



(43) Date de la publication internationale
12 janvier 2017 (12.01.2017)

- (51) Classification internationale des brevets :
B01L 3/00 (2006.01) *B01L 3/02* (2006.01)
- (21) Numéro de la demande internationale :
PCT/EP2016/066180
- (22) Date de dépôt international :
7 juillet 2016 (07.07.2016)
- (25) Langue de dépôt : français
- (26) Langue de publication : français
- (30) Données relatives à la priorité :
15 56424 7 juillet 2015 (07.07.2015) FR
- (71) Déposants : ECOLE SUPERIEURE DE PHYSIQUE ET DE CHIMIE INDUSTRIELLES DE LA VILLE DE PARIS [FR/FR]; 10, rue Vauquelin, 75005 Paris (FR). CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE [FR/FR]; 3, rue Michel Ange, 75016 Paris (FR).
- (72) Inventeurs : BOITARD, Laurent; 82 quai de la Loire, 75019 Paris (FR). BREMOND, Nicolas; 60 rue Claude Bernard, 75005 Paris (FR). GARNICA RODRIGUEZ, Jaïro; 37 boulevard Jourdan, 75014 Paris (FR). BIBETTE, Jérôme; 37 rue Henri Barbusse, 75005 Paris (FR).

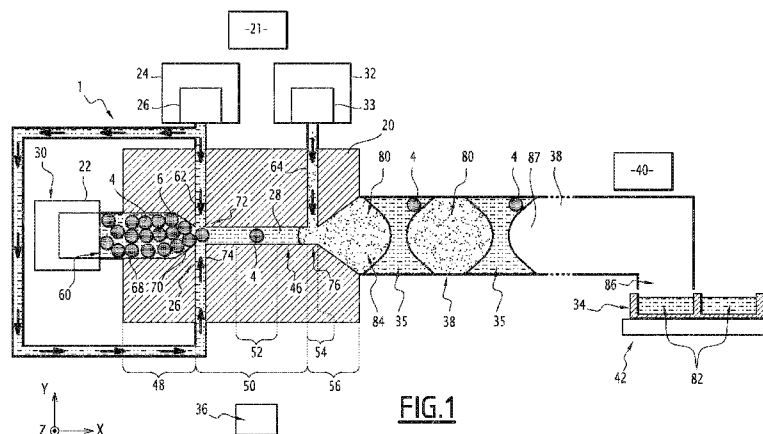
- (74) Mandataires : COLOMBIE, Damien et al.; Lavoix, 2, place d'Estienne d'Orves, 75009 Paris (FR).
- (81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))

(54) Title : DROPLET RECUPERATION METHOD AND ASSOCIATED DROPLET RECUPERATION SYSTEM

(54) Titre : PROCÉDÉ DE RÉCUPÉRATION DE GOUTTES ET SYSTÈME DE RÉCUPÉRATION DE GOUTTES ASSOCIÉ



(57) Abstract : The invention relates to a method for recuperating droplets (4), comprising the following steps: - supplying a chip (20) comprising a fluid circulation duct (46), - injecting an emulsion (6) of droplets, - injecting a carrier fluid (26) to form a working fluid (28) containing droplets of the emulsion which are spaced apart along the duct, - conveying the working fluid through the duct, - injecting a separating fluid (33) in order to separate the working fluid into a plurality of successive pockets (35), each pocket being isolated from the next pocket by a separator (80), - conveying the pockets and separators towards an outlet (66) of the chip, - recuperating in a compartment (82) of a recuperation support (34) at least one pocket containing a droplet recuperated after conveying.

(57) Abrégé :

[Suite sur la page suivante]





L'invention concerne un procédé de récupération de gouttes (4), comprenant les étapes suivantes : - fourniture d'une puce (20) comportant un conduit de circulation (46) de fluide, - injection d'une émulsion (6) de gouttes, - injection d'un fluide porteur (26) pour former un fluide de travail (28) comprenant des gouttes de l'émulsion espacées les unes des autres le long du conduit, - convoyage du fluide de travail dans le conduit, - injection d'un fluide séparateur (33) pour séparer le fluide de travail en une pluralité de poches (35) successives, chaque poche étant isolée de la poche suivante par un séparateur (80), - convoyage des poches et des séparateurs, vers une sortie (66) de la puce, - récupération dans un compartiment (82) d'un support de récupération (34) d'au moins une poche comprenant une goutte récupérée après le convoyage.

Procédé de récupération de gouttes et système de récupération de gouttes associé

La présente invention concerne un procédé de récupération de gouttes comprenant les étapes suivantes :

- 5 - fourniture d'une puce comportant un conduit de circulation de fluide définissant successivement dans un sens de circulation des fluides, une zone d'entrée, une zone d'espacement, une zone d'injection et une zone de séparation,
- injection d'une émulsion de gouttes d'un fluide interne dispersées dans un fluide externe, dans la zone d'entrée,
- 10 - injection d'au moins un fluide porteur miscible avec le fluide externe dans la zone d'espacement, pour former dans le conduit de circulation un fluide de travail comprenant du fluide porteur et des gouttes de l'émulsion espacées les unes des autres le long du conduit,
- convoyage du fluide de travail dans le conduit de circulation.

15 Le procédé selon l'invention permet, par exemple, de former une émulsion goutte à goutte avec un contenu déterminé ou de réinjecter une émulsion, puis d'espacer les gouttes de l'émulsion avant de les isoler une à une sur un support solide. Le support solide est par exemple une plaque à 96, 386 ou 1536 puits, ou une boîte de Pétri ou une plaque MALDI.

20 Une émulsion est un mélange hétérogène de deux liquides non miscibles, sous forme de gouttes du premier liquide dans le second.

 La microfluidique de goutte est utilisée dans un grand nombre de laboratoires pour miniaturiser les réactions biologiques et biochimiques dans des bioréacteurs de quelques picolitres à quelques nanolitres. Les vitesses d'échantillonnages, au delà de 1000 gouttes
25 analysées par seconde et la réduction du volume des échantillons rendent cette technologie très attractive pour le criblage de molécules et de cellules. Au cours des 10 dernières années, un grand nombre de modules ont été développés pour manipuler ces gouttes micrométriques : mélange et ajout de composés, fusion de gouttes, détection de marqueurs fluorescents, incubation et sélections de gouttes d'intérêt.

30 La publication "Fluorescence-activated droplets sorting (FADS): Efficient microfluidic cell sorting based on enzymatic activity", de Baret et al. publiée en ligne le 23 avril 2009 dans la revue Lab on a Chip illustre ce principe.

 Une émulsion de gouttes est injectée dans un dispositif de tri, les gouttes de l'émulsion sont espacées avec une injection d'huile fluorée sans tensio-actif. Les gouttes
35 sont ensuite envoyées vers une interface de tri. Une mesure est effectuée, toutes les gouttes présentant un signal supérieur à un seuil de détection sont collectées dans un

même tube. Un tel système permet la séparation de l'émulsion en deux populations de gouttes et la récupération de chaque population.

Cependant, cette méthode ne permet pas de récupérer les gouttes individuellement.

5 Or, il est important dans certaines applications de pouvoir récupérer des gouttes isolées dans un support macroscopique.

Par exemple, dans le domaine du criblage haut débit de cellules, on souhaite tester de nombreuses cellules isolées à la fois, puis sélectionner et récupérer les cellules les plus intéressantes. L'isolement des cellules dans des gouttes distinctes facilite les tests, puis la remise en culture des cellules sélectionnées permet d'obtenir des clones
10 générant des anticorps monoclonaux ou des enzymes industrielles.

Avec la méthode précédemment décrite, environ mille gouttes mélangées sont récupérées ensemble à la sortie du système, il faut donc réaliser de nombreuses étapes ultérieures pour isoler les cellules présentant les meilleures dispositions pour synthétiser le composé d'intérêt. En variante, la méthode précédemment décrite peut être utilisée
15 pour récupérer seulement une goutte mais ceci est difficile à mettre en œuvre du fait du faible volume de la goutte à manipuler et, en outre, dans ce cas, le reste des gouttes est perdu ou éliminé.

La publication « Interfacing picoliter droplet microfluidics with addressable microliter compartments using fluorescence activated cell sorting » de Bai et al., publiée
20 en ligne le 28 décembre 2013 dans la revue *Sensors and Actuators B: Chemical*, propose une méthode qui permet d'isoler les gouttes une à une. Cette méthode consiste à gélifier les gouttes contenant les molécules ou cellules d'intérêt avant de les placer dans un cytomètre de flux à tri cellulaire activé par fluorescence (appelé FACS pour
25 *Fluorescence Activated Cell Sorter*) qui va ensuite les distribuer dans une plaque.

Cependant, de nombreuses gouttes sont perdues. De plus, un inconvénient majeur de cette méthode est l'étape de gélification de la goutte qui impose des conditions de températures qui ne sont pas forcément compatibles avec toutes les réactions biochimiques ou biologiques. En effet, les auteurs placent leurs échantillons dans un bain
30 de glace, ce qui va arrêter toute réaction.

La demande de brevet WO2012042060 décrit un système de production et de récupération de gouttes. Les gouttes sont générées à une fréquence compatible synchronisée avec la vitesse de déplacement de l'élément de récupération des gouttes.

Cependant, ce système ne permet pas de réinjecter une émulsion. En outre, la
35 séparation des gouttes nécessite une quantité importante d'huile qui rend difficile leur

manipulation. Enfin, ce système ne permet pas d'ajouter un réactif (liquide de lyse par exemple) une fois la goutte formée.

Un but de l'invention est de fournir un procédé de récupération de gouttes plus fiable et plus précis que les procédés existants, permettant un suivi individuel de chaque goutte et une récupération efficace de son contenu.

A cet effet, l'invention a pour objet un procédé du type précité, caractérisé en ce que le procédé comprend les étapes suivantes :

- injection d'un fluide séparateur non miscible avec le fluide porteur dans la zone d'injection, pour séparer le fluide de travail en une pluralité de poches successives comprenant du fluide porteur, chaque poche étant isolée de la poche suivante par un séparateur constitué de fluide séparateur,

- convoyage des poches et des séparateurs, dans la zone de séparation, vers une sortie de la puce,

- récupération dans un compartiment d'un support de récupération d'au moins une poche comprenant une goutte récupérée après le convoyage.

Le procédé selon l'invention peut comprendre l'une ou plusieurs des caractéristiques suivantes, prise(s) isolément ou suivant toute combinaison techniquement possible :

- le conduit de circulation est plus large dans la zone de séparation que dans la zone d'espacement,

- chaque poche comprend du fluide porteur et strictement moins de deux gouttes,

- la sortie de la puce débouche dans un tube d'évacuation présentant une sortie,

- le support comporte plusieurs compartiments séparés les uns des autres, et le procédé comporte, après chaque étape de récupération, une étape de déplacement relatif du support par rapport à la puce, la sortie du tube d'évacuation étant placée en regard d'un compartiment différent après chaque déplacement du support,

- le procédé comprend une étape de détection du passage de gouttes successives ou une détection du passage des poches successives,

- le déplacement du support est commandé en fonction de chaque détection de gouttes ou de chaque détection de poche, pour qu'une seule poche comprenant une goutte détectée à l'étape de détection soit récupérée dans chaque compartiment du support,

- la détection d'une goutte commande l'injection d'un volume de fluide séparateur et la formation d'une poche,

- le procédé comprend une étape de détection de poches dans une zone de détection en aval de la zone de séparation,

4

- le procédé comprend une étape d'ajout d'une solution complémentaire dans au moins une poche,

- la poche dans laquelle la solution complémentaire est ajoutée comprend une goutte d'émulsion et le procédé comporte une étape de fusion de ladite goutte d'émulsion avec la solution complémentaire ajoutée.

- la formation des poches est effectuée à une fréquence comprise entre 1 poche par secondes et 1000 poches par secondes ;

- le diamètre de chaque goutte est inférieur ou égal à celui du conduit de circulation 46 ;

- le diamètre de chaque poche est supérieur ou égal à celui du conduit de circulation 46 ;

- le diamètre de chaque séparateur est supérieur ou égal à celui du conduit de circulation 46, le fluide séparateur étant de préférence un gaz.

