zone circulaire dont le contour est délimité en partie par une gorge **29**. La gorge **29** est ici en deux parties, chacune en
25 forme d'arc de cercle, et les deux parties se font face. Cette gorge **29** peut être obtenue par enfoncement de la face d'essai **12** selon la direction de l'épaisseur de la plaque d'analyse **10**, avec déformation plastique de la feuille de matériau papier **20**, obtenant ainsi une déformation mécanique permanente.

Dans la variante illustrée sur les **Figs. 6A** et **6B**, la feuille de matériau papier est déformée mécaniquement sur toute l'étendue de la zone d'analyse, sous la forme d'une cuvette à fond plat.

5 Dans la variante illustrée sur les **Figs. 7A** et **7B**, la feuille de matériau papier est déformée mécaniquement sur toute l'étendue de la zone d'analyse **16**, et aussi autour de la zone d'analyse **16** pour laisser subsister un bourrelet en relief **30** qui s'étend dans l'exemple illustré selon un cercle le long du contour de la zone d'analyse **16**. La zone d'analyse **16** est ainsi en creux par rapport au sommet du bourrelet **30**, formant une cuvette comme
10 dans l'exemple précédent.

Dans les exemples illustrés aux **Figs. 5B, 6B** et **7B**, la feuille de matériau papier **20** est surmontée d'une strate **24** de matériau métallique formant la face d'essai **12**, et cette strate de matériau métallique **24** est elle aussi déformée pour former la gorge **29** ou la cuvette à fond plat ou le
15 bourrelet **30**. On obtient le même résultat avec une plaque d'analyse présentant la structure illustrée à la **Fig. 3** dans lequel la strate **24** de matériau métallique est obtenue par métallisation par transfert, y compris avec la présence éventuelle additionnelle d'une ou plusieurs lames support **22** comme évoqué ci-dessus.

20 La profondeur de la déformation mécanique permanente est par exemple comprise entre 10 et 300 microns.

On comprend que, dans les deux cas, la déformation mécanique qui délimite la zone d'analyse **16** permet non seulement de la délimiter visuellement, mais permet aussi de former une barrière à la propagation de
25 l'échantillon, et/ou du ou des réactifs, et/ou de la matrice lors du dépôt sur la plaque d'analyse **10**.

Grâce à la faible résistance mécanique de la feuille de matériau papier **20** selon la direction d'un enfoncement selon son épaisseur, cette déformation mécanique peut aisément être réalisée selon les techniques
30 classiques d'embossage utilisées dans l'industrie papetière. Notamment un

tel embossage peut être réalisé en ligne, par exemple lorsque le support est encore sous la forme d'une bande continue.

Par ailleurs, pour délimiter au moins une zone d'analyse **16**, la plaque d'analyse peut comporter un marquage par une encre. Un tel marquage est
5 de préférence apposé sur la face d'essai **12**.

Le marquage peut présenter par exemple une géométrie analogue à la déformation mécanique illustrée dans les exemples des **Figs. 5A, 6A** ou **7A**.

Selon un mode de réalisation avantageux, le marquage peut être réalisé sur la face d'essai **12**, de préférence sur toute l'étendue de la zone
10 d'analyse **16**, avec une encre présentant, une fois séchée, un angle de mouillage pour l'échantillon et/ou la matrice qui est différent de l'angle de mouillage de la surface du matériau constitutif de la face d'essai **12**, pour l'échantillon et/ou la matrice. De préférence, l'angle de mouillage entre l'encre et l'échantillon et/ou la matrice est plus faible que l'angle de
15 mouillage entre la surface du matériau constitutif de la face d'essai **12** et l'échantillon et/ou la matrice, par exemple avec l'encre AGFA Orgacon™ EL-P3145 vendue par AGFA GEVAERT N.V. ou ses affiliés. En d'autres termes, la surface de l'encre, lorsqu'elle est sèche, est plus hydrophile que la surface de la face d'essai **12**. De cette manière, l'encre permet de faciliter le dépôt de
20 l'échantillon et ou la matrice en phase liquide, mais la différence d'angle de mouillage entre l'encre et la surface du matériau constituant la face d'essai **12** forme une barrière qui empêchera, ou tout du moins limitera, l'extension du dépôt, en cantonnant celui-ci à l'intérieur de la zone d'analyse **16** marquée par l'encre.

25 Toutefois on peut prévoir aussi que l'encre soit déposée non pas sur la zone d'analyse **16**, mais autour de celle-ci, et on peut alors par exemple prévoir que l'angle de mouillage entre l'encre et l'échantillon et/ou la matrice est plus grand que l'angle de mouillage entre la surface du matériau constitutif de la face d'essai **12** et l'échantillon et/ou la matrice. A titre
30 d'exemple cela est réalisé avec l'encre DuPont™ 5064H vendue par E. I. du Pont de Nemours and Company ou ses affiliés, qui présente un angle de

mouillage plus élevé avec de l'eau ou de l'acide formique que la surface du support papier métallisé transfert. Cette encre est conductrice de l'électricité. Les valeurs ci-dessous sont des angles de mouillage en degrés en fonction du temps mesurés avec un appareil Dynamic Absorption Tester de Testing Machines, Inc (TMI) qui utilise la méthode TAPPI 558.

	Papier métallisé type Fig. 3A			Encre DuPont™ 5064H sur papier métallisé type Fig. 3A		
	t=0,1 s	t=1 s	t= 10 s	t=0,1 s	t=1 s	t= 10 s
H2O	83,8	82,3	80,4	113,8	111,8	111,5
Acide formique	41,8	38,2	29,8	68,2	64,8	47,6

Selon un mode de réalisation avantageux, le marquage peut être réalisé sur la face d'essai **12**, de préférence sur toute l'étendue de la zone d'analyse **16**, avec une encre conductrice de l'électricité.

10 Le marquage par dépôt d'encre peut être réalisé par toute technique connue, notamment toute technique utilisée dans l'industrie de l'impression telle que par exemple une impression par électrophotographie, une impression par jet d'encre, par sérigraphie, par flexographie ou une impression offset.

15 Bien entendu, il est possible de combiner la délimitation de la zone d'analyse par déformation mécanique de la feuille de matériau papier et la délimitation de la zone d'analyse par marquage par une encre. Ainsi, dans l'exemple décrit illustré à la **Fig. 5A**, on peut prévoir de marquer avec une encre la zone circulaire délimitée par la gorge **28**. Dans les exemples illustrés
20 aux **Figs. 6A** et **7A**, on peut prévoir de marquer le fond plat de la cuvette avec une encre.

Dans les exemples mentionnés ci-dessus, la zone d'analyse **16** est une surface lisse, présentant par exemple une rugosité comparable, voire inférieure, à celle de la feuille de matériau papier **20**.

25 Cependant, pour faciliter l'étape de dépôt, il est possible de prévoir que la surface de la zone d'analyse **16** soit structurée. De préférence, cette structuration sera obtenue par déformation mécanique de la surface, et

notamment par déformation mécanique de la feuille de matériau papier **20**. Cette structuration peut ainsi former, à la surface de la zone d'analyse **16**, des creux et des reliefs selon une géométrie régulière ou irrégulière. La profondeur relative entre les creux et les reliefs de la surface de la zone d'analyse structurée peut par exemple être comprise entre 10 et 300 microns. La géométrie et la profondeur relative des creux et des reliefs de la surface de la zone d'analyse **16** structurée peut être évolutive sur l'étendue d'une zone d'analyse **16**, par exemple par variation de forme, de taille, de pas et/ou de profondeur des creux ou des reliefs.

10 Sur les **Figs. 12A** à **12F**, on a illustré différentes structururations possibles.

A la **Fig. 12A**, la structuration est formée de lignes circulaires concentriques **52**, en creux ou en relief par rapport à la surface de la zone d'analyse **16**. Les lignes circulaires sont par exemple équidistantes les unes des autres, mais elles pourraient avoir un écartement évolutif, non constant. Les lignes circulaires **52** sont par exemple réparties sur toute l'étendue de la zone d'analyse **16**. Les lignes circulaires sont par exemple concentriques avec un contour circulaire **54** de la zone d'analyse **16**.

