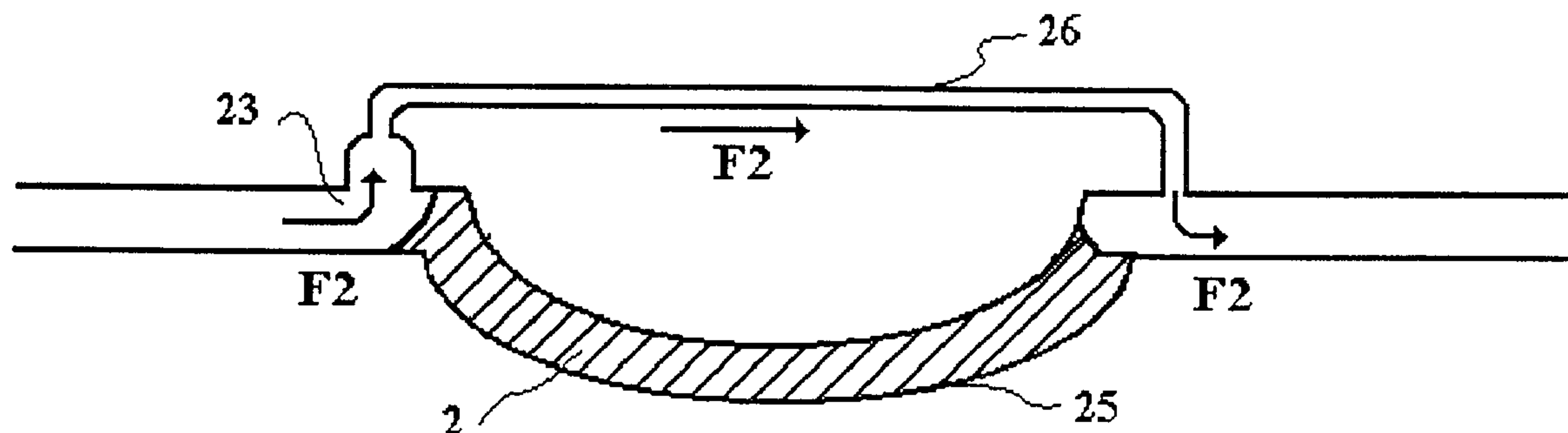




(86) Date de dépôt PCT/PCT Filing Date: 2000/03/09
(87) Date publication PCT/PCT Publication Date: 2000/09/14
(85) Entrée phase nationale/National Entry: 2001/08/28
(86) N° demande PCT/PCT Application No.: FR 2000/000579
(87) N° publication PCT/PCT Publication No.: 2000/053319
(30) Priorité/Priority: 1999/03/09 (99/03033) FR

(51) Cl.Int.⁷/Int.Cl.⁷ B01L 3/00
(71) Demandeur/Applicant:
BIOMERIEUX S.A., FR
(72) Inventeurs/Inventors:
DACHAUD, JACQUES, FR;
COLIN, BRUNO, FR
(74) Agent: SMART & BIGGAR

(54) Titre : DISPOSITIF ET PROCEDE DE POSITIONNEMENT D'UN LIQUIDE
(54) Title: DEVICE AND METHOD FOR POSITIONING A LIQUID



(57) Abrégé/Abstract:

La présente invention concerne plusieurs dispositifs de positionnement (21) d'un échantillon liquide (2), déplacé par une variation de pression entre une entrée (23) et une sortie (24), un récipient (25) reliant l'entrée (23) et la sortie (24). Selon un mode de réalisation particulièrement intéressant, l'échantillon (2) est stoppé automatiquement dans son déplacement dès que ledit échantillon (2) est présent dans le récipient (25), et n'est plus présent au niveau du point d'intersection entre une dérivation (26) et la dite entrée (23), la dérivation (26) reliant directement l'entrée (23) avec ladite sortie (24). L'invention trouve une application préférentielle dans le domaine de la micro-fluidique appliquée à la biologie.



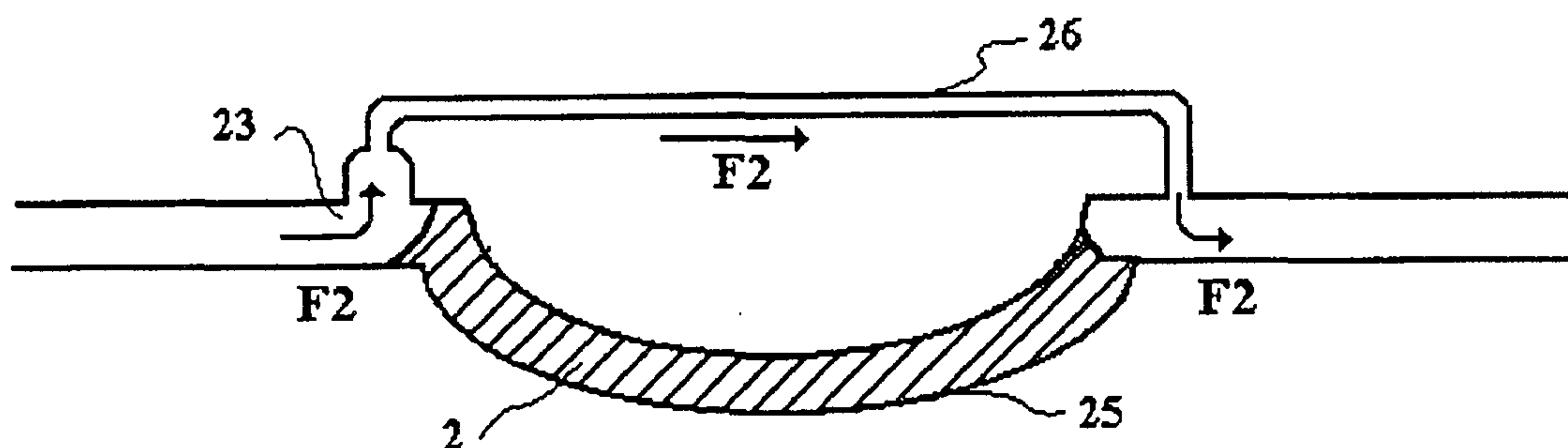
**PCT**ORGANISATION MONDIALE DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE
Bureau international

DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁷ : B01L 3/00	A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 00/53319 (43) Date de publication internationale: 14 septembre 2000 (14.09.00)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR00/00579 (22) Date de dépôt international: 9 mars 2000 (09.03.00) (30) Données relatives à la priorité: 99/03033 9 mars 1999 (09.03.99) FR (71) Déposant (<i>pour tous les Etats désignés sauf US</i>): BIOMERIEUX S.A. [FR/FR]; Chemin de l'Orme, F-69280 Marcy l'Etoile (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (<i>US seulement</i>): COLIN, Bruno [FR/FR]; 23, chemin des Garennes, F-69280 Marcy l'Etoile (FR). DACHAUD, Jacques [FR/FR]; 4b, rue des Roches, F-25000 Besançon (FR). (74) Mandataire: BONNEAU, Gérard; Cabinet Bonneau, 7, avenue Gazan, F-06600 Antibes (FR).		(81) Etats désignés: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.</i>

(54) Title: DEVICE AND METHOD FOR POSITIONING A LIQUID

(54) Titre: DISPOSITIF ET PROCEDE DE POSITIONNEMENT D'UN LIQUIDE



(57) Abstract

The invention concerns several positioning devices (21) for a liquid sample (2) displaced by pressure variation between an intake (23) and an outlet (24), a container (25) connecting the intake (23) to the outlet (24). In one particularly interesting embodiment, the sample (2) is automatically stopped in its displacement as soon as said sample (2) is present in the container (25), and no longer present at an intersection point between a branch connection (26) and said intake (23), the branch connection (26) directly connecting the intake (23) with said outlet (24). The invention is particularly applicable to microfluidic devices used in biology.

(57) Abrégé

La présente invention concerne plusieurs dispositifs de positionnement (21) d'un échantillon liquide (2), déplacé par une variation de pression entre une entrée (23) et une sortie (24), un récipient (25) reliant l'entrée (23) et la sortie (24). Selon un mode de réalisation particulièrement intéressant, l'échantillon (2) est stoppé automatiquement dans son déplacement dès que ledit échantillon (2) est présent dans le récipient (25), et n'est plus présent au niveau du point d'intersection entre une dérivation (26) et la dite entrée (23), la dérivation (26) reliant directement l'entrée (23) avec ladite sortie (24). L'invention trouve une application préférentielle dans le domaine de la micro-fluidique appliquée à la biologie.

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

Dispositif et procédé de positionnement d'un liquide

DESCRIPTION

La présente invention concerne un dispositif de positionnement d'un échantillon liquide, déplacé par une variation de pression entre une entrée et une sortie, un récipient
5 reliant l'entrée et la sortie.

*L'état de la technique est constitué par le document EP-A-0.674.009 qui propose un appareil pour réaliser un procédé de traitement d'un échantillon liquide et biologique, par exemple une amplification d'acides nucléiques, qui comporte un puits
10 pour permettre l'introduction de l'échantillon à tester, puis la reprise de cet échantillon qui a réagi, sous l'action d'une chambre pneumatique. Entre ces deux actes indépendants, l'échantillon est mû dans l'appareil pour permettre, d'une part, la décontamination dans une première chambre et, d'autre part, l'amplification dans une seconde chambre. Le puits et les chambres de décontamination, d'amplification et
15 pneumatique sont dans le prolongement les uns des autres. Les séparations entre ces différentes zones sont le fait de cloisons internes de l'appareil qui ne permettent le passage qu'en partie inférieure par des micro-canaux dont les dimensions sont réduites, afin de permettre de réduire l'évaporation.*

Le problème essentiel de ce type de transfert réside dans le fait qu'il y a une
20 contiguïté fluidique entre tous les compartiments. Il n'y a donc pas de séparation physique nette entre deux compartiments très différents, comme peuvent l'être les chambres de décontamination et d'amplification. Les acides nucléiques, normalement purifiés, ont donc le risque d'être encore contaminés, ce qui compromet l'amplification. De plus lors du transfert du liquide entre les deux premières chambres par application
25 d'une dépression, le liquide peut continuer à se déplacer dans une autre chambre et donc affecter la précision de l'analyse.

