

12

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

22 Date de dépôt : 02.08.01.

30 Priorité :

43 Date de mise à la disposition du public de la  
demande : 07.02.03 Bulletin 03/06.

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) : *BIOCYTEX Société à responsabilité  
limitée — FR.*

72 Inventeur(s) : CANTON MICHEL.

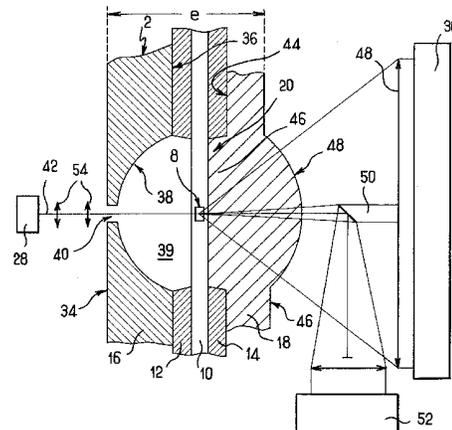
73 Titulaire(s) :

74 Mandataire(s) : REGIMBEAU.

54 DISPOSITIF POUR L'ANALYSE D'UN ECHANTILLON NOTAMMENT PAR CYTOMETRIE DE FLUX.

57 L'invention concerne un dispositif pour l'analyse d'un échantillon comprenant un réceptacle d'échantillon (8) et un miroir, le miroir (38) présentant une discontinuité (40) de sorte qu'un rayon lumineux (42) peut traverser le miroir pour arriver jusqu'au réceptacle (8).

L'invention concerne également un ensemble pour l'analyse d'un échantillon comprenant un dispositif (2) et un appareillage présentant un logement de réception amovible du dispositif et une source de lumière, la source étant apte à émettre un rayon lumineux (42) traversant le miroir (38) pour arriver jusqu'au réceptacle (8) lorsque le dispositif est dans le logement.



L'invention concerne les dispositifs d'analyse d'un échantillon, notamment par cytométrie de flux.

La cytométrie de flux est aujourd'hui couramment utilisée dans des domaines variés (médecine, agroalimentaire, biotechnologies, environnement) pour l'analyse de différents composés tels que des cellules, des macromolécules, etc. La cytométrie de flux peut par exemple être mise en œuvre de la façon suivante.

Les cellules (particules) à analyser sont centrées par un système de veine liquide dans l'axe d'un jet liquide. Elles passent individuellement, à raison de quelques milliers par seconde, au travers d'un rayon laser focalisé sur l'axe du jet et induisent ainsi un certain nombre de signaux lumineux.

Des systèmes optiques appropriés récupèrent la lumière laser diffusée dans un angle solide entre  $0,5^\circ$  et  $15^\circ$  (scatter axial) et la lumière émise perpendiculairement au jet et au rayon laser (scatter perpendiculaire, fluorescences). Un ensemble de miroirs et de filtres optiques permet de décomposer les signaux collectés selon leur longueur d'onde (par exemple fluorescences verte et rouge de l'orangé d'acridine). Les signaux optiques transformés en signaux électriques par des photodétecteurs sont traités dans des circuits électroniques spécialisés qui assignent à chaque cellule les intensités des signaux émis. Des distributions de fréquence mono- ou multi-dimensionnelles (histogrammes) donnent la répartition de la population de cellules analysée.

Un dispositif de ce type est par exemple décrit dans le document FR-2 325 038.

En vue de rendre plus souple l'utilisation de cette technique, il existe maintenant des dispositifs jetables ayant presque le format d'une carte de crédit et adaptés à recevoir un échantillon à analyser. Un tel dispositif peut être reçu de façon amovible dans un appareillage qui comprend la source lumineuse, les organes optiques et les moyens d'analyse des rayons lumineux émis par l'échantillon, ainsi que le système de fluide apte à

entraîner l'échantillon. Le système se connecte à la carte pour entraîner l'échantillon à travers une fenêtre d'analyse de celle-ci.

Certaines de ces cartes amovibles ont toutefois pour inconvénient que la quantité de la lumière collectée pour l'analyse est très inférieure à celle collectée dans un dispositif classique. En effet, dans ce dernier, les organes optiques tels que les lentilles sont généralement agencées très près de la veine d'analyse afin de collecter la plus grande quantité de lumière possible, c'est-à-dire suivant un angle solide le plus grand possible autour du point de la veine traversé par le rayon incident. Dans une carte amovible, en revanche, le caractère amovible oblige à prévoir un espacement minimal entre la veine et la lentille, ce qui entraîne une réduction de l'angle solide de collecte et donc une collecte moins importante.

Pour palier cet inconvénient, le document EP-1 058 939 propose d'intégrer à la paroi de la carte un organe optique tel qu'une lentille de collecte. Cette lentille pouvant être disposée très près de la veine, la quantité de lumière collectée se trouve accrue. Ce document propose également d'intégrer à la carte un élément réfléchissant. Un tel élément peut contribuer à augmenter la collecte de la lumière.

Un but de l'invention est d'accroître encore la quantité de la lumière pouvant être collectée dans le cadre d'un dispositif d'analyse.

A cet effet, on prévoit selon l'invention un dispositif pour l'analyse d'un échantillon au moyen d'un rayon lumineux comprenant un réceptacle d'échantillon et un miroir, le miroir présentant une discontinuité de sorte qu'un rayon lumineux peut traverser le miroir pour arriver jusqu'au réceptacle.

Ainsi, en ménageant dans le miroir une discontinuité pour le passage du rayon incident, il est possible d'étendre le miroir sur une grande superficie notamment de part et d'autre du rayon afin d'accroître encore la collecte de la lumière. Cet avantage est particulièrement utile dans les cartes d'analyse par cytométrie de flux, notamment si le miroir est intégré à la carte. Il est

également utile dans les systèmes de cytométrie sans élément amovible ou même d'autres domaines que l'analyse par cytométrie.