20 A la **Fig. 12B**, la structuration est formée de lignes radiales **56** issues d'un même point central de la zone d'analyse **16**, en creux ou en relief par rapport à la surface de la zone d'analyse **16**. Les lignes radiales sont par exemple écartées angulairement les unes des autres d'un angle constant, mais elles pourraient avoir un écartement évolutif, non constant. Les lignes radiales sont par exemple réparties sur toute l'étendue de la zone d'analyse **16**. Les lignes radiales sont par exemple issues du centre d'un contour circulaire **54** de la zone d'analyse **16**.

A la **Fig. 12C**, la structuration est formée de lignes circulaires concentriques **52**, comme décrit à la **Fig. 12A**, et de lignes radiales **56**, comme décrit à la **Fig. 12B**.

30 A la **Fig. 12D**, la structuration est formée de lignes, en creux ou en relief par rapport à la surface de la zone d'analyse **16**, formant un

quadrillage **54**. Le quadrillage **58** peut être un quadrillage carré formé de deux séries perpendiculaires de lignes droites parallèles, mais on peut aussi envisager deux séries non perpendiculaires de lignes droites parallèles, ou plus de deux séries de lignes parallèles, chaque série ayant chacune une orientation différente. Au sein d'une série de lignes parallèles, les lignes sont par exemple équidistantes les unes des autres, mais elles pourraient avoir un écartement évolutif, non constant. Le quadrillage **58** s'étend par exemple sur toute l'étendue de la zone d'analyse **16**. Cependant, le quadrillage pourrait être limité à une partie seulement de la zone d'analyse **16**, par exemple à une couronne périphérique, de la zone d'analyse **16**.

A la **Fig. 12E**, la structuration est formée d'une multitude d'éléments géométriques répétés, formant un motif répétitif **60**, en creux ou en relief par rapport à la surface de la zone d'analyse **16**. A la **Fig. 12F**, la structuration est formée d'un motif répétitif en damier **60**, en creux ou en relief par rapport à la surface de la zone d'analyse **16**. Dans les deux cas, le motif **60**, **62** s'étend par exemple sur toute l'étendue de la zone d'analyse **16**. Cependant, le motif pourrait être limité à une partie seulement de la zone d'analyse **16**, par exemple à une couronne périphérique de la zone d'analyse **16**.

On peut prévoir que, sur la face active **12** de la plaque d'analyse **10**, seule la ou les zones d'analyse soit munie(s) d'une structuration telle que décrite ci-dessus. Cependant, on peut aussi prévoir qu'au moins une partie de la face active **12** de la plaque d'analyse **10**, en dehors de la zone d'analyse **16** ou des zones d'analyse **16**, soit aussi munie d'une structuration telle que décrite ci-dessus, voire que l'intégralité de la face active **12** de la plaque d'analyse **10** soit munie d'une structuration telle que décrite ci-dessus.

Les exemples de réalisation d'une plaque d'analyse **10** selon l'invention permettent de réaliser la plaque d'analyse **10** à l'aide de matériaux et de techniques couramment utilisées dans l'industrie papetière, permettant d'obtenir une plaque d'analyse **10** à très bas coût, tant du point de vue du

coût des matériaux mis en œuvre que, de manière encore plus importante, du point de vue du coût des procédés de fabrication mis en œuvre.

En effet, le coût des matériaux papier et de leur production et de leur mise en œuvre pour la fabrication de plaques d'analyse selon invention est très faible comparé au coût des matériaux et de production des plaques d'analyse connues jusqu'à présent. Les plaques d'analyse métalliques utilisées jusqu'à présents sont en effet onéreuses à produire. Les plaques d'analyse en matériau polymère connues jusqu'à présent, généralement réalisées par moulage par injection de plaques d'analyse individuelles, sont elles aussi relativement onéreuses.

La fabrication d'une plaque d'analyse **10** conforme à l'invention peut être réalisée, comme illustré à la **Fig. 8**, par découpe de plaques d'analyse individuelles **10** en partant d'une bande de matériau **32** produite à très faible coût. Cette bande de matériau **32** peut comprendre l'ensemble des feuille(s) de matériau papier **20**, lame(s) support **22**, strate **24** de matériau métallique, etc... envisagées pour la réalisation de la plaque d'analyse **10** selon l'invention, pré-assemblées dans un complexe stratifié susceptible d'être obtenu en ligne en bande de grande longueur. De même, les opérations de marquage par déformation mécanique ou les opérations de marquage par dépôt d'encre peuvent utiliser les techniques correspondantes utilisées dans l'industrie de l'impression, là encore mises en œuvre en ligne pour des bandes de grandes longueurs.

Ainsi, on peut prévoir une opération de découpe de la plaque d'analyse **10** à sa dimension finale dans un tel complexe stratifié préassemblé, comme étant une étape ultime dans le procédé de fabrication, tout du moins une étape postérieure à la réalisation du complexe stratifié. Bien entendu, certaines étapes comme le marquage par déformation mécanique ou par dépôt d'encre peuvent être réalisées après une telle opération de découpe.

Il en résulte un coût de production d'une plaque d'analyse très bas, en particulier dans le cas de l'utilisation de procédés de fabrication en masse

issus des techniques papetières, notamment des procédés de type « Roll to Roll », permettant une automatisation du procédé de fabrication, sans intervention humaine ou avec une intervention humaine minimale.

5 Contrairement à toute attente, il est apparu que des plaques d'analyse réalisées conformément aux enseignements de l'invention permettent d'obtenir, dans un appareillage standard, une caractérisation des échantillons conformes à ce qui est obtenu généralement avec les plaques d'analyse préexistantes.

10 En effet, avec des plaques d'analyse telles que décrites ci-dessus en référence à la **Fig. 3A**, il a été possible, de détecter par l'analyse MALDI-TOF, avec la même précision qu'avec une plaque de référence de l'art antérieur de nombreuses souches bactériennes, peptides ou protéines. Notamment, l'identification sur les plaques d'analyse selon l'invention était aussi bonne que l'identification sur les plaques d'analyse VITEK® MS
15 commercialisées et étaient 100% correctes. Les probabilités d'identification étaient similaires avec en moyenne 98,4%, pour la référence, 96,5% pour une plaque d'analyse selon l'invention, telle que décrite en relation avec la **Fig. 3A**, en version lisse, et 98% pour une plaque d'analyse selon l'invention, elle aussi telle que décrite en relation avec la **Fig. 3A**, mais en
20 version structurée. Les spectres MS étaient également comparables, présentant la même résolution, le même nombre de pics et la même plage dynamique.

Tous les peptides et protéines testés avec la matrice différente ont été détectés sur plaque d'analyse selon l'invention, en version lisse, avec
25 la même qualité que sur la cible de référence. Les tests ont porté sur 22 espèces bactériennes et sur des levures, ayant des masses comprises entre 2000 et 20000 Daltons, et avec des peptides et protéines dont la masse était comprise entre 300 et 46000 Daltons.

30 Une plaque selon l'invention est donc avantageusement utilisée en tant que support d'échantillon dans un procédé d'analyse de l'échantillon par spectrométrie de masse selon la technique MALDI-TOF.

Pour l'utilisation dans un appareillage standard de spectrométrie de masse selon la technique MALDI-TOF, les inventeurs ont conçu un adaptateur **34** qui permet d'utiliser les plaques d'analyse **10** selon l'invention, notamment les plaques d'analyse selon les **Figs. 3A** et **3B** 5 décrites ci-dessus, qui présentent une épaisseur réduite par rapport aux plaques d'analyse conventionnelles.

L'adaptateur **34** maintient la plaque d'analyse **10** par son pourtour et permet de positionner cette feuille de matériau papier **20** dans la chambre d'analyse de l'appareillage de sorte que la face d'essai **12** de la plaque d'analyse **10** se situe à une position équivalente, selon la direction 10 perpendiculaire à son plan d'extension, à celle d'une plaque d'analyse conventionnelle, malgré la différence d'épaisseur entre les deux.

Selon un exemple d'un adaptateur **34**, illustré sur les **Figs. 9A, 9B, 10** et **11** l'adaptateur **34** comporte un plateau **36** et un cadre **38**.