L'invention a également pour objet un système de récupération de gouttes comprenant :

- une puce comportant un conduit de circulation de fluide définissant successivement dans le sens de circulation des fluides, une zone d'entrée, une zone d'espacement, une zone d'injection et une zone de séparation,

- un dispositif d'injection d'une émulsion de gouttes d'un fluide interne dispersées dans un fluide externe, dans la zone d'entrée,

- un dispositif d'injection d'au moins un fluide porteur miscible avec le fluide externe dans la zone d'espacement, pour former dans le conduit de circulation un fluide de travail comprenant du fluide porteur et des gouttes de l'émulsion espacées les unes des autres le long du conduit,

- un dispositif d'injection d'un fluide séparateur non miscible avec le fluide porteur dans la zone d'injection, pour séparer le fluide de travail en une pluralité de poches successives comprenant du fluide porteur, chaque poche étant isolée de la poche suivante par un séparateur constitué de fluide séparateur, et

- une unité de commande propre à faire circuler le fluide de travail dans le conduit de circulation, et à convoyer les poches et les séparateurs, dans la zone de séparation, vers une sortie de la puce,

- un support de récupération, le support comportant au moins un compartiment, pour la récupération d'au moins une poche comprenant une goutte dans le compartiment.

Le système de récupération de gouttes selon l'invention peut comprendre l'une ou plusieurs des caractéristiques suivantes, prise(s) isolément ou suivant toute combinaison techniquement possible :

- la sortie de la puce débouche dans un tube d'évacuation présentant une sortie, le support comportant plusieurs compartiments séparés les uns des autres, et le système comprend un dispositif de déplacement relatif du support par rapport à la puce, après chaque récupération, le dispositif de déplacement étant propre à placer la sortie du tube d'évacuation en regard d'un compartiment différent après chaque déplacement du support par rapport à la puce,

- le système comprend un capteur propre à détecter le passage de gouttes successives dans la zone d'espacement, le dispositif de déplacement étant commandé en fonction de chaque détection de gouttes, pour qu'une seule poche comprenant une goutte détectée à l'étape de détection soit récupérée dans chaque compartiment du support,

- la sortie de la puce débouche dans un tube d'évacuation, le tube d'évacuation définit une lumière interne débouchant sur une embouchure ouverte, le tube d'évacuation comprenant une paroi externe et le système comprend un embout présentant un passage traversant, le tube d'évacuation étant placé dans le passage traversant et le système comprend une unité de soufflage propre à injecter un flux d'air dans le passage traversant de sorte à ce qu'une partie de l'air longe la paroi externe du tube d'évacuation, jusqu'à l'embouchure du tube d'évacuation.

L'invention a également pour objet un dispositif de distribution de poches comprenant :

- un tube d'évacuation, définissant une lumière interne débouchant sur une embouchure ouverte, le tube d'évacuation comprenant une paroi externe ;

- un dispositif de mise en circulation dans la lumière interne du tube d'évacuation d'une pluralité de poches successives comprenant un fluide porteur, chaque poche étant isolée de la poche suivante par un séparateur constitué d'un fluide séparateur, le fluide séparateur étant non miscible avec le fluide porteur;

- un embout présentant un passage traversant, le tube d'évacuation étant placé dans le passage traversant de l'embout ;

- une unité de soufflage propre à injecter un flux d'air dans le passage traversant de sorte à ce qu'une partie de l'air longe la paroi externe du tube d'évacuation, jusqu'à l'embouchure du tube d'évacuation.

L'invention a également pour objet un procédé de distribution de poches comprenant les étapes suivantes :

- fourniture d'un dispositif de distribution tel que précédemment décrit ;

- mise en circulation des poches successives dans la lumière interne,

- injection d'air dans le passage traversant de l'embout, le débit d'air et le débit des poches étant ajustés pour que chaque poche se détache successivement de l'embouchure du tube d'évacuation.

L'invention sera mieux comprise à la lecture de la description qui va suivre, donnée uniquement à titre d'exemple, et faite en se référant aux dessins annexés, sur
5 lesquels :

- la figure 1 est une représentation schématique d'un premier système de récupération de gouttes selon l'invention,

- la figure 2 est une représentation schématique d'une émulsion avant l'injection
10 dans le système de récupération des gouttes,

- la figure 3 est une représentation détaillée d'une partie d'un deuxième système de récupération de gouttes selon l'invention,

- la figure 4 est une représentation détaillée d'une partie d'un troisième système de récupération de gouttes ;

- la figure 5 est une représentation détaillée d'une partie d'un quatrième système de récupération ;
15

- la figure 6 est une représentation détaillée d'un dispositif de distribution de poche d'un cinquième système de récupération ;

- la figure 7 est une représentation détaillée du dispositif de distribution de poche
20 de la figure 6, lors d'une étape suivante d'un procédé de distribution de poches ;

- la figure 8 est un résultat de distribution de poche obtenu après une distribution de poches par le dispositif de distribution de poche de la figure 6 ;

- la figure 9 est un autre résultat de distribution de poche obtenu après une distribution de poches par le dispositif de distribution de poche de la figure 6.

Dans la description qui va suivre, les termes « amont » et « aval » et les termes
25 « entrée » et « sortie » sont utilisées en référence au sens normaux de circulation des fluides du système.

Le terme « longitudinal » est défini par rapport à la direction du conduit de circulation dans la puce. On appelle « plan transversal » les plans qui sont
30 perpendiculaires à la direction longitudinale.

Le terme « diamètre » d'un élément désigne l'étendue maximale de l'élément considérée dans un plan transversal.

On appelle « fréquence des gouttes », le nombre de gouttes par seconde passant devant un point fixe du conduit de circulation.

35 Un premier système de récupération 1 de gouttes est représenté sur la figure 1.

Le premier système de récupération 1 de gouttes est prévu pour isoler et récupérer séparément les gouttes 4 d'une émulsion 6.

Une émulsion 6 de gouttes 4 est représentée sur la figure 2.

L'émulsion 6 est constituée d'une pluralité de gouttes 4 d'un fluide interne 8
5 dispersées dans un fluide externe 10.

L'émulsion 6 est sensiblement stable, cela signifie que pour un volume fixe de l'émulsion 6, le nombre et le volume des gouttes 4 varient de moins de 5 % lorsque le volume fixe de l'émulsion 6 est conservé entre -80 °C et 80 °C, à 1 bar pendant 48 h.

L'émulsion 6 est concentrée. Ceci signifie que la fraction volumique de gouttes 4
10 dans l'émulsion 6 est comprise entre 30 % et 40 %. Chaque goutte 4 constitue un compartiment fermé rempli de fluide interne 8.

Les gouttes 4 de l'émulsion 6 sont, de préférence, sensiblement monodisperses. Les gouttes 4 présentent, par exemple, un volume compris entre 2 pL et 2 µL.

Au moins certaines gouttes 4 de l'émulsion 6 sont différentes d'autres gouttes 4 de
15 l'émulsion 6.

Chaque goutte 4 comprend un fluide interne 8 potentiellement différent d'une goutte 4 à l'autre.

Avantageusement, le fluide interne 8 de toutes les gouttes 4 comprend au moins une même base commune 12. Par exemple, la base commune 12 est une solution
20 tampon adaptée à la survie de cellules comme une solution de tampon phosphate salin ou un milieu de culture.

Le fluide interne 8 de chaque goutte 4 est constitué d'éléments propres 14 à la goutte 4 et de la base commune 12. Les proportions des éléments propres 14 et de la base commune 12 et/ou les natures des éléments propres 14 varient d'une goutte 4 à
25 l'autre.

Par exemple, les éléments propres 14 d'une goutte 4 sont une cellule et des éléments sécrétés par la cellule, comme des protéines.

Avantageusement, plus de 10 % du volume de la goutte 4 est constitué de la base commune 12.

30 Le fluide interne 8 de chaque goutte 4 est non miscible avec le fluide externe 10. On entend par non miscible que le coefficient de partage entre les deux fluides est inférieur à 10^{-3} . Les gouttes 4 sont bien définies dans l'émulsion 6 et les échanges entre deux gouttes 4 voisines dans l'émulsion 6 sont limités aux composés solubles ou légèrement solubles dans le fluide externe 10, c'est-à-dire avec un coefficient de partage
35 supérieur ou égal à 10^{-3} et dans les cas où les compositions sont différentes entre gouttes 4 voisines.

Avantageusement, la base commune 12 est non miscible avec le fluide externe 8.

Dans l'exemple, le fluide interne 8 est une phase aqueuse et le fluide externe 10 est une phase organique notamment une phase huileuse.

Le fluide externe 10 comprend par exemple des hydrofluoroéthers comme FC-40
5 ou HFE-7500, formant une huile fluorée.

Le fluide externe 10 comprend, en outre, avantageusement un tensio-actif. Le
tensio-actif est propre à stabiliser l'émulsion 6. Le tensio-actif est, par exemple, un
copolymère à bloc de polyéthylène glycol et de perfluoropolyéther (PEG-PFPE). Par
exemple, la concentration de tensio-actif dans le fluide externe 10 est comprise entre 2 %
10 et 5 %.

L'émulsion 6 est, par exemple, préparée au moyen d'un dispositif de préparation
et conservée avant d'être utilisée dans le premier système de récupération 1.

Le premier système de récupération 1 est destiné à récupérer séparément les
gouttes 4 de l'émulsion 6.

15 Le premier système de récupération de gouttes 1, représenté sur la figure 1,
comprend une puce 20 de séparation, une unité de commande 21 et un dispositif 22
d'injection de l'émulsion 6 dans la puce 20. En outre, le premier système de récupération
1 comprend un dispositif 24 d'injection de fluide porteur 26 dans la puce 20 pour former
un fluide de travail 28, un dispositif 32 d'injection d'un fluide séparateur 33 dans la puce
20 et un support de récupération 34.
20

Comme cela sera décrit par la suite, l'unité de commande 21 est propre à
contrôler l'injection dans la puce 20 du fluide séparateur 33 par le dispositif 32 d'injection
du fluide séparateur 33 pour séparer le fluide de travail 28 en une pluralité de poches 35
successives, susceptibles de contenir une goutte 4, comme illustré sur la figure 1.

25 En complément, le premier système de récupération 1 de gouttes comprend un
capteur 36 propre à détecter le passage de gouttes 4 successives de l'émulsion 6 dans le
fluide de travail 28. Le premier système de récupération 1 de gouttes comprend, en outre,
un tube d'évacuation 38, un détecteur de sortie 40 et un dispositif de déplacement 42
relatif du support 34 par rapport à la puce 20.

30 La puce 20 comporte un conduit de circulation 46 de fluide définissant
successivement dans le sens de circulation des fluides, une zone d'entrée 48, une zone
d'espacement 50 des gouttes présentant avantageusement une région de mesure 52, une
zone d'injection 54 de fluide séparateur 33 et une zone de séparation 56.

Le conduit de circulation 46 s'étend selon un axe longitudinal X.

35 La puce 20 est, dans l'exemple, un bloc rectangulaire étendu selon l'axe
longitudinal X et un axe transversal Y perpendiculaire à l'axe longitudinal X. En outre, la

puce présente une épaisseur selon un axe d'élévation Z perpendiculaire à l'axe longitudinal X et à l'axe transversal Y.

Dans la suite, les termes « inférieurs » et « supérieurs » s'entendent par rapport à l'axe d'élévation Z, perpendiculaire à l'axe longitudinal X. La direction de l'axe d'élévation Z est par exemple sensiblement verticale.

Par exemple, la section transversale, c'est-à-dire selon un plan comprenant l'axe transversal Y et l'axe d'élévation Z, du conduit de circulation 46 est rectangulaire. Le conduit de circulation 46 est délimité par quatre parois latérales.

En variante, la section transversale présente d'autres formes.

L'aire maximale de la section transversale du conduit 46 est inférieure à 1 mm^2 .

La puce 20 est transparente au moins dans la région de mesure 52. Avantageusement la puce 20 est réalisée en matériau transparent, par exemple en polydiméthylsiloxane (PDMS).

Le matériau de la puce 20 est imperméable au fluide porteur 26. Dans une variante, le matériau de la puce 20 est, de plus, imperméable au fluide séparateur 33, par exemple lorsque le fluide séparateur 33 est un liquide.