*Le document WO-A-97/21090 utilise lui aussi des micro-canaux entre différentes chambres d'un dispositif en forme de disque. Ce disque comporte un axe de rotation en son centre. Le contrôle des déplacements des mouvements de liquides est
30 réalisé par, premièrement, la force centrifuge, en ce qui concerne le déplacement dans un canal principal des liquides d'une chambre de répartition vers une autre chambre*

de répartition, et, deuxièmement, l'accélération centripète, en ce qui concerne le déplacement dans un canal secondaire du liquide contenu dans une chambre de répartition vers une chambre d'analyse. Il y a des vannes qui empêchent ou permettent le transfert dans les canaux.

5 Dans ce cas, la séparation entre les différentes chambres est mieux contrôlée puisqu'il y a des vannes. Bien entendu cette technique nécessite l'installation de nombreuses vannes, afin d'équiper plusieurs chaînes de réaction parallèles. A chaque vanne, il convient d'associer un mécanisme pour actionner cette vanne . Le coût de cette technologie est donc assez important.

10 *Enfin, le document WO-A-98/07019 est de structure assez semblable à celle du document précédent. Il y a néanmoins deux différences essentielles. Tout d'abord, les déplacements ne s'effectuent que par la force centrifuge. Ensuite, il n'y a pas de vanne. Ainsi le contrôle du déplacement centrifuge du liquide est réalisé par la présence de micro-canaux entre les différents réservoirs et par la force capillaire. Cette force*
15 *capillaire nécessite pour être vaincue et que le transfert ait lieu, que la force centrifuge soit suffisamment forte.*

Dans ce cas, le plus gros problème réside dans le contrôle très fin de la centrifugation. Ainsi, l'absence de vanne et la disposition en série, selon la direction de la force centrifuge, de nombreux récipients imposent d'avoir une centrifugation qui soit
20 suffisamment forte pour permettre le transfert d'un liquide d'un récipient N vers le récipient extérieur adjacent N+1, et suffisamment faible pour empêcher le transfert du liquide du récipient N vers un récipient extérieur éloigné N+2 ou N+n, avec n supérieur ou égal à 3.

De plus, pour ce dernier document comme pour le précédent, la centrifugation
25 entraîne un autre problème. Ainsi, il est impossible de conduire des transferts fluidiques chronologiquement différents dans deux chaînes de réaction parallèles sur le même appareil, les liquides devant être au même endroit en fonction de la centrifugation. S'il en était autrement, il faudrait que le contrôle soit encore plus pointu et que les chaînes de réaction soient décalées, par rapport au centre de rotation les unes par rapport aux
30 autres. Ceci compliquerait la tâche de l'utilisateur et entraînerait un déséquilibre lors de la centrifugation, du fait de la mauvaise répartition des masses.

La demande de brevet EP-A-0.803.288 propose, selon un mode de réalisation présenté, d'isoler une quantité prédéterminée de liquide afin d'effectuer ultérieurement une analyse. Cette formation d'un aliquote est réalisé par l'intermédiaire de canaux de différents diamètres et de compartiment de réception de l'aliquote et d'un surplus du
5 *liquide dont le volume doit être déterminé.*

La présente invention permet selon son procédé d'effectuer ce type d'aliquote mais elle peut le faire en série voire en dérivation sur plusieurs compartiments. De plus, le dispositif selon l'invention permet une localisation très précise d'une quantité précise de liquide transféré. Ceci est particulièrement intéressant dans des cartes d'analyse
10 biologique comprenant on leur sein des micro-volumes de liquides à transférer.

Conformément à la présente invention, le dispositif permet lors du déplacement d'une quantité de liquide de connaître sa position exacte dans un ensemble de canaux situé dans un appareil permettant de mener au moins une réaction biologique.

15 A cet effet, la présente invention concerne un dispositif de positionnement d'un échantillon liquide, déplacé par une variation de pression entre une entrée et une sortie, un récipient reliant l'entrée et la sortie, caractérisé par le fait que l'échantillon est stoppé automatiquement dans son déplacement dès que ledit échantillon, après avoir rempli le récipient, atteint le point d'intersection entre une dérivation et ladite sortie, la
20 dérivation reliant directement ladite entrée avec la sortie.

Dans ce cas de figure, la dérivation est reliée à une entrée d'un autre récipient, et le nombre de récipients monté en série est au moins égal à deux.

Le remplissage d'un récipient s'effectue à l'aide de la gravité.

Les variations de pression utilisées dans ce dispositif sont faibles, comme par
25 exemple inférieure à 300 millibars et avantageusement inférieure à 100 millibars pour déplacer les liquides ce qui présente de nombreux avantages en terme de mise en œuvre. Ainsi, le coût du dispositif de pompage pour assurer la variation de pression est réduit, les contraintes sur les matériaux ou composants en terme de précision de dimensionnement, tenue à la pression, précision des assemblages sont diminuées ce qui
30 permet des réductions des coûts notables.

La dérivation est d'une section transversale inférieure à la section transversale de l'entrée et/ou de la sortie sur tout ou partie de sa longueur.

La dérivation est d'une section transversale inférieure à la section transversale de l'entrée et/ou de la sortie sur tout ou partie de sa longueur.

Selon une première variante de réalisation, le récipient est constitué d'un canal d'un diamètre sensiblement identique au diamètre de l'entrée et/ou de la sortie.

5 Selon une seconde variante de réalisation, le récipient est constitué par un compartiment dont la section est supérieure au diamètre de l'entrée et/ou de la sortie.

Selon une troisième variante de réalisation, un moyen, permettant de casser les bulles que l'échantillon liquide pourrait créer, est présent entre l'entrée et la dérivation.

10 Dans ce cas, le moyen, permettant de casser les bulles, est constitué par un canal de section transversale strictement supérieure à la section transversale de la dérivation.

Selon un mode particulier de réalisation, au moins un canal, constituant l'entrée et/ou la sortie et/ou chaque récipient, est parcouru longitudinalement, en tout ou partie, par au moins une languette qui facilite le drainage de l'échantillon liquide.

15 Selon un autre mode de réalisation, au moins un des récipients est associé à un volume tampon. Un tel volume tampon est bien décrit et protégé dans la demande de brevet déposée par la demanderesse le même jour que la présente invention et intitulée : Carte d'analyse à remplissage amélioré. Le contenu de la description de cette demande de brevet est considéré comme incorporé à la présente invention, afin d'assurer une suffisance de description.

20 L'invention concerne également un procédé d'utilisation d'un dispositif, tel qu'un dispositif de positionnement d'un échantillon liquide, déplacé par une variation de pression entre une entrée et une sortie, un récipient reliant l'entrée et la sortie, est caractérisé par le fait que l'échantillon est stoppé automatiquement dans son déplacement dès que ledit échantillon est présent dans le récipient, et n'est plus présent
25 au niveau du point d'intersection entre une dérivation et la dite entrée, la dérivation reliant directement l'entrée avec ladite sortie. Dans ce procédé au moins deux récipients sont montés en série, et le volume de chaque récipient est calculé en fonction de la répartition que l'on souhaite obtenir pour chaque chaîne de réaction en relation avec au moins un récipient.

30 Préférentiellement, le volume de tous les récipients est identique.

Un tel dispositif est utilisable pour l'analyse d'un ou plusieurs échantillons liquides différents, dans lequel on cherche à identifier un ou plusieurs analytes selon tous les processus simples ou complexes d'analyse, mettant en jeu un ou plusieurs réactifs différents selon la nature chimique, physique ou biologique du ou des analytes recherchés. Les principes techniques définis ci-après ne sont pas limités à un analyte particulier, la seule condition requise étant que l'analyte soit distribué dans l'échantillon à analyser en suspension ou en solution. En particulier, le processus d'analyse mis en œuvre peut être effectué, sous forme homogène ou hétérogène ou mixte.

Un mode particulier, non limitatif d'un tel dispositif, concerne l'analyse biologique, d'un ou plusieurs ligands, nécessitant pour leur détection et/ou leur quantification l'utilisation d'un ou plusieurs anti-ligands. Par ligand, on entend toute espèce biologique comme par exemple, un antigène, un fragment d'antigène, un peptide, un anticorps, un fragment d'anticorps, un haptène, un acide nucléique, un fragment d'acide nucléique, une hormone, une vitamine. Un exemple d'application des techniques d'analyse concerne les immunoessais, quelque soit leur format, par analyse directe ou par compétition. Un autre exemple d'application concerne la détection et/ou la quantification d'acides nucléiques comprenant l'ensemble des opérations nécessaires à cette détection et/ou cette quantification à partir d'un prélèvement quelconque contenant les acides nucléiques cibles. Parmi ces différentes opérations, on peut citer la lyse, la fluidification, la concentration, les étapes d'amplification enzymatique des acides nucléiques, les étapes de détection incorporant une étape d'hybridation utilisant par exemple une puce à ADN ou une sonde marquée. La demande de brevet WO-A-97/02357 explicite différentes étapes nécessaires dans le cas d'analyse d'acides nucléiques.

25

Les figures ci-jointes sont données à titre d'exemple explicatif et n'ont aucun caractère limitatif. Elles permettront de mieux comprendre l'invention.

La figure 1 représente une vue schématique d'un premier mode de réalisation du dispositif selon l'invention.

30

La figure 2 représente une vue schématique d'un second mode de réalisation du dispositif selon l'invention.

La figure 3 représente un montage en série et en parallèle de différents dispositifs, tels que décrits en figure 2.

La figure 4 représente une vue en coupe selon A-A de la figure 3.

La figure 5 représente une vue schématique d'un troisième mode de réalisation du dispositif selon l'invention.

La figure 6 représente une vue schématique selon la figure 5 montrant la première étape de positionnement d'un échantillon liquide, selon la présente invention.

La figure 7 représente une vue schématique selon la figure 5 montrant la deuxième étape de positionnement d'un échantillon liquide, selon la présente invention.

