

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

(21)

N° 80 00693

(54) Procédé pour réaliser des alvéoles dans les matières gélatineuses et notamment la gélose et dispositif pour sa mise en œuvre.

(51) Classification internationale (Int. Cl. ³). C 12 M 1/22; B 26 F 1/38; C 12 N 1/00.

(22) Date de dépôt..... 14 janvier 1980.

(33) (32) (31) Priorité revendiquée :

(41) Date de la mise à la disposition du
public de la demande..... B.O.P.I. — « Listes » n° 29 du 17-7-1981.

(71) Déposant : Société dite : L'OREAL, résidant en France.

(72) Invention de : Alain Brun, Louis Marcotte et Bela Szarazi.

(73) Titulaire : *Idem* (71)

(74) Mandataire : Jacques Peuscet, conseil en brevets,
3, square de Maubeuge, 75009 Paris.

La présente invention a trait à un procédé pour réaliser des trous ou alvéoles dans les matières gélatineuses et notamment dans la gélose des boîtes de Pétri. Elle a également trait à un dispositif pour la mise en oeuvre de ce procédé.

On sait que dans les laboratoires de bactériologie il est d'usage de pratiquer dans la gélose ou dans d'autres matières gélatineuses destinées à la culture, des trous ou alvéoles susceptibles, par exemple, de recevoir des matières liquides destinées à diffuser. Ces alvéoles sont actuellement réalisées manuellement à l'aide d'outils emporte-pièce. Il en résulte notamment que la forme de ces alvéoles n'est pas toujours parfaite et que leur disposition dans la boîte de Pétri n'est pas régulière, ce qui comporte des inconvénients notables pour les mesures et les expériences qui doivent être effectuées à l'aide de ces boîtes. En outre la réalisation de ces alvéoles constitue, dans les laboratoires, un travail fastidieux et qui augmente les coûts de fonctionnement des laboratoires.

La présente invention désire apporter un procédé pour réaliser des alvéoles dans la matière gélatineuse, et notamment la gélose, qui permette de réaliser dans cette matière des alvéoles de géométrie parfaite et de dimensions constantes, qui permette en outre de disposer ces alvéoles dans la boîte de façon régulière et qui enfin se prête à un fonctionnement à cadence élevée susceptible d'être semi-automatisé ou entièrement automatisé. L'invention se propose également d'apporter un dispositif de construction simple et peu onéreuse permettant de mettre en oeuvre ce procédé dans des conditions économiques.

L'invention a pour objet un procédé pour réaliser des alvéoles dans les matières gélatineuses et notamment la gélose, par exemple dans des boîtes de Pétri, procédé dans lequel on réalise lesdites alvéoles à l'emporte-pièce, caractérisé par le fait que l'on fait pénétrer l'outil emporte-pièce perpendiculairement à la surface et au fond de la matière gélatineuse selon un trajet rigoureusement rectiligne le long de l'axe

de l'outil, que lorsque l'outil est arrivé au fond ou au voisinage du fond, on effectue un ou plusieurs mouvements relatifs de faible amplitude entre la matière gélatineuse et l'outil dans une direction sensiblement perpendiculaire à la direction d'enfoncement, puis que l'on extrait la pièce ou pastille de 5 gélose découpée à l'intérieur de l'outil, de préférence par aspiration.

Le mouvement relatif entre la matière gélatineuse et l'outil emporte-pièce peut être obtenu à l'aide d'une translation aller-retour, ou d'une rotation aller-retour autour 10 d'un axe éloigné de l'axe de l'outil, ou encore par vibrations dans le plan transversal à l'axe de l'outil à basse fréquence avec une amplitude suffisante.

La vitesse de pénétration de l'outil dans la matière 15 gélatineuse telle que la gélose peut être déterminée expérimentalement. D'une façon générale des vitesses de l'ordre 50 mm par seconde s'avèrent convenables. La trajectoire de sortie de l'outil est dans la trace de la trajectoire d'entrée, la vitesse de sortie de l'outil hors de la gélose étant de préférence 20 plus grande et avantageusement au moins double de la vitesse de pénétration.