La puce 20 comporte une première entrée 60 débouchant dans la zone d'entrée 48 du conduit de circulation 46, au moins une deuxième entrée 62 débouchant dans la zone d'espacement 50 du conduit de circulation 46 et au moins une troisième entrée 64 débouchant dans la zone d'injection 54 du conduit de circulation 46. La puce 20 comporte une sortie 66 par laquelle le conduit de circulation 46 débouche dans le tube d'évacuation 38.

La première entrée 60 est en communication fluidique en amont avec le dispositif d'injection 22 de l'émulsion, comme illustré sur la figure 1.

La zone d'entrée 48 du conduit de circulation 46 s'étend de la première entrée 60 à la zone d'espacement 50.

La forme du conduit de circulation 46 dans la zone d'entrée 48 est adaptée pour permettre l'injection de l'émulsion 6 dans la zone d'entrée 48 et le passage d'une goutte 4 à la fois vers la zone d'espacement 48.

Dans l'exemple représenté sur la figure 1, le conduit de circulation 46 dans la zone d'entrée 48 présente une première portion 68 et une deuxième portion formant une pointe convergente 70.

La première portion 68 présente un diamètre constant le long de l'axe longitudinal X.

La deuxième portion 70 débouche dans la zone d'espacement du conduit de circulation. Elle permet le passage d'une goutte 4 à la fois vers la zone d'espacement 48.

La deuxième portion 70 présente une forme de pointe convergente dans le sens de circulation des fluides selon un plan comprenant l'axe longitudinal X et l'axe transversal Y.

5 L'angle de la pointe convergente 70 est adapté pour éviter que les gouttes 4 coalescent. Par exemple, les parois latérales opposées du conduit de circulation 46 au niveau de la pointe convergente 70 forment entre elles un angle compris entre 45 ° et 70 °.

Le diamètre de la première portion 68 est le diamètre maximal de la pointe convergente 70.

10 Par exemple, le diamètre minimal de la pointe convergente 70 est sensiblement égal au diamètre moyen des gouttes 4.

La deuxième entrée 62 est en communication fluide en amont avec le dispositif d'injection du fluide porteur 26 comme illustré sur la figure 1.

15 La forme du conduit de circulation 46 dans la zone d'espacement 50 est adaptée pour permettre l'injection du fluide porteur 26 entre les gouttes 4 de l'émulsion 6.

Ainsi, le conduit de circulation 46 comporte dans la zone d'espacement 50, une jonction 72 avec la deuxième entrée 62.

20 Avantageusement, la jonction 72 comporte au moins un canal secondaire 74 avec un angle compris entre 45° et 90° par rapport à l'axe longitudinal X et débouchant dans le conduit de circulation 46.

Dans l'exemple représenté sur la figure 1, la jonction 72 comporte deux canaux secondaires 74 débouchant de part et d'autre du conduit de circulation 46.

25 Le conduit de circulation 46 présente dans la zone d'espacement 50 à l'écart de la jonction 72, une section transversale de diamètre inférieur à celle de la première portion du voisinage de l'entrée 60, par exemple, sensiblement égal à 400 % du diamètre de moyen des gouttes 4. Avantageusement, ce diamètre est égal au diamètre minimal de la pointe convergente 70.

La zone d'espacement 50 s'étend de la zone d'entrée 48 à la zone d'injection 54.

30 La zone d'espacement 50 présente, en outre, une région de mesure 52 dans laquelle les gouttes 4 sont détectées par le capteur 36, comme cela sera décrit par la suite. La dimension de cette région de mesure 52 est par exemple égale au diamètre d'une goutte 4. En variante, la région de mesure 52 s'étend selon un plan transversal sur une surface égale à la section du conduit de circulation 46.

35 La longueur de la zone d'espacement 50 est de préférence supérieure à 3 fois le diamètre du conduit de circulation 46.

La troisième entrée 64 est en communication fluïdique en amont avec le dispositif d'injection 32 de fluïde séparateur 33 comme illustré sur la figure 1.

La forme du conduit de circulation 46 dans la zone d'injection 54 est adaptée pour permettre l'injection du fluïde séparateur 33 entre les gouttes 4 du fluïde de travail 28.

5 Ainsi, le conduit de circulation 46 comporte dans la zone d'injection 54, une jonction 76 avec la troisième entrée 64.

Le conduit de circulation 46 dans la zone de séparation 56 présente une forme évasée de sorte que la dimension du conduit de circulation atteigne le diamètre interne du tube d'évacuation 38.

10 Le diamètre du conduit de circulation 46 est plus important en sortie de la zone de séparation 56 que dans la zone d'espacement 50.

Le conduit de circulation 46 présente un diamètre maximal dans la zone de séparation compris entre 10 μm et 2 mm avantageusement supérieur au diamètre de la goutte 4.

15 L'unité de commande 21 est propre à piloter les débits des différents fluïdes 6, 26, 28, 33, à recevoir les signaux du capteur 36 et du détecteur de sortie 40 et à enregistrer les caractéristiques des gouttes 4.

L'unité de commande 21 est propre à contrôler le dispositif d'injection 22 d'une émulsion, le dispositif d'injection 24 du fluïde porteur, le dispositif d'injection 32 du fluïde
20 séparateur.

Le dispositif d'injection 22 d'une émulsion est propre à injecter une émulsion 6 de gouttes 4 d'un fluïde interne 8 dispersées dans un fluïde externe 10 dans la zone d'entrée 48 par la première entrée 60.

L'unité de commande 21 est propre à contrôler le dispositif d'injection 22 de
25 l'émulsion 6 pour qu'il injecte l'émulsion 6 dans la zone d'entrée 48 à un débit compris entre 1 $\mu\text{L/h}$ et 500 $\mu\text{L/h}$ et avantageusement à un débit de 80 $\mu\text{L/h}$.

Le dispositif d'injection 22 d'une émulsion comporte par exemple un récipient dans lequel est placé un volume de l'émulsion 6 compris entre 1 nL et 2 mL. Le dispositif d'injection 22 d'une émulsion comporte, en outre, un tuyau de connexion permettant de
30 mettre en communication fluïdique le récipient et la première entrée 60 et un moyen de mise en circulation de l'émulsion, comme illustré sur la figure 1.

Par exemple le dispositif d'injection 22 de l'émulsion comporte un pousse-seringue, une seringue remplie d'émulsion 6 et un tuyau de connexion.

Le dispositif d'injection 24 du fluïde porteur est propre à injecter le fluïde porteur 26
35 dans la zone d'espacement 50 par la deuxième entrée 62 pour former dans le conduit de circulation 46 un fluïde de travail 28.

L'unité de commande 21 est propre à contrôler le dispositif d'injection 24 du fluide porteur 26 pour qu'il injecte du fluide porteur 26 dans la zone d'espacement 50 par la deuxième entrée 62 à un débit compris entre 5 $\mu\text{L}/\text{h}$ et 5 mL/h et avantageusement à un débit de 1 mL/h .

5 Le débit d'injection du fluide porteur 26 est par exemple ajusté de sorte que la fréquence des gouttes 4 dans la zone d'espacement 50 soit comprise par exemple entre 0,5 gouttes par secondes et 500 gouttes par secondes et avantageusement de 30 gouttes par secondes.

10 Le dispositif d'injection 24 du fluide porteur 26 comporte par exemple un récipient dans lequel est placé un volume du fluide porteur 26 compris entre 10 μL et 10 mL . Le dispositif d'injection 24 comporte en outre un tuyau de connexion permettant de mettre en communication fluïdique le récipient et la deuxième entrée 62 et un moyen de mise en circulation du fluide porteur 26.

15 De même, le dispositif d'injection 24 comporte par exemple un pousse-seringue, une seringue rempli de fluide porteur 26 et un tuyau de connexion.

Le fluide porteur 26 est miscible avec le fluide externe 10.

Par exemple, le fluide porteur 26 utilisé est le même que le fluide externe 10 c'est-à-dire de l'huile fluorée HFE avec le même tensio-actif avec une concentration comprise entre 0 % et 0,5 %.

20 Le fluide de travail 28 comprend du fluide porteur 26, du fluide externe 10 et des gouttes 4 de l'émulsion 6 espacées les unes des autres le long du conduit de circulation 48.

L'unité de commande 21 est propre à faire circuler le fluide de travail 28 dans le conduit de circulation 46 en aval de la zone d'espacement 50.

25 L'unité de commande 21 impose un débit fixe pour le fluide de travail 28 en contrôlant les débits du dispositif d'injection 22 de l'émulsion 6 et du dispositif d'injection 24 du fluide porteur 26. L'unité de commande 21 contrôle, de plus, le débit du dispositif d'injection 32 du fluide séparateur 33. Par exemple, l'unité de commande 21 est propre à faire varier le débit du dispositif d'injection 32 du fluide séparateur 33 selon la présence ou
30 non d'une goutte 6 détectée par le capteur 36 dans la zone d'espacement.

Le capteur 36 est propre à détecter le passage de gouttes 4 successives de l'émulsion 6 dans la zone d'espacement 50. En outre, le capteur 36 est propre à effectuer une mesure au sein de la goutte 4. Par exemple, la mesure est une mesure optique, comme une mesure de fluorescence.

35 L'unité de commande 21 est propre à mémoriser les informations mesurées par le capteur goutte 4 par goutte 4.

La mesure dépend du fluide interne 8 présent dans la goutte 4. Avantageusement la mesure permet de déterminer la nature ou la concentration de l'élément propre 14 à chaque goutte 4.

5 L'unité de commande 21 est propre à déclencher l'injection de fluide séparateur en fonction de la mesure du capteur 36.

Le dispositif d'injection 32 du fluide séparateur 33 est propre à injecter le fluide séparateur 33 non miscible avec le fluide porteur 26 dans la zone d'injection 54 pour séparer le fluide de travail 28 en une pluralité de poches 35 successives comprenant du fluide porteur 26.

10 Chaque poche 35 est isolée de la poche 35 suivante par un séparateur 80 constitué de fluide séparateur 33.

Le fluide séparateur 33 est non miscible avec le fluide porteur 26.

Le fluide séparateur 33 est de préférence un gaz.

15 Dans l'exemple, le fluide séparateur 33 est de l'air. Le séparateur 80 est une bulle d'air.

Le diamètre de chaque poche 35 est supérieur ou égal à celui du conduit de circulation 46.

20 Le volume de chaque séparateur 80 est supérieur à deux fois le volume d'une goutte 4. Le diamètre de chaque séparateur 80 est supérieur ou égal à celui du conduit de circulation 46. Le diamètre de chaque séparateur 80 est par exemple égal au diamètre intérieur du tube d'évacuation 38.

L'unité de commande 21 est propre à faire circuler les poches 35 et les séparateurs 80, dans la zone de séparation, vers la sortie 66 de la puce 20.

25 Le support 34 comporte au moins un compartiment 82 propre à recevoir une poche 35. Par exemple, le support 34 est une boîte de Pétri.

Avantageusement, le support 34 comporte plusieurs compartiments 82 séparés les uns des autres.

30 Par exemple, le support 34 est une plaque à 96 puits, chaque puits étant un compartiment 82 séparé de récupération. En variante, le support 34 est une plaque à 24 puits ou à 384 puits ou autres.

Le tube d'évacuation 38 présente une entrée 84 et une sortie 86 et une lumière interne 87 débouchant par l'entrée 84 et la sortie 86. La lumière interne 87 s'étend dans le prolongement du conduit de circulation 46.

35 L'entrée 84 du tube d'évacuation 38 est connectée de manière étanche à la sortie 66 de la puce 20.

La sortie 86 du tube d'évacuation 38 est propre à être placée en regard du compartiment 82, pour la récupération d'au moins une poche 35 comprenant une goutte 4 dans le compartiment 82.

Le tube d'évacuation 38 est par exemple un capillaire en téflon présentant un
5 diamètre interne avantageusement supérieur à 0,1 mm.

La dimension du tube d'évacuation 38 est adaptée à la dimension des poches 35 souhaitée.

Le volume des poches 35 est supérieur au volume d'une goutte de diamètre égal au diamètre intérieur du tube d'évacuation 38, de façon à faciliter leur visualisation par le
10 détecteur de sortie 40 et leur dépôt dans le support 34.

