

12

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

22 Date de dépôt : 01.04.98.

30 Priorité :

43 Date de mise à la disposition du public de la
demande : 08.10.99 Bulletin 99/40.

56 Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

60 Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

71 Demandeur(s) : BIO MERIEUX Société anonyme —
FR.

72 Inventeur(s) : COLIN BRUNO, JARAVEL CECILE et
PRIVAT MARIE THERESE.

73 Titulaire(s) :

74 Mandataire(s) : CABINET BONNEAU.

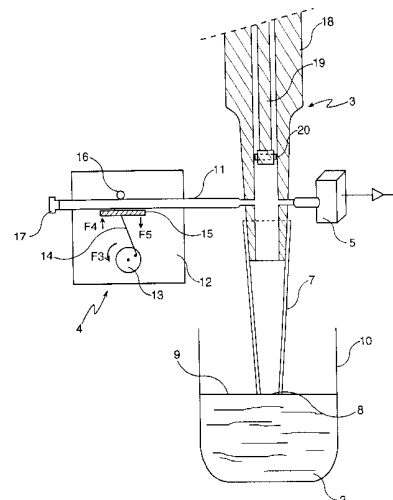
54 PROCEDE DE PRELEVEMENT D'UN ECHANTILLON BIOLOGIQUE PAR L'INTERMEDIAIRE D'UN APPAREIL
D'ASPIRATION-REFOULEMENT.

57 La présente invention concerne un procédé de prélèvement d'un échantillon biologique par l'intermédiaire d'un appareil d'aspiration-refoulement, tel qu'une pipette, manuel ou automatique, incorporé ou non à un automate. Elle concerne également un procédé de détection de la surface libre d'un échantillon biologique, un appareil de prélèvement d'un échantillon, tel qu'une pipette, et un appareil de détection de la surface libre d'un échantillon biologique.

Ce procédé consiste :

- à actionner un moyen engendrant une variation de pression au sein de l'appareil,
- à positionner l'extrémité inférieure libre dudit appareil d'aspiration-refoulement de manière à ce qu'elle affleure la surface libre de l'échantillon biologique, et
- à prélever une quantité dudit échantillon par aspiration au moyen de l'appareil.

L'invention trouve une application préférentielle dans le domaine des analyseurs automatiques.



DESCRIPTION

La présente invention concerne un procédé de prélèvement d'un échantillon biologique par l'intermédiaire d'un appareil d'aspiration-refoulement, tel qu'une pipette, manuel ou automatique, incorporé ou non à un automate. Elle concerne également un procédé de détection de la surface libre d'un échantillon biologique par l'intermédiaire d'un appareil d'aspiration-refoulement manuel ou automatique, incorporé ou non à un automate. Enfin, elle concerne un appareil de prélèvement d'un échantillon, tel qu'une pipette, et un appareil de détection de la surface libre d'un échantillon biologique. Quel que soit l'appareil concerné, celui-ci peut être manuel ou automatique, incorporé ou non à un automate.

Il s'agit d'une nouvelle méthode de détection de niveau de liquide biologique dans une cuvette ou tube d'analyse tout particulièrement nécessaire sur analyseur automatique.

L'état de la technique montre que de nombreuses méthodes sont souvent utilisées sur d'autres automates.

15 *Ces méthodes peuvent être électriques.*

Premièrement, c'est le cas de l'aiguille métallique non jetable, qui remplit la fonction d'électrode, la deuxième électrode étant le liquide dans lequel l'aiguille va plonger. Lorsque cette aiguille rentre en contact avec l'échantillon biologique une variation d'impédance, capacitance ou résistance, après amplification, déclenche l'arrêt du moteur de descente d'aiguille.

Deuxièmement, on peut utiliser un cône ou embout conducteur qui est enfichable et donc jetables après chaque prélèvement par la pipette associée au cône. Ces derniers sont fabriqués dans un matériau plastique chargé en particules de carbone, la liaison électrique est assurée par le préhenseur de cônes qui lui sera obligatoirement métallique.

25 *Troisièmement, d'autres systèmes fonctionnent par l'addition à l'aiguille ou au cône de prélèvement de deux électrodes flanquées, de part et d'autre de l'aiguille ou du cône, et assurant la conduction électrique lorsque ces électrodes entrent en contact avec le liquide biologique. Cette dernière variante présente le défaut majeur de contaminer les électrodes à chaque fois qu'elles entrent en contact avec un nouveau liquide biologique, nécessitant dans ce cas l'adjonction d'un système de lavage décontaminant.*

30 *Ces méthodes peuvent être optiques.*

Premièrement, on peut utiliser une caméra visualisant le niveau de liquide et l'entrée en contact de l'aiguille avec le liquide.

Deuxièmement, on peut également utiliser un système optoélectronique c'est-à-dire qu'un photo détecteur détecte le niveau de liquide et l'amerrissage de l'aiguille ou de la pointe de prélèvement dans le liquide.

Selon tous les modes de réalisation des moyens de prélèvement, associés à des moyens
5 électriques ou optiques, lors du prélèvement, l'aiguille ou l'embout de prélèvement plonge dans l'échantillon biologique à prélever. Si l'aiguille ou pointe rentre trop profondément dans le liquide de l'échantillon, il y a, d'une part, un risque de contamination par l'extérieur de l'aiguille et, d'autre part, un problème de « surdose », c'est-à-dire que la quantité de liquide biologique ayant mouillé la paroi externe de l'aiguille ou de la pointe sera tout ou partiellement
10 déposée après transfert dans le fond de la cuvette d'analyse faussant ainsi l'exactitude de la dose répartie.

De plus les techniques actuelles, qui évitent à l'aiguille ou l'embout de prélèvement de plonger trop profondément dans un échantillon biologique à prélever, nécessitent la présence de moyens de détection complexes (caméra, embouts en carbone, etc) de la surface libre de
15 l'échantillon, moyens qui sont donc onéreux et rendent leur diffusion sur le marché confidentielle.

L'invention propose donc de solutionner l'ensemble de ces problèmes en proposant des procédés et appareils simples à mettre en œuvre. Ceux-ci permettent de supprimer au maximum tous les contacts électriques sources de problèmes, d'utiliser des embouts jetables non
20 conducteurs donc moins coûteux et moins critiques à fabriquer, et de réutiliser un capteur déjà disponible pour la détection de bouchage d'aiguille

A cet effet, la présente invention concerne un procédé de prélèvement d'un échantillon biologique par l'intermédiaire d'un appareil d'aspiration-refoulement, tel qu'une pipette, manuel ou automatique, incorporé ou non à un automate, caractérisé en ce qu'il consiste :

- 25 - à actionner un moyen engendrant une variation de pression au sein de l'appareil,
- à positionner l'extrémité inférieure libre dudit appareil d'aspiration-refoulement de manière à ce qu'elle affleure la surface libre de l'échantillon biologique, et
- à prélever une quantité dudit échantillon par aspiration au moyen de l'appareil.

Ce procédé consiste, préalablement au prélèvement, à mesurer la pression au sein de
30 l'appareil d'aspiration-refoulement, et à déclencher ledit prélèvement dès que l'extrémité inférieure libre dudit appareil affleure la surface libre de l'échantillon biologique.

