



(43) Date de la publication internationale
1 décembre 2016 (01.12.2016)

WIPO | PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2016/189259 A1

(51) Classification internationale des brevets :
B01F 11/02 (2006.01) **B01F 13/10** (2006.01)
B01F 15/00 (2006.01) **G01N 1/28** (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2016/051255

(22) Date de dépôt international :
27 mai 2016 (27.05.2016)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
1554795 28 mai 2015 (28.05.2015) FR

(71) Déposant : **BIOMÉRIEUX** [FR/FR]; 69280 Marcy
L'etoile (FR).

(72) Inventeurs : **BROYER, Patrick**; Le Demay, 44 Chemin
de la Martelière, 38500 Saint-cassien (FR). **CHARLES,
Marie-Hélène**; 3 Allée de la Lamberte, 69420 Condrieu
(FR). **DRAZEK, Laurent**; 6 Rue Louis et Auguste Lu-
mière, 38100 Grenoble (FR). **LANET, Dominique**; Le
Charleston, Bâtiment B, 114 Boulevard des Tchécoslo-
vaques, 69007 Lyon (FR). **ROSTAING, Hervé**; 6 Cité du
Pruney 2, 38420 Le Versoud (FR). **VERON, Laurent**; 53
Allée de Grigny, 69290 Pollionnay (FR).

(74) Mandataire : **SPRUGNOLI, Claude**; bioMérieux, Dépar-
tement Propriété Intellectuelle, 69280 Marcy L'etoile (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre
de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM,
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY,
BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,
DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR,
KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG,
MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM,
PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC,
SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre
de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ,
TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU,
TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,
DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LI, LU,
LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK,
SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

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

[Suite sur la page suivante]

(54) Title : DEVICE FOR THE PREPARATION OF BIOLOGICAL SAMPLES AND USE THEREOF

(54) Titre : DISPOSITIF POUR LA PREPARATION D'ECHANTILLONS BIOLOGIQUES ET SON UTILISATION

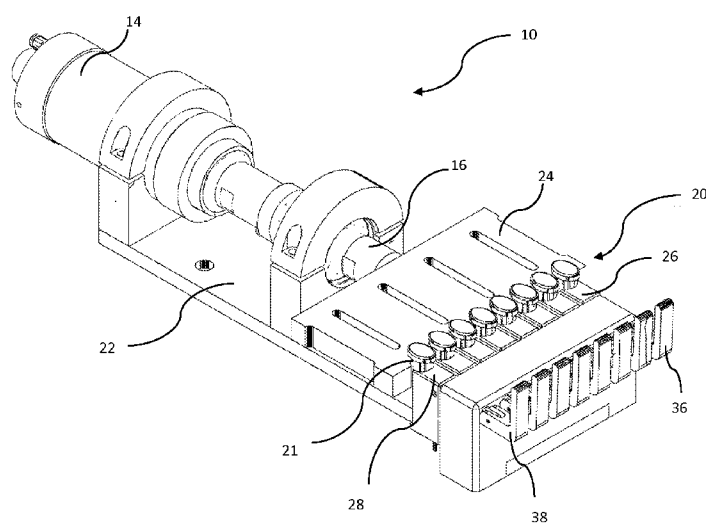


Figure 1

(57) Abstract : Device comprising at least one part
(20) intended to accept at least one tube (21) able to
contain a biological sample, said part (20) compri-
sing a support (22) able to accept and hold the fixed
part (14) of an ultrasound probe, a vibrating part
(24) able to be coupled to the sonotrode (16) of an
ultrasound probe, a mobile part (26) secured to the
support (22) able to move, preferably translationally,
relative to the support (22) from a rest position
to a clamping position (28) and vice versa, by
means of a clamping means (28), a means of heating
the contents of the tube (21) so that when the
mobile part (26) is in the rest position a space is left
between said mobile part (26) and the vibrating part
(24) allowing said at least one tube (21) to be posi-
tioned or removed, whereas when the mobile part
(26) is in the clamping position (28) in the presence
of at least one tube (21), said mobile part (26)
presses against said at least one tube (21) and ap-
plies force to the wall thereof, which is passed on to
the vibrating part (24), thereby trapping said at least
one tube (21), said force being generated by the
clamping means (28) on the mobile part (26).