15 Le plateau **36** présente une forme plane, et ses dimensions sont égales à celle de la plaque d'analyse **10** dans le plan d'extension de la plaque. Le plateau **36** présente une face supérieure **40** destinée à recevoir la face d'appui **14** de la plaque d'analyse **10**, et une face inférieure **41**.

Le cadre **38** se présente sous la forme d'un profilé qui s'étend dans un 20 plan parallèle au plan d'extension de la plaque d'analyse **10**, selon le pourtour de la plaque d'analyse **10**. Le cadre **38** présente ainsi une face supérieure **42** et une face inférieure **44**. Dans la face inférieure **44**, un dégagement **45** est aménagé qui présente le contour exact de la plaque d'analyse **10**. La profondeur du dégagement **45**, selon la direction 25 perpendiculaire au plan d'extension de la plaque d'analyse **10**, est de préférence supérieure à l'épaisseur de la plaque d'analyse **10**. Dans l'exemple illustré, cette profondeur correspond sensiblement à la somme de l'épaisseur de la plaque d'analyse **10** avec l'épaisseur du plateau **36**, lequel peut alors être lui aussi reçu, au moins en partie, dans le dégagement **45**. Le 30 cadre **38** délimite, dans sa face supérieure **42**, une ouverture **46** dont les dimensions dans le plan d'extension sont suffisantes pour laisser apparaître

l'intégralité des zones d'analyse **16** de la plaque d'analyse **10** au travers de cette ouverture **46** lorsque la plaque d'analyse **10** est engagée dans le dégagement **45** de la face inférieure **44** du cadre **38**, la face d'essai **12** vers le haut. En revanche, l'ouverture **46** présente, dans le plan d'extension de la plaque **10**, des dimensions inférieures à celle de la plaque **10** de telle sorte que le fond du dégagement **45** du cadre **38** forme une surface de butée **48** contre laquelle vient s'appuyer le pourtour de la face d'essai **12** de la plaque d'analyse **10**.

Selon un mode de réalisation avantageux, l'adaptateur **34** comporte aussi un mécanisme de serrage qui provoque le serrage de la plaque d'analyse **10** entre le cadre **38** et le plateau **36**. Dans l'exemple illustré, le mécanisme de serrage est un mécanisme magnétique comportant une série d'aimants **50**. Dans l'exemple illustré, les aimants **50** sont portés par le cadre **38**, si bien que le plateau **36** est réalisé au moins en partie en matériau ferromagnétique, par exemple en métal ferromagnétique et/ou comporte lui aussi des aimants correspondants disposés avec leur polarité magnétique inversée. Bien entendu, la disposition inverse pourrait être prévue. D'autres mécanismes de serrage pourraient être envisagés, par exemple à pinces ou à vis. Cependant, le mécanisme magnétique présente l'avantage d'une mise en œuvre très facile et procure une force de serrage suffisante pour maintenir la plaque **10** sans l'endommager, notamment en évitant un serrage excessif et s'adaptant à une gamme variable d'épaisseur de papier sans modification de l'adaptateur.

Suivant la profondeur prévue pour le dégagement **45**, soit la face inférieure **44** du plateau **38**, soit la face inférieure du plateau **36** est susceptible de venir reposer contre une face d'accueil de la chambre d'analyse. La profondeur du dégagement **45** du cadre **38** et l'épaisseur du plateau **36** déterminent donc, suivant que l'une ou l'autre repose contre la face d'accueil de la chambre d'analyse, la position de la face d'essai **12** de la plaque d'analyse **10** dans la chambre d'analyse, selon une direction perpendiculaire au plan d'extension de la plaque **10**. Aussi, la profondeur du

dégagement **45** du cadre **38** et l'épaisseur du plateau **36** sont calculées pour que la face d'essai **12** de la plaque d'analyse **10** soit agencée, selon une direction perpendiculaire au plan d'extension de la plaque **10**, à une altitude voulue pour le bon fonctionnement de l'appareillage.

5 L'utilisation d'un adaptateur **34** permet d'éviter tout endommagement de la plaque d'analyse **10** lors de sa manipulation, notamment lors de son introduction dans l'appareillage de spectrométrie de masse. Il est en effet ainsi possible de manipuler uniquement l'adaptateur **34**, qui peut être réalisé en matériau plastique et/ou en métal. Cela évite notamment de risquer de
10 plier la plaque d'analyse **10** lorsque celle-ci est de faible épaisseur, par exemple avec un support **18** constitué seulement d'une ou plusieurs feuilles de matériaux papier **20**, **20'**, sans présence d'une lame support additionnelle.

De plus, lorsque les dimensions de l'adaptateur **34** sont prévues pour
15 positionner la face d'essai **12** de la plaque d'analyse **10** à la hauteur, par rapport à la face d'accueil de la chambre d'analyse, identique à celle de la face d'essai d'une plaque d'analyse conventionnelle, un même appareillage peut être utilisé indifféremment avec une plaque d'analyse conventionnelle ou avec une plaque d'analyse selon l'invention sans nécessiter de recalage
20 des pics de masse.

L'invention n'est pas limitée aux exemples décrits et représentés car diverses modifications peuvent y être apportées sans sortir de son cadre.

REVENDEICATIONS

1 - Plaque d'analyse (**10**) comportant au moins une zone d'analyse (**16**) destinée à recevoir un échantillon à analyser par spectrométrie de masse selon la technique MALDI-TOF, du type comprenant au moins une face d'essai (**12**) sur laquelle est délimitée au moins une zone d'analyse (**16**), du type dans lequel la plaque comporte un support plan (**18**), caractérisée en ce que le support (**18**) comporte au moins une feuille (**20**) de matériau papier comprenant des fibres cellulosiques, et en ce que la plaque d'analyse (**10**) comporte au moins une strate (**24**) de matériau métallique, et en ce que la strate (**24**) de matériau métallique est rapportée sur la feuille de matériau papier (**20**) du côté de la face d'essai (**12**).

2 - Plaque d'analyse selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que la strate (**24**) de matériau métallique est rapportée sur la feuille de matériau papier (**20**) par métallisation sous vide de la feuille de matériau papier (**20**).

3 - Plaque d'analyse selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que la strate (**24**) de matériau métallique est rapportée sur la feuille de matériau papier (**20**) par métallisation par transfert.

4 - Plaque d'analyse selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que la strate de matériau métallique (**24**) présente une épaisseur inférieure à 0,5 micron.

5 - Plaque d'analyse selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que la strate de matériau métallique (**24**) comporte de l'aluminium.

6 - Plaque d'analyse selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que la feuille de matériau papier (**20**) comprend, en tant que fibres, exclusivement des fibres cellulosiques.

7 - Plaque d'analyse selon l'une quelconque des revendications **1** à **5**, caractérisée en ce que la feuille de matériau papier (**20**) comprend des fibres

cellulosiques et des fibres synthétiques, notamment des fibres polymères synthétiques.

8 - Plaque d'analyse selon la revendication **7**, caractérisée en ce que la feuille de matériau papier (**20**) comprend des fibres cellulosiques et des fibres synthétiques, avec, en masse, plus de fibres cellulosiques que de fibres synthétiques.

9 - Plaque d'analyse selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que le matériau papier de la feuille de matériau papier (**20**) comporte au moins un agent hydrophobe.

10 **10** - Plaque d'analyse selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que la feuille de matériau papier (**20**) présente un grammage supérieur ou égal à 120 grammes par mètre carré, de préférence supérieur ou égal à 150 grammes par mètre carré.

11 - Plaque d'analyse selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que la feuille de matériau papier (**20**) présente un grammage inférieur ou égal à 400 grammes par mètre carré, de préférence inférieur ou égal à 300 grammes par mètre carré.

12 - Plaque d'analyse selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que le support (**18**) est constitué exclusivement de matériau papier.

13 - Plaque d'analyse selon l'une quelconque des revendications **1** à **9**, caractérisée en ce que le support (**18**) comporte au moins une lame support (**22**) sur laquelle est rapportée la feuille de matériau papier (**20**).

14 - Plaque d'analyse selon la revendication **13**, caractérisée en ce que le support (**18**) comporte au moins une lame support (**22**) en matériau polymère sur laquelle est rapportée la feuille de matériau papier (**20**).