Le dispositif selon l'invention pourra présenter en outre au moins l'une des caractéristiques suivantes :

- 5           - le miroir est fixé au réceptacle,
- le dispositif comprend une paroi externe définissant le miroir,
- le miroir est rapporté sur une paroi externe du dispositif,
- le dispositif a une forme essentiellement plate,
- le réceptacle s'étend parallèlement à une face principale du
- 10 dispositif, le miroir s'étendant au droit du réceptacle suivant une épaisseur  $e$  du dispositif,
- la discontinuité se trouve au droit du réceptacle suivant une épaisseur  $e$  du dispositif,
- la discontinuité est disposée de sorte que le rayon lumineux est
- 15 incliné par rapport à une épaisseur  $e$  du dispositif,
- le dispositif est agencé pour qu'un fluide s'écoule dans le réceptacle dans un sens prédéterminé, la discontinuité se trouvant dans une moitié amont du miroir par référence au sens d'écoulement,
- le dispositif comprend un substrat ayant une face formant le miroir,
- 20 cette face étant en contact avec un milieu différent de celui du substrat et s'étendant entre le substrat et le réceptacle,
- la face forme une cavité interne du dispositif,
- le dispositif comprend un substrat ayant une face formant le miroir et s'étendant en contact avec un milieu différent de celui du substrat, le
- 25 substrat s'étendant entre la face et le réceptacle,
- le milieu est un gaz,
- le miroir a une forme en portion de sphère,
- le dispositif est agencé pour que le rayon émerge du dispositif d'un
- côté du réceptacle opposé au miroir,
- 30           - le dispositif présente en outre un organe optique fixé au réceptacle,
- le réceptacle s'étend entre le miroir et l'organe optique,

- le dispositif comprend une paroi externe définissant l'organe optique,

- le réceptacle a une forme allongée,

- le dispositif comprend un réservoir de fluide,

5 - l'échantillon comprend un fluide, et

- il s'agit d'un dispositif d'analyse par cytométrie de flux.

On prévoit également selon l'invention un ensemble pour l'analyse d'un échantillon comprenant un dispositif et un appareillage présentant un logement de réception amovible du dispositif et une source de lumière, la  
10 source étant apte à émettre un rayon lumineux traversant le miroir pour arriver jusqu'au réceptacle lorsque le dispositif est dans le logement.

Cet agencement peut permettre de vérifier le bon positionnement de la carte dans son logement en mesurant l'intensité du rayon incident transmis à travers la carte, qui doit être maximale, et l'intensité du rayon  
15 réfléchi par le pourtour de l'orifice en direction de la source, qui doit être minimale.

Avantageusement, l'appareillage comprend des moyens d'analyse du rayon disposés de sorte que le dispositif s'étend entre la source et les  
20 moyens d'analyse lorsque le dispositif est dans le logement.

D'autres caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront encore dans la description suivante de trois modes préférés de réalisation donnés à titre d'exemples non limitatifs. Aux dessins annexés :

- la figure 1 est une vue en perspective de principe d'un dispositif selon l'invention ;

25 - la figure 2 est une vue schématique d'un ensemble selon l'invention apte à recevoir le dispositif de la figure 1 ;

- la figure 3 est une vue en coupe transversale montrant la tranche du dispositif de la figure 1 et illustrant le premier mode préféré de réalisation ;

- la figure 4 est une vue analogue à la figure 3 dans laquelle les éléments identiques n'ont pas été représentés et illustrant le deuxième mode préféré de réalisation ;

5 - la figure 5 est une vue analogue à la figure 3 illustrant le troisième mode préféré de réalisation ; et

- la figure 6 est une vue à plus grande échelle du détail D de la figure 5.

On a illustré à la figure 1 un dispositif selon l'invention sous la forme d'une carte 2. Cette carte a une forme en plan généralement rectangulaire et présente une longueur et une largeur analogues à celles d'une carte de 10 crédit, chacune de l'ordre de quelques centimètres. Elle présente une épaisseur e de l'ordre de quelques millimètres, par exemple 3 mm. Cette carte est de préférence transparente. Elle présente dans son épaisseur différents conduits 4 ainsi qu'un ou plusieurs compartiments 6, un ou 15 plusieurs réservoirs 6, et/ou un ou plusieurs orifices 6 agencés en communication de fluide mutuelle au moyen des conduits 4. La carte peut ainsi comprendre un ou plusieurs liquides stockés ou en circulation à l'intérieur de la carte. Le ou les orifices de la carte permettent d'agir sur l'intérieur de celle-ci pour introduire un liquide dans la carte, extraire un 20 liquide de la carte, ou faire circuler un liquide dans la carte. La carte comprend un conduit 8 sous la forme d'un capillaire en communication avec les autres conduits 4.

La carte comprend en référence à la figure 3 une paroi interne 10 et deux parois intermédiaires avant 12 et arrière 14 s'étendant de part et 25 d'autre de la paroi interne 10. Cette dernière est donc prise en sandwich entre les parois intermédiaires. La carte comprend en outre des parois externes avant 16 et arrière 18 s'étendant de part et d'autre du groupe des trois parois 10, 12 et 14. Les cinq parois 10 à 18 ont des formes sensiblement identiques entre elles et correspondant généralement à la 30 forme de la carte.

En regard du capillaire 8, les parois intermédiaires 12 et 14 présentent des découpes identiques et en regard l'une de l'autre formant une fenêtre 20 dans l'épaisseur de la carte.

5 D'une façon classique et qui ne sera détaillée ici, les parois 10, 12 et 14 sont formées par l'empilement de plusieurs feuilles présentant chacune des découpes internes adaptées pour que l'empilement des différentes feuilles définisse à l'intérieur de la carte les éléments 4, 6, 8 et 20 précités. Une telle carte est connue dans son principe.