(57) Abrégé :

[Suite sur la page suivante]



-
- avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues (règle 48.2.h))

Dispositif comprenant au moins une partie (20) destinée à recevoir au moins un tube (21) apte à contenir un échantillon biologique, ladite partie (20) comportant, un support (22) apte à recevoir et maintenir la partie fixe (14) d'une sonde de sonication, une partie vibrante (24) apte à être accouplée avec la sonotrode (16) d'une sonde de sonication, une partie mobile (26) solidaire du support (22), apte à se déplacer, de préférence en translation, relativement au support (22), d'une position de repos vers une position de serrage (28) et inversement, par le biais d'un moyen de serrage (28), un moyen de chauffage du contenu du tube (21), de sorte que lorsque la partie mobile (26) est en position de repos, un espace est ménagé entre ladite partie mobile (26) et la partie vibrante (24) permettant de positionner ou retirer ledit au moins un tube (21), alors que lorsque la partie mobile (26) est en position de serrage (28) en présence d'au moins un tube (21), ladite partie mobile (26) est en appui contre ledit au moins un tube (21) et exerce une force contre la paroi de ce dernier, répercutée sur la partie vibrante (24), emprisonnant ainsi ledit au moins un tube (21), ladite force étant générée par le moyen de serrage (28) sur la partie mobile (26).

DISPOSITIF POUR LA PREPARATION D'ECHANTILLONS BIOLOGIQUES**DOMAINE TECHNIQUE**

5

La présente invention se rapporte au domaine des méthodes et dispositifs de préparation d'échantillons, préférentiellement d'échantillons biologiques, et plus particulièrement aux méthodes et dispositifs permettant la sonication et l'incubation d'échantillons biologiques, notamment pour la préparation d'échantillons biologiques destinés à être analysés par un
10 protocole de biologie moléculaire ou par un appareil de spectrométrie de masse.

A titre d'application préférée, l'invention concerne, plus particulièrement la préparation d'échantillons contenant des microorganismes.

15 ART ANTERIEUR

Traditionnellement, les sondes de sonication ultrasonores utilisées avec des tubes plastiques sont munies de trous borgnes, formés dans la sonotrode, pour recevoir les tubes. Ces sondes de sonication nécessitent de bien contrôler la force d'engagement des tubes dans les trous borgnes
20 afin de pouvoir contrôler la quantité d'ultrasons transmis à l'échantillon contenu dans le tube. Ainsi, lors d'une étape de sonication, pour une même puissance délivrée et si cette force d'engagement est mal maîtrisée, il est possible d'arriver à la fonte du plastique constituant le tube. D'autre part, le contrôle de la hauteur d'insertion des tubes dans les trous borgnes montre des variations importantes selon l'axe longitudinal du tube. Cette variabilité peut notamment
25 être gênante pour une utilisation avec un pipetteur automatique.

Un exemple de sonotrode présentant six trous borgnes de réception de tubes est donné dans la demande internationale de brevet WO96/19301 ou par le produit commercial Sonotrode VialTwyter commercialisé par la société Hielscher. Ce type de sonotrode présente des trous borgnes percés dans la sonotrode et dont le diamètre est fixe. Les tubes positionnés sont ainsi
30 maintenus par un ajustement serré entre les parois du tube et le diamètre du trou borgne et donc uniquement par des forces de frottement. L'accouplement ultrasonore, ou couplage ultrasonore, entre la paroi du tube et la sonotrode est donc réalisé par des forces de contact maintenant le tube après insertion, ces forces étant variables en fonction de l'ajustement du diamètre extérieur du tube dans le trou et de la force appliquée lors de son insertion. Un inconvénient majeur de ce
35 dispositif est donc qu'il contraint l'opérateur à insérer les tube avec force, ce qui rend difficile

le retrait manuel ou automatique des tubes. Il en résulte que l'introduction et le positionnement du tube dans le trou borgne est difficilement réalisable et reproductible, notamment car le diamètre extérieur des tubes présente de grandes variations. Ces variations sont observables pour un même modèle de tube dans un même lot de fabrication, notamment à cause du procédé de fabrication des tubes par injection et du polymère utilisé, généralement du Polypropylène. De plus, cette grande tolérance de variation du diamètre extérieur des tubes induit des variations importantes sur le positionnement du tube dans le trou borgne selon un axe parallèle à l'axe longitudinal du tube (dans l'axe Z), notamment pour des tubes de forme tronconiques.

10 Cette contrainte de positionnement est d'autant plus problématique lors des opérations de pipettage dans des tubes, par exemple pour la récupération d'un lysat sans perte en fin de procédé de sonication, ou pour la manipulation automatique des tubes (chargement et déchargement dans la sonotrode) par un robot pipetteur. En effet, il est essentiel dans ce type d'application que la collerette des tubes, qui est un élément de préhension, soit située à une position selon un axe parallèle à l'axe longitudinal du tube (selon l'axe Z) qui est reproductible d'un tube à l'autre. Dans le cadre d'un robot pipetteur, l'axe Z correspond à un des trois axes de translation du dispositif de pipettage automatisé, l'axe Z étant sensiblement vertical ou vertical. Un autre inconvénient de ce type de dispositif est qu'il ne peut être utilisé qu'avec un faible nombre de types de tube, présentant un diamètre extérieur peu variable et de forme longitudinale cylindrique.