15 - Plaque d'analyse selon l'une quelconque des revendications **13** ou **14**, caractérisée en ce que le support (**18**) comporte deux lames de matériau polymère (**22**) superposées, et en ce que la feuille de matériau papier (**20**) est rapportée sur une face d'une des deux lames superposées (**22**).

16 - Plaque d'analyse selon la revendication **14**, caractérisée en ce que la lame de matériau polymère (**22**) présente une épaisseur comprise dans la gamme allant de 0,2 à 2 millimètres.

5 **17** - Plaque d'analyse selon l'une quelconque des revendications **13** à **16**, caractérisée en ce que la feuille de matériau papier présente un grammage compris dans la gamme allant de 60 grammes par mètre carré à 200 grammes par mètre carré.

10 **18** - Plaque d'analyse selon l'une quelconque des revendications **13** à **17**, caractérisée en ce que la feuille de matériau papier (**20**) est collée sur la lame support (**22**).

19 - Plaque d'analyse selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que la feuille de matériau papier comporte au moins une déformation obtenue mécaniquement selon le contour d'au moins une zone d'analyse (**16**), délimitant ainsi l'au moins une zone
15 d'analyse (**16**).

20 - Plaque d'analyse selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce qu'au moins une zone d'analyse (**16**) sur la feuille de matériau papier (**20**) comporte une déformation obtenue mécaniquement, sur toute l'étendue de ladite zone d'analyse (**16**).

20 **21** - Plaque d'analyse selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que la plaque d'analyse (**10**) comporte un marquage par une encre délimitant au moins une zone d'analyse (**16**).

25 **22** - Utilisation d'une plaque d'analyse selon l'une quelconque des revendications **1** à **21** en tant que support d'échantillon dans un procédé d'analyse de l'échantillon par spectrométrie de masse selon la technique MALDI-TOF.

23 - Utilisation selon la revendication **22**, caractérisée en ce que la plaque d'analyse est utilisée avec un adaptateur (**34**) qui maintient la feuille de matériau papier (**20**) par son pourtour.

30 **24** - Utilisation selon la revendication **23**, caractérisée en ce que l'adaptateur (**34**) comporte un plateau (**36**), un cadre (**38**) et un mécanisme

de serrage (**50**) qui provoque le serrage de la plaque d'analyse entre le cadre (**38**) et le plateau (**36**), le cadre (**38**) coopérant avec le pourtour de la plaque d'analyse (**10**) et comportant une ouverture (**46**) laissant apparaître au moins une zone d'analyse (**16**) de la plaque d'analyse (**10**).

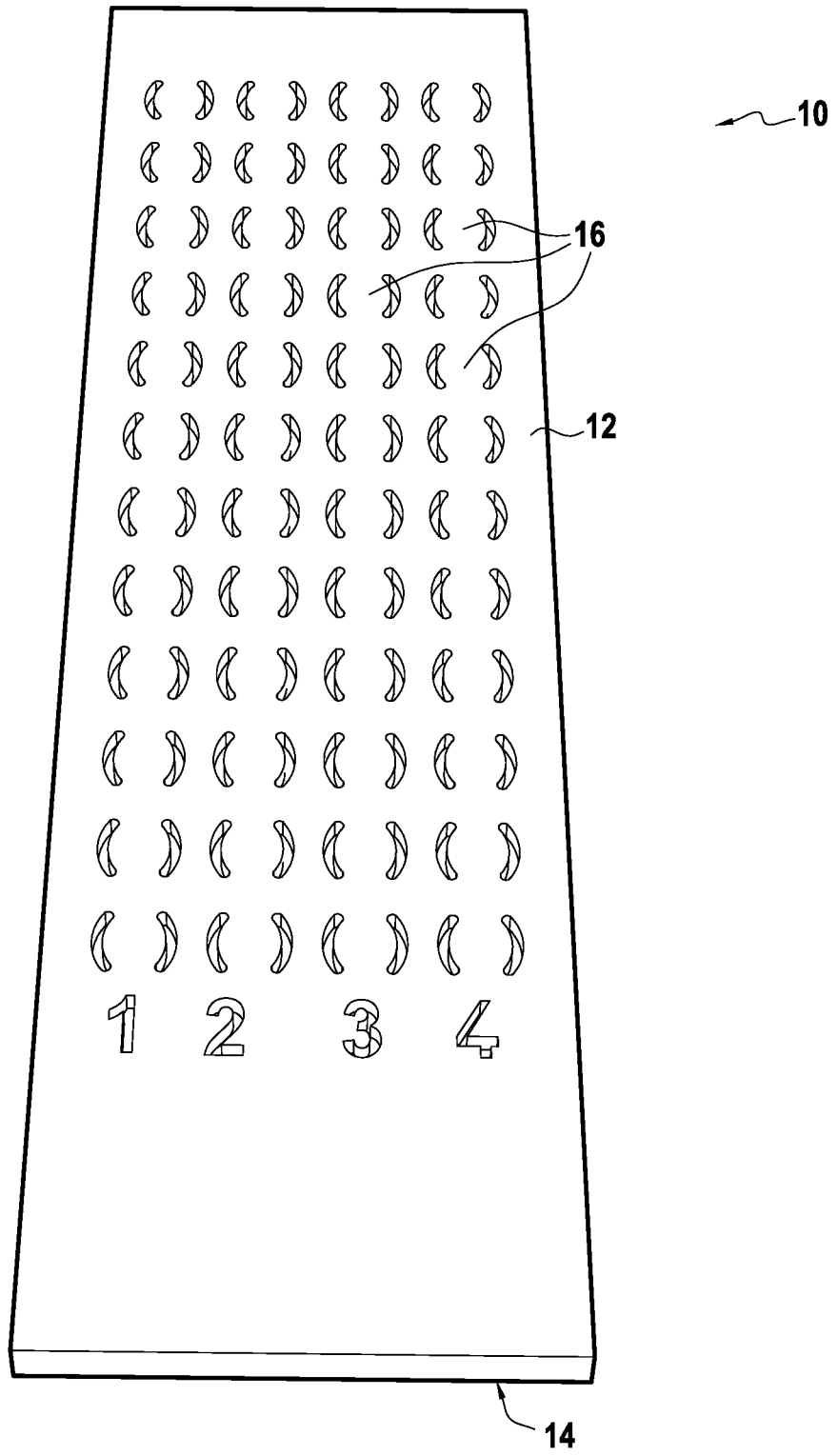
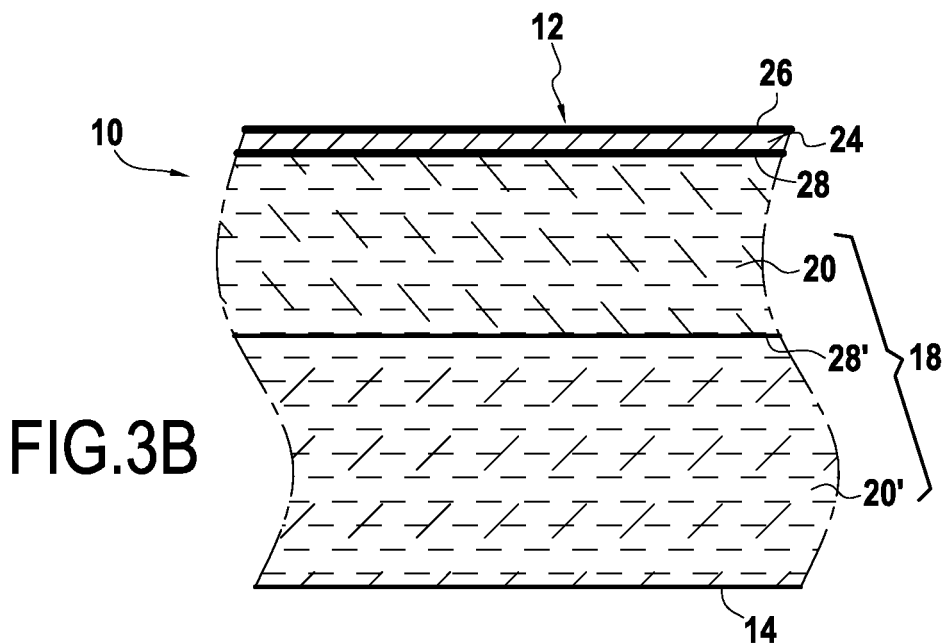
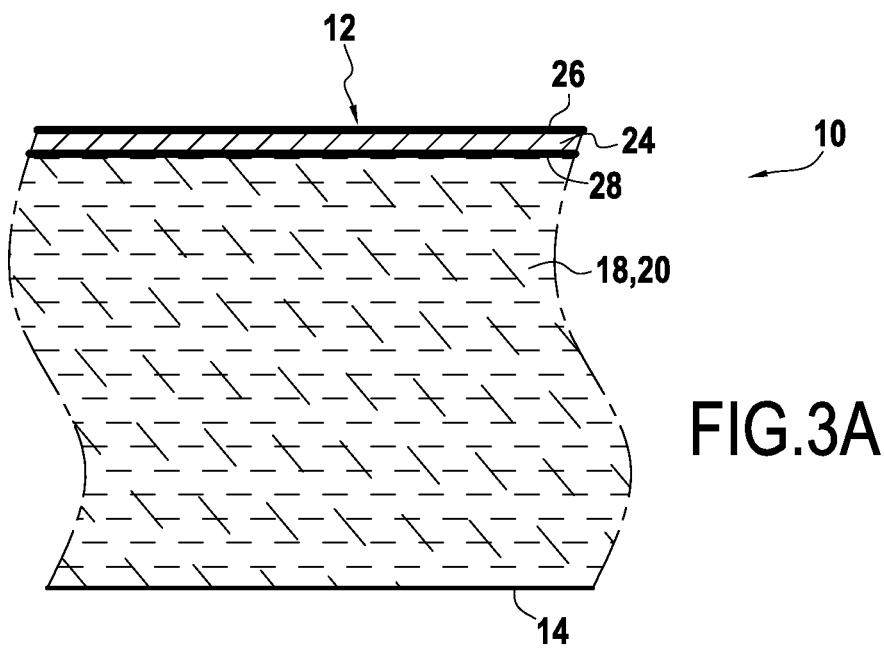
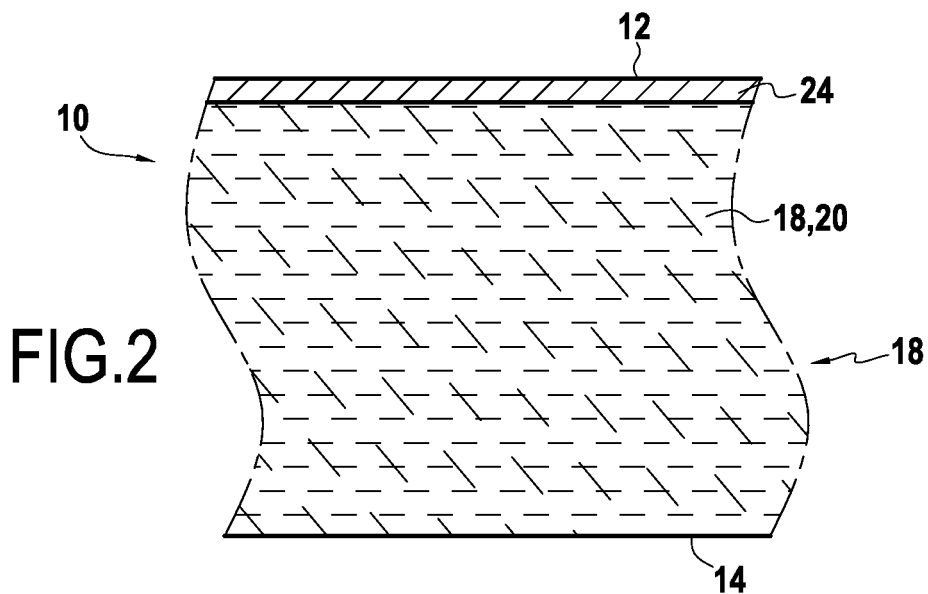