10 La carte 2 est destinée à être reçue de façon amovible dans un appareillage 22 tel que celui illustré schématiquement à la figure 2. A cette fin, l'appareillage présente un logement 24 formé par des éléments adaptés 26. De façon classique et connue en soi dans son principe, cet appareillage comprend au moins une source de lumière 28 telle une source de rayonnement laser, et des moyens d'analyse et de traitement 30 du  
15 rayonnement émanant de la carte. Ces moyens comprennent classiquement différents organes optiques tels que des lentilles, des filtres, des miroirs, etc. ainsi que des organes aptes à convertir ces rayonnements sous forme électronique en vue de leur traitement. L'appareillage comprend également des moyens 32 nécessaires pour assurer une circulation d'un ou plusieurs  
20 fluides à l'intérieur de la carte. Ces moyens pourront notamment comprendre une ou plusieurs pompes. Une fois la carte reçue dans son logement, ces moyens sont aptes à entrer en communication de fluide avec l'intérieur de la carte au moyen du ou des orifices qu'elle présente.

25 En référence à la figure 3 qui est une section perpendiculaire au plan général de la carte, la paroi avant 16 de la carte 2 comprend une face externe 34 de forme plane destinée à s'étendre en regard de la source 28 lorsque la carte est reçue dans le logement 24. La face interne 36 constituant la deuxième face principale de cette paroi a également une forme plane sur la plus grande partie de sa surface mais présente une  
30 portion sphérique 38 en creux ménageant une cavité 39.

Cette portion sphérique 38 s'étend en regard du capillaire 8 et en regard de la fenêtre 20. Cette portion est recouverte par un revêtement adapté tel qu'un revêtement en métal de façon à former un miroir. Ce miroir constitue donc le dioptre formant la jonction entre le matériau de la paroi avant 16 et l'air emplissant la cavité 39. Le miroir est formé de sorte que le point C du capillaire s'étendant au centre de la fenêtre 20 occupe le centre de la sphère.

Dans le présent exemple, un orifice 40 est formé dans la paroi avant 16, dans la zone du miroir 38 s'étendant au droit du capillaire 8 suivant l'épaisseur e. Compte tenu de la forme du miroir, cette zone est celle de la paroi 16 où son épaisseur est la plus faible. Dans l'appareillage 22, la source 28 est positionnée de sorte que, lorsque la carte 2 est reçue dans le logement 24, un rayon 42 émis par la source traverse la paroi 16 au niveau de l'orifice 40 pour venir intercepter le capillaire 8 au centre C de la fenêtre 20 c'est-à-dire au foyer du miroir 38.

La paroi arrière 18 présente une face interne 44 présentant une protubérance 46 apte à remplir la découpe de la paroi intermédiaire arrière 14 correspondant à la fenêtre 20. La paroi arrière 18 présente en outre une face externe arrière 46. La plus grande partie de cette face est formée par une zone plane. Elle comprend en outre une zone sphérique bombée 48 s'étendant en saillie de la zone plane. Cette zone 48 forme une lentille s'étendant en regard de la fenêtre et dont le foyer se trouve au point du capillaire 8 apte à recevoir le rayon incident 42. Le capillaire 8 est donc interposé entre le miroir 38 d'une part et la lentille 48 d'autre part. La lentille 48 est une lentille convergente. Dans le mode de réalisation de la figure 3, le rayon incident 42 est essentiellement perpendiculaire au plan de la carte.

L'appareillage comprend également des moyens tels qu'un miroir 50 disposés au voisinage des moyens de traitement 30, dans le trajet du rayon incident 42 émis par la source 28, et aptes à dévier vers un dispositif adapté 52 la fraction du rayon incident ayant traversé le capillaire sans avoir été sensiblement déviée par celui-ci. En effet, cette fraction que nous

appellerons fraction transmise ne comprend pratiquement aucune information exploitable et doit donc être évacuée sans gêner l'analyse des autres fractions.

5 En fonctionnement, lorsque la carte 2 est reçue dans le logement, le rayon incident 42 de la source 28 traverse l'orifice 40 et vient frapper le capillaire 8 contenant l'échantillon en cours d'analyse au point qui correspond au centre du miroir 38 et au foyer de la lentille 48.

La fraction transmise de ce rayon traverse la carte et est évacuée par le miroir 50.

10 Une autre partie de ce rayon est diffractée lors de son passage dans le capillaire. Cette diffraction a lieu suivant un angle solide de quelques stéradians de part et d'autre du faisceau transmis. Cette fraction traverse la paroi arrière 18. Les rayons qui la constituent sont initialement divergeants. Leur orientation est modifiée au passage de la lentille 48 qui transforme par exemple cette fraction en un rayonnement parallèle ou de divergence réduite. Sur la figure 3, la fonction de la lentille 48 a également été illustrée par la flèche 48 conformément à la symbolisation classique. L'ensemble du faisceau diffracté initialement suivant un angle solide très important est donc collecté pour être envoyé aux moyens de traitement 30.

20 Une fraction du rayon incident 42 est également diffusée suivant un grand angle solide autour du point d'incidence du rayon sur le capillaire. Une partie de cette fraction diffusée vers la lentille émerge de la carte à travers la lentille 48 de sorte qu'elle est également collectée et envoyée vers les moyens de traitement 30. Une autre partie de cette fraction diffusée est orientée en direction du miroir 38 qui la réfléchit au centre du capillaire, ce qui entraîne sa collecte par la lentille 48 puis par les moyens de traitement 30. Une très grande partie du faisceau diffusé se trouve donc envoyée directement ou indirectement vers les moyens de traitement 30.

30 Les composantes formant le faisceau diffusé pourront être séparées les unes des autres et mesurées par exemple à la longueur d'onde du laser et à la ou aux longueurs de la fluorescence caractéristiques des marqueurs

de fluorescence utilisés dans le cadre de l'analyse et résultant du passage du rayon dans le capillaire.

L'ensemble comprenant l'appareillage 22 et la carte 2 pourra comprendre des organes optiques 54 disposés entre la source 28 et l'orifice 40, par exemple des lentilles convergentes aptes à focaliser le rayon incident sur le capillaire. Ces organes pourront être ou bien fixés à demeure sur l'appareillage ou bien fixés à demeure sur la carte 2 en étant intégrés à celle-ci.

La séparation des différentes composantes des faisceaux diffractés et diffusés pourra se faire au moyen d'organes classiques intégrés à l'appareillage tels que miroirs séparateurs, filtres, réseaux ou prismes. La quantification de chaque composante pourra s'effectuer au moyen de photodétecteurs de sensibilité appropriée.