L'amplitude du déplacement latéral doit être suffisamment faible pour ne pas provoquer de destruction de la gélose entourant l'outil. Cette amplitude peut être par exemple de 25 l'ordre de 1 mm et de préférence inférieure à 2 mm.

On peut, conformément au procédé selon l'invention utiliser un seul ou plusieurs outils emporte-pièce pour réaliser à la fois plusieurs alvéoles. Ainsi on peut avantageusement utiliser 2 ou 3 outils et, dans le cas fréquent où 30 l'on désire réaliser un plus grand nombre d'alvéoles dans une boîte de Pétri, par exemple six alvéoles, on effectue après chaque passe une rotation relative entre les outils et la boîte de Pétri de l'angle nécessaire pour obtenir une distribution uniforme des alvéoles.

35 L'invention a également trait à un dispositif pour la mise en oeuvre de ce procédé, dispositif caractérisé en ce qu'il comporte au moins un outil emporte-pièce, un support pour un réceptacle contenant la matière gélatineuse tel qu'une boîte de Pétri, des moyens pour faire pénétrer l'outil dans 40 la gélose selon une trajectoire rectiligne d'amplitude déter-

minée puis pour extraire l'outil selon la même trajectoire, des moyens pour provoquer un mouvement relatif dans une direction transversale par rapport à la direction de déplacement de l'outil et selon une faible amplitude, et des moyens d'ex-
traction de la pastille de gélose découpée par l'outil, de
préférence par aspiration à travers l'outil emporte-pièce.

Dans une forme de réalisation préférée l'outil est fixe et le réceptacle contenant la matière gélatineuse, par exemple la boîte de Pétri, est positionné sur un support monté de façon coulissante pour se rapprocher de l'outil puis s'en éloigner, ledit support étant en outre susceptible d'être animé d'un court mouvement alternatif en direction transversale par rapport à l'axe de l'outil.

De préférence, notamment pour une évacuation par aspiration, l'outil présente, dans sa partie utile pénétrant dans la gélose, une forme cylindrique suivie d'un tranchant s'évasant légèrement vers le bas et vers l'extérieur de façon à laisser un faible passage entre la paroi de l'alvéole et la surface externe de l'outil.

Dans une forme de mise en oeuvre particulière l'outil ou les outils, qui se présentent sous la forme générale de cylindres allongés creux sont fixés à la partie inférieure d'une cuve dans laquelle ils débouchent par leur extrémité supérieure, des moyens d'aspiration ou de mise sous vide partiel étant prévus pour établir dans la cuve une dépression susceptible d'assurer l'aspiration de la pastille de matière gélatineuse découpée, les pastilles s'accumulant au fur et à mesure dans la cuve.

Dans une forme de réalisation particulièrement préférée, dans laquelle les réceptacles se déplacent vers l'outil ou les outils emporte-pièce, le réceptacle tel que la boîte de Pétri est maintenu à l'intérieur d'une pièce cylindrique de guidage possédant de préférence une ouverture latérale pour l'introduction du réceptacle qui repose sur une pièce coulissant vers le ou les outils, de préférence au moyen d'un joint élastique très souple de façon à éviter des risques de contact brutal entre l'extrémité de l'outil et le fond de la boîte. De préférence un mouvement de rotation transversal est donné au réceptacle et dans ce cas on peut avantageusement prévoir que ce support coulissant soit monté rotatif autour

de son axe, la base du réceptacle étant rendue temporairement solidaire dudit support par exemple par établissement d'une dépression à l'intérieur de ce joint.