La figure 8 représente une vue schématique selon la figure 5 montrant la troisième étape de positionnement d'un échantillon liquide, selon la présente invention.

La figure 9 représente un montage en série de différents dispositifs, selon un cinquième mode de réalisation de l'invention.

La figure 10 représente une vue détaillée d'un dispositif de la figure 9.

La figure 11 représente une vue en coupe selon B-B de la figure 10, permettant de visualiser les moyens utilisés pour orienter le liquide.

Enfin, la figure 12 représente une coupe selon C-C de la figure 5.

La présente invention concerne quatre dispositifs de positionnement qui permettent de réaliser un positionnement précis d'un échantillon liquide 2 comme cela sera bien expliqué en relation avec les figures ci-jointes.

Le premier mode de réalisation est représenté à la figure 1. Il concerne un dispositif de positionnement 1 selon un mode de réalisation qui est essentiellement constitué d'un canal de diamètre constant sur toute sa longueur. Ce canal comporte en fait trois zones bien fonctionnellement différentes au niveau du dispositif de positionnement 1.

Il y a tout d'abord une entrée 3 qui permet à l'échantillon liquide 2 d'être introduit dans le dispositif de positionnement 1. Il y a ensuite un récipient 5, faisant suite à l'entrée 3, qui permet la réception et le positionnement dudit échantillon liquide 2. Ce récipient 5 a une forme courbée. Enfin, il y a une sortie 4, présente dans le

prolongement de l'entrée 3 et du récipient 5, qui permet l'évacuation éventuelle de cet échantillon 2.

Néanmoins, le canal comporte encore, en position sensiblement en parallèle, une dérivation 6 qui relie l'entrée 3 à la sortie 4. Selon un mode préférentiel de réalisation, cette dérivation a une section et un diamètre qui sont sensiblement inférieurs à la section et au diamètre du canal comportant les entrée 3, sortie 4 et récipient 5. Cette différence de diamètre va du double au quintuple. Le choix de la forme et de la section des différents canaux peut varier aussi en fonction de la nature des liquides à transférer. Dans le cas de liquide mouillant comme par exemple une solution aqueuse contenant du Triton X100 (marque déposée) ou du Tween (marque déposée) dans une proportion de 0,5 à 2 ml/l, il faut éviter le phénomène de capillarité qui permet au liquide de remonter à l'intérieur de la dérivation 6 et donc de boucher cette dérivation en empêchant le passage de l'air. Ce problème est résolu par l'homme du métier qui choisira la section en fonction de la nature du liquide et des matériaux employés dans le dispositif. Si le liquide est non mouillant comme par exemple de l'eau distillée, ce phénomène de capillarité ne se produit pas.

Même si structurellement il peut y avoir quelques différences, les trois autres modes de réalisation, représentés sur les autres figures 2 à 11, ne sont pas éloignés de cette structure.

Ainsi, sur la figure 2, est représenté un second mode de réalisation 11 dans lequel deux différences sont présentes par rapport au premier mode de réalisation de la figure 1. Premièrement, on remarque que le canal est absolument rectiligne c'est-à-dire que l'entrée 13, le récipient 15 et la sortie 14 sont situés dans le prolongement les uns les autres. Bien entendu, ce mode de réalisation n'est pas obligatoire et il est tout à fait possible d'utiliser un récipient 5 de forme courbée comme cela est représenté sur la figure 1. Deuxièmement, le point d'intersection entre l'entrée 13 et la dérivation 16 comporte un moyen 18 qui permet de casser les bulles qui peuvent être générées par l'échantillon liquide 2 lorsque celui-ci est en transfert dans la canalisation principale 13-14-15. Ce dispositif 11 est donc structurellement identique mais le mode de

fonctionnement de ces deux modes de réalisation sera mieux représenté sur les figures 5 à 8 suivantes.

Ainsi, le troisième mode de réalisation est représenté sur ces figures 5 à 8. Il s'agit d'un dispositif 21 qui reprend les caractéristiques les plus pertinentes des deux premiers modes de réalisation. Ainsi, on remarque une entrée 23, une sortie 24 et un récipient 25, le récipient 25 ayant une forme courbe de la même manière que sur le premier mode de réalisation avec le récipient 5. La dérivation 26 relie toujours l'entrée 23 et la sortie 24, néanmoins, à l'instar du mode de réalisation de la figure 2, un moyen permettant de casser les bulles 28 est présent entre l'entrée 23 et la dérivation 26. Sur cette figure 5, aucun échantillon liquide 2 n'est représenté.

Sur la figure 11, une vue en coupe selon C-C de la figure 5, on remarque une disposition particulière des canaux au niveau de l'intersection entre l'entrée 23 et la dérivation 26 lorsque un moyen 28 permettant de casser les bulles est présent. La profondeur des canaux est telle qu'un décrochement existe entre 23 et 28 et un autre décrochement est présent entre 28 et 26. Le décrochement entre 23 et 28 génère une arête vive qui améliore l'efficacité du moyen 28 pour casser les bulles. Préférentiellement, une arête vive entre 26 et 28 est présente.

Comme décrit ci-dessous, à titre d'exemple et en utilisant une fraise boule pour l'usinage du dispositif dans une carte plastique en polystyrène choc, une profondeur de 2 millimètres (mm) pour une largeur de 2 mm peut être choisie pour le canal 23, une profondeur de 1,5 mm sur une largeur de 3 mm pour le moyen 28, et une profondeur de 0,5 mm avec une largeur de 0,5 mm pour la dérivation 26. Dans ces conditions et en utilisant 100 microlitres d'eau déminéralisée déplacée par une variation de pression à la vitesse de 50 microlitres par minute, le liquide remplit la cavité 25 puis le déplacement est stoppé. Dans ce mode de réalisation, le volume de liquide à isoler doit être inférieur au volume du récipient 25.

Sur les figures 6 à 8, on comprend mieux le mode de fonctionnement de ce dispositif 21, mode de fonctionnement qui est identique pour les deux premiers modes de réalisation. Ainsi, comme on le voit sur la figure 6, le liquide 2 arrive au niveau de l'entrée 23 et ledit liquide 2, sous l'action d'une pression extérieure P représentée sur la

figure 7, va s'écouler dans le récipient 25. Il est préférable d'utiliser la gravité pour permettre un tel mouvement selon F1. Ainsi, les dimensions de la dérivation 26 et du canal constitués par les entrée 23, sortie 24 et récipient 25 peuvent être calculées afin de permettre au liquide 2 de s'orienter spontanément vers le récipient 25 sous l'action de la pression P. C'est ce qui est bien expliqué sur la figure 7, puisque sous l'action de la pression P, l'ensemble de l'échantillon liquide 2 s'oriente dans le récipient 25 et suit le mouvement selon la flèche F1 en direction de la sortie 24. Bien entendu, le volume de l'échantillon qui est poussé par la pression P, est inférieur ou égal au volume contenu par le récipient 25, c'est-à-dire au volume situé entre les deux points d'intersection de la dérivation 26 avec, d'une part, l'entrée 23 et, d'autre part, la sortie 24. Sur la figure 8, on comprend mieux la fonction réelle du dispositif de positionnement 21 et de la dérivation 26. Ainsi, l'échantillon liquide 2 se trouve exclusivement compris dans le récipient 25, cet échantillon 2 étant borné par l'entrée 23 et la sortie 24. Dans ce cas, la pression P est toujours présente, néanmoins, la poussée ne s'exerce plus sur le liquide mais sur la dérivation selon les flèches F2. De ce fait, l'échantillon liquide 2 est bien positionné à l'endroit prédéterminé. Il est donc possible également de prévoir au niveau du récipient 25, un autre canal appelé canal de sortie 53, qui permet selon l'ouverture ou la fermeture d'une vanne, non représentée sur les figures, le transfert de l'échantillon de volume déterminé 2 de cette position prédéterminée vers un récipient permettant une réaction biologique, par exemple, une amplification d'acides nucléiques ou une réaction entre antigènes et anticorps, etc.

Pour permettre ce transfert, il est possible d'utiliser un dispositif de pompage qui est bien décrit et protégé dans la demande de brevet déposée par la demanderesse le même jour que la présente invention et intitulée : « Dispositif de pompage dans un consommable scellé permettant de transférer au moins un fluide ». Le contenu de la description de cette demande de brevet est considéré comme incorporé à la présente invention. Un système de vanne utilisable dans le dispositif décrit dans cette demande de brevet a déjà fait l'objet d'une demande de brevet déposée par la demanderesse en date du 8 septembre 1998, sous le numéro de dépôt FR98/11383 et intitulé : « Dispositif permettant des réactions, système de transfert entre dispositifs et procédé

de mise en œuvre d'un tel dispositif ». Le contenu de la description de cette demande de brevet est également considéré comme incorporé à la présente invention.

Néanmoins, il est également possible de transférer le liquide 2 en augmentant la pression P appliquée sur ce liquide, lorsque celui-ci est présent dans le récipient 25.

5 Dans tous ces exemples, il est bien évident que le mode de réalisation utilise une pression P appliquée à l'entrée du récipient 25, néanmoins le système peut fonctionner de la même manière avec une dépression D appliquée à la sortie du récipient 25 ou une combinaison des deux.

10 Ces différents dispositifs de positionnement 1, 11, 21, ainsi que le quatrième dispositif 31 non encore décrit, sont tout à fait adaptés à l'utilisation dans une carte 40 bien représentée sur la figure 3, carte 40 qui permet de mener à bien des réactions biologiques multiples dans un consommable scellé, sans action au sein de la carte 40. Ainsi, c'est plutôt par l'intermédiaire d'une action extérieure sur ladite carte 40 que les échantillons liquides 2 d'un récipient 5, 15 ou 25 sont orientés vers un autre récipient 5, 15 ou 25, en vue soit de leur stockage soit de leur transfert ultérieur soit de leur miction avec un autre échantillon liquide ou solide présent dans un compartiment.