Le détecteur de sortie 40 est situé en aval de la zone de séparation 56. Avantageusement, le détecteur de sortie 40 est propre à détecter successivement chaque poche 35 dans le tube d'évacuation 38.

Selon la taille des gouttes, le détecteur de sortie 40 est en outre avantageusement
15 propre à détecter les gouttes 4 dans le tube d'évacuation 38. L'unité de commande 21 est apte à commander le déplacement du support 34.

Dans l'exemple, le dispositif de déplacement 42 est une platine robotisée. Le dispositif de déplacement 42 est apte à déplacer le support 34 par rapport au tube d'évacuation 38 et à la puce 20. Par exemple, la platine est apte à déplacer le support 34
20 horizontalement à une vitesse comprise entre $0,5 \text{ mm.s}^{-1}$ et 45 mm.s^{-1} .

Avantageusement, l'unité de commande 21 est propre à commander le dispositif de déplacement 42 en fonction de chaque détection de gouttes 4 par le capteur 36, pour qu'une seule poche 35 comprenant une goutte 4 détectée à l'étape de détection soit récupérée dans chaque compartiment 82 du support 34. En variante ou en complément,
25 l'unité de commande 21 commande le dispositif de déplacement 42 en fonction des signaux détectées par le détecteur de sortie 40.

Par exemple, la détection des gouttes 4 ou poches 35 par le détecteur de sortie 40 permet de déclencher le mouvement du dispositif de déplacement 42 afin de mettre une goutte 4 par compartiments 82. Après chaque récupération, le dispositif de déplacement
30 42 est propre à placer la sortie 86 du tube d'évacuation 38 en regard d'un compartiment 82 différent après chaque déplacement du support 34 par rapport à la puce 20.

Un procédé de récupération des gouttes 4, selon l'invention, va maintenant être décrit.

Le premier système de récupération 1 de gouttes est fourni. Le dispositif
35 d'injection 22 de l'émulsion 6 est fourni avec une émulsion 6 telle que précédemment décrite.

L'émulsion 6 de gouttes 4 est injectée dans la zone d'entrée 48 de la puce 20 au moyen du dispositif d'injection 22 de l'émulsion 6. L'émulsion 6 est mise en circulation par exemple à un débit de 80 μ L/h.

5 Les gouttes 4 de l'émulsion 6 arrivent une à une dans la zone d'espacement 50 en raison de la pointe convergente 70 de la zone d'entrée 48.

Le fluide porteur 26 est injecté dans la zone d'espacement 50 au moyen du dispositif d'injection 24 du fluide porteur 26 pour former dans le conduit de circulation un fluide de travail. Le fluide porteur 26 est mis en circulation par exemple à un débit de 1mL/h.

10 Chaque goutte 4 est espacée des autres gouttes 4 par du fluide porteur 26.

La distance entre chaque goutte 4 est, par exemple, supérieure au diamètre intérieur du tube d'évacuation 38. La distance entre chaque goutte 4 dans la zone d'espacement 50 est suffisante pour pouvoir injecter du fluide séparateur 33 entre les gouttes 4 sans perturber le fluide de travail 28.

15 Le fluide de travail 28 est convoyé dans le conduit de circulation 46.

Les gouttes 6 dans le fluide de travail 28 sont espacées et ordonnées le long du conduit de circulation 46.

Les gouttes 6 du fluide de travail 28 passent une à une dans la région de mesure 52.

20 Une étape de détection du passage de gouttes 6 successives dans la région de mesure 52 est mise en œuvre par le capteur 36.

Le capteur 36 mesure une information relative à la goutte 6. Par exemple, la mesure est une mesure de fluorescence représentative de l'élément propre 14 de la goutte 6. Les informations recueillies sont par exemple une activité enzymatique, un nombre de cellules, une biomasse ou une quantité de protéine produites dans la goutte.

25 L'unité de commande 21 mémorise le numéro de la goutte 6 et les informations mesurées dans l'ordre.

Les gouttes 6 du fluide de travail 28 passent une à une dans la zone d'injection 54.

30 L'unité de commande 21 déclenche l'injection de fluide séparateur 33 en fonction de la mesure du capteur 36, de sorte qu'il y ait un séparateur 80 entre chaque goutte 4. Le fluide séparateur 33 est injecté dans la zone d'injection 54 au moyen du dispositif d'injection 32 de fluide séparateur. Le fluide séparateur 33 sépare le fluide de travail 28 en une pluralité de poches 35 successives. Le fluide séparateur 33 est injecté entre deux gouttes 4 successives 6 du fluide de travail 28. L'injection de fluide séparateur 33 permet
35 la formation de poches 35 et des séparateurs 80.

Chaque séparateur 80 sépare deux poches 35 successives de fluide de travail 28. Il est immiscible avec la poche 35.

Les poches 35 sont des cavités de fluide de travail 28 séparées par le séparateur 80. Les poches 35 comprennent principalement du fluide porteur 26. Au moins une poche 5 35 de préférence, plus de 100 % des poches 35 contiennent de plus une goutte 4 de l'émulsion 6.

Le volume des poches 35 est supérieur au volume d'une goutte de diamètre égal au diamètre intérieur du tube d'évacuation 38.

Le débit d'injection du fluide séparateur 33 par le dispositif d'injection 32 de fluide 10 séparateur 33 est ajusté par l'unité de commande 21 pour que chaque poche 35 contienne strictement moins de deux gouttes 4. Par exemple, l'ajustement est passif, le débit d'injection du fluide séparateur 33 est constant. Certaines poches 35 sont vides de gouttes 4 d'autres poches 35 comprennent une goutte 4 seulement.

Avantageusement, le débit d'injection du fluide séparateur 33 par le dispositif 15 d'injection 32 de fluide séparateur 33 est ajusté en temps réel par l'unité de commande 21 pour que chaque poche 35 contienne exactement une goutte 4 de l'émulsion 6. Par exemple, la détection d'une goutte 4 par le capteur 36, entraîne la commande par l'unité de commande 21 de l'injection d'un volume déterminé de fluide séparateur 33 permettant la formation d'une poche 35. Ce mécanisme actif permet de s'assurer que chaque poche 20 formée ne soit pas vide et contienne une goutte 4 seulement.

La fréquence de formation des poches 35 dépend de la taille des gouttes 4. Plus le volume des gouttes 4 est important, plus la fréquence de formation des poches 35 est lente. La formation des poches 35 est, par exemple, effectuée à une fréquence comprise entre 0,5 poches par secondes et 500 poches par secondes.

25 Les poches 35 sont ensuite convoyées dans le tube d'évacuation 38.

Les poches 35 et les séparateurs 80 sont convoyés dans la zone de séparation 56, vers la sortie 66 de la puce par l'unité de commande 21, le conduit de circulation 46 présentant un diamètre de plus en plus grand. Le débit des fluides est conservé lors de ce changement d'échelle mais la fréquence des gouttes 4 est modifiée. Ainsi la fréquence de 30 circulation des poches 35 dans le tube d'évacuation 38 est inférieure à la fréquence de circulation des gouttes 4 en sortie 66 de la zone d'espacement 50. Cette diminution de fréquence est proportionnelle au carré du ratio du diamètre intérieur du tube d'évacuation 38 sur le diamètre du conduit de circulation 46.

35 Les poches 35 et les séparateurs 80 entrent successivement dans le tube d'évacuation 38.

Le changement d'échelle permet de modifier la fréquence de circulation des gouttes 4. Par exemple, lorsqu'il y a une goutte 4 par poche 35, les gouttes 4 dans le tube d'évacuation 38 circulent à la fréquence de circulation des poches 35.

Par exemple, les dimensions sont adaptées pour que si les gouttes 4 circulent à 100 gouttes par secondes devant un point de la région de mesure 52, elles circulent à 6 gouttes par secondes dans le tube d'évacuation 38.

Avantageusement, la vitesse de circulation des poches 35 dans le tube d'évacuation 38 est inférieure à la vitesse maximale de déplacement du dispositif de déplacement 42.

Avantageusement, chaque poche 35 est détectée par le détecteur de sortie 40. En variante, les gouttes 4 dans les poches sont détectées par le détecteur de sortie 40.

Ensuite au moins une poche 35 comprenant une goutte 4 est récupérée dans un compartiment 82 du support 34. La poche 35 est récupérée dans le compartiment 82 placé sous la sortie 86 du tube d'évacuation 38.

L'unité de commande 21 déclenche le mouvement du dispositif de déplacement 42 en fonction de la mesure du détecteur de sortie 40 de sorte que chaque poche 35 ou goutte 4 soit récupérée dans un compartiment 82 différent du support 34.

Chaque goutte 4 est tracée par l'unité de commande 21. Par exemple les gouttes 4 sont détectées au niveau du capteur 36 et sont numérotées. Chaque goutte 4 de l'émulsion 6 est ainsi associée à la fois à une mesure et au compartiment 82 dans lequel elle a été récupérée.

En complément, le procédé comporte, après chaque étape de récupération, une étape de déplacement relatif du support 34 par rapport à la puce 20, la sortie 86 du tube d'évacuation 38 étant placée en regard d'un compartiment 82 différent après chaque déplacement du support 34.

Le déplacement du support 34 est commandé par l'unité de commande 21 en fonction de chaque détection de gouttes 4, pour qu'une seule poche 35 comprenant une goutte 4 détectée à l'étape de détection soit récupérée dans chaque compartiment 82 du support 34.

Un deuxième système de récupération 100 va être présenté en regard de la figure 3. Le deuxième système de récupération diffère du premier système de récupération 1 en ce qu'il comprend un dispositif d'injection 102 d'une solution complémentaire 104 dans au moins une poche 35.

La solution complémentaire 104 est immiscible avec le fluide séparateur 33. De plus, la solution complémentaire 104 est avantageusement miscible avec le fluide interne 18 et immiscible avec le fluide porteur 26.

Par exemple, la solution complémentaire 104 ajoutée permet de diluer la goutte 4 de l'émulsion 6. En variante, la solution complémentaire 104 ajoutée comprend un marqueur facilitant la détection de la goutte 4 au sein de la poche 35 par le détecteur de sortie 40. En variante, la solution complémentaire 104 ajoutée est un réactif de lyse
5 cellulaire ou un réactif destiné à faciliter la cryoconservation du fluide interne la goutte 4.

L'unité de commande 21 est propre à contrôler le dispositif d'injection 102 de la solution complémentaire 104.

Le procédé de récupération des gouttes avec le deuxième système de récupération 100 diffère du procédé précédemment décrit en ce que le procédé comprend
10 une étape d'ajout d'une solution complémentaire 104 dans au moins une poche 35. Par exemple, un même volume de solution complémentaire 104 est ajouté dans chaque poche 35 par le dispositif d'injection 102 d'une solution complémentaire 104.

Avantageusement, la poche 35 dans laquelle la solution complémentaire est ajoutée comprend une goutte d'émulsion 6 et le procédé comporte en complément une
15 étape de fusion de ladite goutte d'émulsion 6 avec la solution complémentaire 104 ajoutée. La fusion est dite passive. La faible concentration de tensio-actif présent dans le fluide porteur 26 ne permet plus de stabiliser les gouttes 6 de la coalescence. La goutte d'émulsion et la goutte de fluide complémentaire étant confinées dans la poche 35 entre deux séparateurs 80, ont une forte probabilité de contact.

L'invention qui vient d'être décrite fournit un procédé de récupération de gouttes 4
20 plus fiable et plus précis que les procédés existants, permettant un suivi individuel de chaque goutte 4. En effet, chaque goutte 4 est récupérée individuellement dans un compartiment 82 du support 34.

Une fois les gouttes 4 récupérées dans le support 34 macroscopique, il est
25 possible d'effectuer des étapes d'analyse, des réactions chimiques ou des réactions biologiques classiques sur le contenu des gouttes 4. Par exemple, si les gouttes 4 contiennent des cellules, le système de récupération 1, 100 permet de récupérer les gouttes 4 individuellement avant de cultiver séparément les cellules.

Le système de récupération 1, 100 permet de récupérer des gouttes 4
30 individuelles à partir d'une quantité faible de gouttes 4 d'une émulsion 6. Par exemple, en partant de 0,1 μL d'émulsion 6 contenant 10 000 gouttes par μL , le système de récupération 1, 100 permet de récupérer individuellement 1000 gouttes.