Ainsi le support peut présenter la forme d'une pièce
5 coulissante guidée dans un guide cylindrique et actionnée par l'extrémité de la tige d'un vérin, ladite pièce comprenant un passage central pour l'établissement de la dépression à l'intérieur du joint qui surmonte la pièce, la pièce présentant en
10 outre un élément radial susceptible de recevoir, lorsque la pièce est en position haute, l'action d'un moyen moteur provoquant une rotation de la pièce autour de l'axe de la tige. Ce moyen moteur peut avantageusement être réalisé par un vérin ayant une course très faible, l'élément ou bras radial soumis à la poussée du vérin étant susceptible d'être rappelé par un ressort dans
15 sa position initiale.

De façon particulièrement avantageuse la pièce peut être guidée dans un guide cylindrique et le bras radial traverse ledit guide à l'aide d'une fente dont les deux bords forment les butées extrêmes pour le mouvement de rotation transversale.

20 L'invention va maintenant être décrite plus en détail à titre d'exemple non limitatif à l'aide du dessin annexé dans lequel :

- la figure 1 représente une vue en coupe axiale d'un dispositif selon l'invention

25 - la figure 2 représente une vue en coupe axiale décalée de 90° de la partie supérieure de ce dispositif

- la figure 3 représente une vue de dessus de la partie de guidage de ce dispositif

30 - la figure 4 représente une vue en coupe transversale 4-4 de la figure 1, et

- la figure 5 représente une vue du dessus d'une disposition des alvéoles dans la boîte de Pétri

- la figure 6 représente une vue en coupe axiale agrandie d'un outil emporte-pièce du dispositif.

35 Le dispositif représenté sur le dessin comporte un plateau fixe 1 muni d'un orifice central 2, plateau sur lequel est fixée une pièce de guidage 3 munie d'une partie supérieure en porte-à-faux 3a munie d'un passage coaxial à l'orifice 2 et recevant la partie inférieure 4a d'une cuve 4 obturée à son extré-
40 mité supérieure par un couvercle 4b et munie d'un orifice d'as-

piration 4c. Au-dessous du prolongement 3a la pièce 3 présente une paroi interne cylindrique 3b qui est complétée par une paroi interne latérale correspondante 5a d'une pièce 5 venant se glisser entre le plateau 1 et le prolongement 3a pour compléter la paroi cylindrique 3b. Les surfaces 5a de la pièce 5 se prolongent par des surfaces parallèles planes 5b, un passage inférieur 5c étant prévu dans la pièce 5, ayant une largeur légèrement supérieure à celle d'une boîte de Pétri 6 pour permettre l'introduction de la boîte 6 par le passage 5c et, par glissement, son positionnement dans le logement ainsi formé au moment où la périphérie de la boîte 6 vient en contact avec la surface cylindrique 3b. Dans cette disposition --- la boîte de Pétri 6 repose par son fond 6a sur un rebord 1a que forme le plateau 1 à la périphérie du passage 2.

Le fond 4a de la cuve 4 présente trois passages traversés par les porta-outils emporte-pièce 20, au nombre de trois, et dont la structure détaillée est représentée sur la figure 6, les trois outils étant, autour de l'axe de la cuve et de l'orifice 2, répartis de façon régulière à intervalle de 120°, comme on le voit par exemple sur la figure 5.

Autour du passage 2 le plateau 1 se poursuit vers le bas par un prolongement en forme de manchon 7 contre le fond duquel est disposé un vérin 8 dont le corps 8a est traversé par une tige traversante 8b munie d'un passage central traversant 8c. L'extrémité supérieure du vérin 8b se prolonge par une tige filetée 9 autour de laquelle est vissée une pièce 10 autour de laquelle est montée, libre en rotation mais axialement calée une pièce 11 en forme de manchon qui présente à sa partie supérieure un joint 12 en caoutchouc très souple de forme généralement cylindrique se terminant par une collerette 12a destinée à venir en contact avec la base 6a du réceptacle 6. L'espace interne du joint se trouve en communication avec le canal 8c par l'intermédiaire d'un canal central 9a pratiqué dans la tige cylindrique 9.