Selon une variante, le procédé consiste, préalablement au prélèvement, à mesurer une surpression au sein de l'appareil d'aspiration-refoulement, due à l'affleurement de l'extrémité

inférieure libre dudit appareil à la surface libre de l'échantillon biologique, et à déclencher ledit prélèvement.

La présente invention concerne également un procédé de détection de la surface libre d'un échantillon biologique par l'intermédiaire d'un appareil d'aspiration-refoulement manuel
5 ou automatique, incorporé ou non à un automate, caractérisé en ce qu'il consiste :

- à actionner un moyen engendrant une variation de pression au sein de l'appareil, variation de pression qui correspond à l'état de repos dudit appareil, et

- à détecter une pression, au sein de l'appareil d'aspiration-refoulement, qui est différente de la variation de pression au repos, cette pression correspondant à la position dans laquelle
10 l'extrémité inférieure libre dudit appareil affleure la surface libre de l'échantillon.

Dans tous les cas de figure, la variation de volume aspiré-refoulé est comprise entre quelques nanolitres (nl) et quelques microlitres (il), et/ou la variation constante de pression, autrement appelée fréquence, est comprise entre quelques Hertz et quelques centaines de Hertz (Hz).

15 De plus, une variation de pression différente de la variation de pression normalement créée par le moyen engendrant cette variation, avant l'affleurement, permet de détecter une anomalie de l'embout de prélèvement et/ou la présence d'au moins une bulle d'air dans ou à la surface de l'échantillon.

L'invention concerne encore un appareil de prélèvement d'un échantillon biologique, tel
20 qu'une pipette, manuel ou automatique, incorporé ou non à un automate, caractérisé par le fait qu'il comporte :

- au moins un moyen engendrant une variation de pression au sein de l'appareil au repos,

- au moins un capteur de pression pour mesurer la variation de pression au repos ou une pression différente de cette variation de pression au sein de l'appareil, et

25 - des moyens d'analyse des paramètres de mesure du ou des capteurs pour permettre le prélèvement, lorsque l'extrémité inférieure libre dudit appareil d'aspiration-refoulement affleure la surface libre de l'échantillon biologique.

Selon un mode particulier de réalisation l'appareil de détection de la surface libre d'un échantillon biologique est manuel ou automatique, incorporé ou non à un automate ; il
30 comporte :

- au moins un moyen engendrant une variation de pression au sein de l'appareil au repos,

- au moins un capteur de pression pour mesurer la variation de pression au repos ou une pression différente de cette variation de pression au sein de l'appareil, et

- des moyens d'analyse des mesures du ou des capteurs pour détecter l'affleurement de l'extrémité inférieure libre de l'appareil d'aspiration-refoulement par rapport à la surface libre de l'échantillon biologique.

Le moyen engendrant une variation de pression est constitué par un tube souple pouvant être compressé et décompressé régulièrement par tout mécanisme de mouvement alternatif, tel qu'une came, un maneton, associé à un moteur.

L'extrémité inférieure libre de l'appareil est portée par un embout jetable.

Les dessins ci-joints sont donnés à titre d'exemples indicatifs et non limitatifs d'un mode préférentiel de réalisation de la présente invention.

La figure 1 représente une vue schématique d'un appareil de prélèvement selon l'invention qui permet la mise en œuvre du procédé de prélèvement.

La figure 2 représente une vue du signal électrique à la sortie du capteur de pression visualisée par un oscilloscope, lors de l'utilisation d'un appareil selon la figure 1 dans le cas d'un liquide non mouillant.

La figure 3 représente une vue identique à la figure 2 dans le cas d'un liquide mouillant.

La figure 4 représente un détail D de la figure 3.

La figure 5 représente une vue en coupe au niveau de l'extrémité inférieure de l'embout qui affleure la surface d'un liquide non mouillant.

La figure 6 représente une vue identique à la figure 5 dans le cas d'un liquide mouillant.

La figure 7 représente une vue d'un signal électrique classique à la sortie du capteur de pression visualisée par un oscilloscope.

La figure 8 représente une vue d'un signal électrique identique à celui de la figure 7 mais perturbé par la présence de nombreuses petites bulles à la surface de l'échantillon constituant une mousse.

Enfin, la figure 9 représente une vue d'un signal électrique identique à la figure 7 mais perturbé par la présence d'une bulle d'air à l'intérieur de l'échantillon, bulle d'air qui est aspirée par l'appareil d'aspiration-prélèvement.

Dans la suite du texte, il faut comprendre le terme affleurer comme étant un équivalent de entrer en contact. Un embout étant assimilé sensiblement à un tube creux, l'affleurement est donc synonyme de contact entre l'extrémité inférieure libre de l'embout et la surface libre de l'échantillon biologique à prélever, sans que les parois latérales extérieures dudit embout ne soient souillées par l'échantillon. En fait, les parois latérales intérieures ou extérieures sont ou non souillées, avant le prélèvement, selon que ledit échantillon biologique est un liquide

mouillant ou non-mouillant. En fait l'affleurement doit pouvoir permettre le prélèvement sans création de bulles d'air ou autre gaz en souillant le moins possible l'extérieur de l'embout.

Il convient de noter tout d'abord, pour une bonne compréhension des figures 2 à 4 et 7 à 9, que le temps s'écoule de la droite vers la gauche de chaque feuille, et que la position située au-dessus de la ligne de base 21 correspond à une dépression alors que la position située au-dessous de la ligne de base 21 correspond à une surpression.

Selon la figure 1, un appareil de prélèvement 1, selon la présente invention, est bien représenté.

Cet appareil 1 est essentiellement constitué par une pipette 3 qui permet le prélèvement d'un échantillon biologique 2 contenu à l'intérieur d'une cuvette d'analyse 10.

La pipette 3 est essentiellement constituée d'un corps extérieur 18 contenant un piston 19. La mobilité du piston 19, selon F1 et F2, à l'intérieur du corps 18 de la pipette 3, permet respectivement l'aspiration et le rejet du liquide à prélever 2. Bien entendu, il y a présence de joints d'étanchéité 20 entre le piston 19 et le corps 18 de la pipette 3.

De manière classique également, on dispose à l'extrémité libre du corps de la pipette 18, un embout 7, également appelé cône ou pointe de prélèvement.

Un des problèmes essentiels lorsque l'on effectue le prélèvement d'un liquide biologique 2 consiste dans le fait que la quantité prélevée varie en fonction des caractéristiques de mouillabilité du liquide 2. Cette variabilité du volume prélevé, même si elle est faible, peut avoir des conséquences sur les résultats des analyses effectuées. Il y a donc une réelle nécessité de gommer les différences des volumes prélevés lorsque l'échantillon biologique 2 est un liquide mouillant ou non.

Pour ce faire la présente invention propose d'associer à la pipette 3 précédemment décrite, un moyen permettant d'engendrer une variation de pression, référencée globalement 4 sur la figure 1. A ce moyen engendrant une variation de pression 4 est également associé un capteur de pression 5 qui mesure la pression et les variations de pression lors de l'utilisation de la pipette 3. Bien entendu, pour que l'ensemble de ces constituants fonctionne, il y a nécessité d'utiliser des moyens d'analyse 6 des paramètres de mesure issus du capteur 5 pour permettre le prélèvement dans des conditions optimales qui seront décrites ci-après.