Le miroir 38 permet de recueillir la lumière rétro diffusée et de la renvoyer en superposition de la lumière diffusée directement vers la lentille, vers l'avant ce qui permet de doubler l'intensité du flux.

L'orifice 40 permet de donner une grande surface au miroir sans que le rayon incident ne constitue un obstacle. La présence de l'orifice 40 dans le miroir 38 permet également de vérifier que le positionnement de la carte 2 dans son logement 24 est correct. En effet, on peut prévoir au sein de l'organe 52 des moyens pour mesurer l'intensité du flux lumineux réfléchi par le miroir 50 et reçu par cet organe. On peut également prévoir au niveau de la source 28 des moyens pour mesurer l'intensité d'un flux lumineux constitué par la fraction du rayon incident 42 éventuellement réfléchi par le pourtour de l'orifice 40. Lorsque le positionnement de la carte dans son logement est correct, le flux lumineux reçu par l'organe 52 devra être maximal tandis que le flux lumineux réfléchi par le pourtour de l'orifice sur la source 28 sera minimal. En revanche, si le positionnement de la carte est erroné, l'orifice 40 ne se trouve pas précisément en regard de la source 28. Dans ces conditions, l'intensité lumineuse reçue par l'organe 52 n'est pas maximale tandis que l'intensité réfléchi par le pourtour de l'orifice vers la

source n'est pas minimale. Le contrôle du positionnement de la carte dans l'appareillage peut naturellement être automatisé.

En l'espèce, le rayon laser a au niveau du point d'illumination c en section une forme d'ellipse aplatie ayant un grand axe compris entre 60 et 100 micromètres et un petit axe compris entre 10 et 20 micromètres. Les cellules ou les particules faisant l'objet de l'analyse par cytométrie pourront avoir des dimensions comprises entre 0, 5 et 20 micromètres. Le diamètre du capillaire 8 traversé par le rayon pourra être de l'ordre de 100 micromètres. Il pourra plus généralement être compris entre 50 micromètres et 1 millimètre.

Les feuilles formant l'intérieur de la carte notamment formant la paroi 10 pourront être constituées dans le matériau dénommé mylar. Les parois intermédiaires et les parois externes pourront être formées en verre ou en matière plastique telle que du PMMA ou du polycarbonate.

La source 28 pourra être de faible puissance (par exemple comprise entre 10 milliwatts et 100 milliwatts), ce qui permet d'en réduire le coût. La faible puissance a également pour avantage de simplifier les moyens à mettre en œuvre pour dévier le rayon transmis (organes 50 et 52) ainsi que pour éliminer les rayons parasites éventuels.

Dans une variante de réalisation, on pourra envisager de remplir la cavité 39 avec un matériau présentant un indice de réfraction différent de l'indice de l'air. Ce matériau pourra par exemple être un gel connu en lui-même pour son indice avantageux. Un tel matériau permet de favoriser l'orientation des rayons lors de leurs réflexions dans la cavité.

On a illustré à la figure 4 un deuxième mode préféré de réalisation de l'invention. L'appareillage est identique à celui du premier mode. Seul est modifiée la carte 102. La paroi arrière 18 a la même forme que dans le mode de la figure 3. La paroi avant 116 a une forme généralement symétrique de celle de la paroi arrière 18 par rapport au plan médian s'étendant dans l'épaisseur de la carte. En d'autres termes, la face interne 136 présente cette fois une protubérance venant occuper la fenêtre 20. De plus, la face externe

134 présente une portion sphérique 138 s'étendant en saillie de la zone plane de cette face. La portion 138 est recouverte d'un revêtement tel qu'une métallisation apte à lui conférer des propriétés réfléchissantes de façon à en faire un miroir. Le miroir 138 est donc formé par le dioptre constituant la jonction entre la paroi 116 et l'air ambiant. Toutefois, à l'inverse de l'agencement du mode de réalisation de la figure 3, la paroi 116 est interposée entre l'air ambiant et le capillaire 8 tandis que dans le précédent mode la cavité remplie d'air était interposée entre la paroi et le capillaire. Ce mode de réalisation diffère donc du précédent notamment en ce que le revêtement 138 s'étend cette fois à l'extérieur de la carte et non plus à l'intérieur

Le revêtement 138 présente une discontinuité 140 au droit du point C du capillaire 8 occupant le centre de la fenêtre 20, suivant l'épaisseur de la carte. Cette discontinuité s'étend au même endroit que l'orifice 40 dans le mode de réalisation de la figure 3.

Le fonctionnement est sensiblement inchangé par rapport au mode précédent. Ainsi le rayon émanant de la source 28 pénètre dans la carte à travers la zone 140 de la paroi 116 non couverte de revêtement pour venir frapper le capillaire 8. La fraction transmise est évacuée comme précédemment par l'organe 52. La fraction diffractée passe à travers la lentille puis est traitée par les moyens 30. Enfin, une fraction diffusée passe par la lentille et est traitée par les moyens 30 tandis qu'une fraction rétrodiffusée traverse la paroi 116 et est réfléchiée par le miroir 138 qui comme celui du premier mode est centré sur le capillaire. Les rayons sont donc réfléchis vers le foyer de la lentille, collectés par celle-ci, puis traités par les moyens 30.

Ces deux modes de réalisation ont toutefois pour inconvénient que la fraction transmise suit le même trajet qu'une partie significative de la fraction diffractée et de la fraction diffusée. Par conséquent, éliminer la fraction transmise pour ne pas perturber l'analyse entraîne l'élimination concomitante de cette partie de la fraction diffusée et de la fraction

diffractée. De plus, des réflexions parasites du rayon incident sur les parois du capillaire et les parois de la carte demeurent dans le trajet des rayons mesurés et peuvent perturber l'analyse.

Le mode de réalisation qui va être décrit maintenant en référence  
5 aux figures 5 et 6 est à cet égard plus avantageux.