Dans la base extérieurement élargie de la pièce 11 est vissée l'extrémité d'un bras radial 13 portant un galet 14 disposé dans une fente longitudinale 15 du prolongement 7. A l'extrémité du bras 13 est accroché un ressort 16b de traction dont l'autre extrémité est fixée en 16d sur un étrier.....

.....

16c supportant un vérin horizontal 16 dont la tige porte une tête 16a susceptible de venir repousser une partie bombée 13a du bras 13 lorsque le bras 13 se trouve en position haute.

5 A la partie inférieure de la tige 8b se trouve fixée une platine 17 de forme circulaire dont le bord chanfreiné est susceptible de venir actionner un contact de fin de course 17a.

10 Enfin tout à fait à la partie inférieure de la tige un raccord de conduite 18 permet par le biais d'un tube souple non représenté, de mettre en dépression le passage 8c et donc, par l'intermédiaire du passage 9a, l'espace interne au joint 12.

15 L'outil emporte-pièce 19 présente depuis le bas vers le haut un tranchant 19a qui est évasé obliquement vers le bas et vers l'extérieur, une portion cylindrique rétrécie 19b et une portion cylindrique plus épaisse 19c se terminant par une petite collerette externe permettant son blocage contre la face inférieure d'une pièce tubulaire 20 grâce à un écrou 21. La pièce tubulaire 20 pénètre, de façon étanche et sur une 20 grande longueur à l'intérieur de la cuve 4 à l'intérieur de laquelle se trouve établie une dépression comprise entre 100 et 200 mm de mercure à l'aide d'une pompe non représentée. Cette fixation de l'outil permet un démontage rapide pour la stérilisation ou le remplacement.

25 Le fonctionnement est le suivant :

La boîte de Pétri 6, contenant la gélose 22 est introduite dans l'ensemble de guidage formé par les pièces 3 et 5 par le passage 5c, la tige 8b du vérin 8 étant à ce moment en position abaissée comme représentée sur le dessin de 30 sorte que la collerette 12a du joint 12 est effacée au-dessous de la portée 1 qui supporte le fond 6a de la boîte de Pétri. Une fois la boîte de Pétri en place on actionne le vérin 8 dont la tige 8b se met à monter à la vitesse de 50 mm par seconde. Lorsque la collerette 12a du joint vient au contact du 35 fond 6a de la boîte de Pétri elle emmène celle-ci dans sa course vers le haut et simultanément, grâce à la dépression d'air réalisée à travers le passage 8c, elle maintient la boîte, guidée par les faces 3b et 5a, en position sur le joint 12 dont la boîte est ainsi rendue solidaire. Au bout d'un certain 40 temps les outils 19 portés par les trois tiges 20 pénètrent

dans la gélose 22, épaisse d'environ 4 mm, et y découpent les alvéoles, la matière contenue initialement dans l'alvéole forme une pastille venant se disposer à l'intérieur de l'outil 19. La course de la tige du vérin 8a se prolonge jusqu'à ce
5 que le tranchant 19a des outils 19 soit venu au contact du fond 6a de la boîte de Pétri, la souplesse du joint 12 permettant d'éviter un effort trop important des outils sur le fond, l'effort peut ainsi être limité par exemple à 100 g. A partir de ce moment, où.....la pièce 11, et par conséquent
10 le bras 13 se trouvent amenés en position haute, on actionne le vérin 16 dont la tête 16a finit par venir en contact de la zone bombée 13a du bras 13 qui se trouve alors repoussé en sens horaire de sorte que la pièce 11 pivote autour de la pièce 10, communiquant sa rotation par l'intermédiaire du
15 joint 12 sur lequel la boîte de Pétri est plaquée par aspiration, à la boîte elle-même. Cette rotation, d'une durée inférieure à une seconde, s'effectue depuis la position initiale représentée sur la figure 4 dans laquelle le galet 14 est appliqué contre l'un des bords de la fente 15 par le ressort
20 16b, sur une course angulaire de 1° environ et qui s'achève par arrêt puis retour de la tête 16a avant que la galet 14 soit venu en contact avec l'autre bord de la fente 15. Le retour en position initiale est assuré par le ressort 16b.