20 Sur cette figure 3, sont représentées trois chaînes de réaction 50 chacune constituée de deux dispositifs de positionnement 11 tels que représentés à la figure 2. On remarque la présence, entre l'entrée 54 et la sortie 55, de vannes 51 permettant selon l'ouverture ou la fermeture, le transfert des échantillons liquides 2, d'un récipient 15 vers un autre récipient 15 ou vers la sortie 55. Comme ce sera mieux expliqué par la suite, la présence de ces vannes n'est pas obligatoire. Dans un mode particulier de réalisation de l'un quelconque des dispositifs décrits, où il est nécessaire de chauffer un 25 compartiment pour favoriser une réaction chimique ou biologique à des températures comprises par exemple entre 30 et 120 °C et avantageusement entre 40 et 95°C, la présence de vannes permet de limiter les phénomènes d'évaporation qui peuvent conduire à une modification du volume dans le compartiment induisant un chauffage non contrôlé des réactifs ou un problème de contamination dans un autre compartiment.

30 Dans ce cas, il peut être avantageux de positionner des vannes y compris sur les dérivations.

Sur la figure 4, une vue en coupe, selon A-A de la figure 3, montre que les deux récipients 15 situés dans le prolongement l'un de l'autre peuvent être positionnés sur des faces différentes de la carte 40. Ainsi, le premier récipient 15, situé à gauche, est ouvert sur sa face supérieure, alors que le second récipient 15, situé à droite, est ouvert sur sa face inférieure. Bien entendu, pour permettre le transfert des échantillons 2, il est nécessaire qu'un film soit collé sur chacune des faces de la carte 40, ces films sont référencés 56 d'un côté comme de l'autre de ladite carte 40.

La nature du film flexible peut varier en fonction de la nature de la carte d'analyse et des fluides testés notamment pour des raisons de compatibilité. Par exemple, un film polymère TPX (polyméthylepentène) ou BOPP (polypropylène bi-orienté) permet de réaliser des tests biologiques. La fixation de ces films peut être réalisée par collage (enduction de colle comme par exemple les colles silicones sur le film) ou par soudure. Un exemple de BOPP adhésif est fourni par la société BioMérieux Inc (St Louis, MO, USA) sous la référence 022004-2184.

En terme de réalisation, la carte d'analyse est obtenue par usinage d'une matière plastique technique comme par exemple le polystyrène choc référence R540E de la société GOODFELLOW, compatible avec les liquides traités. Dans un mode de réalisation industriel, la carte pourrait être obtenue par moulage de précision, mais toutes autres méthodes de fabrication et notamment celles utilisées dans les techniques de semi-conducteur comme celles décrites dans la demande de brevet WO-A-97/02357 sont utilisables pour la fabrication de la carte d'analyse.

Sur chaque carte 40, il est donc possible d'avoir plusieurs dispositifs de positionnement 1, 11 ou 21 positionnés en série, les uns derrière les autres. Il est également possible d'avoir un certain nombre de chaînes de réaction 50 constituées par plusieurs dispositifs en série montés parallèlement, c'est ce qui est bien visible sur cette figure 3. Selon une variante de réalisation, il est également possible de mélanger les différents modes de réalisation de dispositifs de positionnement tels que représentés ci-dessus. Il est enfin possible également de faire varier le volume de chaque récipient 5, 15 ou 25 afin d'adapter les volumes transférés en fonction des réactions qu'il est nécessaire de réaliser par la suite.

Ainsi lorsque l'échantillon que l'on souhaite isoler, pour pouvoir le déplacer par la suite, doit être d'un volume important, on utilise plutôt un volume de récipient correspondant au premier et troisième mode de réalisation alors qu'un volume plus faible, à section de canalisation identique, il sera nécessaire d'utiliser le second mode de réalisation de la figure 2. On peut également faire varier le volume de l'échantillon 2 en faisant varier la longueur et/ou le diamètre du récipient 5, 15 ou 25. Toutes les alternatives envisagées ci-dessus peuvent également prendre en ligne de compte le dispositif 31 selon le quatrième mode de réalisation.

Ce quatrième mode de réalisation est bien représenté sur les figures 9 à 11.

Sur la figure 9, on remarque une chaîne de réaction 52 sensiblement identique à l'une des chaînes de réaction 50 représentées sur les figures 3 et 4. L'un des dispositifs 31, qui constituent cette chaîne de réaction, est quant à lui mieux représenté sur la figure 10. A l'instar des trois premiers modes de réalisation, on remarque la présence d'une entrée 33 et d'une sortie 34.

Il y a de nombreuses originalités dans ce mode de réalisation entre autres le volume du récipient 35 qui n'est pas constitué par une canalisation, comme c'était le cas précédemment, mais par un compartiment dont le volume est nettement plus important. Ce mode de réalisation est plus adapté avec une carte positionnée sensiblement verticalement, de sorte que la gravité facilite le remplissage de récipient 35. Une autre différence importante réside dans la présence de la dérivation 36 et 37 constituée de deux parties dissemblables. La première partie 36 comporte un point d'intersection vis-à-vis de l'entrée 33 alors que la seconde partie 37 comporte un point d'intersection avec la sortie 34. Bien entendu, les deux parties de la dérivation 36 et 37 se relient l'une à l'autre au niveau d'un point d'intersection d'où part une canalisation d'évacuation 57 du surplus de l'échantillon liquide 2. Selon un mode préférentiel de réalisation, cette canalisation 57 est d'un diamètre identique à et est située dans le prolongement de la première partie de la dérivation 36.

Il est également possible d'associer le récipient 35 à un volume tampon tel que décrit précédemment.

Le procédé de remplissage de ce quatrième mode de réalisation est donc sensiblement différent des trois modes de réalisation précédemment décrits. Si l'on se réfère maintenant à la figure 9, on comprend que l'échantillon liquide qui arrive par la gauche va être introduit dans le premier dispositif 31 et va remplir le récipient ou
5 compartiment 35 jusqu'au niveau du point d'intersection entre la sortie 34 et la deuxième partie de la dérivation 37. Lorsque le liquide arrive à ce point d'intersection, la force à créer pour que l'échantillon 2 remonte la seconde partie de la dérivation 37 est beaucoup plus importante que l'effort à fournir pour évacuer l'échantillon par la première partie de la dérivation 36. De ce fait, le surplus dudit échantillon 2 va transiter
10 par la canalisation d'évacuation 57, via la première partie de la dérivation 36, et va pouvoir remplir le second récipient 35 qui le suit. Il sera donc possible de cette manière, en envoyant sous une certaine pression dans un compartiment contenant un échantillon liquide 2, d'un volume plus important que le volume de l'ensemble des compartiments 35, de transférer ledit échantillon 2 dans différents dispositifs de positionnement 31 et
15 ainsi d'obtenir une séparation équilibrée, c'est-à-dire d'un volume identique dans chacun desdits récipients 35. On remarque également, que la première partie de la dérivation 36 étant d'un diamètre sensiblement identique au canal constituant l'entrée 33, cette première partie 36 constitue au niveau du point d'intersection entre elle et ladite entrée 33, un moyen permettant de casser les bulles 38.

20 On peut aussi obtenir une séparation déséquilibrée si les volumes des compartiments 35 sont différents en fonction du devenir réactionnel de chaque compartiment 35. Dans un mode de réalisation, le volume de l'échantillon à répartir est égal au volume total des compartiments 35. Dans un autre mode de réalisation, le volume de l'échantillon à répartir est supérieur au volume total des compartiments 35.
25 Dans ce cas, la purge des lignes supérieures 36 et 57 peut être réalisée par l'application d'une variation de pression ou un autre moyen ou bien on peut prévoir un compartiment 35 faisant office de compartiment récepteur pour le surplus de liquide et situé en bout de la chaîne de réaction 52.

30 Comme décrit précédemment, il est possible de mélanger les différents modes de réalisation de dispositifs de positionnement 1, 11, 21 et 31, tels que représentés ci-dessus. Il est possible également de faire varier le volume de chaque récipient 5, 15, 25

ou 35 afin d'adapter les volumes transférés en fonction des réactions qu'il est nécessaire de réaliser par la suite.

Ainsi, lorsque l'analyse à effectuer sur l'échantillon que l'on souhaite isoler peut s'effectuer sur la totalité du volume de l'échantillon, on utilise plutôt les trois premiers modes de réalisation. Lorsque l'analyse à effectuer sur l'échantillon nécessite un aliquotage, c'est-à-dire une répartition équilibrée ou non de ce volume dans différents compartiments, on utilise plutôt le quatrième mode de réalisation. Ce cas se produit par exemple dans le cas d'analyse multiple pour un même échantillon comme la détermination simultanée de plusieurs pathogènes aussi bien en immunoessais que dans le diagnostic par sondes nucléiques. Il est possible d'utiliser ce dispositif pour isoler des volumes de liquide compris entre 1 et 5000 microlitres, avantageusement entre 5 et 2000 microlitres et préférentiellement entre 10 et 1000 microlitres.

On remarque également, que l'entrée 33 se prolonge au niveau du récipient 35 sous une forme particulière bien représentée sur la vue en coupe B-B de la figure 11. Ainsi, l'entrée 33 est de dimension tout à fait normale. Néanmoins, entre cette entrée 33 et le récipient 35, il existe un moyen de drainage 39 de l'échantillon liquide 2 afin de l'orienter et de faciliter son transfert vers ledit récipient 35. Ce moyen 39 est constitué par une forme en biseau dont l'écartement par rapport au film 56 extérieur, qui cloisonne le dispositif 31, est sensiblement plus important au niveau du récipient 35 qu'au niveau de l'entrée 33. Cette distance assez faible entre le moyen 39 et le film 56 facilite l'orientation de l'échantillon liquide 2 par simple capillarité.

Comme sur la figure 5, il est possible de prévoir au fond du récipient 35, un canal de sortie 53 pour transférer l'échantillon positionné dans ledit récipient 35 vers un autre récipient afin d'y subir une réaction ou toute autre manipulation ou stockage.