15
20

D'autre part, après une étape de sonication des tubes sur ce type de dispositif, l'échauffement occasionné sur la paroi plastique du tube peut entraîner une dilatation/déformation de celle-ci ce qui peut gêner l'extraction / le déchargement du tube voire empêcher le tube d'être retiré du trou borgne. Dans des cas plus extrêmes l'échauffement peut même entraîner la formation d'un trou dans la paroi du tube et ainsi l'épanchement de l'échantillon contenu ce qui est inacceptable.

25

Ce type de dispositif n'est donc pas utilisable dans un système totalement automatisé, tel qu'un robot pipetteur, où il est souhaitable que l'opérateur puisse insérer / retirer des tubes dans le système, l'automate se chargeant de transporter les tubes et de les insérer sur la sonotrode puis de les retirer de manière automatique en fin de sonication pour les soumettre à la suite à un protocole biologique ou chimique. D'autre part, ce type de sonotrode ne peut être utilisé qu'avec des tubes de formes, diamètres extérieurs et tailles connues et de tolérance de forme faible pour espérer un maintien et un accouplement ultrasonore reproductible selon les tubes et par conséquent une bonne sonication du contenu de chaque tube.

30
35

La demande internationale de brevet WO 2006/060566 présente un dispositif automatisé de préparation d'échantillon. Le dispositif comprend un porte-tube, une sonde de sonication et un système de refroidissement. La sonde de sonication est placée en regard du fond du tube quand
5 celui-ci est positionné dans le porte-tube de façon à lyser par ultrasons l'échantillon contenu dans le tube. Durant l'étape de lyse, le système de refroidissement refroidit l'échantillon par l'intermédiaire des parois du tube de façon à empêcher la dégradation des constituants biologiques de l'échantillon.

Afin d'appliquer une force définie sur le fond du tube, la sonde de sonication est contrainte par
10 un ressort de compression. Cependant la force d'engagement du tube dans le porte tube n'est pas maîtrisée, de sorte que l'énergie transmise à l'échantillon durant l'étape de sonication est incertaine. Ainsi, afin de compenser cette incertitude sur l'énergie transmise est d'empêcher la fonte du tube lors de l'étape de sonication, ce dispositif est contraint de réguler en permanence l'énergie d'activation de la sonde de sonication et d'embarquer un système de refroidissement
15 du tube.

D'autre part, ce dispositif présente un encombrement conséquent pour le traitement d'un tube unique et ne permet pas un chargement / déchargement du tube de façon automatique. D'autre part, le trou borgne de réception du tube ne permet pas de s'adapter à des tubes de diamètres extérieurs différents et variables.

20

La demande internationale de brevet WO 2012/125708 présente un dispositif pour la préparation d'acides nucléiques à partir d'échantillons biologiques.

Ce dispositif comprend une sonde de sonication comprenant un porte tube. Un tube contenant un échantillon est positionné dans le porte tube par une de ses extrémités. Le tube est contraint
25 par son autre extrémité par une plaque soumise à l'action de ressorts de rappel de façon à assurer une pression et une orientation constante et reproductible du tube durant l'étape de sonication.

Ce dispositif ne permet cependant pas par sa géométrie une insertion rapide et automatisée du tube dans le porte tube. De plus, la géométrie du porte tube ne permet pas de s'adapter à des
30 tubes de diamètres extérieurs différents et variables.

Les dispositifs ultrasonores (généralement appelé sonificateurs) pouvant réaliser des sonications simultanées dans des tubes de différents diamètres existent mais nécessitent de mettre en contact la sonotrode de diamètre adaptée au diamètre du tube avec le produit à lyser
35 contenu dans le tube. Dans le cas des applications infectieuses en microbiologie, le risque pour

l'opérateur lié à la pulvérisation et la génération d'aérosol contenant des microorganismes et la contrainte de nettoyage de l'extrémité de la sonotrode à chaque traitement d'un nouvel échantillon rend ce type de dispositif inadapté.

- 5 Il ressort qu'aucun dispositif de préparation d'échantillon par sonication de l'état de la technique ne donne entière satisfaction pour traiter un échantillon ou une série de plusieurs échantillons de manière automatique ou semi-automatique, tout en minimisant les étapes de transfert et de pipettage. D'autre part, aucun dispositif assurant un couplage ultrasonore reproductible, simple à mettre en œuvre et pouvant s'adapter à une grande variété de tubes
10 n'est à ce jour disponible.

EXPOSE DE L'INVENTION

- Le but de l'invention est de remédier aux inconvénients précités en proposant un dispositif de
15 préparation d'échantillons, notamment d'échantillons biologiques, permettant la sonication et éventuellement l'incubation de façon plus contrôlée et reproductible.