Ce mode de réalisation est très proche du mode de la figure 4 dans lequel la discontinuité sur le miroir est formée par une interruption du revêtement formant le miroir externe. Dans ce troisième mode de réalisation, la discontinuité 240 de la carte 202 ne s'étend au droit du centre C de  
10 fenêtre suivant l'épaisseur  $e$  mais est décalée vers un bord du miroir comme le montre la figure 5. Ainsi, la droite s'étendant depuis cette discontinuité 240 jusqu'au centre C de la fenêtre occupé par le capillaire est inclinée suivant un angle aigu par rapport à la direction longitudinale du capillaire.

Dans l'appareillage, la position de la source 28 est modifiée en  
15 conséquence. Cette fois, l'axe de la source est sécant avec l'axe 31 des moyens de traitement 30 au centre  $c$  de la fenêtre. La source ne s'étend plus directement en regard des moyens 30 ni coaxialement à ceux-ci. La source est disposée de sorte que, lorsque la carte est convenablement positionnée dans son logement, le rayon 42 traverse la discontinuité 240 pour arriver au  
20 centre C de la fenêtre dans le capillaire. De même, l'organe 52 destiné à recevoir la fraction du rayon incident transmise par le capillaire ne s'étend plus en regard des moyens 30 coaxialement à ceux-ci mais se trouve dans l'alignement de la source, de la discontinuité 240 et du centre C de la fenêtre.

25 Une zone centrale de la lentille de très grande surface se trouve donc en regard des moyens 30 sans aucun obstacle entre ceux-ci de sorte que tous les rayons traversant cette zone peuvent être recueillis pour être traités. Cet agencement permet de faire en sorte que l'angle solide 260 correspondant à la fraction du rayon transmise et recueillie par l'organe 52  
30 s'étend totalement en dehors de l'angle solide 262 correspondant à la fraction du rayon (diffusé et diffracté) recueillie par les moyens 30.

La figure 5 illustre une section de la carte dans un plan perpendiculaire au plan général de la carte. Le capillaire s'étend dans le plan de la section, contrairement aux cas des figures 3 et 4. On remarque sur cette figure que la source 28 est disposée de sorte que le rayon 42 s'étend  
5 dans ce plan. Il n'est pas strictement nécessaire que le rayon s'étende dans ce plan. Ainsi, on pourra obtenir la séparation des angles solides 260 et 262 en disposant la source 28 en dehors du plan de la figure 5 tout en prévoyant la discontinuité 240 au voisinage d'un bord du miroir 238. Toutefois, la disposition de la source 28 dans ce plan permet de recueillir une fraction  
10 importante et très significative du faisceau diffusé et diffracté.

De plus, il est avantageux que l'angle  $\alpha$  illustré sur la figure 6, formé entre le rayon incident 42 et l'axe 64 du capillaire, soit sensiblement inférieur à  $90^\circ$  pour faire en sorte qu'au moins une partie importante 66 du faisceau transmis 68 demeure piégée dans le capillaire 8 par réflexion sur la face  
15 interne du capillaire, celui-ci formant ainsi un guide d'ondes. Il s'ensuit que la fraction 70 du faisceau transmis émergeant effectivement de la carte a une intensité d'autant plus réduite et est donc d'autant plus facile à éliminer. Cet agencement permet également de réduire sensiblement le rayonnement parasite généré au cours de l'analyse. Dans le mode de réalisation de la  
20 figure 5, l'angle  $\alpha$  est égal à  $45^\circ$ .

De surcroît, il est préférable de rapprocher la source 28 d'une partie amont du capillaire 8 comme illustré sur la figure 5 plutôt que d'une partie aval de ce dernier par référence au sens d'écoulement du fluide dans le capillaire illustré par la flèche 72. En effet, de cette façon le rayonnement  
25 piégé dans le capillaire est envoyé vers une fraction de fluide aval qui a déjà été analysée.

Dans l'agencement contraire, une partie du rayonnement serait envoyée vers les fractions amont et risquerait de réagir par avance avec les fluorochromes présents dans le liquide ou autres substances destinées à  
30 interagir avec le rayonnement incident et par suite risquerait de fausser l'analyse.

Des particules à analyser telles que des cellules ou des macromolécules ont été illustrées sur la figure 6 sous la forme de billes défilant l'une après l'autre dans le capillaire 8 conformément au principe de la cytométrie de flux.

5 Ce mode de réalisation fonctionne sensiblement comme les précédents. Le rayonnement incident 42 pénètre dans la carte à travers la discontinuité 240 et arrive dans le capillaire au centre de la fenêtre. Une fraction 66 du rayonnement transmis 68 reste piégée dans le capillaire tandis qu'une fraction 70 est éliminée par l'organe 52. Une fraction diffractée du  
10 rayonnement est collectée par la lentille 48 et reçue par les moyens de traitement 30. Il en est de même pour une fraction du rayonnement diffusée vers la lentille. La fraction diffusée vers le miroir est réfléchiée par le miroir 238 au centre de la fenêtre et collectée par la lentille 48 de la même façon.

Le dispositif 2 pourra être jetable et à usage unique. Il pourra être  
15 fabriqué en grande série. Le capillaire pourra être formé par la superposition des différentes feuilles se trouvant au centre de la carte. Alternativement, il pourra s'agir d'un capillaire individuel, par exemple en verre ou en quartz.

La carte pourra comprendre un ou plusieurs organes optiques tels que miroirs, lentilles, prismes, réseaux etc.... Un ou plusieurs de ces  
20 éléments pourront être d'une seule pièce avec l'une des parois externes ou internes de la carte. Un ou plusieurs de ces éléments pourront être rapportés sur la carte à demeure. Dans une variante du mode de réalisation de la figure 5, on pourra prévoir un miroir adjacent à une cavité comme dans le mode de la figure 3.

25 Le dispositif selon l'invention permet de collecter une grande quantité de la lumière émergeant du capillaire. Le miroir et la lentille étant fixés à demeure sur la carte dans les modes de réalisation ci-dessus, leur centrage par rapport au capillaire est effectué, une bonne fois pour toutes, au montage.

30 Dans les modes de réalisation des figures 4 et 5, et en partie dans le mode de réalisation de la figure 3, le confinement des organes optiques

autour du capillaire sans présence d'air permet de réduire les problèmes liés à la présence de poussière parasite.