REFERENCES

1. Dispositif de positionnement selon le premier mode de réalisation
2. Echantillon liquide
- 5 3. Entrée du récipient 5
4. Sortie du récipient 5
5. Récipient
6. Dérivation reliant l'entrée 3 à la sortie 4
11. Dispositif de positionnement selon le deuxième mode de réalisation
- 10 13. Entrée du récipient 15
14. Sortie du récipient 15
15. Récipient
16. Dérivation reliant l'entrée 13 à la sortie 14
18. Moyen pour casser les bulles
- 15 21. Dispositif de positionnement selon le troisième mode de réalisation
23. Entrée du récipient 25
24. Sortie du récipient 25
25. Récipient
26. Dérivation reliant l'entrée 23 à la sortie 24
- 20 28. Moyen pour casser les bulles
31. Dispositif de positionnement selon le deuxième mode de réalisation
33. Entrée du récipient 35
34. Sortie du récipient 35
35. Récipient
- 25 36. Première partie de la dérivation reliant l'entrée 33 à la sortie 34
37. Seconde partie de la dérivation reliant l'entrée 33 à la sortie 34
38. Moyen pour casser les bulles
39. Moyen de drainage de l'échantillon 2
40. Carte comportant plusieurs chaîne 50 en parallèle
- 30 50. Chaîne de réaction comportant plusieurs dispositifs 11 en série
51. Vanne entre deux dispositifs 11

- 52. Chaîne de réaction comportant plusieurs dispositifs 31 en série
- 53. Canal de sortie
- 54. Entrée d'une chaîne de réaction 50
- 55. Sortie d'une chaîne de réaction 50
- 5 56. Film
- 57. Canalisation d'évacuation du surplus de l'échantillon
- D. Dépression subie par l'échantillon liquide 2 pour son déplacement
- P. Pression subie par l'échantillon liquide 2 pour son déplacement
- F1. Déplacement de l'échantillon liquide 2 sous l'action de la pression P
- 10 F2. Déplacement de l'air au niveau de la dérivation 26 sous l'action de la pression P

REVENDICATIONS

1. Dispositif de positionnement (31) d'un échantillon liquide (2), déplacé par
5 une variation de pression entre une entrée (33) et une sortie (34), un récipient (35)
reliant l'entrée (33) et la sortie (34), caractérisé par le fait que l'échantillon (2) est
stoppé automatiquement dans son déplacement dès que ledit échantillon (2), après avoir
rempli le récipient (35), atteint le point d'intersection entre une dérivation (36 et 37) et
10 ladite sortie (34), la dérivation (36 et 37) reliant directement ladite entrée (33) avec la
sortie (34), et qu'une canalisation (57) évacue le surplus de l'échantillon (2).

2. Dispositif, selon la revendication 1, caractérisé par le fait que la dérivation (6,
16, 26 ou 36 et 37) est reliée à une entrée (3, 13, 23 ou 33) d'un autre récipient (5, 15,
25 ou 35), et que le nombre de récipients (5, 15, 25 et/ou 35) monté en série est au
15 moins égal à deux.

3. Dispositif, selon l'une quelconque des revendications 1 ou 2, caractérisé par
le fait que la dérivation (6, 16, 26 ou 36 et 37) est d'une section transversale inférieure à
la section transversale de l'entrée (3, 13, 23 ou 33) et/ou de la sortie (4, 14, 24 ou 34)
20 sur tout ou partie de sa longueur.

4. Dispositif, selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé par le
fait que le récipient (5, 15 ou 25) est constitué par un canal d'un diamètre sensiblement
identique au diamètre de l'entrée (3, 13 ou 23) et/ou de la sortie (4, 14 ou 24).
25

5. Dispositif, selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé par le
fait que le récipient (35) est constitué par un compartiment dont la section est
supérieure au diamètre de l'entrée (33) et/ou de la sortie (34).

30 6. Dispositif, selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé par le
fait qu'un moyen (18, 28 ou 38), permettant de casser les bulles que l'échantillon

liquide (2) pourrait créer, est présent entre l'entrée (13, 23 ou 33) et la dérivation (16, 26 ou 36 et 37).

5 7. Dispositif, selon la revendication 6, caractérisé par le fait que le moyen (18, 28 ou 38), permettant de casser les bulles, est constitué d'un canal de section transversale strictement supérieure à la section transversale de la dérivation (16, 26 ou 36 et 37).

10 8. Dispositif, selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisé par le fait que chaque canal, constituant l'entrée (3, 13, 23 ou 33) et/ou la sortie (4, 14, 24 ou 34) et/ou chaque récipient (5, 15, 25 ou 35), est parcouru longitudinalement, en tout ou partie, par au moins un moyen de drainage (39) de l'échantillon liquide (2).