En outre, chaque goutte 4 est associée à un signal de mesure. Le système de
35 récupération 1, 100 permet d'avoir un lien entre l'information individuelle de la goutte 4 et la goutte 4 isolée. Chaque goutte 4 analysée est récupérable.

La mesure effectuée dans la région de mesure 52 est précise car la surface de la région de mesure 52 est adaptée au volume de la goutte 4. Le passage dans une échelle macroscopique permet la récupération du contenu de la goutte 4 dans un support 34 plus facilement manipulable. Enfin le système 1, 100 est automatisable. En effet, la taille des
5 poches 35 facilite la manipulation des gouttes 4 et permet l'emploi d'instruments variés pour la récupération et après la récupération.

Le placement d'une goutte 4 dans chaque poche 35 permet en particulier de manipuler un objet macroscopique de volume significativement plus important que celui d'une goutte 4 individuelle, ce qui facilite la manipulation et garantit l'intégrité de la goutte
10 4.

Dans une variante, la sortie 66 de la puce débouche directement en regard d'un compartiment 82 du support 34 et le dispositif de déplacement 42 est propre à placer la sortie 66 de la puce 20 en regard d'un compartiment 82 différent après chaque déplacement du support 34 par rapport à la puce 20.

En variante, le système de récupération de gouttes comporte un dispositif de préparation de l'émulsion 6 disposé en amont de la zone d'entrée 48 de la puce 20.

Les débits sont avantageusement réglés par l'unité de commande 21 en fonction de la vitesse maximale de déplacement du dispositif de déplacement 42.

Dans un exemple, le système de récupération 1, 100 comporte en outre une zone d'incubation. L'émulsion 6 comporte des gouttes 4 comprenant une cellule ou aucune cellule.
20

Le procédé comprend la mise en culture de chaque cellule récupérée. L'analyse des gouttes 4 avant la sélection permet par exemple de ne cultiver que les cellules susceptibles de générer un clone intéressant. En outre, il n'est pas nécessaire d'effectuer
25 plusieurs repiquages de clones avant d'obtenir une culture monoclonale puisque la cellule est déjà isolée avant la mise en culture. Ceci évite de devoir effectuer des dilutions limites multiple.

Par exemple, dans le cas du criblage de bactéries synthétisant un composé d'intérêt, le système permet d'associer le signal mesuré pour chaque goutte 4 contenant
30 une bactérie ou une colonie issue d'une cellule unique au compartiment 84 dans lequel la goutte 4 a été récupérée. Ainsi, la bactérie est cultivée dans un milieu de culture adapté en fonction des informations mesurées.

Un troisième système de récupération 110 va être présenté en regard de la figure 4. Le troisième système de récupération 110 diffère des systèmes de récupération 1, 100 précédemment décrits en ce que l'injection de l'émulsion 6 dans la puce 20 est prévue par
35 une partie inférieure de la puce 20.

Telle que représentée sur la figure 4, la puce 20 comprend un bloc supérieur 112 et un bloc inférieur 114 définissant entre eux le conduit de circulation 46. La puce 20 comprend en outre, dans la zone d'entrée 48, un bloc de connexion d'entrée 116. Dans la zone d'entrée 48, le bloc inférieur 114 est pris en sandwich entre le bloc supérieur 112 et le bloc de connexion d'entrée 116 selon la direction d'élévation Z. Par exemple, le bloc supérieur 112 et le bloc de connexion 116 sont en PDMS et le bloc inférieur 114 est en verre.

Le bloc de connexion d'entrée 116 définit un conduit d'entrée 118 s'étendant selon la direction d'élévation Z.

Dans la zone d'entrée 48, le bloc inférieur 114 est percé d'un orifice d'entrée 120. L'orifice d'entrée 120 traverse toute l'épaisseur du bloc inférieur 114 et débouche par la face supérieure du bloc inférieur 114 dans le conduit de circulation 46 et par la face inférieure du bloc inférieur 114 dans le conduit d'entrée 118.

Le conduit d'entrée 118 est aligné avec l'orifice d'entrée 120. Par exemple, le conduit d'entrée 118 est centré par rapport à l'orifice d'entrée 120.

Le diamètre de l'orifice d'entrée 120 est supérieur au diamètre du conduit d'entrée 118. Par exemple, le diamètre du conduit d'entrée 118 mesure 750 micromètres (μm) et le diamètre de l'orifice d'entrée 120 mesure 1,4 mm.

Le conduit d'entrée 118 débouche en aval dans l'orifice d'entrée 120 et en amont par la première entrée 60 dans un tube d'injection 122 relié au dispositif d'injection 22 de l'émulsion.

Le procédé de récupération des gouttes 4 avec le troisième système de récupération 110 diffère des procédés de récupération précédemment décrit en ce que l'injection de l'émulsion 6 est facilitée.

En effet, le flux de gouttes 4 passe directement du tube de d'injection 122 au conduit d'entrée 118, puis par l'orifice d'entrée 120 avant d'arriver dans le conduit de circulation 46 sans rencontrer d'obstacle. La lumière apparente est continue et de diamètre croissant dans le sens de circulation de l'émulsion 6, du tube de d'injection 122 au conduit d'entrée 118 et du conduit d'entrée 118 à l'orifice d'entrée 120. Ceci prévient les blocages de gouttes 4 dans des angles morts de connexion.

Dans ce troisième système de récupération 110, lors du transfert de l'émulsion 6 dans la puce 20, les pertes de gouttes 4 sont limitées.

L'injection prévue dans le troisième système de récupération 110 est particulièrement avantageuse pour les émulsions 6 comprenant un fluide interne 8 moins dense que le fluide externe 10. En effet si la direction d'élévation Z est verticale, la

poussée d'Archimède favorise la montée des gouttes 4 selon la direction d'élévation Z dans le conduit d'entrée 118.

Un quatrième système de récupération 130 va être présenté en regard de la figure 5. Le quatrième système de récupération 130 diffère des systèmes de récupération 1, 100, 110 précédemment décrits en ce que la sortie des poches 35 et des séparateurs 80 de la puce 20 est prévue sur une partie supérieure de la puce 20.

Telle que représentée sur la figure 5, la puce 20 comprend un bloc supérieur 132 et un bloc inférieur 134 définissant entre eux le conduit de circulation 46. La puce 20 comprend en outre, au niveau de la sortie 66 de la puce, un bloc de connexion de sortie 136. Au niveau de la sortie 66, le bloc supérieur 132 est pris en sandwich entre le bloc inférieur 134 et le bloc de connexion d'entrée 136 selon la direction d'élévation Z.

Le bloc supérieur 132 définit un conduit de sortie 138. Le conduit de sortie 138 s'étend selon la direction d'élévation Z, perpendiculairement au conduit de circulation 46. Le conduit de sortie 138 débouche par la sortie 66 dans la lumière interne 87 du tube d'évacuation 38. Le diamètre du conduit de sortie 138 est inférieur au diamètre interne du tube d'évacuation 38.

Le bloc de connexion 136 définit un orifice 140 de diamètre supérieur au diamètre du conduit de sortie 138. Le diamètre de l'orifice 140 est sensiblement égal au diamètre externe du tube d'évacuation 38.

Dans un exemple, le tube d'évacuation 38 présente un diamètre interne de 750 micromètres et un diamètre externe de 1,6 mm, le conduit de sortie 138 présente un diamètre de 500 micromètres et l'orifice 140 présente un diamètre de 1,6 mm.

Le tube d'évacuation 38 est introduit dans l'orifice 140 du bloc de connexion 136 de sorte que la lumière du conduit de sortie 138 et la lumière interne 87 du tube d'évacuation 38 soient continues. L'extrémité amont 142 du tube d'évacuation 38 est en contact avec la face supérieure du bloc supérieur 132.

Le procédé de récupération des gouttes 4 avec le quatrième système de récupération 130 diffère des procédés précédemment décrit en ce que le transfert des poches 35 et séparateurs 80 de la puce 20 vers le tube d'évacuation 38 est facilitée.

En effet, le flux de poches 35 et de séparateur 80 passe directement du conduit de circulation 46 au conduit de sortie 138, puis dans la lumière 87 du tube d'évacuation 38 sans rencontrer d'obstacle. Les poches 35 en circulation circulent dans des conduits 138, 87 dont le diamètre augmente de la puce 20 vers le tube d'évacuation 38 dans le sens de circulation des gouttes 4 contenues dans les poches 35 et séparateur 80. En outre, du fait de la direction du conduit de sortie 138, les gouttes 4 ne sont pas coincées dans un angle

mort au moment du changement d'échelle. Ceci permet de prévenir les blocages de gouttes ou séparateur dans des angles morts de connexion.

La sortie de la puce 20 prévue dans ce quatrième système de récupération 130 est particulièrement avantageuse lorsque le fluide porteur 26 est moins dense que le fluide séparateur 33. En effet si la direction d'élévation Z est verticale, la poussée d'Archimède favorise la montée des gouttes 4 selon la direction d'élévation Z dans le conduit de sortie 138 puis dans la lumière interne 87.

Un cinquième système de récupération 150 va être présenté en regard des figures 6 à 9. Le cinquième système de récupération 150 diffère des systèmes de récupération 1, 100, 110, 130, précédemment décrits en ce que le système 150 comprend un dispositif de distribution 152 de poches 35.

Le dispositif de distribution de poches 152 comprend le tube d'évacuation 38, un dispositif de mise en circulation 154 d'une pluralité de poches 35 successives, chaque poche 35 étant isolée de la poche 35 suivante par un séparateur 80 constitué de fluide séparateur 33, dans la lumière interne 87 du tube d'évacuation 38.

Le dispositif de distribution 152 de poches 35 comprend en outre un embout 156 propre à recevoir le tube d'évacuation 38 et une unité de soufflage 158.

Le dispositif de mise en circulation 154 est propre à contrôler le débit des poches 35 dans la lumière interne 87 du tube d'évacuation 38. Par exemple le dispositif de mise en circulation 154 est piloté par l'unité de commande 121. Le dispositif de mise en circulation 154 contrôle le dispositif d'injection 22 de l'émulsion 6, le dispositif 24 d'injection de fluide porteur 26 et/ou le dispositif 32 d'injection du fluide séparateur 33 dans la puce 20 pour que les poches 35 circulent dans la lumière interne 87 à un débit compris entre 100 $\mu\text{L/h}$ et 5 mL/h et avantageusement à un débit de 2 mL/h .

Le tube d'évacuation 38 présente une portion principale 160 et une portion de sortie 162 reliée par un zone de rétrécissement 164.

La lumière interne 87 du tube d'évacuation 38 débouche sur une embouchure ouverte 166 dans la portion de sortie 162.

La portion principale 160 s'étend de l'extrémité amont 142 du tube d'évacuation 38, par exemple disposé à la sortie de la puce 66 à la zone de rétrécissement 164. La portion de sortie 162 s'étend de la zone de rétrécissement 64 à l'embouchure ouverte 166 située à l'extrémité aval du tube d'évacuation 38.

Le diamètre externe de la portion de sortie 162 du tube d'évacuation 38 est inférieur au diamètre extérieur de la portion principale 160 du tube d'évacuation 38. Par exemple, le diamètre externe de la portion de sortie 162 est sensiblement égal au diamètre interne de la portion principale 160.

Par exemple, la portion principale 160 présente un diamètre externe de 1,6 mm et un diamètre interne de 0,75 mm, et la portion de sortie 162 présente un diamètre externe de 0,75 mm et un diamètre interne de 0,3 mm.

En outre, le dispositif de récupération 152 comprend avantageusement un dispositif d'injection 168 de fluide séparateur 33 additionnel. Le dispositif d'injection 168 de fluide séparateur additionnel est propre à ajouter du fluide séparateur 33 dans au moins un séparateur 80 circulant dans la portion principale 160 du tube d'évacuation 38. Le dispositif d'injection 168 de fluide séparateur additionnel est propre à ajouter plus de 2 cm de fluide séparateur entre les poches 35.

L'embout 156 est par exemple un tube en verre. L'embout 156 est étendu selon la direction d'élévation Z. L'embout 156 présente un passage traversant 170 dans laquelle est disposée la portion de sortie 162 du tube d'évacuation 38.