FIG.1



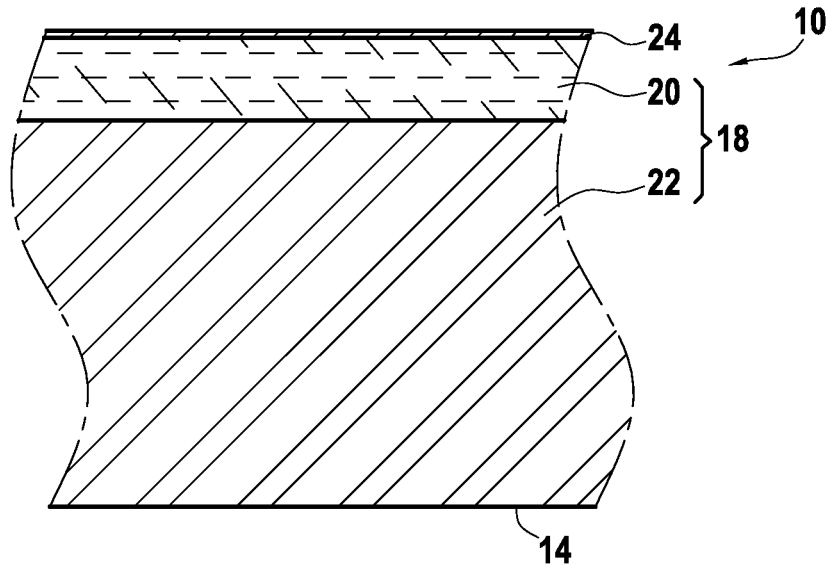


FIG.4A

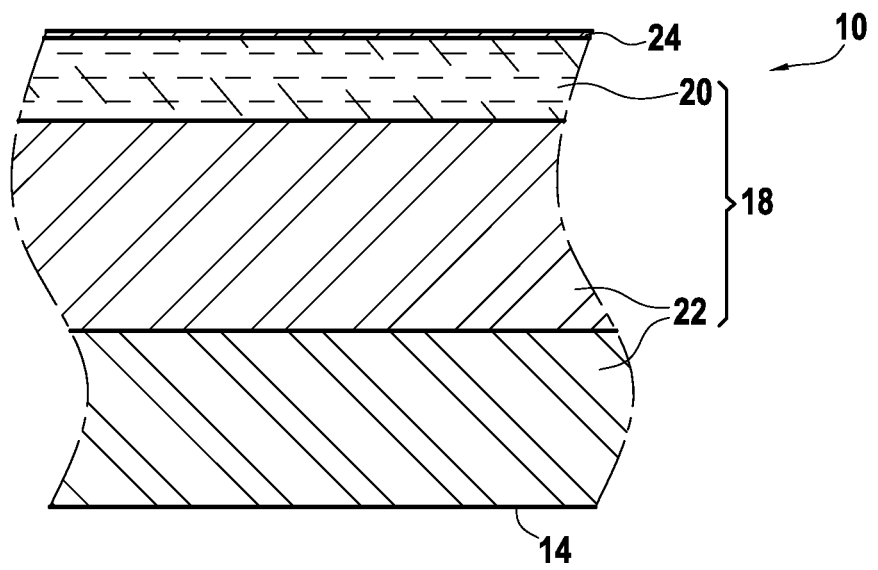


FIG.4B

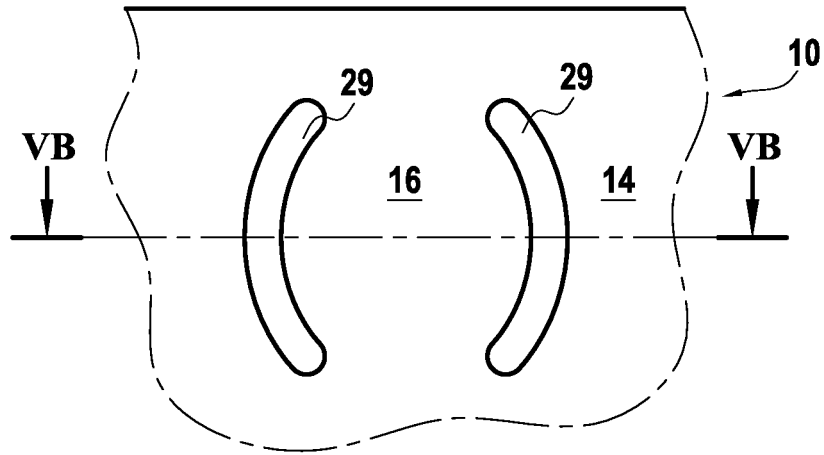


FIG. 5A

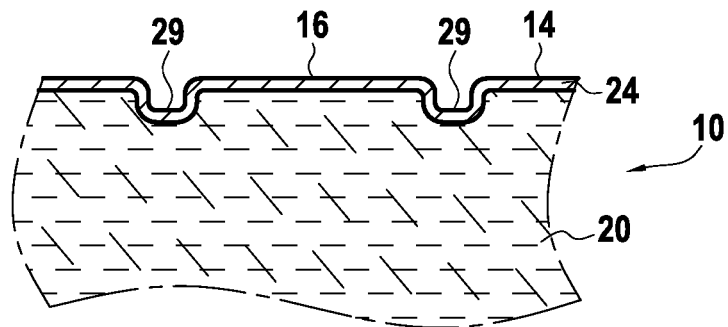
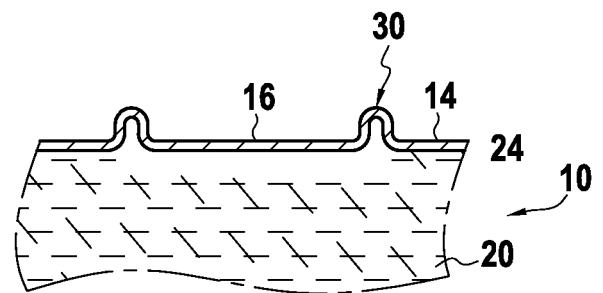
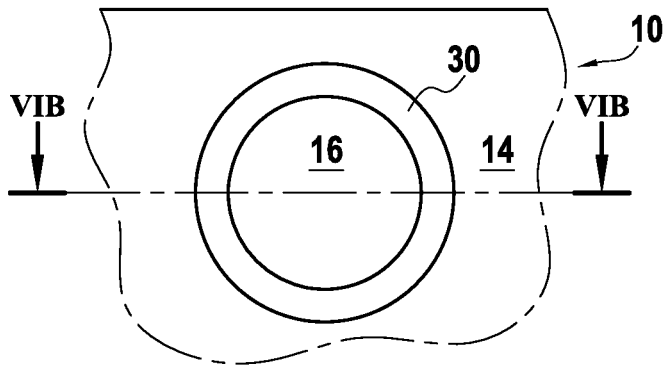
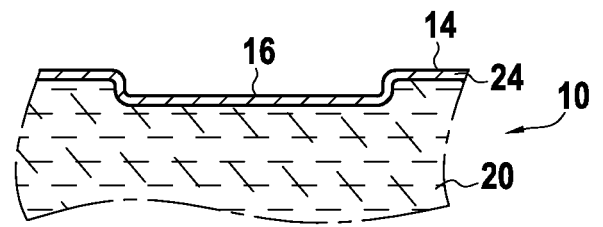
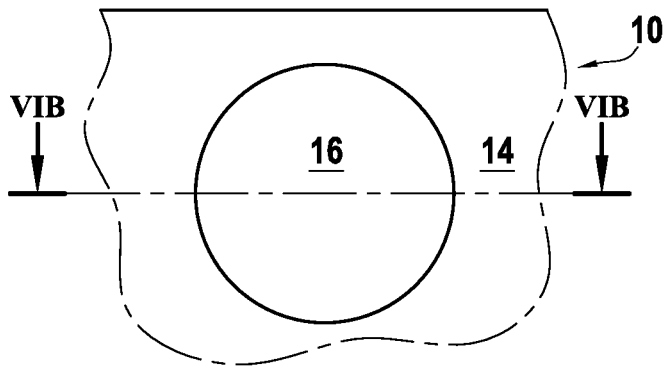