Cette faible rotation angulaire est suffisante pour
25 provoquer la séparation complète de la pastille de matière contenue à l'intérieur de l'outil 19 et a pour effet de décoller le fond de cette pastille de gélose d'avec le fond de la boîte de Pétri, libérant ainsi la pastille qui se trouve alors aspirée à l'intérieur de l'élément tubulaire 20 puis de là,
30 dans la cuve 4 où elle reste stockée. On a pu constater qu'en raison probablement de la conformation externe de l'outil 19 par rapport à la surface de l'alvéole créée, la pastille contenue dans un outil se trouve aspirée même si les pastilles contenues dans les deux autres outils ont déjà été aspirées
35 préalablement.

Après cette opération, le vérin 8 est alimenté de façon à provoquer le retour vers le bas de la tige 8b à une vitesse double de la vitesse de montée, ce qui provoque la descente de la boîte 6 toujours plaquée sur le joint 12 par
40 la dépression maintenue à l'intérieur du joint et par consé-

quent le retrait progressif de l'outil hors de l'alvéole 23 formée. Au bout d'un certain moment, le fond 6a de la boîte de Pétri 6 se trouve bloqué par le rebord 1a tandis que la poursuite de la descente de la tige de vérin 8b provoque finalement la séparation du joint 12 avec le fond 6a.

La tige de vérin revient alors à sa position basse représentée sur le dessin et l'on peut alors retirer la boîte de Pétri et la remplacer par une nouvelle.

Si au lieu de trois alvéoles 23, on désire réaliser six alvéoles dans la boîte, il suffit d'imprimer à la boîte une rotation de 60°. On conçoit cependant qu'il serait également possible de réaliser la pièce 11 de façon que sa partie supérieure puisse être tournée par rapport à sa partie inférieure, d'un angle de 60° grâce à des moyens à la portée de l'homme de l'art.

A titre d'exemple, il a été possible, grâce à un dispositif selon l'invention d'effectuer la mise en place de trois alvéoles en 4 secondes, à savoir une seconde pour la montée et la descente et deux secondes d'arrêt pour remettre les dépressions à la valeur voulue.

L'invention est bien entendu susceptible de diverses variantes accessibles à l'homme de l'art tant en ce qui concerne le procédé... que le dispositif. Ainsi on peut prévoir des moyens permettant d'effectuer automatiquement l'ouverture, la mise en place puis la fermeture de la boîte de Pétri pour assurer une automatisation complète. Par ailleurs au lieu d'être fixés en rotation les outils pourraient être montés sur une tourelle.

Revendications

- 1 - Procédé pour réaliser des alvéoles dans les matières gélatineuses et notamment la gélose, par exemple dans des boîtes de Pétri, dans lequel on réalise lesdites alvéoles à l'emporte-pièce, caractérisé par le fait que l'on fait pénétrer l'outil emporte-pièce perpendiculairement à la surface et au fond de la matière gélatineuse selon un trajet rigoureusement rectiligne le long de l'axe de l'outil (19), que lorsque l'outil (19) est arrivé au fond (6a) ou au voisinage du fond, on effectue un ou plusieurs mouvements relatifs de faible amplitude entre la matière gélatineuse et l'outil (19) dans une direction sensiblement perpendiculaire au trajet d'enfoncement, puis que l'on extrait la pastille de gélose découpée à l'intérieur de l'outil.
- 2 - Procédé selon la revendication 1, caractérisé par le fait que l'on extrait la pastille de gélose par aspiration.
- 3 - Procédé selon l'une des revendications 1 et 2, caractérisé par le fait que ledit mouvement relatif est obtenu à l'aide d'une translation.
- 4 - Procédé selon l'une des revendications 1 et 2, caractérisé par le fait que ledit mouvement relatif est obtenu à l'aide d'une rotation autour d'un axe éloigné de l'axe de l'outil.
- 5 - Procédé selon l'une des revendications 1 et 2, caractérisé par le fait que ledit mouvement relatif est obtenu par vibrations à basse fréquence.
- 6 - Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé par le fait que la vitesse de pénétration de l'outil (19) dans la matière gélatineuse est de l'ordre de 50 mm par seconde, la vitesse de sortie étant supérieure et notamment au moins double.
- 7 - Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé par le fait que l'amplitude du déplacement relatif est inférieure à 2 mm.
- 8 - Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisé par le fait que pour réaliser un grand nombre d'alvéoles on effectue plusieurs mouvements d'outils avec, entre deux passes successives, une rotation relative entre les outils et la matière gélatineuse.
- 9 - Dispositif pour la mise en oeuvre du procédé

selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, caractérisé par le fait qu'il comporte au moins un outil emporte-pièce (19), un support (12) pour un réceptacle (6) contenant la matière gélatineuse, des moyens (8, 9, 10, 11, 12) pour faire péné-
5 trer l'outil dans la gélose selon un trajet----- rectiligne d'amplitude déterminée puis pour extraire l'outil selon le même trajet, ---- des moyens (11, 12, 13, 16, 16b) pour provoquer un mouvement relatif dans une direction transversale par rapport au trajet----- de déplacement de l'outil (19) et
10 selon une faible amplitude, et des moyens (4, 20) d'extraction de la pastille de gélose découpée par l'outil (19).

10 - Dispositif selon la revendication 9, caractérisé par le fait que l'outil (19) est monté fixe, le réceptacle (6) étant positionné sur un support (12) monté de façon cou-
15 lissante pour se rapprocher de l'outil puis s'en éloigner, ledit support étant en outre susceptible d'être animé d'un court mouvement alternatif en direction transversale par rapport à l'axe de l'outil.

11 - Dispositif selon l'une quelconque des revendica-
20 tion 9 et 10, caractérisé par le fait que l'outil (19) présente, dans sa partie utile pénétrant dans la gélose, une forme cylindrique (19b) suivie d'un tranchant (19a) s'évasant légèrement vers le bas et vers l'extérieur pour laisser un faible passage entre la paroi de l'alvéole et la surface ex-
25 terne de l'outil.

12 - Dispositif selon l'une quelconque des revendica-
tions 9 à 11, caractérisé par le fait que l'outil, ou les outils (19), qui se présente sous la forme générale de cylindres allongés creux, est fixé à la partie inférieure d'une cuve
30 (4) dans laquelle il débouche par son extrémité supérieure (20), des moyens d'aspiration étant prévus pour établir dans la cuve une dépression susceptible d'assurer l'aspiration de la pastille de matière gélatineuse découpée par l'outil (19).