Bien entendu, on pourra apporter à l'invention de nombreuses modifications sans sortir du cadre de celle-ci. L'invention pourra être mise en œuvre lors d'analyses menées au moyen de techniques autres que la cytométrie de flux. Elle pourra par exemple être mise en œuvre dans le cadre d'une technique d'électrophorèse. Bien que l'on ait décrit les modes de réalisation ci-dessus en référence à une source laser, le rayonnement incident pourra être de natures variées. Il pourra s'agir de lumière ordinaire, de lumière fluorescente, ultraviolette, etc.... L'invention pourra être mise en œuvre dans un dispositif recevant les échantillons de façon fixe et non pas amovible. On pourra mettre en œuvre l'invention dans certaines circonstances sans présence d'un fluide. Ainsi l'invention pourra être utilisée avec un capillaire comprenant un principe actif solide. On pourra également prévoir dans une variante du mode de réalisation de la figure 3 que l'orifice 40 se trouve à proximité d'une zone amont du capillaire suivant un agencement de la source 28 semblable à celui de la figure 5.

Indépendamment de la présence de la discontinuité, on pourra prévoir un dispositif tel qu'une carte, comprenant un réceptacle et un miroir (par exemple de forme sphérique) fixé au dispositif. Ce dispositif pourra comprendre en outre un organe optique tel qu'une lentille disposé de sorte que le réceptacle s'étend entre le miroir et la lentille conformément aux modes de réalisation illustrés.

25

30

REVENDEICATIONS

1. Dispositif (2 ;102 ;202) pour l'analyse d'un échantillon au moyen d'un rayon lumineux comprenant un réceptacle d'échantillon (8) et un miroir, caractérisé en ce que le miroir (38 ;138 ;238) présente une discontinuité (40 ;140 ;240) de sorte qu'un rayon lumineux (42) peut traverser le miroir pour arriver jusqu'au réceptacle (8).
2. Dispositif selon la revendication 1, caractérisé en ce que le miroir (38 ;138 ;238) est fixé au réceptacle.
3. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 ou 2, caractérisé en ce qu'il comprend une paroi externe (16 ;116) définissant le miroir.
4. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 ou 2, caractérisé en ce que le miroir est rapporté sur une paroi externe du dispositif.
5. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce qu'il a une forme essentiellement plate.
6. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que le réceptacle (8) s'étend parallèlement à une face principale (34 ;134) du dispositif, le miroir (38 ; 138 ;238) s'étendant au droit du réceptacle suivant une épaisseur (e) du dispositif.
7. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que la discontinuité (40 ;140) se trouve au droit du réceptacle suivant une épaisseur (e) du dispositif.
8. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que la discontinuité (240) est disposée de sorte que le rayon lumineux (42) est incliné par rapport à une épaisseur (e) du dispositif.
9. Dispositif selon la revendication 8, caractérisé en ce qu'il est agencé pour qu'un fluide s'écoule dans le réceptacle dans un sens prédéterminé (72), la discontinuité (240) se trouvant dans une moitié amont du miroir (238) par référence au sens d'écoulement.

10. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, caractérisé en ce qu'il comprend un substrat (16) ayant une face (38) formant le miroir, cette face étant en contact avec un milieu différent de celui du substrat et s'étendant entre le substrat (16) et le réceptacle (8).

5           11. Dispositif selon la revendication 10, caractérisé en ce que la face (38) forme une cavité interne (39) du dispositif.

12. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, caractérisé en ce qu'il comprend un substrat ayant une face (138 ;238) formant le miroir et s'étendant en contact avec un milieu différent de celui du substrat, le substrat (116) s'étendant entre la face (138 ;238) et le réceptacle (8).

13. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 10 ou 12, caractérisé en ce que le milieu est un gaz.

14. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 13, caractérisé en ce que le miroir (38 ; 138 ;238) a une forme en portion de sphère.

15. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 14, caractérisé en ce qu'il est agencé pour que le rayon (42) émerge du dispositif d'un côté du réceptacle (8) opposé au miroir (38 ;138 ;238).

20           16. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 15, caractérisé en ce qu'il présente en outre un organe optique (48) fixé au réceptacle.

17. Dispositif selon la revendication 16, caractérisé en ce que le réceptacle (8) s'étend entre le miroir (38 ;138 ;238) et l'organe optique.

25           18. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 16 ou 17, caractérisé en ce qu'il comprend une paroi externe (18) définissant l'organe optique (48).

19. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 18, caractérisé en ce que le réceptacle (8) a une forme allongée.

30           20. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 19, caractérisé en ce qu'il comprend un réservoir de fluide (6).

21. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 20, caractérisé en ce que l'échantillon comprend un fluide.

22. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 21, caractérisé en ce qu'il s'agit d'un dispositif d'analyse par cytométrie de flux.

5 23. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 22, caractérisé en ce qu'il s'agit d'un dispositif microfluidique.