FIG. 5B



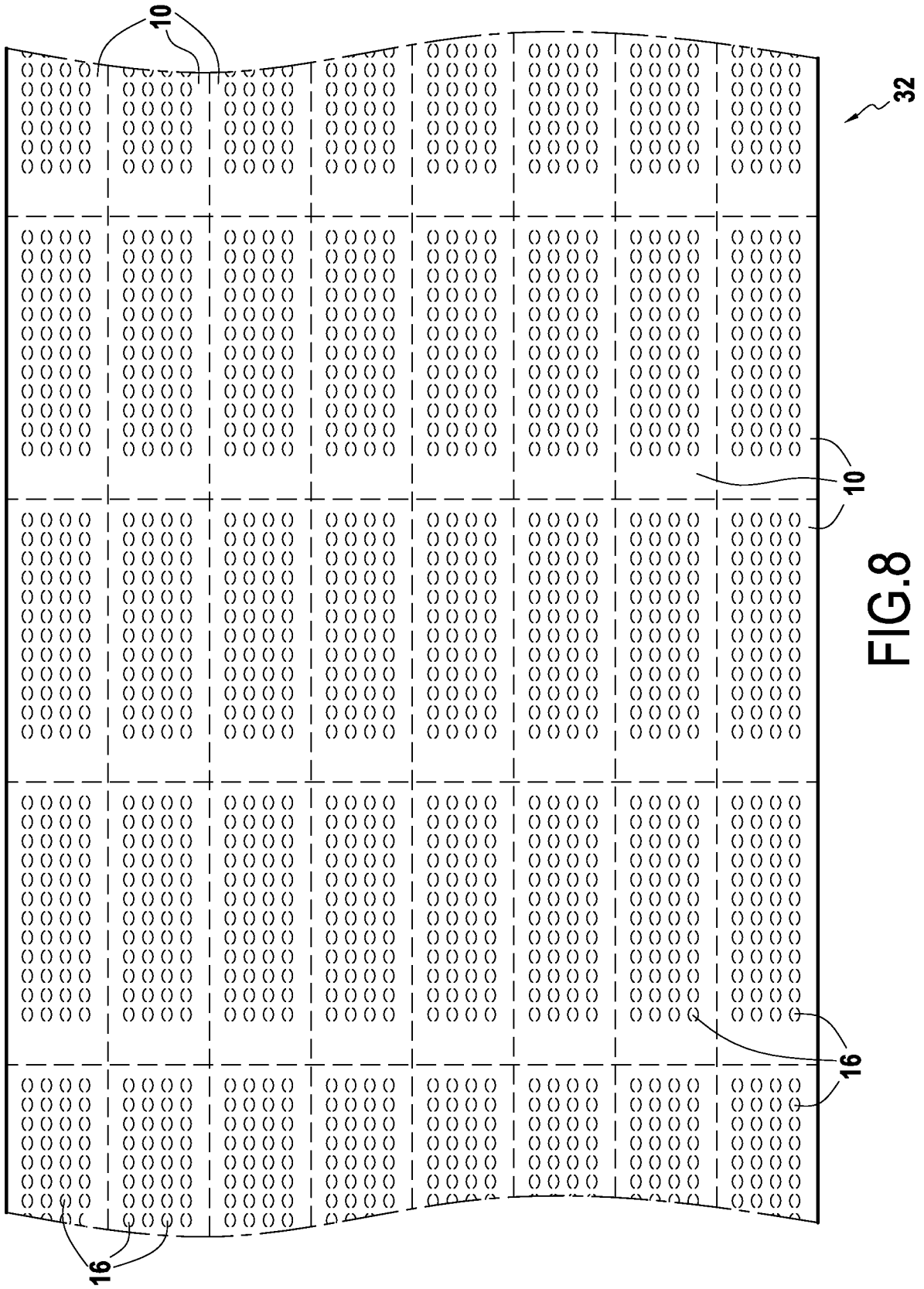


FIG.8

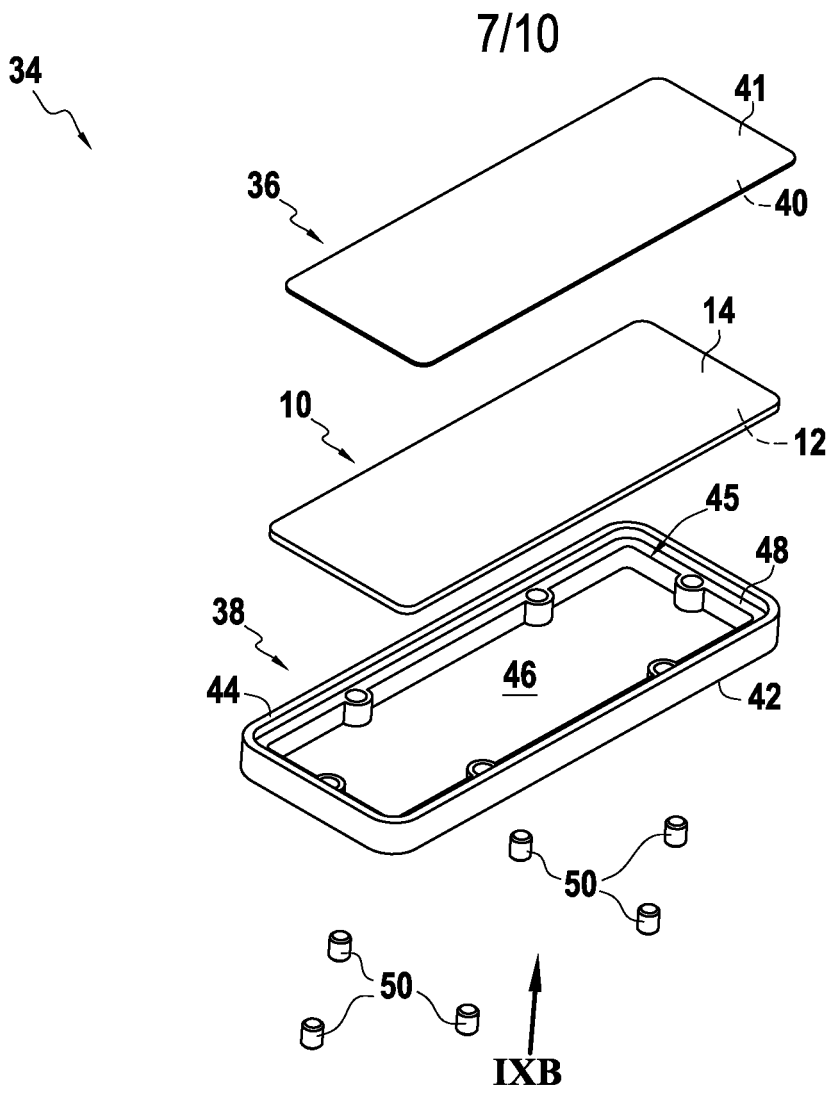


FIG.9A

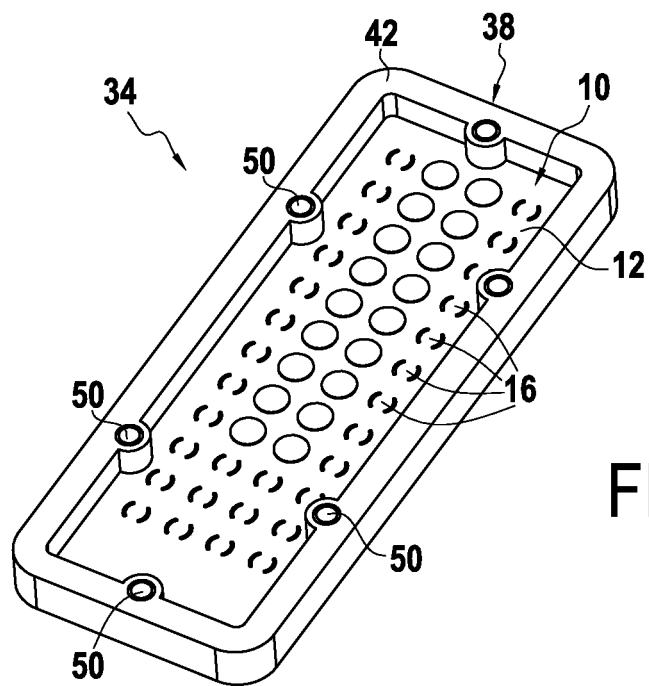


FIG.9B

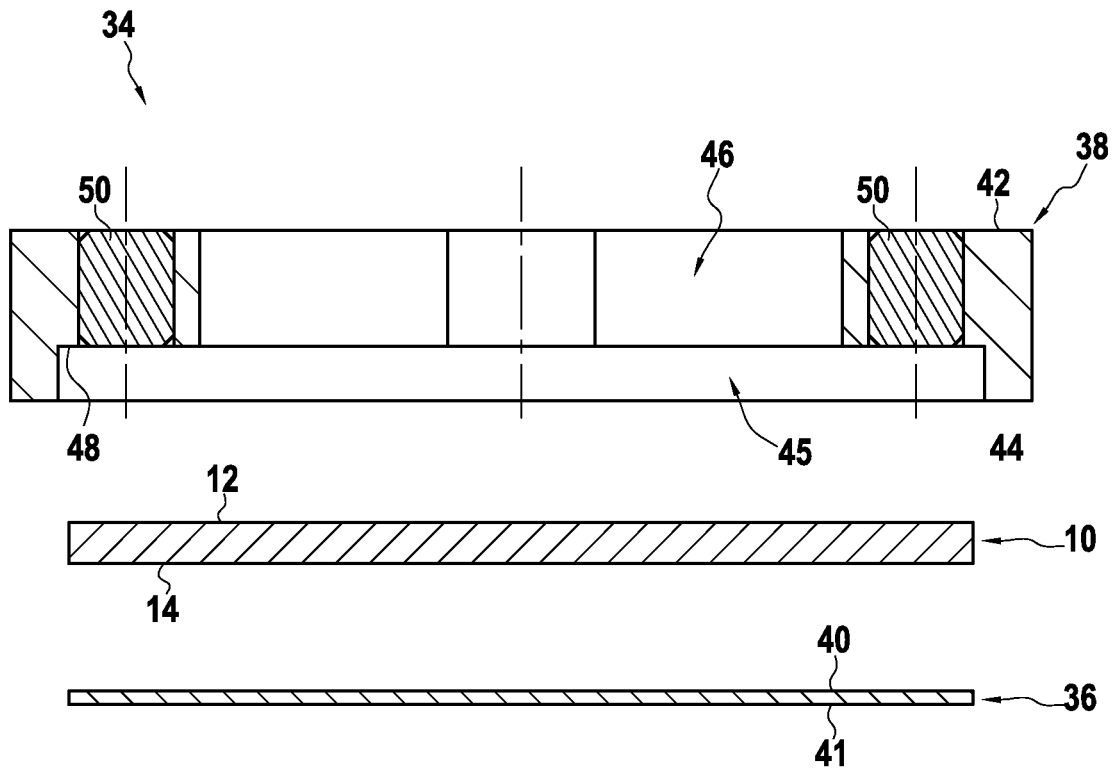


FIG.10

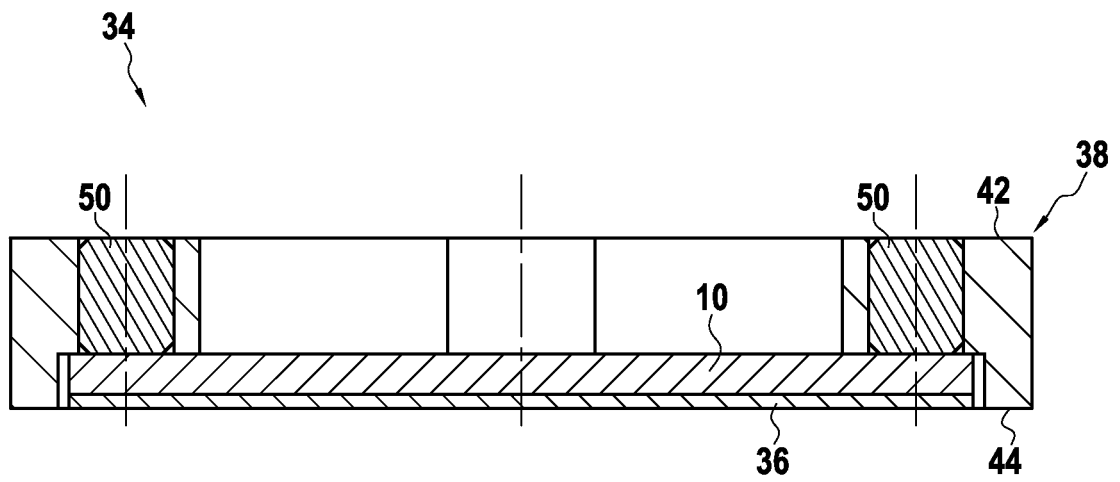


FIG.11

9/10

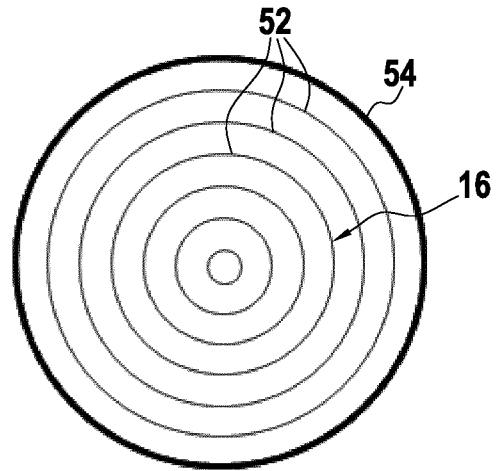


FIG. 12A

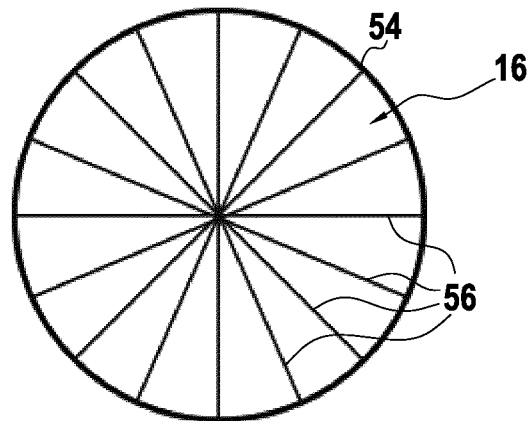


FIG. 12B

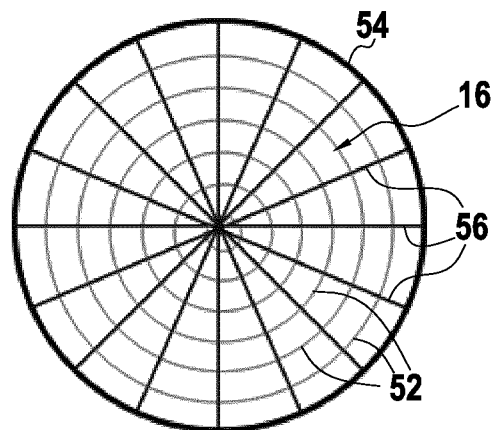


FIG. 12C

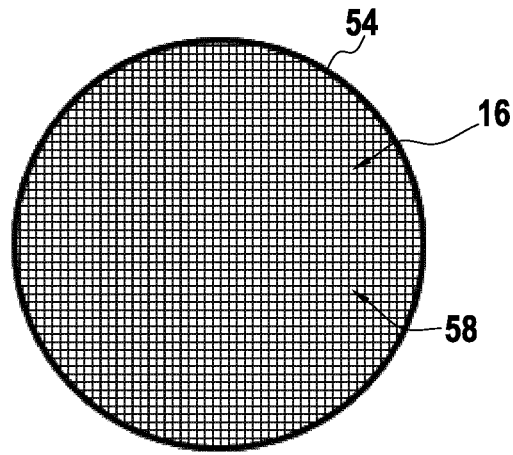


FIG. 12D

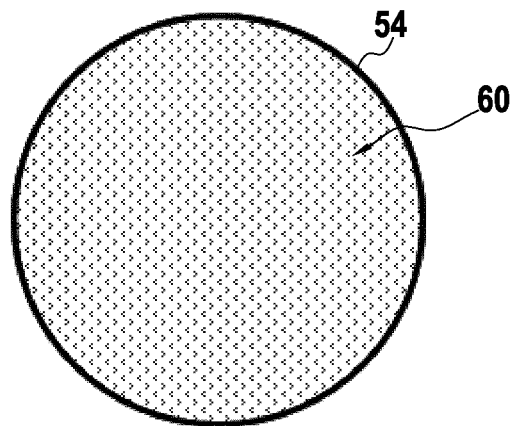


FIG. 12E

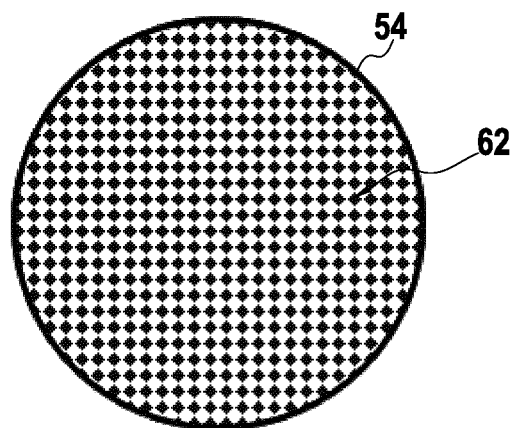


FIG. 12F

RAPPORT DE RECHERCHE

articles L.612-14, L.612-53 à 69 du code de la propriété intellectuelle

OBJET DU RAPPORT DE RECHERCHE

L'I.N.P.I. annexe à chaque brevet un "RAPPORT DE RECHERCHE" citant les éléments de l'état de la technique qui peuvent être pris en considération pour apprécier la brevetabilité de l'invention, au sens des articles L. 611-11 (nouveau) et L. 611-14 (activité inventive) du code de la propriété intellectuelle. Ce rapport porte sur les revendications du brevet qui définissent l'objet de l'invention et délimitent l'étendue de la protection.