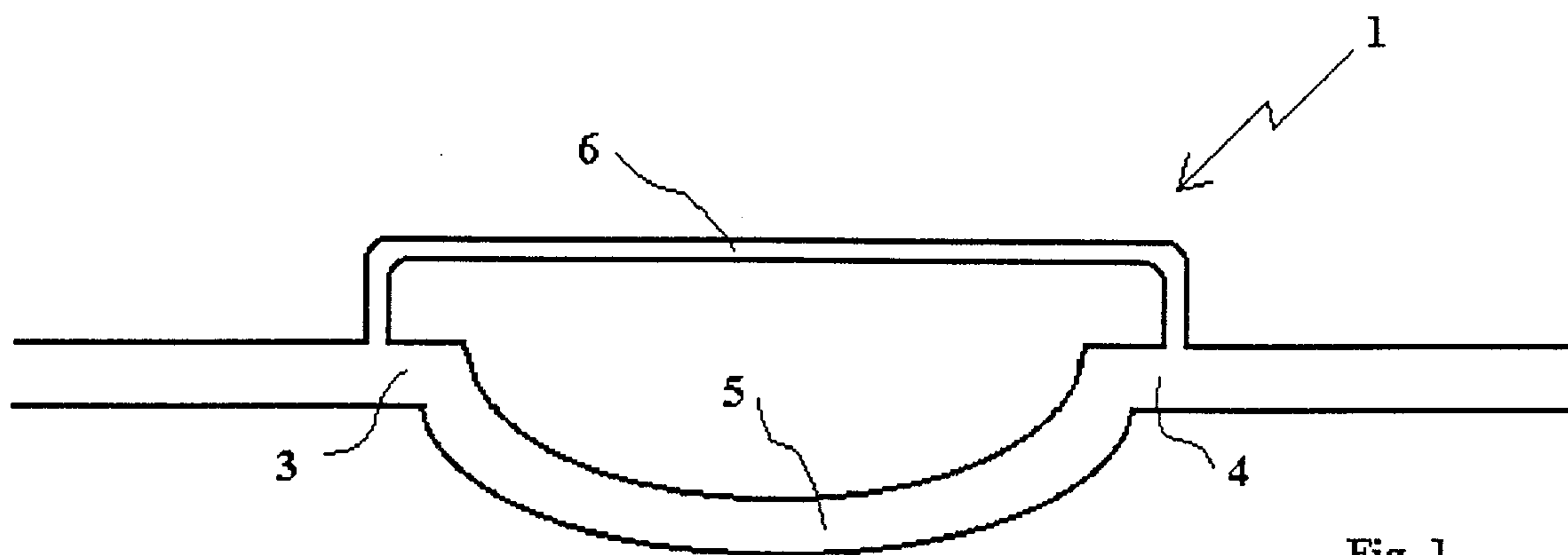
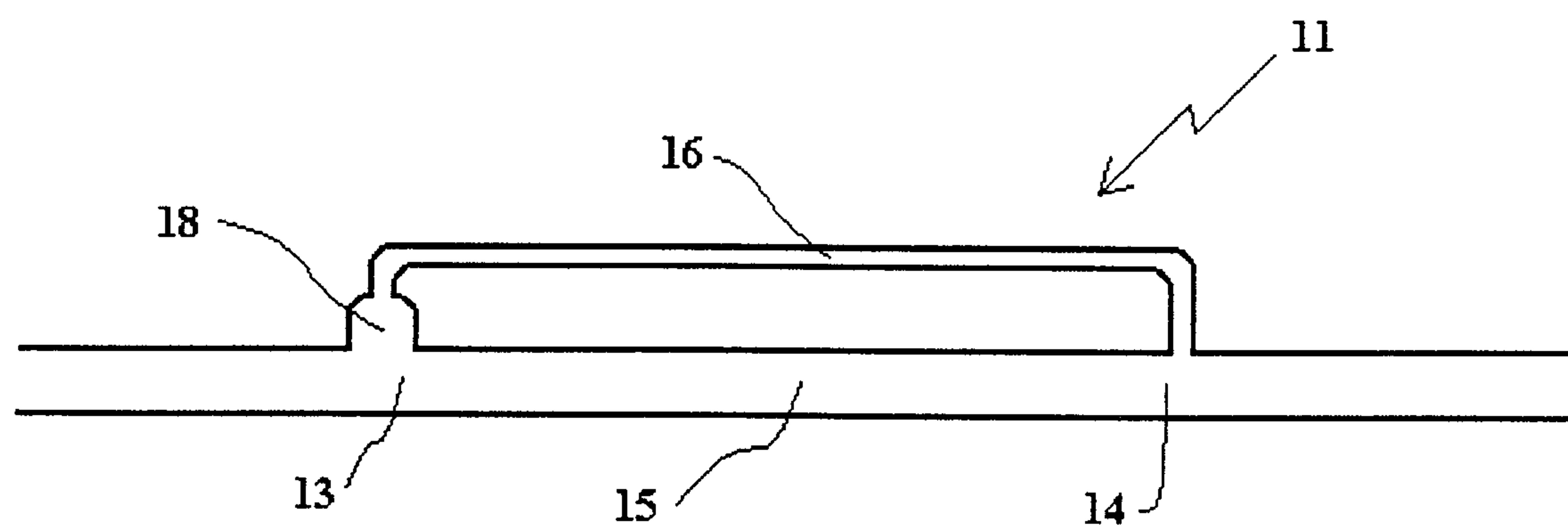
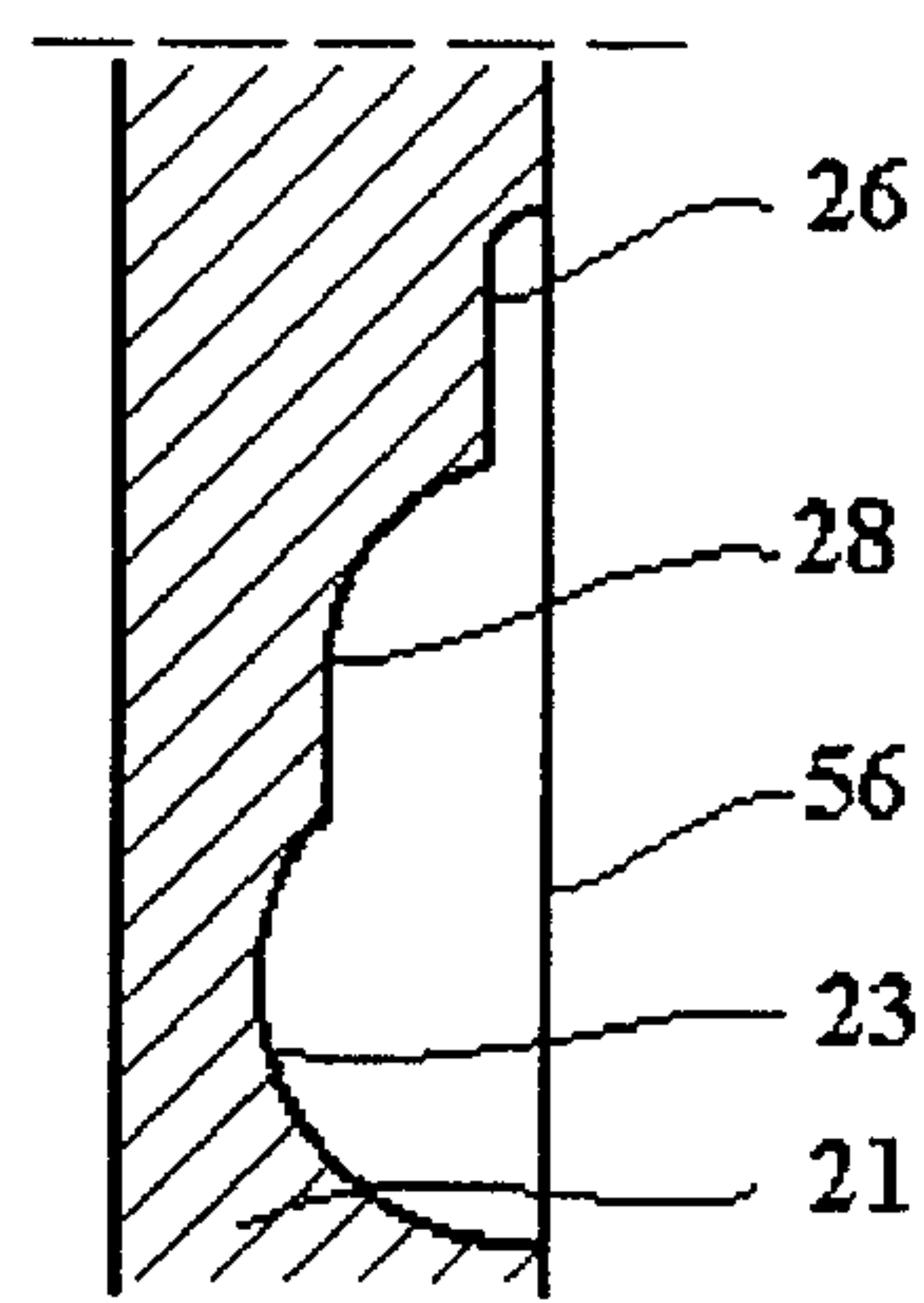
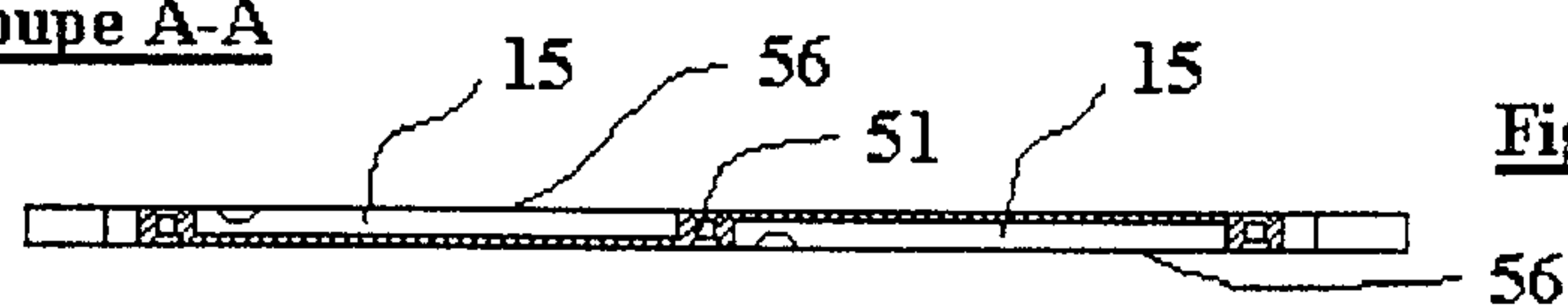
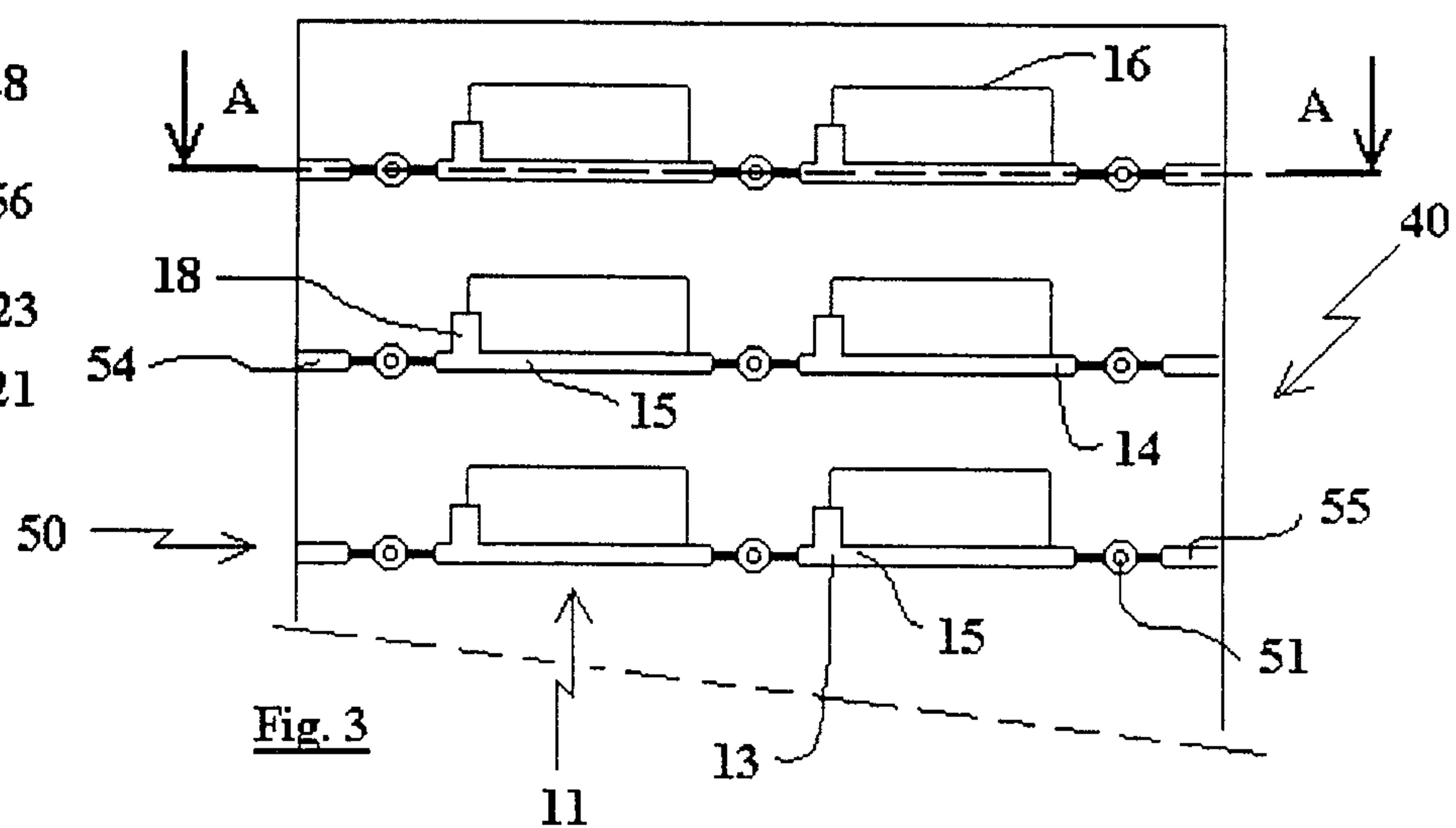
15 9. Dispositif, selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, caractérisé par le fait qu'au moins un des récipients (5, 15, 25 ou 35) est associé à un volume tampon.

20 10. Procédé d'utilisation d'un dispositif, selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, dans lequel au moins deux récipients sont montés en série selon les caractéristiques suivantes : dispositif de positionnement (1, 11 ou 21) d'un échantillon liquide (2), déplacé par une variation de pression entre une entrée (3, 13 ou 23) et une sortie (4, 14 ou 24), un récipient (5, 15 ou 25) reliant l'entrée (3, 13 ou 23) et la sortie (4, 14 ou 24), caractérisé par le fait que l'échantillon (2) est stoppé automatiquement dans son déplacement dès que ledit échantillon (2) est présent dans le récipient, et n'est plus présent au niveau du point d'intersection entre une dérivation (6, 25 16 ou 26) et ladite entrée (3, 13 ou 23), la dérivation (6, 16 ou 26) reliant directement l'entrée (3, 13 ou 23) avec ladite sortie (4, 14 ou 24), le volume de chaque récipient est calculé en fonction de la répartition que l'on souhaite obtenir pour chaque chaîne de réaction en relation avec au moins un récipient.