- Un autre objectif de l'invention est de proposer un dispositif permettant un couplage ultrasonore de tubes efficace, réversible, facilement manipulable et pouvant convenir à une
20 grande variété de tubes.

Elle vise également à réaliser un dispositif de conception simple sûre et rationnelle, confortable d'utilisation et présentant un encombrement réduit.

- 25 Elle vise également à réaliser un dispositif pouvant permettre de réaliser une étape de sonication et d'incubation en limitant le transfert de liquide ou le déplacement de tubes.

- Elle vise également à réaliser un dispositif pouvant permettre d'automatiser toutes ou une partie des étapes de chargement (insertion) des tubes, de positionnement, de sonication,
30 d'incubation et de déchargement (retrait) des tubes, tout en permettant un accès au tube par un robot pipetteur pendant et/ou en amont et/ou à la suite de ces différentes étapes.

Pour atteindre ces objectifs, il a été mis au point un dispositif comprenant au moins une partie destinée à recevoir au moins un tube apte à contenir un échantillon, ladite partie comportant :

- 35 • un support apte à recevoir et maintenir la partie fixe d'une sonde de sonication

- une partie vibrante apte à être accouplée avec la sonotrode d'une sonde de sonication,
 - une partie mobile solidaire du support, apte à se déplacer, de préférence en translation, relativement au support, d'une position de repos vers une position de serrage et inversement, par le biais d'un moyen de serrage,
- 5 • un moyen de chauffage du contenu du tube,
- de sorte que lorsque la partie mobile est en position de repos, un espace est ménagé entre ladite partie mobile et la partie vibrante permettant de positionner ou retirer ledit au moins un tube, alors que lorsque la partie mobile est en position de serrage en présence d'au moins un tube, ladite partie mobile est en appui contre ledit au moins un
- 10 tube et exerce une force contre la paroi de ce dernier, répercutée sur la partie vibrante, emprisonnant ainsi ledit au moins un tube, ladite force étant générée par le moyen de serrage sur la partie mobile.

De façon préférentielle, lorsque la partie mobile est en position de serrage en présence d'au

15 moins un tube, ladite partie mobile est en appui contre ledit au moins un tube et exerce une force contre la paroi du tube selon un axe transversal de ce dernier, répercutée sur la partie vibrante, emprisonnant ainsi ledit au moins un tube, ladite force étant générée par le moyen de serrage sur la partie mobile.

20 Plus préférentiellement, ledit support est apte à recevoir et maintenir la partie fixe d'une sonde de sonication selon au moins un axe de sonication et ladite force est exercée par la partie mobile parallèlement à l'axe de sonication, selon l'axe de sonication ou perpendiculairement à l'axe de sonication.

25 Par échantillon, on entend un échantillon biologique et/ou un mélange d'un ou plusieurs produits, se présentant sous forme liquide, visqueuse et/ou sous le forme d'éléments solides en suspension liquide.

On entend par échantillon biologique un échantillon liquide ou visqueux susceptible de contenir

30 un ou plusieurs microorganismes d'intérêt. Un échantillon biologique peut également présenter une matrice solide ou semi-solide, tel que des tissus, échantillons respiratoires, crachats, pus ou des selles, en suspension dans un liquide.

Au sens de la présente invention, le terme microorganisme recouvre les bactéries à Gram

35 positif ou à Gram négatif, les levures, les moisissures, les amibes et plus généralement, les organismes unicellulaires, invisibles à l'œil nu, qui peuvent être manipulés et multipliés en laboratoire.

Selon un mode préféré de réalisation de l'invention, le microorganisme est une bactérie, à Gram négatif ou positif, une levure, ou une moisissure.

A titre d'exemple de bactéries à Gram positif, on peut citer les bactéries des genres suivants : Enterococcus, Streptococcus, Lactobacillus, Bifidobacterium, Staphylococcus, Bacillus, Listeria, Clostridium, Mycobacteria, Nocardia, Corynebacteria, Micrococcus et Deinococcus.

A titre d'exemple de bactéries à Gram négatif, on peut citer les bactéries des genres suivants :

- 5 Escherichia, Enterobacter, Klebsiella, Salmonella, Proteus, Serratia.

A titre d'exemple de levures, on peut citer les genres suivants : Candida, Cryptococcus, Saccharomyces et Trichosporon.

A titre d'exemple de moisissures, on peut citer les genres suivants : Aspergillus, Penicillium, Cladosporium.

- 10 Le dispositif selon l'invention présente un intérêt pour la préparation d'échantillons dans de nombreux domaines du diagnostic in vitro : diagnostic clinique, tests de contamination de produits pharmaceutiques, tests sur des matrices alimentaires.