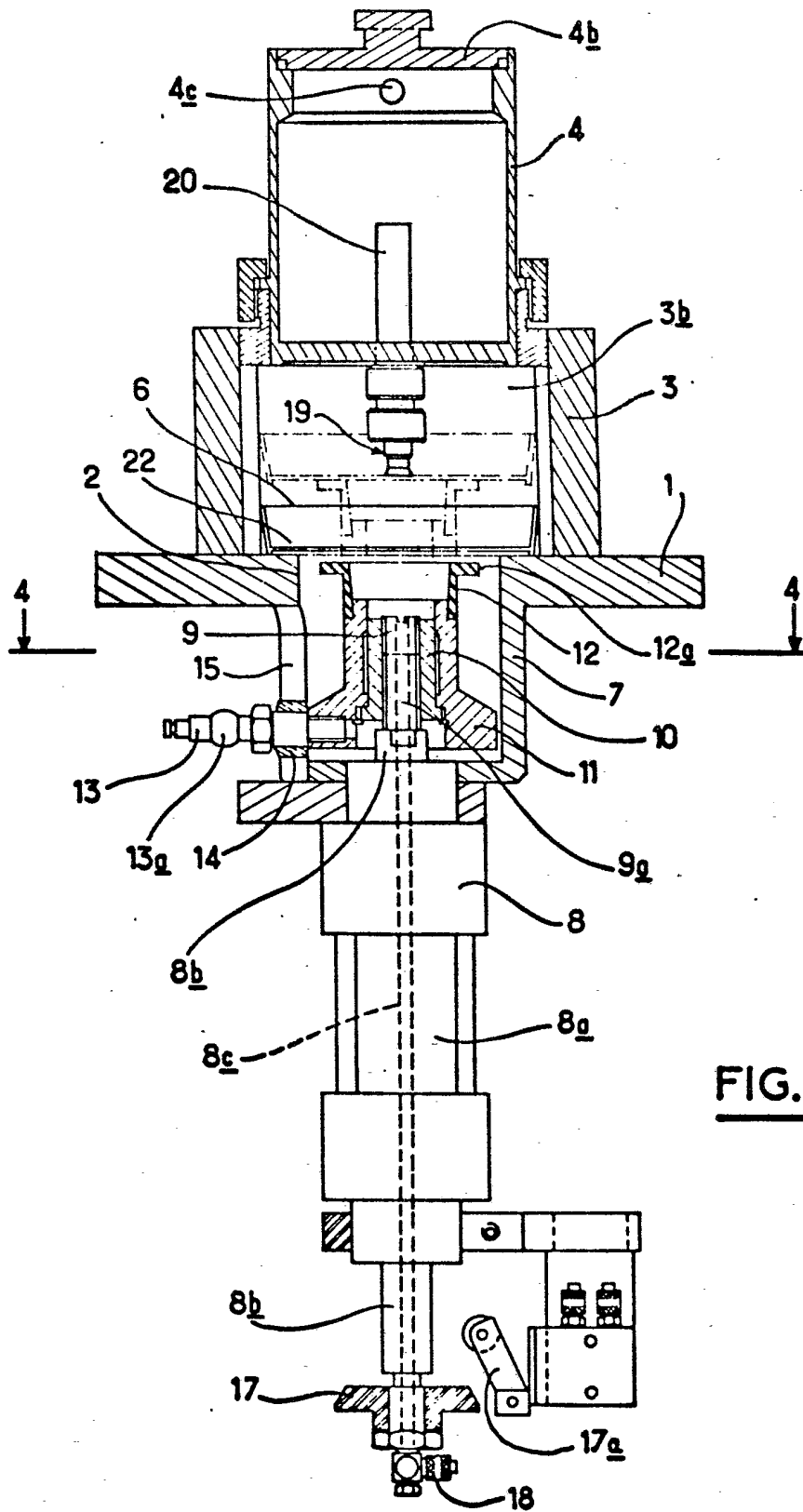
13 - Dispositif selon la revendication 10 combinée à
35 l'une quelconque des revendications 11 et 12, caractérisé par le fait que le réceptacle (6) est maintenu à l'intérieur d'une pièce possédant une surface interne cylindrique de guidage (3,5) et une ouverture latérale (5c) pour l'introduction du réceptacle au dessus d'une portée (1a).