L'embout 156 comprend une portion supérieure cylindrique 172 et une portion inférieure 174 creuse présentant une section tronconique ou incurvée. Le passage traversant 170 est étendu selon la direction d'élévation Z et débouche dans la portion inférieure 174 par un orifice délimité par un col 176.

Le diamètre de l'orifice délimité par le col 176 de l'embout 156 est légèrement supérieur au diamètre externe de la portion de sortie 162 du tube 38. Le diamètre interne de la portion supérieure 172 est supérieur au diamètre externe de la portion de sortie 162 du tube d'évacuation 38.

La portion inférieure 174 de l'embout 156 présente avantageusement une forme biseautée à 45°.

Le tube d'évacuation 38 est placé dans le passage traversant 170 de l'embout 156 de telle sorte que le tube d'évacuation 38 fasse saillie hors de l'embout 156. L'embouchure 166 est hors de l'embout 156. Par exemple l'embouchure 166 du tube d'évacuation 38 est à une distance du col 176 de l'embout 156 comprise entre 1 mm et 10 mm.

La paroi externe 164 du tube d'évacuation 38 est en appui sur le col 176 de l'embout 156 à la sortie du passage traversant 170.

L'unité de soufflage 158 est propre à injecter un flux d'air dans le passage traversant 170 de sorte à ce qu'une partie de l'air longe la paroi externe 164 du tube d'évacuation 38, jusqu'à l'embouchure 166 du tube d'évacuation 38. Par exemple, l'unité de soufflage 158 comporte un tube d'injection de 3 m de long et de diamètre interne 150 µm et la pression d'injection en entrée du tube d'injection est comprise entre 500 mBar et 1600 mBar.

Le dispositif de distribution de poches 152 comprend une unité de contrôle 180 propre à contrôler l'unité de soufflage 158 de sorte à ce qu'elle injecte de l'air dans le passage traversant 170 à un débit compris entre 1 $\mu\text{L/h}$ et 2 mL/h et avantageusement à un débit de 500 $\mu\text{L/h}$.

5 En outre, l'unité de contrôle 180 commande le dispositif de mise en circulation des poches 154.

Un procédé de distribution de poches va maintenant être décrit.

10 Un dispositif de distribution 152 tel que précédemment décrit est fourni. Des poches 35 et des séparateurs 80 sont mis en circulation dans la lumière interne 87 par le dispositif de mise en circulation 154.

Dans un exemple, du fluide séparateur additionnel est injectée dans les séparateurs 80 par le dispositif d'injection 168.

15 De l'air est injecté dans le passage traversant 170 de l'embout 156 par l'unité de soufflage 158. Le débit d'air et le débit des poches 35 sont ajustés par l'unité de contrôle 180 pour que chaque poche 35 se détache successivement de l'embouchure 166 du tube d'évacuation 38.

Ce dispositif améliore la distribution des gouttes.

20 La figure 7 représente l'éjection d'une poche 35. Une partie du fluide porteur 26 de la poche 26 adhère à la paroi externe 164 du tube d'évacuation 138 par capillarité. Le flux d'air longeant la paroi externe 164 du tube d'évacuation 38 permet de décrocher la poche 35.

L'injection d'air par l'unité de soufflage 158 à travers l'embout 156 permet d'éjecter la poche 35 du tube d'évacuation 38 avant l'arrivée de la poche 35 suivante en évitant que la poche 35 reste fixée à l'embouchure 166

25 Les figures 8 et 9 présentent des résultats de distribution obtenus pour différentes conditions expérimentales. Le support de récupération 34 est une feuille de papier.

Ces résultats ont été obtenus avec un débit de poches dans le tube d'évacuation 38 maintenus à trois poches par seconde par l'unité de contrôle 180.

30 Dans l'exemple de la figure 8, les poches 35 ont été récupérées sur le support 34 dans des conditions de fragmentation.

Les poches 35 sont récupérées une à une sur le support 34. Chaque poche est éjectée de la sortie avant l'arrivée de la poche 35 suivante.

Cependant, certaines poches 35 se fragmentent lors de l'éjection. Un débit d'air supérieur à 1,6 bar aboutit à une fragmentation des poches 35 individuelles récupérées.

35 Chaque tâche 182 formée sur le support 34 provient seulement d'une poche 35. Une même poche 35 qui s'est fragmenté lors de l'éjection forme un groupe 186 de petites

taches visibles sur le support 34. Certaines poches 35 ne se fragmentent pas et forment une tache 184 plus large.

Dans un deuxième exemple de distribution présenté sur la figure 9, les débits sont ajustés pour que les poches 35 conservent leur volume intègre lors de l'éjection. Les 5 poches 35 individuelles sont distribuées sans fragmentation. Les taches 184 obtenues sur le support 34 présentent sensiblement le même diamètre.

Le réglage des paramètres permet de faciliter l'extraction et la localisation des poches 35 sur le support 34.

REVENDEICATIONS

1.- Procédé de récupération de gouttes (4), comprenant les étapes suivantes :

5 - fourniture d'une puce (20) comportant un conduit de circulation (46) de fluide définissant successivement dans un sens de circulation des fluides, une zone d'entrée (48), une zone d'espacement (50), une zone d'injection (54) et une zone de séparation (56),

- injection d'une émulsion (6) de gouttes (4) d'un fluide interne (8) dispersées dans un fluide externe (10), dans la zone d'entrée (48),

10 - injection d'au moins un fluide porteur (26) miscible avec le fluide externe (10) dans la zone d'espacement (50), pour former dans le conduit de circulation (46) un fluide de travail (28) comprenant du fluide porteur (26) et des gouttes (4) de l'émulsion (6) espacées les unes des autres le long du conduit (46),

- convoyage du fluide de travail (28) dans le conduit de circulation (46),

15 caractérisé en ce que le procédé comprend les étapes suivantes :

- injection d'un fluide séparateur (33) non miscible avec le fluide porteur (26) dans la zone d'injection, pour séparer le fluide de travail (28) en une pluralité de poches (35) successives comprenant du fluide porteur (26), chaque poche (35) étant isolée de la poche (35) suivante par un séparateur (80) constitué de fluide séparateur (33),

20 - convoyage des poches (35) et des séparateurs (80), dans la zone de séparation (56), vers une sortie (66) de la puce (20),

- récupération dans un compartiment (82) d'un support de récupération (34) d'au moins une poche (35) comprenant une goutte (4) récupérée après le convoyage.

25 2.- Procédé selon la revendication 1, dans lequel le conduit de circulation (46) est plus large dans la zone de séparation (56) que dans la zone d'espacement (50).

3.- Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 ou 2, dans lequel chaque poche (35) comprend du fluide porteur (26) et strictement moins de deux gouttes (4).

30 4.- Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel la sortie (66) de la puce (20) débouche dans un tube d'évacuation (38) présentant une sortie (86).

35 5.- Procédé selon la revendication 4, dans lequel le support (34) comporte plusieurs compartiments (82) séparés les uns des autres, et le procédé comporte, après chaque étape de récupération, une étape de déplacement relatif du support (34) par rapport à la puce (20), la sortie (86) du tube d'évacuation (38) étant placée en regard d'un compartiment (82) différent après chaque déplacement du support (34).

6.- Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, comprenant une étape de détection du passage de gouttes (4) successives ou une détection du passage des poches (35) successives..

7.- Procédé selon les revendications 5 et 6, prises ensemble dans lequel, le déplacement du support (34) est commandé en fonction de chaque détection de gouttes (4) ou de chaque détection de poche (35), pour qu'une seule poche (35) comprenant une goutte (4) détectée à l'étape de détection soit récupérée dans chaque compartiment (82) du support (34).

8.- Procédé selon l'une quelconque des revendications 6 ou 7, dans lequel la détection d'une goutte (4) commande l'injection d'un volume de fluide séparateur (33) et la formation d'une poche (35).

9.- Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, comprenant une étape de détection de poches (35) dans une zone de détection en aval de la zone de séparation (56).

10.- Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, comprenant une étape d'ajout d'une solution complémentaire (104) dans au moins une poche (35).

11.- Procédé selon la revendication 10, dans lequel la poche (35) dans laquelle la solution complémentaire (104) est ajoutée comprend une goutte (4) d'émulsion (6) et le procédé comporte une étape de fusion de ladite goutte (4) d'émulsion (6) avec la solution complémentaire (104) ajoutée.

12.- Système de récupération de gouttes (1, 100, 110, 130, 150), comprenant :

- une puce (20) comportant un conduit de circulation (46) de fluide définissant successivement dans le sens de circulation des fluides, une zone d'entrée (48), une zone d'espacement (50), une zone d'injection (54) et une zone de séparation (56),

- un dispositif (22) d'injection d'une émulsion (6) de gouttes (4) d'un fluide interne (8) dispersées dans un fluide externe (10), dans la zone d'entrée (48),

- un dispositif (24) d'injection d'au moins un fluide porteur (26) miscible avec le fluide externe (10) dans la zone d'espacement (50), pour former dans le conduit de circulation (46) un fluide de travail (28) comprenant du fluide porteur (26) et des gouttes de l'émulsion (6) espacées les unes des autres le long du conduit (46),

- un dispositif (32) d'injection d'un fluide séparateur (33) non miscible avec le fluide porteur (26) dans la zone d'injection (54), pour séparer le fluide de travail (28) en une pluralité de poches (35) successives comprenant du fluide porteur (26), chaque poche (35) étant isolée de la poche (35) suivante par un séparateur (80) constitué de fluide séparateur (33), et

- une unité de commande (21) propre à faire circuler le fluide de travail (28) dans le conduit de circulation (46), et à convoyer les poches (35) et les séparateurs (80), dans la zone de séparation (56), vers une sortie (66) de la puce (20),

5 - un support de récupération (34), le support (34) comportant au moins un compartiment (82), pour la récupération d'au moins une poche (35) comprenant une goutte (4) dans le compartiment (82).

10 13.- Système de récupération de gouttes (1, 100, 110, 130, 150) selon la revendication 12, dans lequel la sortie (66) de la puce (20) débouche dans un tube d'évacuation (38) présentant une sortie (86), le support (34) comportant plusieurs compartiments (82) séparés les uns des autres, et le système comprend un dispositif de déplacement (42) relatif du support (34) par rapport à la puce (20), après chaque récupération, le dispositif de déplacement (42) étant propre à placer la sortie (86) du tube d'évacuation (38) en regard d'un compartiment (82) différent après chaque déplacement du support (34) par rapport à la puce (20).

15 14.- Système de récupération de gouttes (1, 100, 110, 130, 150) selon la revendication 13, comprenant un capteur (36) propre à détecter le passage de gouttes (4) successives dans la zone d'espacement (50), le dispositif de déplacement (42) étant commandé en fonction de chaque détection de gouttes (4), pour qu'une seule poche (35) comprenant une goutte (4) détectée à l'étape de détection soit récupérée dans chaque
20 compartiment (82) du support (34).

25 15.- Système de récupération de gouttes (1, 100, 110, 130, 150) selon la revendication 12 à 14, dans lequel la sortie (66) de la puce (20) débouche dans un tube d'évacuation (38), le tube d'évacuation (38) définit une lumière interne (87) débouchant sur une embouchure ouverte (166), le tube d'évacuation (38) comprenant une paroi externe (164) et le système (1, 100, 110, 130, 150) comprend un embout (156) présentant un passage traversant (170), le tube d'évacuation (38) étant placé dans le passage traversant (170) et le système (1, 100, 110, 130, 150) comprend une unité de soufflage (158) propre à injecter un flux d'air dans le passage traversant (170) de sorte à ce qu'une
30 partie de l'air longe la paroi externe (164) du tube d'évacuation (38), jusqu'à l'embouchure (166) du tube d'évacuation (38).