Le dispositif selon l'invention permet également la préparation d'échantillon biologique pour de nombreux protocoles d'analyse, notamment en biologie moléculaire ou en spectrométrie de

- 15 masse (MALDI-ToF MS ou LC-ESI-MS). Ces protocoles nécessitent par exemple de réaliser une lyse de microorganismes générique et efficace suivie, pour une analyse par LC-ESI-MS(MS), d'un protocole de Réduction/Alkylation/Digestion pouvant être réalisé au moyen du dispositif selon l'invention et tel que décrit dans la demande de brevet française FR2990217A1.

- 20 Avantageusement, dans le cadre d'applications dans le domaine de la chimie, l'échantillon peut être un mélange comprenant un ou plusieurs produits chimiques. Le dispositif selon l'invention pouvant ainsi être utilisé pour l'accélération de la cinétique de mélanges ou l'étude et la réalisation de réactions par sonochimie.

- 25 Un tube utilisable avec les méthodes et dispositifs selon l'invention peut présenter différentes formes ainsi qu'une grande variabilité en terme de tolérance géométrique et plus particulièrement de tolérance de forme, notamment sur le diamètre extérieur du tube venant en contact avec la sonotrode. Un tube se présente généralement sous la forme d'une paroi présentant une section, généralement circulaire, elliptique ou carrée, s'étendant selon un axe
30 longitudinal. La surface de la section peut être constante, formant ainsi une partie cylindrique, ou variable de manière à former un tronc de cône ou un tronc de pyramide. De façon avantageuse, la paroi présente une symétrie selon un axe de révolution confondu avec son axe longitudinal.

Un tube comprend deux extrémités sur son axe longitudinal, une extrémité débouchante et

- 35 l'autre fermée, de sorte à pouvoir recevoir un contenu, liquide ou visqueux. L'extrémité fermée correspond au fond du tube, également appelé partie inférieure du tube.

On appelle axe transversal tout axe perpendiculaire à l'axe longitudinal défini par la paroi d'un tube.

Les tubes pouvant être utilisés avec l'invention sont généralement réalisés en matière plastique et peuvent avoir des tolérances dimensionnelles larges, notamment sur le diamètre extérieur de la paroi des tubes, venant en contact avec la partie mobile et la partie vibrante du dispositif. On appelle diamètre extérieur la plus grande valeur de la section d'un tube mesurée selon un axe transversal. Cette valeur étant mesurée dans les parties de la paroi du tube aptes à venir en contact avec la sonotrode d'une sonde de sonication.

Des exemples de tubes aptes à être utilisés avec le dispositif selon l'invention sont des tubes dit Eppendorf pouvant recevoir 1,5mL ou 2mL de contenu liquide, réalisés en plastique ou encore des tubes de 50mL. Ces tubes présentent une section cylindrique s'étendant selon un axe longitudinal, une extrémité de la partie cylindrique débouchante sur une ouverture circulaire apte à recevoir un bouchon, l'autre extrémité étant obturée par une partie tronconique, hémisphérique ou conique, s'étendant selon le même axe longitudinal. Ces tubes présentent une collerette au contact de l'ouverture circulaire, celle-ci pouvant servir de moyen de préhension du tube.

L'ouverture circulaire d'un tube est apte à recevoir un bouchon. Celle-ci peut également recevoir un septum afin d'être franchissable par une aiguille ou la partie terminale d'un dispositif de pipetage.

L'invention présente pour avantage de pouvoir être facilement adaptée à des tubes de diamètres extérieurs et de hauteurs différentes selon l'axe longitudinal. De plus l'invention présente pour avantage de s'adapter aux tolérances de forme de tubes des tubes disponibles de façon courante, notamment de leur diamètre extérieur.

Dans tous les modes de réalisation de l'invention, un espace est ménagé entre ladite partie mobile et la partie vibrante lorsque la partie mobile est en position de repos. Cet espace permet de positionner ou retirer ledit au moins un tube dans le dispositif selon l'invention. Cet espace présente également une géométrie apte à coopérer avec la paroi du tube, de façon à pouvoir y insérer le tube. Cet espace pourra ainsi être adapté suivant la géométrie du tube, et plus particulièrement de la paroi du tube, que l'on veut y insérer. A titre d'exemple, pour une utilisation avec un tube dont la section de la paroi est ovale ou cylindrique, ledit espace peut présenter une forme de trou oblong s'étendant selon un axe longitudinal, cet axe étant sensiblement parallèle ou parallèle avec celui du tube lorsque celui-ci est positionné dans ledit espace.

Selon un mode de réalisation particulier, cet espace permet également d'accéder à la partie débouchante dudit tube lorsque celui-ci y est positionné et/ou emprisonné par le dispositif, permettant ainsi l'ajout ou le retrait de liquide à tout moment.