40 14 - Dispositif selon l'une quelconque des revendica-

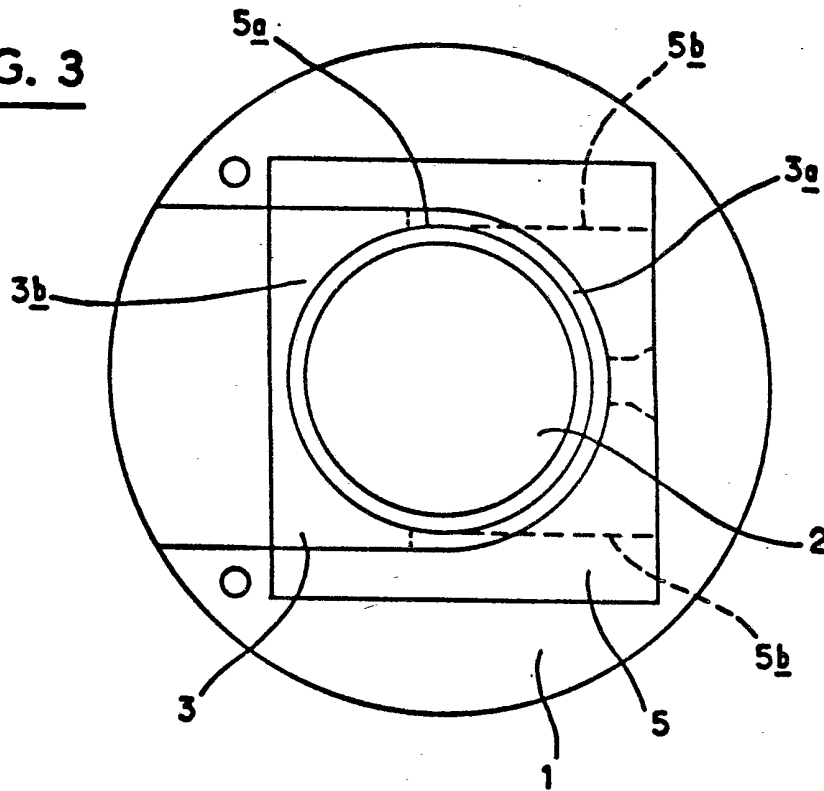
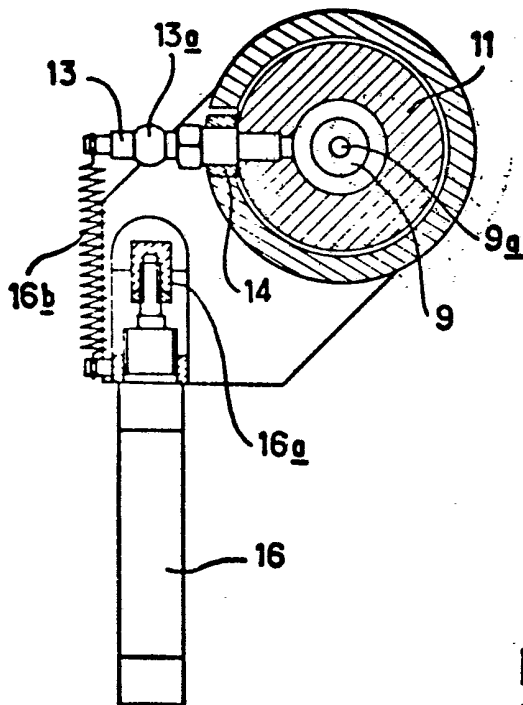
tions 9 à 13, caractérisé par le fait que le support (12) est constitué d'un joint élastique très souple.

15 - Dispositif selon l'une quelconque des revendications 9 à 14, caractérisé par le fait que la base (6a) du réceptacle (6) est temporairement rendue solidaire du support (12) par établissement d'une dépression sous ladite base.

16 - Dispositif selon la revendication 15, caractérisé par le fait que le joint (12) formant le support est porté par une pièce (11) montée rotative autour de l'extrémité (9, 10) d'une tige (8b) d'un vérin (8), ladite tige étant traversée par un passage (8c) relié à des moyens d'aspiration (18), pour établir une dépression à l'intérieur du joint (12), ladite pièce présentant un bras radial (13) guidé dans une fente longitudinale (15) à l'intérieur de laquelle il est susceptible d'un certain débattement angulaire, ledit bras (13) étant susceptible d'être pivoté par l'action d'un vérin (16) et rappelé par l'action d'un ressort (16b) lorsque la tige du vérin (8) est en position rapprochée de l'outil.



PL 3-3

FIG. 3FIG. 4FIG. 6