Ces conditions optimales de prélèvement sont celles dans lesquelles l'extrémité inférieure libre 8 de l'embout 7 se situe au niveau de la surface libre 9 de l'échantillon biologique 2 à prélever, comme cela est bien représenté à la figure 1 mais également sur les figures 5 et 6. Dans cette configuration, il est bien entendu évident que le cône 7 ne sera pas

souillé, au niveau de sa surface extérieure, par le liquide à prélever 2. Cette caractéristique permet d'éviter une première source d'erreur.

D'autre part, si l'on se reporte aux figures 5 et 6, on remarque qu'il y a une grande différence entre les échantillons biologiques 2 à prélever selon que ceux-ci sont ou non des liquides mouillants c'est-à-dire ayant la propriété de s'étendre sur une surface entrant en contact avec de tels liquides.

Dans le cas d'un liquide 2 non mouillant comme représenté à la figure 5, celui-ci 2 reste à l'extérieur de l'embout 7 et la surface libre 26 dudit échantillon 2 au sein de la pipette 3 ne pénètre pas dans celle-ci 3.

Dans le cas d'un liquide 2 mouillant, celui-ci 2 pénètre à l'intérieur de l'embout 7, de façon plus ou moins importante selon la mouillabilité dudit liquide 2. La surface libre 27 de l'échantillon 2 est alors positionnée au sein de la pipette 3.

Bien entendu les courbes des figures 2 et 3, correspondant respectivement aux deux possibilités des figures 5 et 6, sont modifiées selon la nature mouillante ou non de l'échantillon biologique 2. Ainsi le signal 22a, lorsque l'extrémité 8 est en contact de la surface libre 9 d'un liquide non mouillant avant aspiration, se différencie du signal 22b, lorsque l'extrémité 8 est en contact de la surface libre 9 d'un liquide mouillant également avant aspiration.

La différence réside dans le fait que le signal 22a est situé au-dessus de la ligne de base 21 correspondant à la pression atmosphérique alors que le signal 22b est situé au-dessous de cette ligne 21

L'objet de la présente invention est donc également de détecter la surface libre 9 d'un échantillon 2 que celui-ci soit mouillant ou non.

Pour ce faire, l'intérieur de l'embout 7 est associé à la fois au capteur de pression 5 et au moyen engendrant une variation de pression 4. Selon un mode de réalisation représenté à la figure 1, le moyen engendrant une variation de pression 4 est constitué par un support 12 qui peut éventuellement être intégré dans un automate, non représenté sur les figures. Ce support 12 est constitué, par exemple, par la carcasse ou la structure de l'automate.

Cette structure 12 fait office de support pour un vilebrequin 13 auquel il est relié par un axe de rotation. Le vilebrequin 13 est également associé à l'une des extrémités d'une bielle 14. L'autre extrémité de cette bielle 14 est quant à elle reliée à un galet presseur 15 dont le mouvement sera alternatif selon F4 et F5 pour permettre la compression entre le galet presseur 15 et une enclume 16 d'un tuyau souple 11.

L'enclume 16 est en fait solidaire du support 12 et ne peut pas bouger, ce qui n'est pas le cas du galet presseur 15. Le tuyau souple 11 quant à lui, comporte deux extrémités ; une

première extrémité est bouchée par l'intermédiaire d'un bouchon 17 alors que l'autre extrémité est reliée mécaniquement à la pipette 3. Plus précisément, l'intérieur du tuyau souple 11 est en relation directe avec l'intérieur de la pipette 3 au niveau de l'espace délimité par le corps de la pipette 18, le piston 19 et l'embout 7. Il est donc facile de comprendre que le moteur non
5 représenté sur les figures va actionner en rotation, selon F3, le vilebrequin 13, le mouvement du galet presseur 15 s'effectuera selon F4 puis F5 pour permettre, d'une part, la compression et, d'autre part, la décompression du tuyau souple 11 contre l'enclume 16. Lorsque le mouvement du galet 15 s'effectuera selon F4, le tuyau 11 sera pressé et il y aura un flux d'air qui arrivera au sein de la pipette 3. Lorsqu'au contraire le galet presseur 15 s'effectuera selon F5, la pression
10 exercée sur le tuyau 11 sera éliminée et ledit tuyau 11 pourra réaspirer l'air qui avait été injecté à l'intérieur du corps 18 de la pipette 3. Le mouvement du galet presseur 15 est en moyenne de quelques Hertz à quelques centaines de Hertz. Le tuyau 11 est choisi pour que le volume déplacé c'est-à-dire aspiré et refoulé soit de quelques nanolitres à quelques microlitres.

Il est donc aisé de comprendre, en rapport avec les figures 2 et 3, que chaque signal
15 transmis par le capteur de pression 5 comporte essentiellement trois zones bien définies : A, B et C.

Dans le cas de la zone A, le signal électrique à la sortie du capteur 5 correspond à la position avant qu'il y ait contact entre l'extrémité 8 de l'embout 7 et l'échantillon 2. Dans le cas de la zone B, le signal du capteur 5 correspond à la position après qu'il y a eu contact entre
20 l'extrémité 8 et l'échantillon 2, mais avant aspiration par la pipette 3. Dans le cas de la zone C enfin, le signal correspond à la position après contact entre l'extrémité 8 et l'échantillon 2, mais après aspiration.

En fait le signal dans la zone A est plus compliqué et se décompose en deux zones A1 et A2, comme représenté la figure 4 qui est un détail de la figure 3. Cette décomposition existe
25 également dans le cas de la figure 2. La zone A1 correspond à un signal de mesure de la pression atmosphérique avant que le moyen 4 engendrant une variation de pression ne soit mis en fonctionnement. La zone A2 correspond à un signal de mesure de la pression atmosphérique après que le moyen 4 engendrant une variation de pression a été mis en fonctionnement. Ainsi le signal A1 est complètement plat, alors qu'avec A2, il y a une légère amplitude due aux
30 mouvements de l'air selon F4 et F5.

Cette technique permet ainsi de détecter la surface libre 9 d'un échantillon biologique 2 quelle que soit la nature mouillante ou non mouillante de cet échantillon 2.

La présente invention concerne donc un procédé de prélèvement d'un échantillon biologique 2 par l'intermédiaire d'un appareil d'aspiration-refoulement, un procédé de détection

de la surface libre 9 d'un échantillon biologique 2 par l'intermédiaire, éventuellement, de ce même appareil. Enfin, elle concerne un appareil de prélèvement 1 d'un échantillon 2, tel qu'une pipette 3, et un appareil de détection de la surface libre d'un échantillon biologique.

Ces nouveaux procédés et appareils de détection de niveau de liquide biologique dans
5 une cuvette ou tube d'analyse sont tout particulièrement nécessaires pour les analyseurs automatiques.

En fait, lorsqu'un embout, pointe ou cône de prélèvement 7 rentre en contact avec un liquide 2, tel que sérum ou réactif biologique, une légère surpression est générée à l'intérieur de l'embout 7. Ceci est lié et dépendant de la mouillabilité des embouts 7, ainsi qu'aux tensions
10 hydrostatiques des différents liquides prélevés 2.