Dans tous les modes de réalisation de l'invention, la partie mobile ainsi que la partie vibrante du dispositif selon l'invention présentent chacune une ou des surfaces de contact aptes à coopérer avec au moins un tube, préférentiellement avec la paroi d'au moins un tube de façon à y exercer une force selon l'axe transversal ou l'axe longitudinal du tube lorsque la partie mobile est en position de serrage. Ces surfaces de contact pourront ainsi être adaptées suivant la géométrie de la paroi du tube et le cas échéant de son bouchon ou septum.

Il n'est cependant pas nécessaire que la forme des surfaces de contact soit parfaitement adaptées à la paroi du tube, ceci grâce à la capacité de déformation élastique de la paroi des tubes plastiques et/ou à la force générée par le moyen de serrage sur la partie mobile, par exemple selon l'axe de sonication, lorsque la partie mobile est en position de serrage en présence d'au moins un tube, celle-ci pouvant être appliquée par un moyen de rappel élastique ou par l'intermédiaire d'un moyen de rappel élastique, tel qu'un ressort, un support élastique (silent block en langue anglaise) ou encore une poche d'air comprimé. A titre d'exemple, pour une utilisation avec un tube dont la section de la paroi est ovale ou cylindrique et où la partie mobile lorsque elle est en position de serrage exerce une force selon un axe transversal du tube, les surfaces de contacts peuvent présenter une partie de forme cylindrique de diamètre légèrement supérieur au diamètre extérieur de la paroi du tube. A titre d'exemple, la partie mobile peut présenter au moins une partie de forme cylindrique et la partie vibrante au moins une partie de forme cylindrique. De cette façon, lorsque les parties mobile et vibrante sont en position de serrage, celles-ci forment deux parties d'un même cylindre de diamètre ajusté au diamètre extérieur de la paroi du tube afin de garantir le serrage de celui-ci. De façon avantageuse, lorsque les parties mobiles et vibrantes sont en position de serrage, la partie débouchante du tube reste accessible permettant ainsi l'ajout ou le retrait de liquide à tout moment.

De manière alternative, la partie mobile peut présenter une surface de contact plane. A titre d'exemple, la partie mobile peut présenter une surface de contact plane de manière à pouvoir coopérer avec un bouchon de tube, la partie vibrante présentant une surface de contact apte à coopérer avec le fond d'un tube, par exemple une rainure, ceci afin de garantir le serrage d'un tube et de son bouchon selon son axe longitudinal lorsque la partie mobile est en position de serrage.

De manière alternative, la partie vibrante peut présenter une surface de contact apte à coopérer avec la paroi d'un tube ou avec la partie inférieure d'un tube. A titre d'exemple, la partie vibrante peut présenter une surface de contact comprenant au moins une partie de forme cylindrique de sorte que lorsque la partie mobile est en position de serrage, celle-ci peut exercer une force selon un axe transversal du tube qui permet de l'emprisonner. Ladite surface de contact comprenant également au moins une partie apte à coopérer avec la partie inférieure

d'un tube, par exemple une rainure, de sorte que lorsque la partie mobile est en position de serrage, celle-ci peut exercer une force selon un axe longitudinal du tube qui permet de l'emprisonner. De cette manière, un tube pourra être emprisonné par les parties mobiles et vibrantes en position de serrage par une force exercée selon un axe transversal du tube ou un
5 axe longitudinal du tube.

Une sonde de sonication, bien connue de l'homme du métier, comprend une partie fixe et un partie vibrante, également appelée sonotrode. La partie fixe doit être maintenue sur un support. La sonotrode est apte à transmettre les vibrations ultrasonores produites par un transducteur.
10 Dans le cadre de notre invention, les vibrations ultrasonores présentent une fréquence comprise entre 20khz et 100khz. Préférentiellement, les fréquences de vibrations ultrasonores sont comprises entre 20 et 40 kHz et de manière plus préférentielle à 30kHz.

La partie vibrante du dispositif selon l'invention est apte à être accouplée avec la sonotrode
15 d'une sonde de sonication. L'accouplement pourra être réalisé par tout moyen connu de l'homme du métier, de préférence rigide afin de ne pas dissiper l'énergie de sonication, de préférence à l'aide d'un couple tige fileté/taraudage.