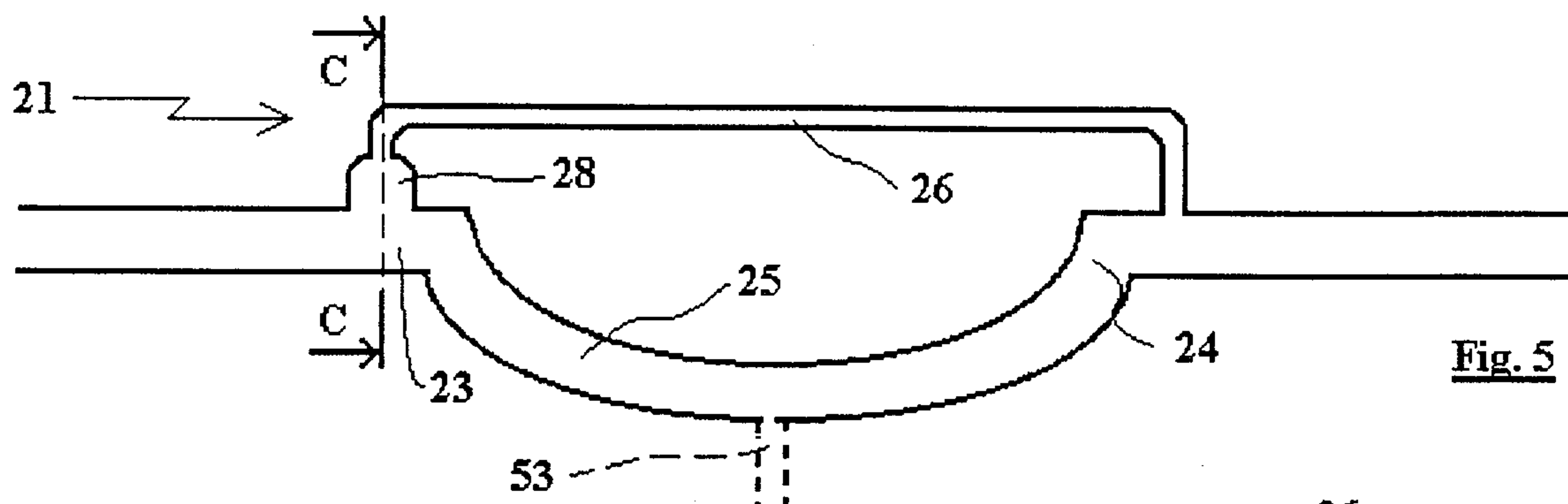
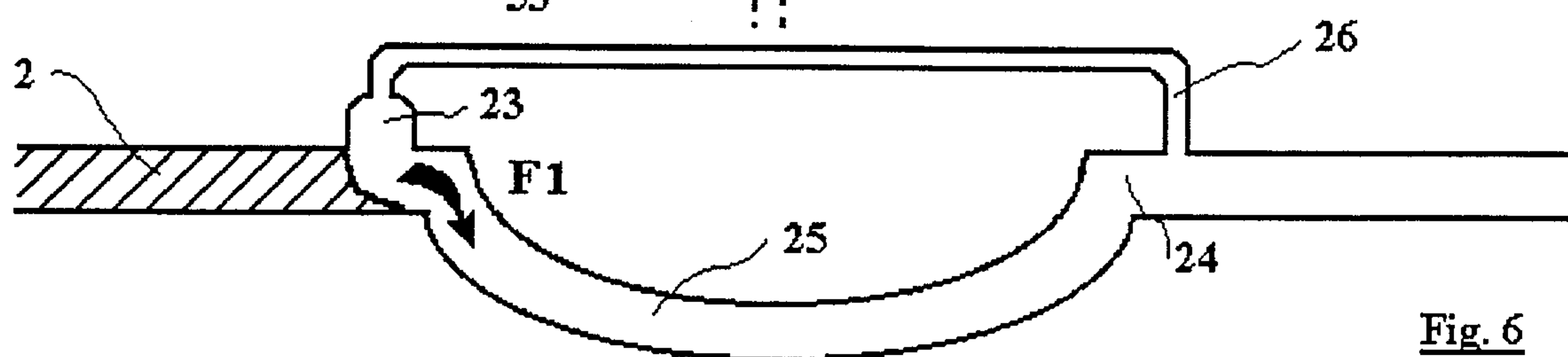
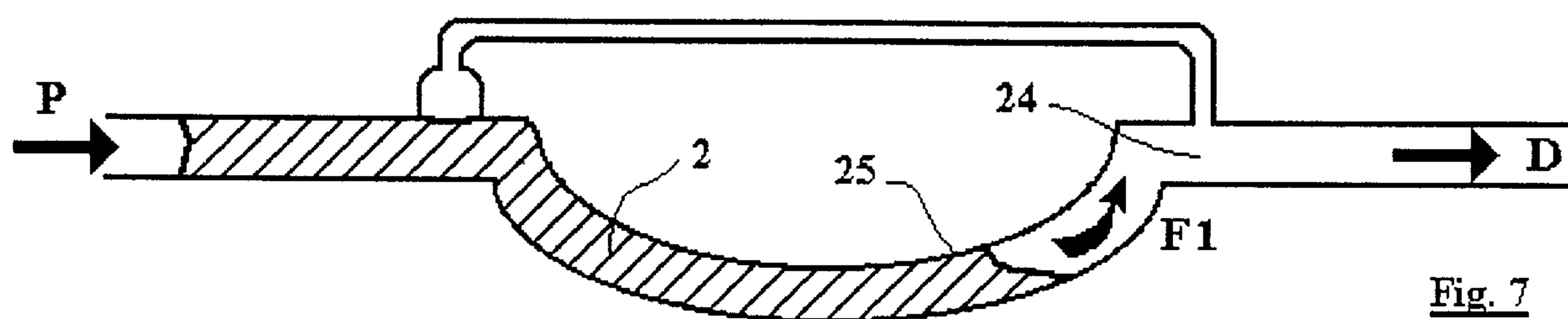
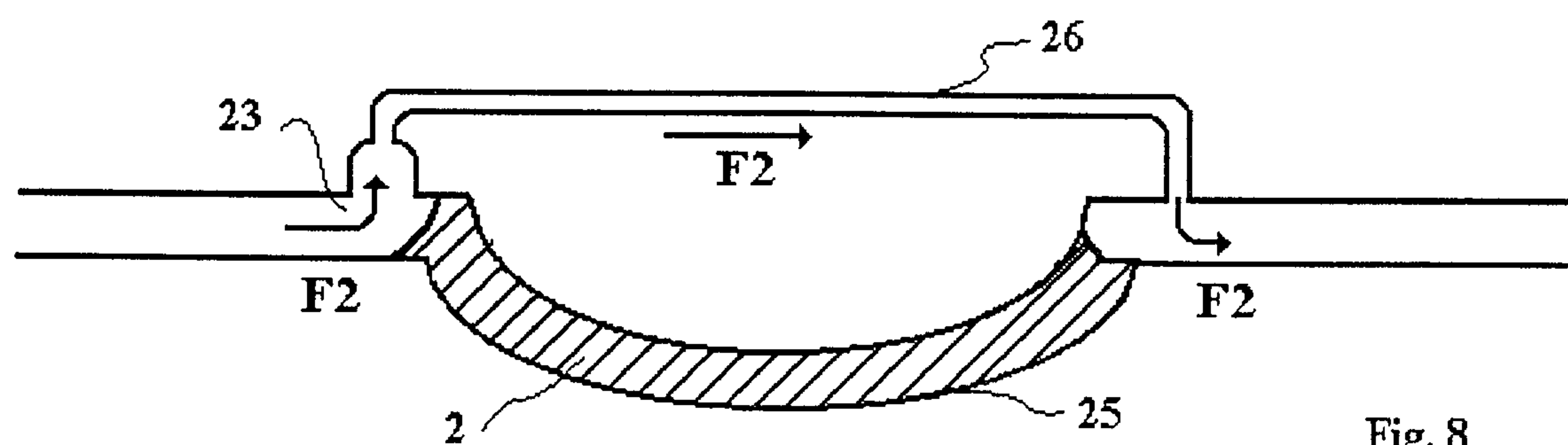
30 11. Procédé, selon la revendication 10, caractérisé en ce que le volume de tous les récipients est identique.

12. Procédé , selon l'une quelconque des revendications 10 et 11, caractérisé en ce que le remplissage d'un récipient (5, 15, 25 ou 35) s'effectue par gravité.