Après délivrance, l'I.N.P.I. peut, à la requête de toute personne intéressée, formuler un "AVIS DOCUMENTAIRE" sur la base des documents cités dans ce rapport de recherche et de tout autre document que le requérant souhaite voir prendre en considération.

CONDITIONS D'ETABLISSEMENT DU PRESENT RAPPORT DE RECHERCHE

Le demandeur a présenté des observations en réponse au rapport de recherche préliminaire.

Le demandeur a maintenu les revendications.

Le demandeur a modifié les revendications.

Le demandeur a modifié la description pour en éliminer les éléments qui n'étaient plus en concordance avec les nouvelles revendications.

Les tiers ont présenté des observations après publication du rapport de recherche préliminaire.

Un rapport de recherche préliminaire complémentaire a été établi.

DOCUMENTS CITES DANS LE PRESENT RAPPORT DE RECHERCHE

La répartition des documents entre les rubriques 1, 2 et 3 tient compte, le cas échéant, des revendications déposées en dernier lieu et/ou des observations présentées.

Les documents énumérés à la rubrique 1 ci-après sont susceptibles d'être pris en considération pour apprécier la brevetabilité de l'invention.

Les documents énumérés à la rubrique 2 ci-après illustrent l'arrière-plan technologique général.

Les documents énumérés à la rubrique 3 ci-après ont été cités en cours de procédure, mais leur pertinence dépend de la validité des priorités revendiquées.

Aucun document n'a été cité en cours de procédure.

1. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE SUSCEPTIBLES D'ETRE PRIS EN CONSIDERATION POUR APPRECIER LA BREVETABILITE DE L'INVENTION

NEANT

2. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE ILLUSTRANT L'ARRIERE-PLAN TECHNOLOGIQUE GENERAL

EP 1 739 721 A2 (AGILENT TECHNOLOGIES INC [US]) 3 janvier 2007 (2007-01-03)

US 6 825 478 B1 (MCCARTHY ROBERT D [US] ET AL) 30 novembre 2004 (2004-11-30)

US 5 110 670 A (JANOCHA SIEGFRIED [DE] ET AL) 5 mai 1992 (1992-05-05)

US 2005/072917 A1 (BECKER THOMAS [US]) 7 avril 2005 (2005-04-07)

US 2005/090016 A1 (RICH WILLIAM E [US] ET AL) 28 avril 2005 (2005-04-28)

US 2005/139470 A1 (SZE SIU K [SG]) 30 juin 2005 (2005-06-30)

3. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE DONT LA PERTINENCE DEPEND DE LA VALIDITE DES PRIORITES

NEANT