Selon un mode alternatif du dispositif selon l'invention, la partie vibrante du dispositif est
20 comprise dans la sonotrode d'une sonde de sonication. A titre d'exemple, la sonotrode d'une sonde de sonication peut être usinée de telle sorte à assurer la fonction de la partie vibrante selon l'invention, ceci afin qu'un accouplement avec une autre pièce ne soit nécessaire. La sonotrode assurant la fonction de partie vibrante selon l'invention, coopère ainsi avec une partie mobile selon l'invention. Dans ce mode de réalisation alternatif, l'invention concerne un
25 dispositif pour la préparation d'échantillons biologiques comprenant au moins une sonde de sonication, comprenant une partie fixe et une sonotrode, au moins une partie destinée à recevoir au moins un tube contenant l'échantillon biologique, ladite partie comportant :

- un support solidaire de la sonde de sonication par sa partie fixe
- une partie mobile solidaire du support, apte à se déplacer, de préférence en
30 translation, relativement au support, d'une position de repos vers une position de serrage et inversement, par le biais d'un moyen de serrage,
- un moyen de chauffage du contenu du tube

de sorte que lorsque la partie mobile est en en position de repos, un espace est ménagé entre ladite partie mobile et la sonotrode permettant de positionner ou retirer ledit au
35 moins un tube, alors que lorsque la partie mobile est en en position de serrage en présence d'un au moins tube, ladite partie mobile est en appui contre ledit au moins un tube et exerce une force transversale contre la paroi de ce dernier, répercutée sur la sonotrode, emprisonnant ainsi ledit au moins un tube, ladite force étant générée par le moyen de serrage sur la partie mobile, préférentiellement selon l'axe de sonication de la

sonotrode ou parallèlement à l'axe de sonication ou perpendiculairement à l'axe de sonication.

5

De par la configuration d'une sonde de sonication, la sonotrode oscille selon un axe principal appelée axe de sonication. Tout objet au contact ou accouplé à la sonotrode lorsque celle-ci est en oscillation reçoit un maximum d'énergie mécanique selon cet axe.

- 10 Selon une forme de réalisation de l'invention, le dispositif comprend plusieurs parties mobiles, chaque partie mobile étant apte à se déplacer, de préférence en translation, relativement au support, d'une position de repos vers une position de serrage et inversement, par le biais d'un moyen de serrage correspondant, de sorte que lorsque une des parties mobiles est en position de repos, un espace est ménagé entre ladite partie mobile et ladite partie
- 15 vibrante permettant de positionner ou retirer ledit au moins un tube, alors que lorsque une des parties mobiles est en en position de serrage en présence d'au moins un tube, ladite partie mobile est en appui contre ledit au moins un tube et exerce une force contre la paroi de ce dernier, répercutée sur la partie vibrante, emprisonnant ainsi ledit au moins un tube, ladite force étant générée par le moyen de serrage sur la partie mobile.

20

De façon préférentielle, le dispositif comprend plusieurs parties mobiles, chaque partie mobile étant apte à se déplacer, de préférence en translation, relativement au support, d'une position de repos vers une position de serrage et inversement, par le biais d'un moyen de serrage correspondant, de sorte que lorsque une des parties mobiles est en en position de repos, un

25 espace est ménagé entre ladite partie mobile et ladite partie vibrante permettant de positionner ou retirer ledit au moins un tube, alors que lorsque une des parties mobiles est en en position de serrage en présence d'au moins un tube, ladite partie mobile est en appui contre ledit au moins un tube et exerce une force contre la paroi du tube selon un axe transversal de ce dernier, répercutée sur la partie vibrante, emprisonnant ainsi ledit au moins un tube, ladite force étant

30 exercée par le moyen de serrage sur la partie mobile parallèlement à l'axe de sonication, selon l'axe de sonication ou perpendiculairement à l'axe de sonication.

Le dispositif selon l'invention peut ainsi ménager plusieurs espaces de réceptions de tubes, chacun constitué par une partie de la partie vibrante et une partie mobile correspondante.

- 35 L'intérêt et de pouvoir procéder à des étapes de sonication sur plus d'un tube simultanément et de manière homogène tout en permettant le positionnement et le retrait de chaque tube indépendamment.

A cet effet et quel que soit le mode de réalisation de l'invention, la partie mobile pourra être prévue pour être aisément démontable et remplacée avec une partie mobile présentant une surface de contact de forme adaptée aux tubes de manière à augmenter ou diminuer le nombre
5 de tubes pouvant être réceptionnés et/ou réceptionner et emprisonner des tubes de formes et tailles différentes. Ceci afin de les soumettre à une lyse ultrasonore efficace et homogène.

Afin de ménager plusieurs espaces de réception de tubes, chacun constitué par une partie de la partie vibrante et une partie mobile correspondante, la partie vibrante présente plusieurs
10 surfaces de contact aptes à coopérer avec la paroi d'au moins un tube de façon à y exercer une force transversale ou longitudinale lorsque la partie mobile correspondante est en position de serrage et tel que définis précédemment.