Cette augmentation de pression, typiquement de quelques centaines de micro bars, est détectable à l'aide, par exemple, d'un capteur 5 issu de la technologie de micro usinage standard dans le commerce. Ce phénomène de micro capillarité est présent dans la majorité des liquides biologiques, cependant certains liquides peu mouillants mettent en défaut ce concept décrit ci-
15 dessus puisque ce liquide, comme son nom l'indique, ne rentre pas spontanément dans la pointe de prélèvement 7, et ne génère pas une petite surpression nécessaire au fonctionnement du capteur 5, d'où la recherche d'un marqueur de présence de liquide.

L'invention consiste donc à injecter dans l'espace d'air emprisonné dans l'embout 7 de prélèvement un flux d'air. Ce flux d'air injecté, perturbant la précision du mécanisme de
20 prélèvement, est réaspiré instantanément. On obtient alors un système de va-et-vient d'une petite quantité d'air d'environ une fraction de micro litre, voir les courbes des figures 2 à 4 et 7 à 9.

Cette quantité est suffisamment petite en regard des quantités d'air en mouvement assurant la bonne volumétrie nécessaire au pompage de la dose liquide. Ce flux d'air est injecté
25 puis réaspiré à une vitesse suffisamment rapide pour qu'elle n'ait pas d'effet sur le déplacement du liquide se trouvant à l'orifice de la pointe de prélèvement, ainsi le cycle aspiration/refoulement est exécuté en un temps de quelques millisecondes. Le capteur de pression 5, lui, réagit à une vitesse de l'ordre de 100 micro secondes. A cette vitesse, le liquide n'est pas capable de rentrer dans l'embout 7.

Ce système trouve une utilisation particulièrement intéressante dans le cas de liquide à
30 faible tension superficielle qui entre en contact avec l'orifice de la pointe de prélèvement 7. De plus, avantageusement, cette invention permet de qualifier la géométrie de l'extrémité du cône puisque si cette extrémité présente des aspérités dues par exemple à un mauvais moulage le

micro flux d'air entrant et sortant est perturbé se traduisant par une modification de la variation de pression décelable aisément à l'aide de ce même capteur de pression 5.

Les flux et reflux d'air sont générés par l'intermédiaire d'une micro pompe 4 fonctionnant sur le principe bielle manivelle comprimant un micro tuyau 11 en silicone, par exemple, dont le canal capillaire intérieur est de petit diamètre de l'ordre de quelques dixièmes de millimètres.

Ainsi à chaque tour de moteur, le tuyau 11 est alternativement déformé et restauré dans sa forme initiale, générant ainsi respectivement un flux et un reflux d'air. Ces flux et reflux d'air sont transmis, via le tuyau, à la chambre interne de l'embout de prélèvement 7.

A ce propos, l'une des deux extrémités du tuyau 11 est reliée à ladite chambre interne de l'embout de prélèvement 7. L'autre extrémité de ce tuyau 11 est obturée à l'aide d'un bouchon 17. Le capteur de pression 5, lui, est en liaison directe avec le canal d'air du mécanisme de pompage de la pipette, la pipette est d'un type standard fonctionnant suivant le principe connu du déplacement d'un matelas.

Selon un exemple représenté à la figure 2, les différents types de signaux électroniques issus du micro capteur de pression 5 sont standards et exploitables par n'importe quel micro ordinateur programmé pour détecter un signal de quelques millivolts devenant instantanément (quelques millisecondes) quelques centaines de millivolts.

Il est également possible de faire varier le volume d'air de flux et de reflux, par exemple de quelques fractions de micro litres à quelques micro litres, ainsi que de faire varier la fréquence de pulsation, permettant de pulser ledit volume d'air, de quelques dizaines de Hertz à quelques centaines de Hertz, sans pour autant sortir du cadre de l'invention.

De même, le flux d'air peut être généré par d'autres systèmes, tels que micro haut-parleur étanche dont la membrane sonore agit comme une membrane de pompe. La cavité étanche placée contre le haut-parleur emprisonne un petit volume d'air qui est ensuite injecté dans le haut de l'embout de prélèvement 7.

De la même façon, il est possible d'utiliser tout système du type piézo-électrique qui peut remplir avantageusement la fonction de ce pompage.

L'invention ci-dessus exposée est utilisée comme système de détection du niveau d'un liquide à prélever 2. Il peut également avoir une autre fonctionnalité liée au bouchage total de l'embout de prélèvement 7, lors de l'affleurement de l'extrémité dudit embout avec le liquide. Ce système permet encore de détecter un bouchage partiel dudit embout de prélèvement 7, par exemple lorsqu'un liquide biologique 2 est séché ou cristallisé à l'une des extrémités ou également à l'intérieur de cet embout de prélèvement 7.

D'autres performances sont possibles grâce à cet appareil.

Ainsi on peut prévoir la détection de fuite à la jonction entre le cône de prélèvement et le mécanisme de prélèvement. En effet, s'il y a une fuite en ce point, le signal de dépression recueilli aux bornes du capteur (de pression / dépression) 5 est totalement différent car le pic de
5 dépression est plus faible, et le plateau lié à la hauteur de colonne d'eau s'effondre constamment au cours du temps. La pente de ce plateau traduit directement l'ampleur de la fuite.

Il est également possible de détecter la présence de bulles lors de l'aspiration du liquide biologique puisque la dépression non progressive est détectée par le capteur. Dans ce cas le pic
10 unique de dépression sera fractionné, 28 de la figure 9, et on pourra observer une pluralité de pics dont le nombre correspondra au nombre de bulles passant par l'orifice de la pointe de prélèvement. Le plateau d'équilibre des pressions sera lui aussi inconstant.

Il est encore possible de détecter un embout 7 imparfaitement vidé. Ainsi, lors du cycle d'éjection du liquide prélevé, la surpression générée par le mécanisme d'éjection de la pipette 3,
15 s'il est trop rapide ou si le liquide a des caractéristiques de mouillabilité défavorable, va générer, sur les parois internes de l'embout de prélèvement 7, la présence d'une certaine quantité de liquide non éjecté, il y aura donc une sous dose distribuée. L'invention dans ce cas est capable de détecter la formation d'une coalescence du liquide ; cette coalescence génère au moins un anneau de liquide qui se comporte comme une membrane fragile. Le flux et le reflux
20 du volume d'air éjecté dans l'embout 7 est donc perturbé, ce qui se traduit par une très faible variation de pression qui est détectée par le capteur de pression 5. Si dans le même temps, ledit embout 7 ne plonge pas dans le liquide à prélever 2, on peut en déduire que la pointe de prélèvement 7 est imparfaitement vidée, un deuxième cycle d'éjection dans ce cas peut être entrepris.

25 Il est aussi possible de détecter la présence d'un embout puisqu'en présence de l'embout vide, sans contact liquide, une onde alternative générée par le petit volume d'air injecté est décelable par le capteur de pression 5, alors qu'en l'absence de cet embout, ce signal n'existe pas.