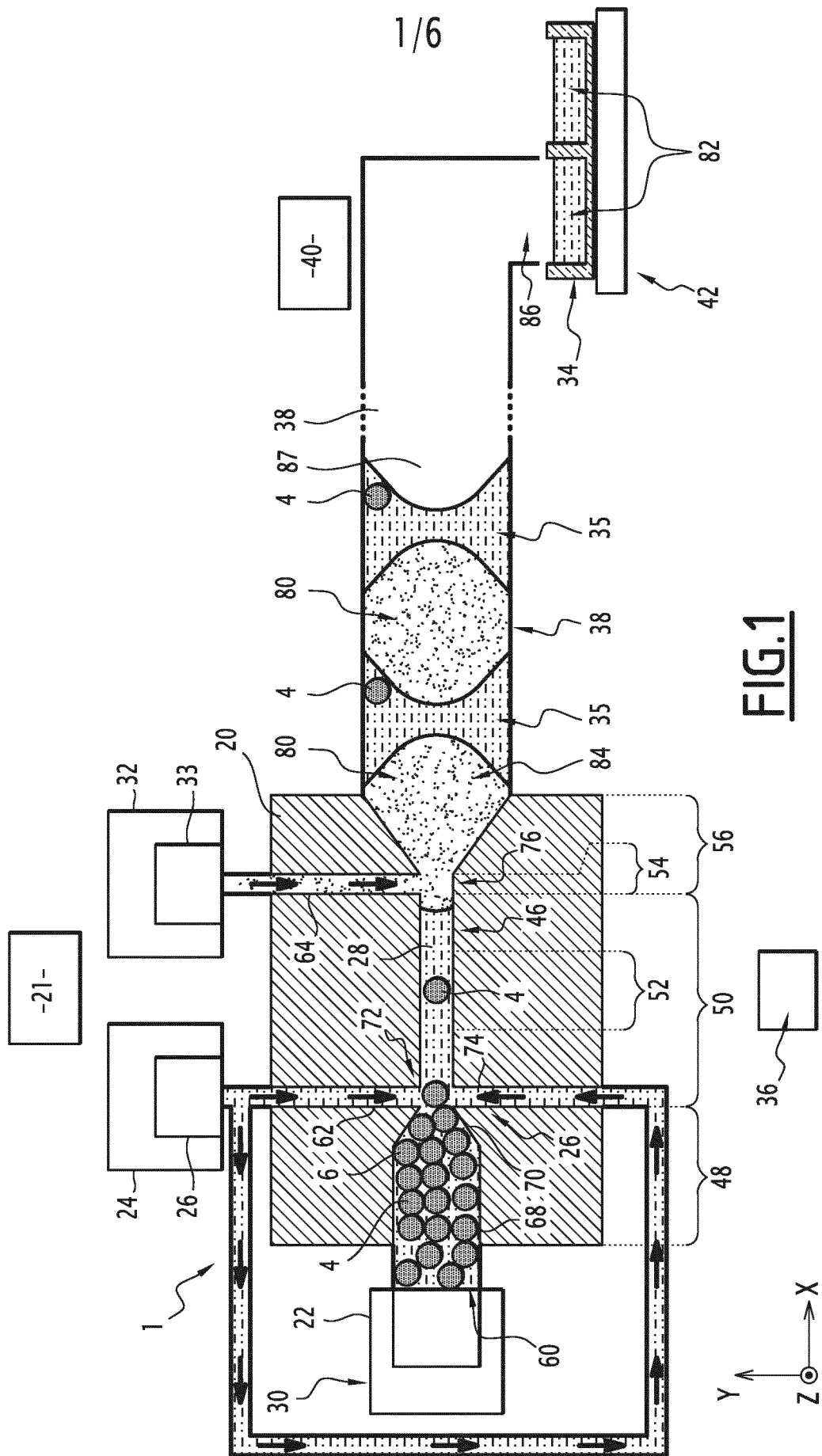


FIG. 1

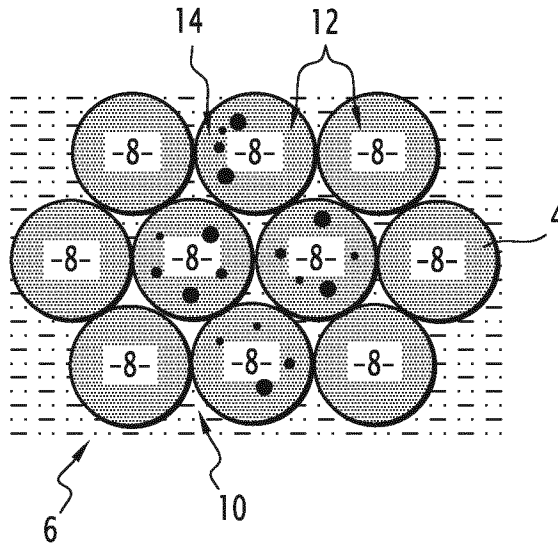


FIG. 2

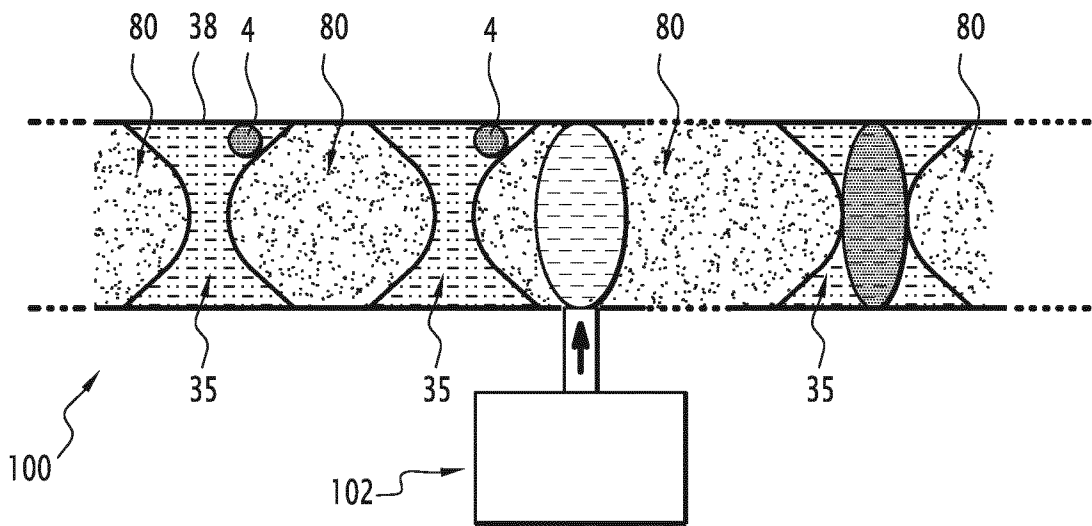


FIG. 3

3/6

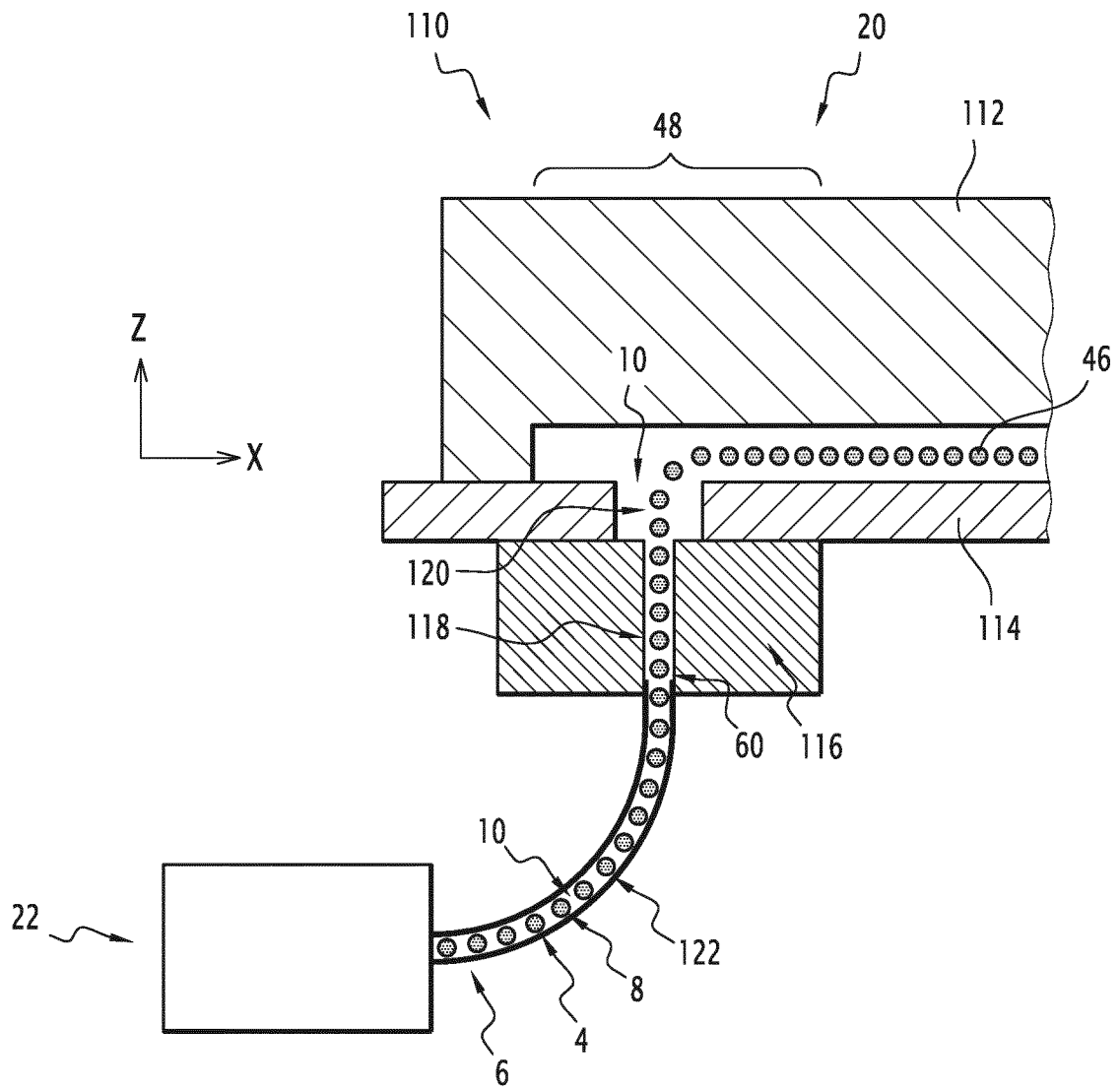


FIG.4

4/6

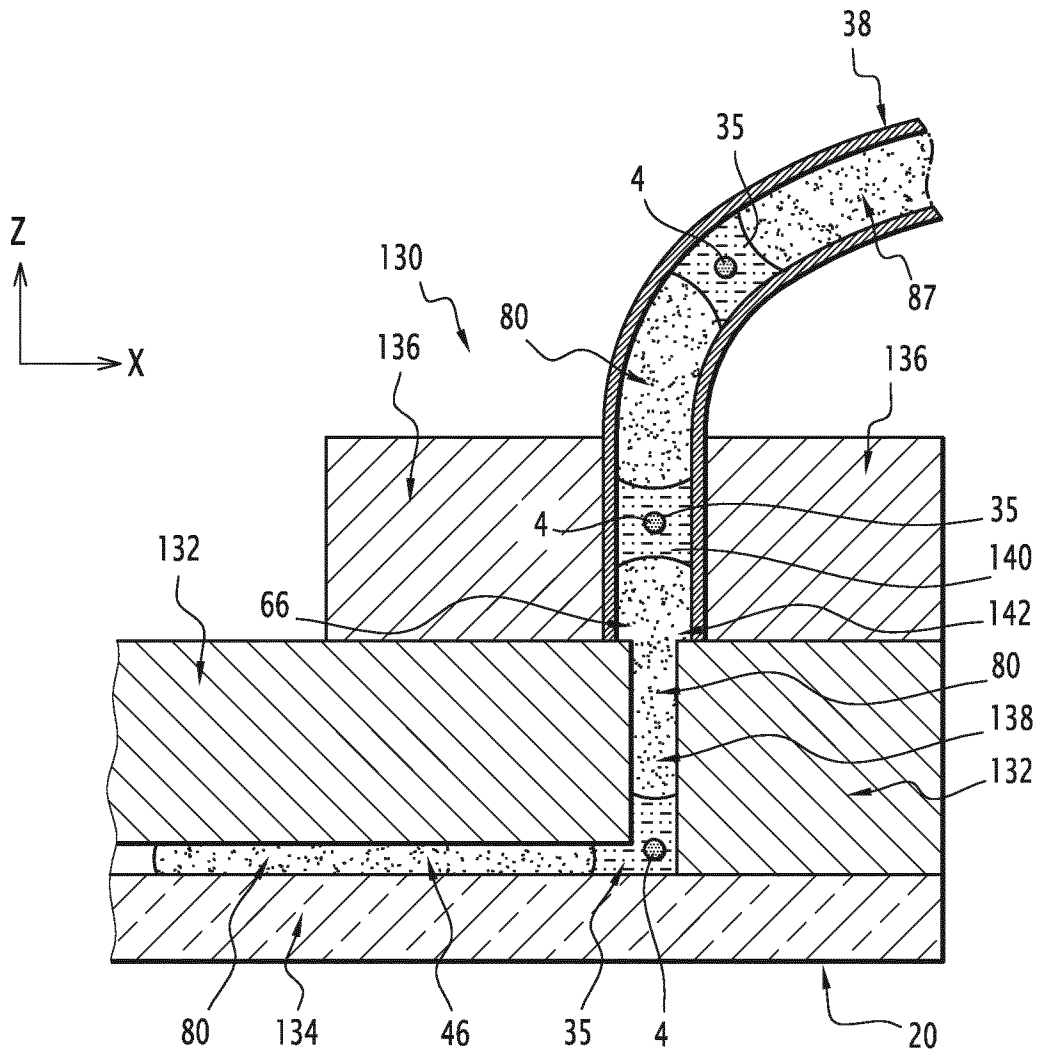


FIG.5

5/6

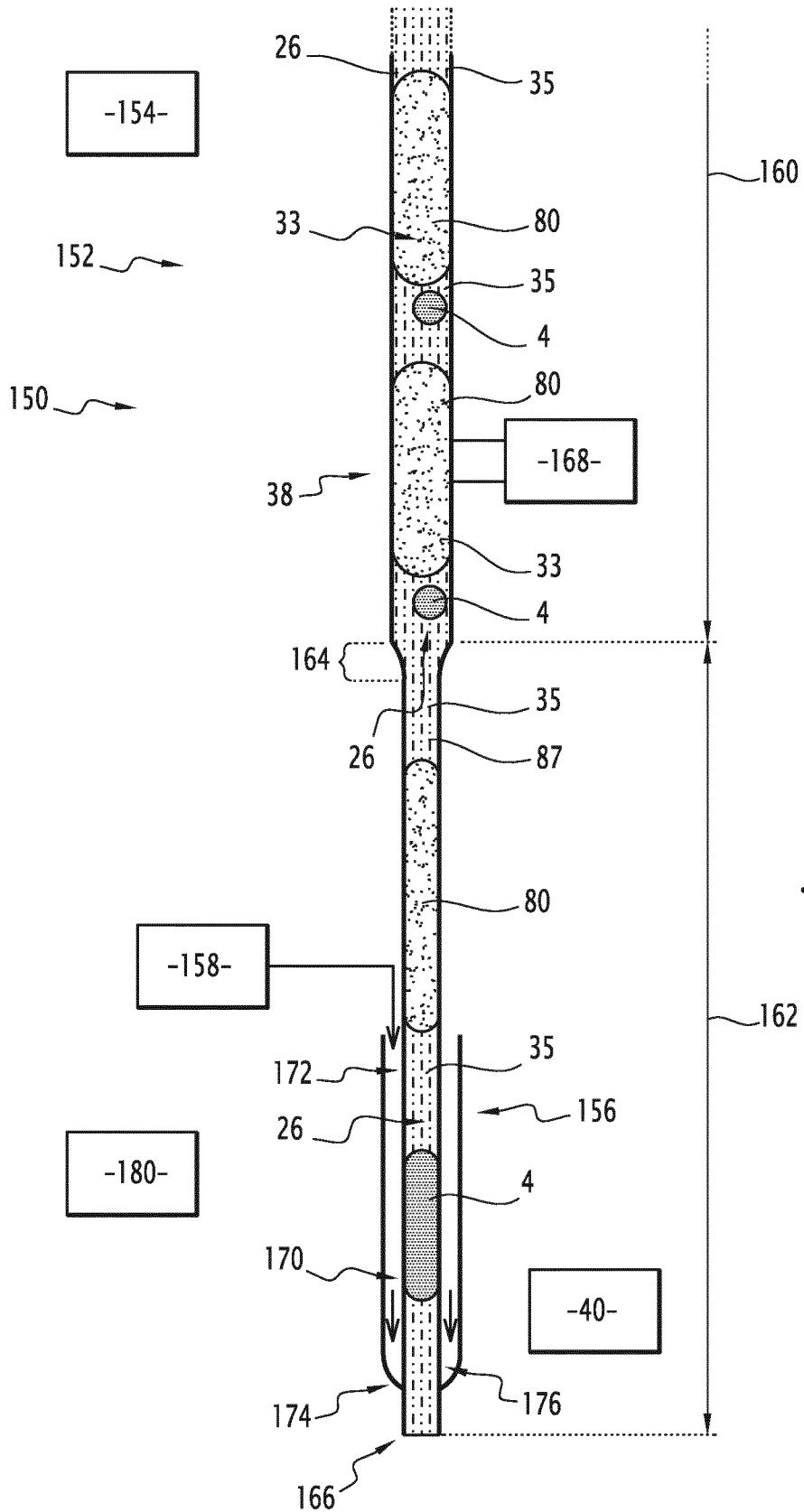


FIG.6

FIG. 7

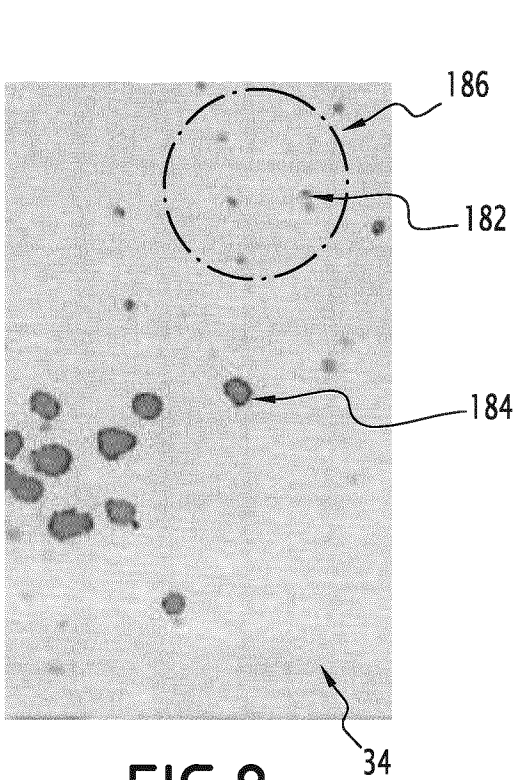
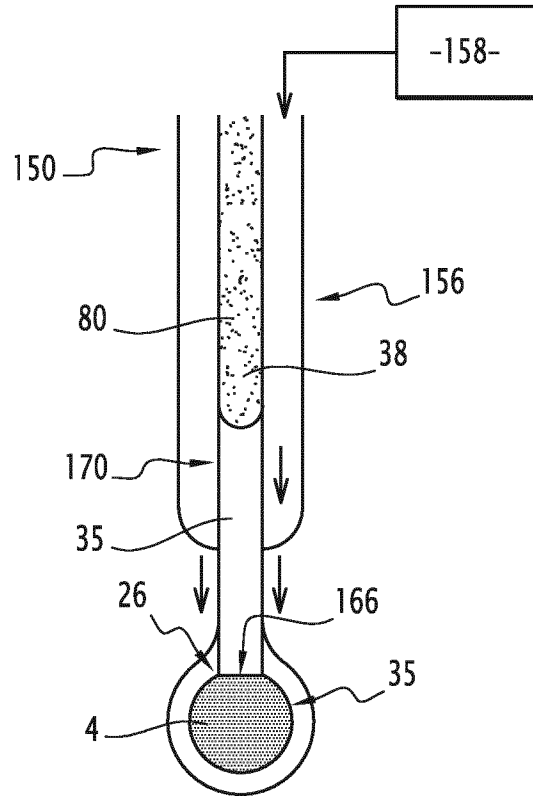


FIG. 8

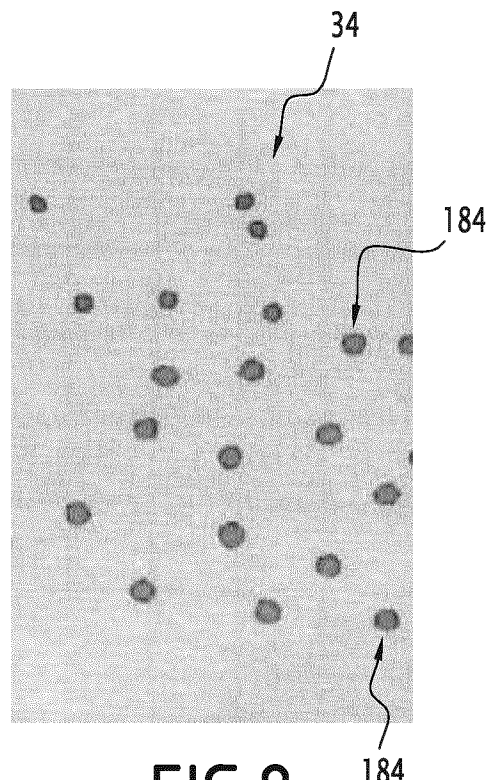


FIG. 9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2016/066180

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. B01L3/00 B01L3/02
ADD.
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
B01L
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 2 436 444 A1 (CENTRE NAT RECH SCIENT [FR]) 4 April 2012 (2012-04-04) paragraphs [0031], [0034], [0042], [0045], [0046], [0049] - [0052], [0060], [0062], [0074] - paragraphs [0075], [0078] - [0080], [0083], [0090], [0091], [0093] - [0099], [0105] figures 1, 2	1-15
X	US 2011/053798 A1 (HINDSON BENJAMIN J [US] ET AL) 3 March 2011 (2011-03-03) paragraphs [0072], [0073], [0077], [0100] - [0106] figures 2, 6, 7	1-15

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search 8 August 2016	Date of mailing of the international search report 17/08/2016
---	---

Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Bischoff, Laura
--	--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2016/066180

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
EP 2436444	A1	04-04-2012	EP 2436444 A1	04-04-2012
			EP 2621631 A1	07-08-2013
			US 2013236901 A1	12-09-2013
			WO 2012042060 A1	05-04-2012

US 2011053798	A1	03-03-2011	CA 2767056 A1	10-03-2011
			EP 2473618 A1	11-07-2012
			EP 2940153 A1	04-11-2015
			JP 2013503630 A	04-02-2013
			US 2011053798 A1	03-03-2011