1 / 3

Fig. 1Fig. 2Coupe C-CFig. 12Coupe A-AFig. 4Fig. 3

2 / 3

Fig. 5Fig. 6Fig. 7Fig. 8

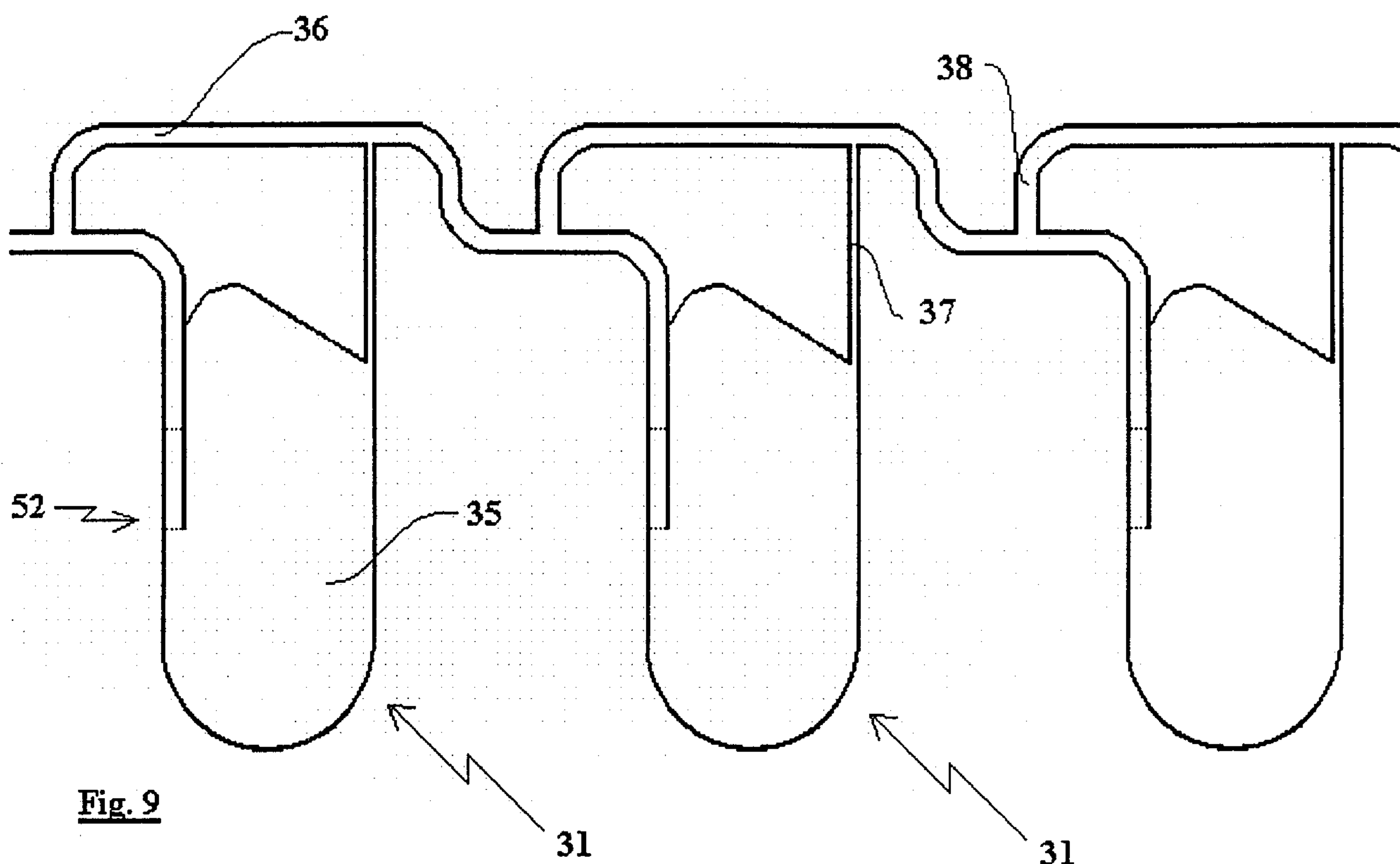


Fig. 9

Coupe B-B

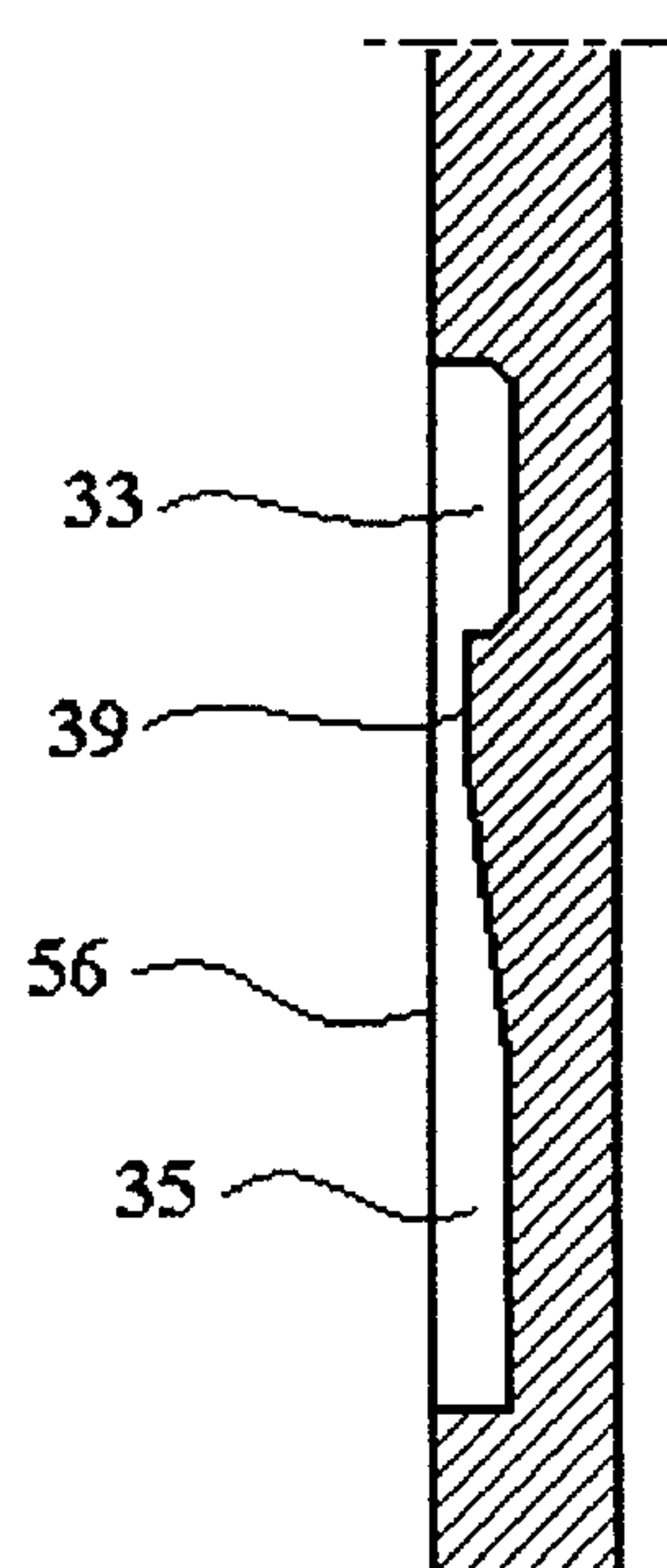


Fig. 11

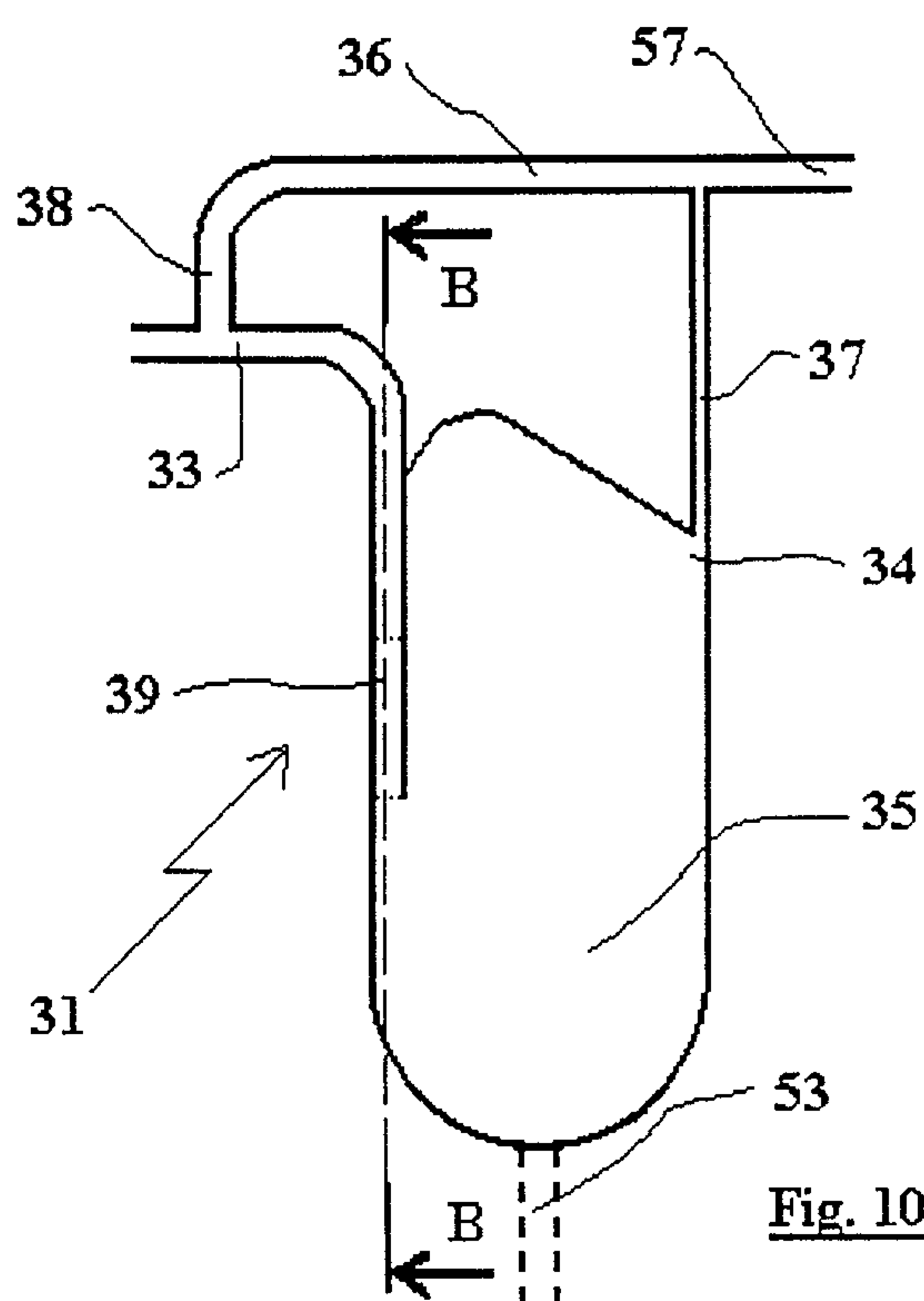


Fig. 10