Il est possible de détecter un bouchage partiel. Ainsi les procédés de détection de
30 bouchage sont connus et font l'objet de nombreux brevets de détection d'un bouchage total d'une aiguille ou d'une pointe de prélèvement. La présente invention propose un appareil qui fonctionne uniquement sur le matelas d'air au dessus de la colonne de liquide, ce qui augmente considérablement la sensibilité du capteur de pression qui est utilisé. Ainsi une faible

obstruction de l'entrée du cône se traduit par une faible variation de la pression qui comparée à un signal de cône non obturé dévoile un bouchage partiel.

Il est également possible de qualifier les forces hydrostatiques. Avantagement, de part son extrême sensibilité, l'appareil selon l'invention permet de suivre les qualités de mouillabilité de surfaces internes des cônes de prélèvement 7 ainsi que les tensions superficielles des différents liquides biologiques. En effet le pic de dépression sera d'autant plus élevé que le liquide sera peu mouillant et que la surface interne du cône 7 sera hydrophobe. A l'aide d'un ensemble de courbes maîtresses mémorisées dans l'ordinateur de gestion, il devient possible de qualifier les liquides biologiques sur ces nouveaux critères.

Il est encore possible de définir le cône ou embout. Sur un analyseur de biologie la qualité des embouts de prélèvement 7 a une grande importance puisque, pendant un temps très court, l'ensemble du prélèvement passe par son orifice capillaire. Ainsi les vitesses des liquides biologiques sont localement rapides, ce qui explique qu'une minime déformation de l'extrémité du cône de prélèvement modifie la vitesse du liquide, et donc la précision volumétrique attendue de l'instrument, notre invention rend discernable une faible variation de l'écoulement du liquide biologique, puisque l'écart de pression mesuré par le capteur de pression 5 sera comparé à des courbes maîtresses mémorisées.

Il est possible de contrôler la vitesse du prélèvement. Ainsi l'extrême sensibilité de l'invention associée à des courbes types de dépression/surpression permet de déceler de faibles variations de vitesse de prélèvement, ce qui revêt une grande importance dans la précision volumétrique finale prélevée. Bien entendu ces éléments sont gérés par le calculateur de l'instrument bien connu de l'état de la technique.

Il est enfin possible de contrôler d'éventuelles fuites dans le mécanisme de prélèvement. L'appareil selon la présente invention est judicieusement positionné dans le corps de pompe 11 ; ainsi il est possible en l'absence de cône de prélèvement 7 de valider l'étanchéité dans l'intégralité des pièces contribuant au bon fonctionnement. La procédure de contrôle peut être exécutée avant la mise en route de l'analyseur par un bouchage artificiel de l'extrémité du porte-cône. Une surpression est générée par le mécanisme de pompage 4 et le capteur de pression 5 surveille pendant un temps prolongé, par exemple une minute, la bonne tenue à cette pression générée.

L'invention concerne donc un procédé de détection de niveau de liquide par variation de pression utilisant un capteur de pression 5, associé à un flux d'air pulsé, c'est-à-dire obtenu par injection d'un petit volume puis réaspiration de ce volume.

Le flux d'air est d'une fréquence de quelques Hertz à quelques centaines de Hertz.

Le volume d'air pulsé est une quantité variant de quelques nano litres à quelques micro litres.

En ce qui concerne la présence de bulles d'air dans l'échantillon 2, les courbes 7 à 9 permettent de bien visualiser le problème.

5 Ainsi la figure 7 représente un signal électrique classique à la sortie du capteur de pression 5 visualisée par un oscilloscope. Ce signal se décompose de la façon suivante.

Il y a tout d'abord une ligne de base 21 qui correspond à la pression atmosphérique lorsque l'extrémité 8 est positionnée au dessus de la surface libre 9. Puis le signal 22b correspond au fait que l'extrémité 8 est en contact de la surface libre 9 d'un liquide mouillant 2, 10 avant aspiration. Ensuite une dépression 23 apparaît, due à la montée selon F1 du piston 19 entraînant la montée de l'échantillon 2 dans l'embout 7. Puis il y a une diminution de la dépression 24 due à la stabilisation de la position dudit échantillon 2 au sein dudit embout 7. Enfin, il s'établit une dépression d'équilibre 25 à un niveau correspondant de la colonne de liquide 2.

15 La figure 8 représente un signal électrique identique à celui de la figure 7 mais perturbé par la présence de nombreuses petites bulles à la surface de l'échantillon constituant une mousse. De ce fait en zone B, les variations engendrées par le moyen 4 sont beaucoup moins régulières 22c. Ceci est lié au fait que le capteur de pression 5 détecte alternativement la présence de liquide 2 et d'air. Dans ce cas le signal reprend les références 21, 23, 24 et 25 20 exposées ci-dessus mais pas la référence 22b remplacée par la référence 22c.

Enfin, la figure 9 représente une vue d'un signal électrique identique à la figure 7 mais également perturbé par la présence d'une bulle d'air à l'intérieur de l'échantillon, bulle d'air qui est aspirée par l'appareil d'aspiration-prélèvement au niveau de la zone C. Cette courbe comporte bien les références 21, 22b et 25, mais les références 23 et 24 sont absentes car 25 remplacées par une dépression 28 de l'échantillon 2 dans l'embout 7 perturbée par une bulle d'air.

Cette invention permet de détecter des fuites entre le cône et la pipette, mais également la présence de bulles de gaz dans l'échantillon lors du prélèvement, des cônes imparfaitement vidés, la présence de cône, le bouchage partiel d'un cône par un réactif biologique. L'invention 30 permet encore la qualification des forces hydrostatiques (tension superficielle / mouillabilité), la qualification du cône (géométrie / moulage de l'extrémité), le contrôle de vitesse de l'appareil de prélèvement, le contrôle de l'absence de fuite du mécanisme dudit appareil.

REFERENCES

1. Appareil de prélèvement
2. Echantillon biologique
- 5 3. Pipette
4. Moyen engendrant une variation de pression ou pompe
5. Capteur de pression
6. Moyens d'analyse des paramètres de mesure
7. Embout ou cône ou pointe
- 10 8. Extrémité inférieure libre de l'embout 7
9. Surface libre de l'échantillon 2
10. Cuvette d'analyse contenant l'échantillon 2
11. Tube souple
12. Support
- 15 13. Vilebrequin
14. Bielle
15. Galet presseur
16. Enclume
17. Bouchon
- 20 18. Corps de la pipette 3
19. Piston de la pipette 3
20. Joints d'étanchéité
21. Ligne de base du signal correspondant à la pression atmosphérique lorsque l'extrémité 8 est positionnée au dessus de la surface libre 9
- 25 22a. Signal lorsque l'extrémité 8 est en contact de la surface libre 9 d'un liquide non mouillant avant aspiration
- 22b. Signal lorsque l'extrémité 8 est en contact de la surface libre 9 d'un liquide mouillant avant aspiration
- 22c. Signal lorsque l'extrémité 8 est en contact de la surface libre 9 d'un liquide mouillant avant aspiration, la surface de l'échantillon 2 comportant de la mousse
- 30 23. Dépression due à la montée selon F1 du piston 19 entraînant la montée de l'échantillon dans l'embout 7
24. Diminution de la dépression due à la stabilisation de la position de l'échantillon 2 au sein de l'embout 7