			US 2016059204 A1	03-03-2016
			WO 2011028539 A1	10-03-2011

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/EP2016/066180

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE INV. B01L3/00 B01L3/02 ADD.		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE		
Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) B01L		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	EP 2 436 444 A1 (CENTRE NAT RECH SCIENT [FR]) 4 avril 2012 (2012-04-04) alinéas [0031], [0034], [0042], [0045], [0046], [0049] - [0052], [0060], [0062], [0074] - alinéas [0075], [0078] - [0080], [0083], [0090], [0091], [0093] - [0099], [0105] figures 1, 2	1-15
X	US 2011/053798 A1 (HINDSON BENJAMIN J [US] ET AL) 3 mars 2011 (2011-03-03) alinéas [0072], [0073], [0077], [0100] - [0106] figures 2, 6, 7	1-15
<input type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents		
<input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités:		
"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée	"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier "&" document qui fait partie de la même famille de brevets	
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée 8 août 2016		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale 17/08/2016
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé Bischoff, Laura

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/EP2016/066180

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP 2436444	A1	04-04-2012	EP 2436444 A1 04-04-2012
			EP 2621631 A1 07-08-2013
			US 2013236901 A1 12-09-2013
			WO 2012042060 A1 05-04-2012

US 2011053798	A1	03-03-2011	CA 2767056 A1 10-03-2011
			EP 2473618 A1 11-07-2012
			EP 2940153 A1 04-11-2015
			JP 2013503630 A 04-02-2013
			US 2011053798 A1 03-03-2011
			US 2016059204 A1 03-03-2016
			WO 2011028539 A1 10-03-2011