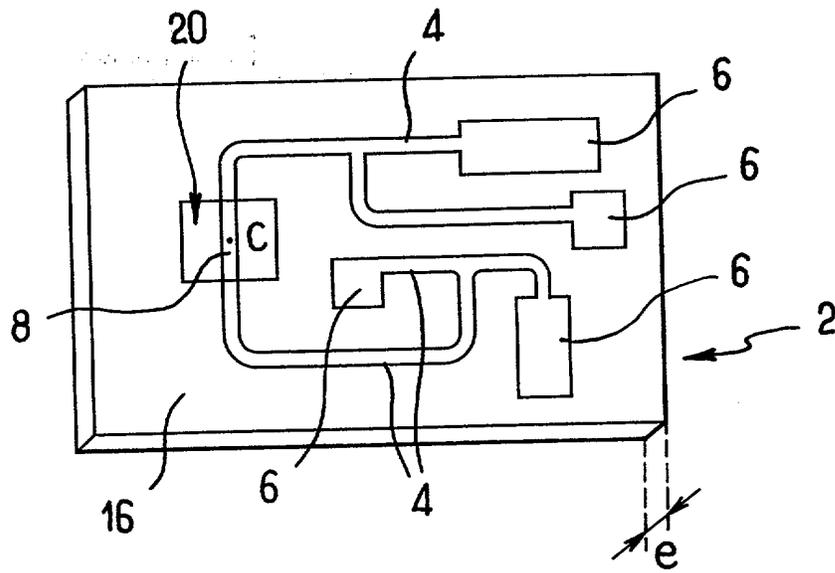
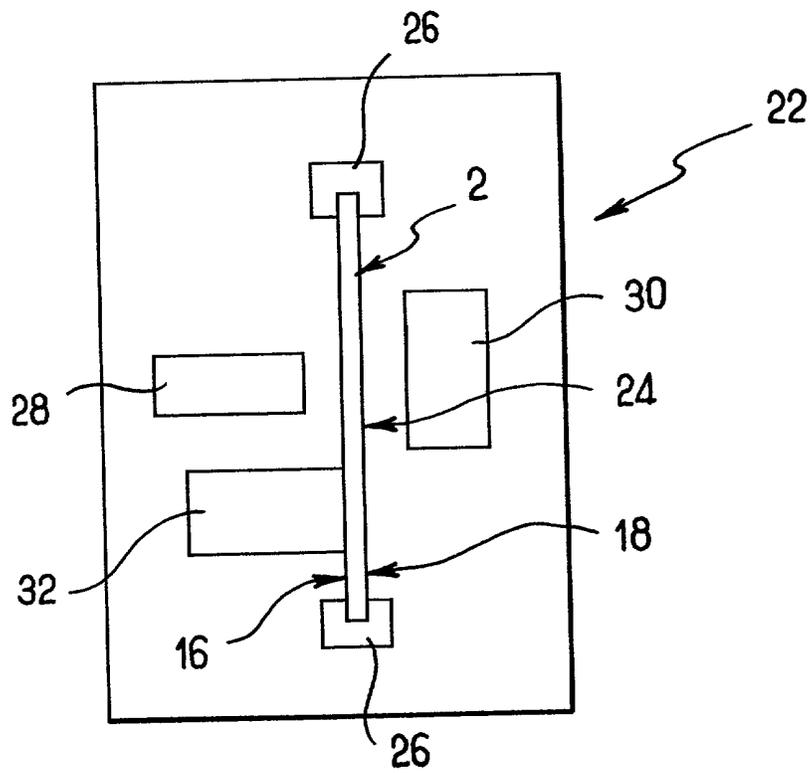
24. Ensemble pour l'analyse d'un échantillon comprenant un dispositif (2 ;102 ;202) et un appareillage (22) présentant un logement (24) de réception amovible du dispositif et une source de lumière (28),  
10 caractérisé en ce que le dispositif est conforme à l'une quelconque des revendications 1 à 23, la source étant apte à émettre un rayon lumineux (42) traversant le miroir (38 ;138 ;238) pour arriver jusqu'au réceptacle (8) lorsque le dispositif est dans le logement.

25. Ensemble selon la revendication 24, caractérisé en ce que  
15 l'appareillage comprend des moyens d'analyse (30) du rayon (42) disposés de sorte que le dispositif (2) s'étend entre la source (28) et les moyens d'analyse lorsque le dispositif est dans le logement (24).