- 25. Dépression d'équilibre à un niveau correspondant de la colonne de liquide 2
- 26. Surface libre de l'échantillon 2 au sein de la pipette 3 dans le cas d'un liquide non mouillant
- 27. Surface libre de l'échantillon 2 au sein de la pipette 3 dans le cas d'un liquide mouillant
- 28. Montée de l'échantillon 2 dans l'embout 7 perturbée par une bulle d'air
- 5 A. Signal électrique à la sortie du capteur 5 avant contact entre l'extrémité 8 et l'échantillon 2
- B. Signal du capteur 5 après contact entre l'extrémité 8 et l'échantillon 2 avant aspiration
- C. Signal du capteur 5 après contact entre l'extrémité 8 et l'échantillon 2 après aspiration
- F1. Mouvement du piston 19 dans le corps 18 de la pipette 3 permettant l'aspiration
- F2. Mouvement du piston 19 dans le corps 18 de la pipette 3 permettant l'éjection
- 10 F3. Mouvement de rotation du vilebrequin 13
- F4. Mouvement de compression du tuyau 11 par le galet presseur 15
- F5. Mouvement de dépression du tuyau 11 par le galet presseur 15

REVENDICATIONS

1. Procédé de prélèvement d'un échantillon biologique par l'intermédiaire d'un appareil d'aspiration-refoulement, tel qu'une pipette, manuel ou automatique, incorporé ou non à un automate, caractérisé en ce qu'il consiste :

- à actionner un moyen engendrant une variation de pression au sein de l'appareil,
- à positionner l'extrémité inférieure libre dudit appareil d'aspiration-refoulement de manière à ce qu'elle affleure la surface libre de l'échantillon biologique, et
- à prélever une quantité dudit échantillon par aspiration au moyen de l'appareil.

2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il consiste, préalablement au prélèvement, à mesurer la pression au sein de l'appareil d'aspiration-refoulement, et à déclencher ledit prélèvement dès que l'extrémité inférieure libre dudit appareil affleure la surface libre de l'échantillon biologique.

3. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 ou 2, caractérisé en ce qu'il consiste, préalablement au prélèvement, à mesurer une surpression au sein de l'appareil d'aspiration-refoulement, due à l'affleurement de l'extrémité inférieure libre dudit appareil à la surface libre de l'échantillon biologique, et à déclencher ledit prélèvement.

4. Procédé de détection de la surface libre d'un échantillon biologique par l'intermédiaire d'un appareil d'aspiration-refoulement manuel ou automatique, incorporé ou non à un automate, caractérisé en ce qu'il consiste :

- à actionner un moyen engendrant une variation de pression au sein de l'appareil, variation de pression qui correspond à l'état de repos dudit appareil, et
- à détecter une pression, au sein de l'appareil d'aspiration-refoulement, qui est différente de la variation de pression au repos, cette pression correspondant à la position dans laquelle l'extrémité inférieure libre dudit appareil affleure la surface libre de l'échantillon.

5. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que la variation de volume aspiré-refoulé est comprise entre quelques nanolitres (nl) et quelques microlitres (il), et/ou la variation constante de pression, autrement appelée fréquence, est comprise entre quelques Hertz et quelques centaines de Hertz (Hz).

6. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce qu'une variation de pression différente de la variation de pression normalement créée par le moyen engendrant cette variation, avant l'affleurement, permet de détecter une anomalie de l'embout de prélèvement et/ou la présence d'au moins une bulle d'air dans ou à la surface de l'échantillon.

7. Appareil de prélèvement (1) d'un échantillon biologique (2), tel qu'une pipette (3), manuel ou automatique, incorporé ou non à un automate, caractérisé par le fait qu'il comporte :

- au moins un moyen engendrant une variation de pression (4) au sein de l'appareil (1) au repos,
- au moins un capteur de pression (5) pour mesurer la variation de pression au repos ou une pression différente de cette variation de pression au sein de l'appareil (1), et
- des moyens d'analyse (6) des paramètres de mesure du ou des capteurs (5) pour permettre le prélèvement, lorsque l'extrémité inférieure libre (8) dudit appareil d'aspiration-refoulement affleure la surface libre (9) de l'échantillon biologique (2).

8. Appareil de détection de la surface libre (9) d'un échantillon biologique (2), manuel ou automatique, incorporé ou non à un automate, caractérisé par le fait qu'il comporte :

- au moins un moyen engendrant une variation de pression au sein de l'appareil au repos,
- au moins un capteur de pression pour mesurer la variation de pression au repos ou une pression différente de cette variation de pression au sein de l'appareil, et
- des moyens d'analyse des mesures du ou des capteurs pour détecter l'affleurement de l'extrémité inférieure libre (8) de l'appareil d'aspiration-refoulement par rapport à la surface libre (9) de l'échantillon biologique (2).

9. Appareil selon l'une quelconque des revendications 7 ou 8, automatique, caractérisé par le fait que le moyen engendrant une variation de pression (4) est constitué par un tube souple (11) pouvant être comprimé et décomprimé régulièrement par tout mécanisme (12 à 17) de mouvement alternatif, tel qu'une came, un maneton, associé à un moteur.

10. Appareil selon l'une quelconque des revendications 7 à 9, caractérisé par le fait que l'extrémité inférieure libre (8) de l'appareil (1) est portée par un embout jetable (7).