20

25

1 / 3

FIG. 1FIG. 2

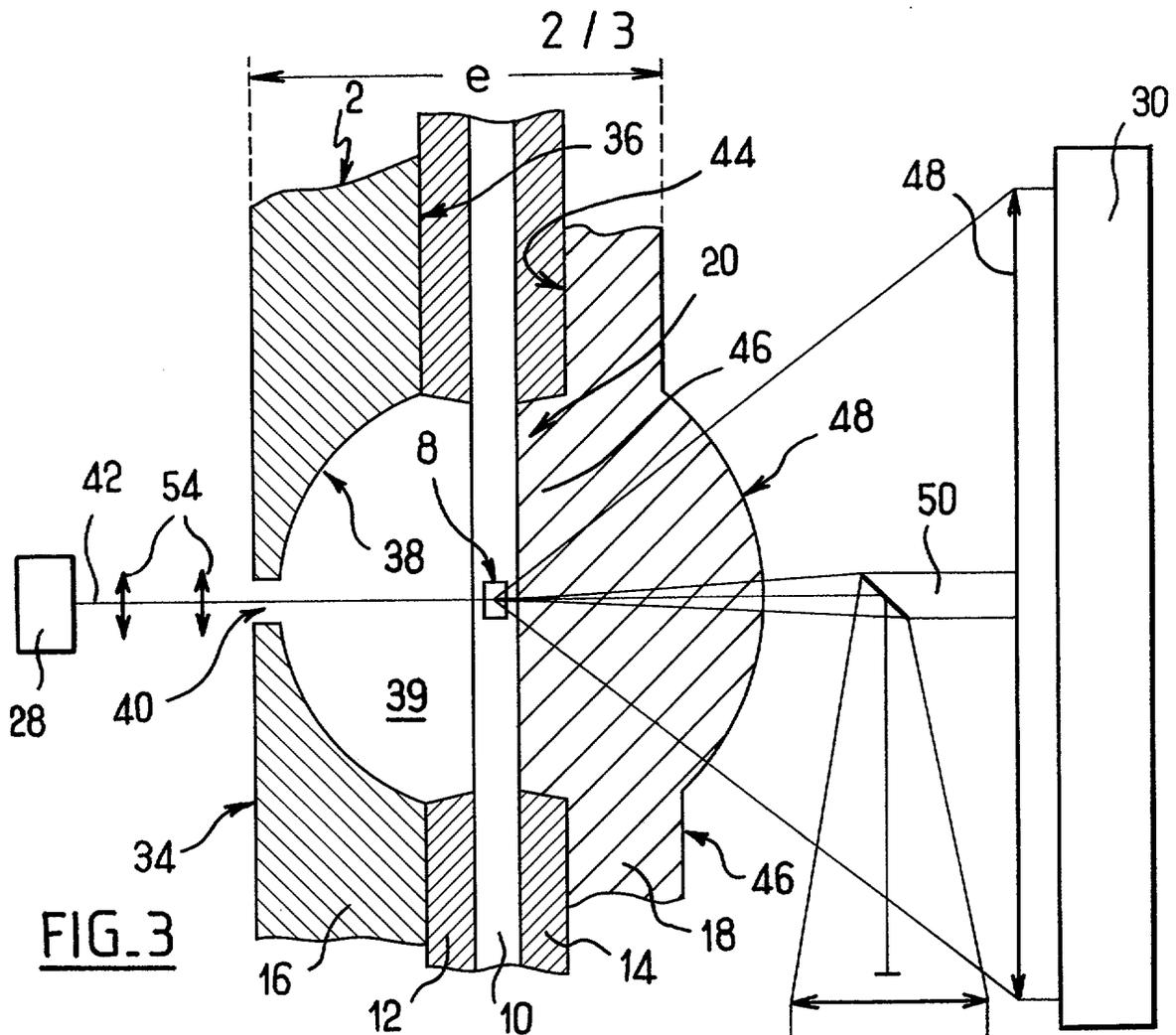


FIG. 3

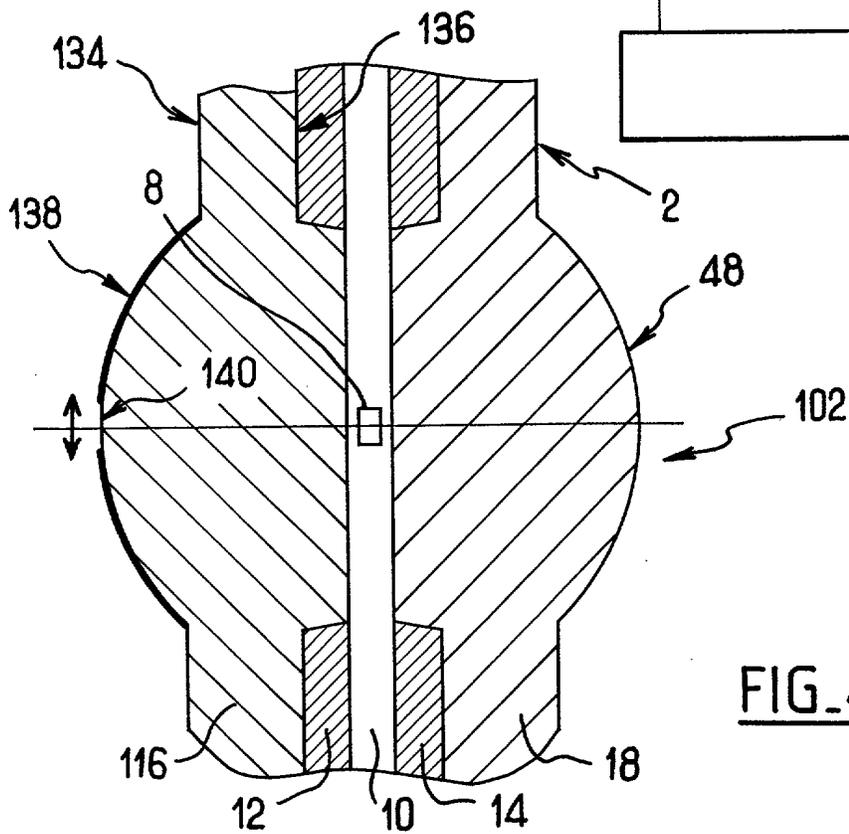


FIG. 4



**RAPPORT DE RECHERCHE  
PRÉLIMINAIRE**

établi sur la base des dernières revendications  
déposées avant le commencement de la recherche

FA 606396  
FR 0110380

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X Y	US 4 702 598 A (BOEHMER RALPH M) 27 octobre 1987 (1987-10-27)  * colonne 1, ligne 5 - colonne 1, ligne 24 * * colonne 2, ligne 38 - colonne 3, ligne 12 * * colonne 3, ligne 44 - colonne 4, ligne 22 * * figures 1-6 *	1-4, 6, 7, 19-22, 24 5, 10-14, 16, 18, 23, 25	G01N21/01 G01N15/10
X Y	US 4 189 236 A (BRUNSTING ALBERT ET AL) 19 février 1980 (1980-02-19)  * colonne 2, ligne 59 - colonne 2, ligne 68 * * colonne 5, ligne 21 - colonne 7, ligne 20 * * figures 1-10 *	1-4  12, 13, 16, 18, 25	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (Int.CL.7)
D, Y Y	EP 1 058 939 A (CALIPER TECHN CORP) 13 décembre 2000 (2000-12-13) & US 6 100 541 A (NAGLE ET AL.) 8 août 2000 (2000-08-08) * colonne 5, ligne 55 - colonne 6, ligne 54 * * figures 1-4 *	5, 10-13, 23 5, 10-13, 23	G01N G02B
Y	US 3 989 381 A (FULWYLER MACK J) 2 novembre 1976 (1976-11-02) * colonne 3, ligne 38 - colonne 3, ligne 61 * * colonne 4, ligne 45 - colonne 4, ligne 59 * * figures 1, 2 *	14	
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
27 mai 2002		Koch, A	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS		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	
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		& : membre de la même famille, document correspondant	

1

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE  
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0110380 FA 606396**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.  
Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 27-05-2002  
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 4702598	A	27-10-1987	AUCUN	
US 4189236	A	19-02-1980	CA 1126977 A1 DE 2910030 A1 FR 2420752 A1 GB 2016734 A JP 54130186 A	06-07-1982 04-10-1979 19-10-1979 26-09-1979 09-10-1979
EP 1058939	A	13-12-2000	US 6100541 A AU 2873899 A CA 2321718 A1 EP 1058939 A1 WO 9944217 A1 US 6316781 B1	08-08-2000 15-09-1999 02-09-1999 13-12-2000 02-09-1999 13-11-2001
US 3989381	A	02-11-1976	DE 2619675 A1 FR 2325038 A1 JP 51136475 A	18-11-1976 15-04-1977 25-11-1976