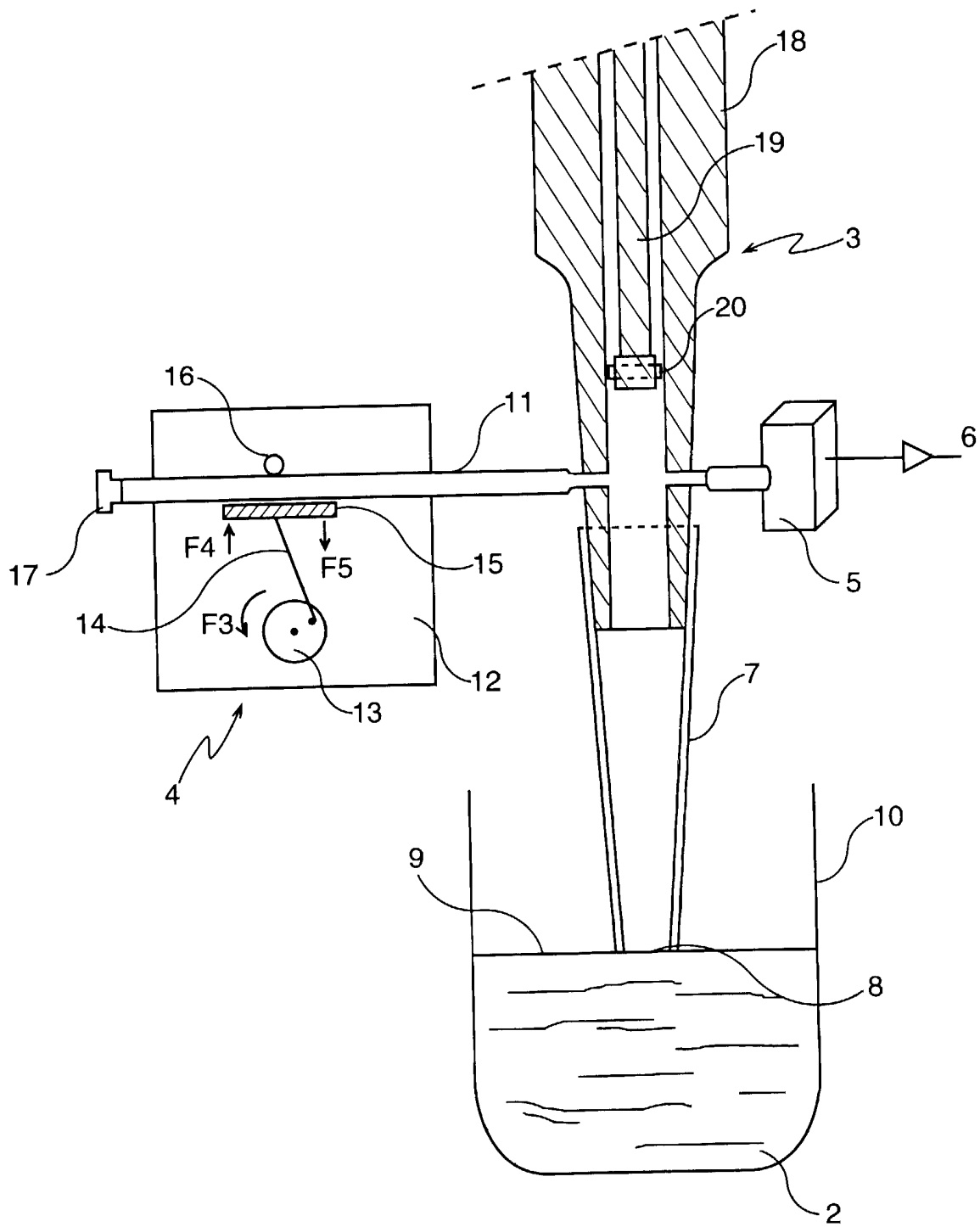
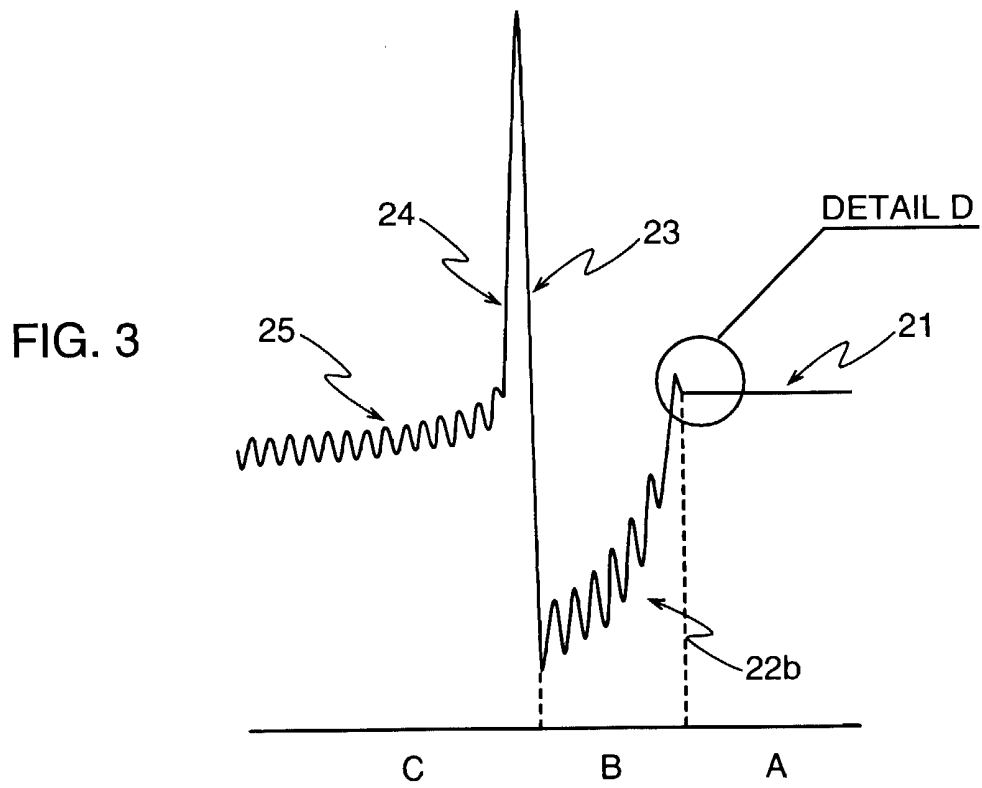
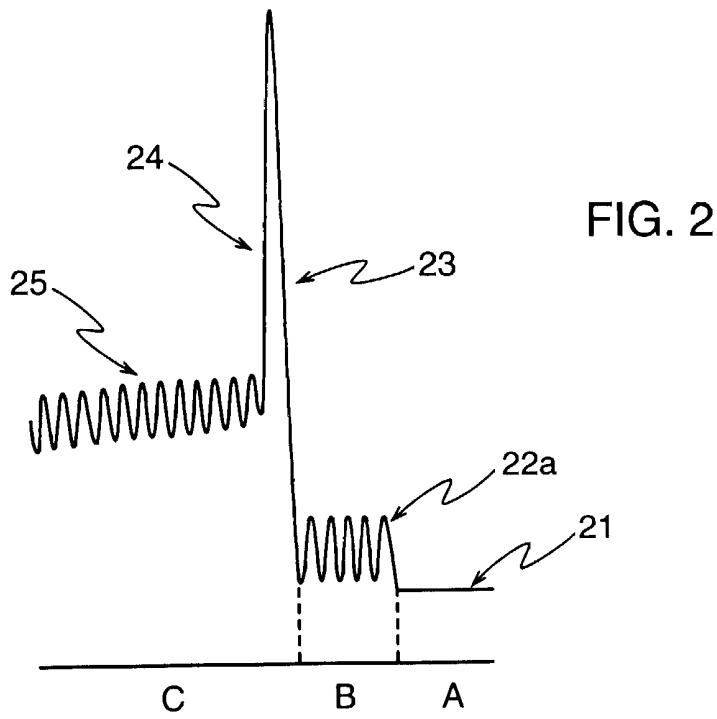


FIG. 1



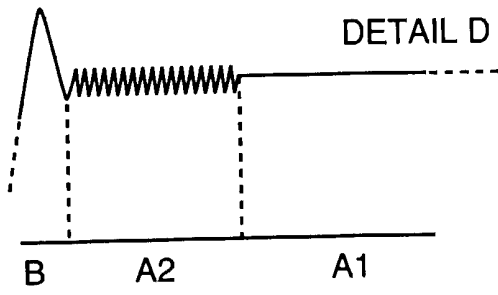


FIG. 4

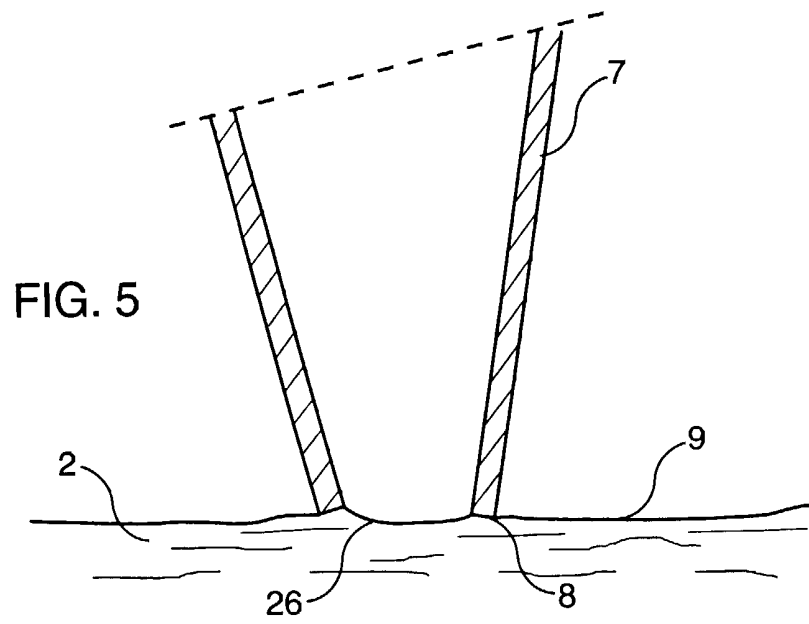


FIG. 5

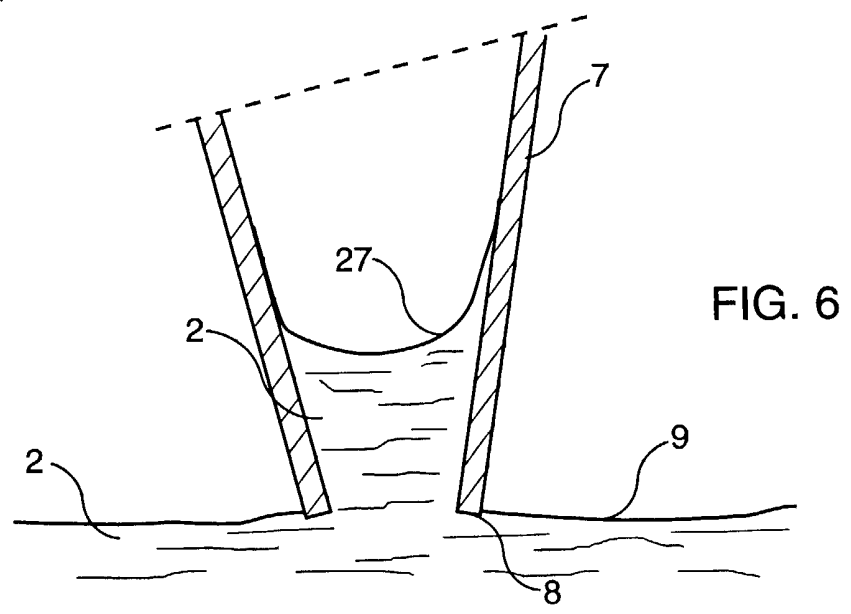


FIG. 6

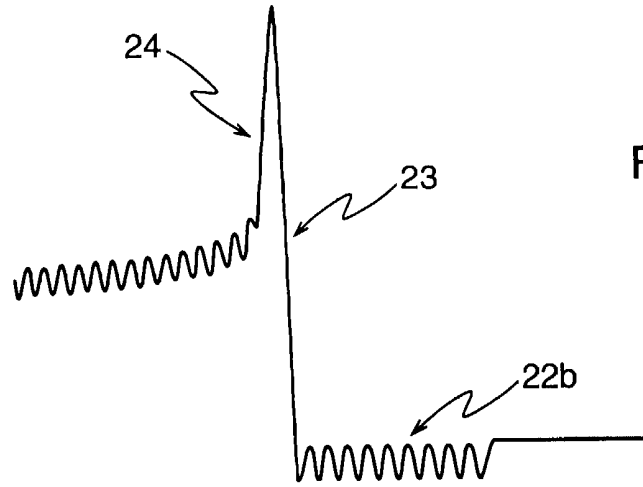


FIG. 7

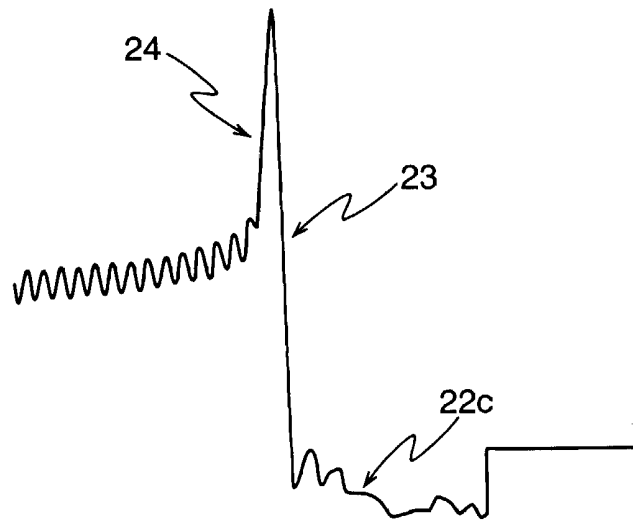


FIG. 8

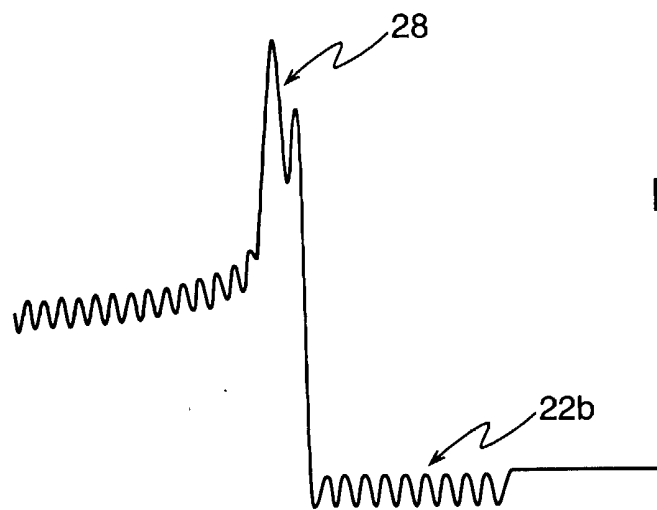


FIG. 9

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée	
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X A	US 4 846 003 A (MARQUISS SAMUEL A) 11 juillet 1989 * le document en entier * ---	1,4,6-8, 10 5,9	
X	EP 0 341 438 A (ABBOTT LAB) 15 novembre 1989 * le document en entier * ---	1-4,6-8, 10	
X A	US 5 723 795 A (MERRIAM RICHARD) 3 mars 1998 * colonne 1, ligne 38 - colonne 2, ligne 3 * * colonne 2, ligne 37 - colonne 5, ligne 22 * * colonne 5, ligne 66 - colonne 6, ligne 51 * * figures 1,2,4A,5A,6A * ---	1-3,5 4,6-8	
X A	EP 0 571 100 A (WALLAC OY) 24 novembre 1993 * le document en entier * -----	1-3,6 7,8,10	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.CL.6)
			G01N B01L G01F
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
9 décembre 1998		Koch, A	
<p>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant</p>			