Ces espaces de réceptions de tubes pourront par exemple être répartis selon un axe perpendiculaire à l'axe de sonication et ce de manière à ce que chacun des tubes reçoivent une
15 quantité similaire d'énergie durant l'étape de sonication, quel que soit l'espace de réception dans lequel il a été placé. Ces espaces de réceptions de tubes pourront préférentiellement être placés selon un axe perpendiculaire à l'axe de sonication et répartis régulièrement, de manière à pouvoir utiliser une pipette multi-positions offrant la possibilité de délivrer et aspirer un liquide simultanément dans plusieurs tubes réceptionnés ou emprisonnés dans le dispositif selon
20 l'invention.

Ces espaces de réception de tubes pourront également être répartis de façon radiale, préférentiellement à équidistance de l'axe de sonication. Dans le cas où ces espaces de réception sont répartis de façon radiale, l'axe longitudinal de chacun des tubes lorsqu'ils sont
25 positionnés dans les espaces de réception du dispositif selon l'invention et que la partie mobile est en position de serrage, est préférentiellement parallèle à l'axe de sonication. Dans ce mode de réalisation particulier, la partie vibrante peut comprendre un disque présentant, en coopération avec des parties mobiles correspondante, plusieurs espaces de réceptions de tubes. Dans ce mode de réalisation particulier, la sonotrode pouvant être accouplée à la partie vibrante
30 selon l'invention peut être disposé verticalement, le disque étant centré sur l'axe de sonication, les tubes pouvant être réceptionnés dans des espaces de réception répartis radialement autour de l'axe de sonication. Préférentiellement, les tubes sont réceptionnés et maintenus verticalement. Un des avantages de ce mode de réalisation est de présenter un encombrement horizontal, également appelé empreinte au sol, réduit.

35

De façon avantageuse et quel que soit le mode de réalisation, le moyen de chauffage peut être compris, notamment inséré, dans une partie mobile selon l'invention.

- Par moyen de chauffage, on entend tout moyen susceptible d'élever ou d'abaisser la température du dispositif et par conséquent la température du tube et de son contenu lorsque celui-ci est emprisonné dans le dispositif. A titre d'exemple le moyen de chauffage peut être une cartouche chauffante ou une résistance. Cette caractéristique permet notamment d'augmenter la température du dispositif afin de réaliser une étape d'incubation du contenu du tube. Alternativement, ce moyen de chauffage permet de maintenir une température constante ou inférieure à un seuil du dispositif afin de limiter la dégradation du contenu du tube lors de l'étape de sonication. A titre d'exemple, le moyen de chauffage peut être un régulateur Peltier permettant ainsi le chauffage et/ou le refroidissement du dispositif. Un tel régulateur permet également un maintien de la température du dispositif, et notamment du contenu du tube, entre 10°C et 90°C, permettant ainsi de réaliser une grande diversité de protocole expérimentaux. Ce ou ces moyens de chauffage ou refroidissement sont avantageusement insérés dans la/les partie(s) mobile(s).
- Alternativement et quel que soit le mode de réalisation, le dispositif peut comprendre un moyen de mesure de la température du tube et/ou de son contenu et/ou du dispositif, en communication avec des moyens de régulation du moyen de chauffage afin d'améliorer le chauffage et / ou le refroidissement du tube et/ou de son contenu et/ou du dispositif. Alternativement, ledit moyen de mesure de la température du tube et/ou de son contenu et/ou du dispositif sont compris dans une ou plusieurs partie(s) mobile(s). Alternativement, ledit moyen de mesure de la température du tube et/ou de son contenu sont placés dans un ou le cas échéant plusieurs tubes afin de mesurer la température du tube et/ou de son contenu à tout moment, notamment pendant une étape de sonication ou d'incubation et ceci afin de permettre une régulation par boucle de contre réaction.
- Quel que soit le mode de réalisation, le dispositif peut également comprendre un moyen de réglage de la position du tube relativement aux parties mobile et vibrante selon un axe longitudinal définit par le tube
- L'intérêt de ce moyen de réglage est notamment de permettre au tube d'être positionné selon un axe longitudinal relativement aux parties mobile et vibrante de façon à optimiser l'étape de sonication ou d'incubation, qu'elle que soit la taille du tube selon cet axe. En effet, si un tube est emprisonné à une hauteur différente des autres tubes placés dans le même dispositif, relativement aux parties mobile et vibrante et selon cet axe longitudinal, lorsque la partie mobile est en position de serrage, le couplage ultrasonore pour ce tube sera différent (car les force de serrage seront différentes). Il en résulte que cette différence de positionnement peut induire une performance de lyse ultrasonore différente et variable dans ce tube en comparaison des autres tubes placés dans le même dispositif, ce qui n'est pas souhaité par l'utilisateur.

Un autre intérêt de ce moyen de réglage est de pouvoir utiliser des tubes de tailles différentes selon leur axe longitudinal sur un même dispositif. Un autre intérêt de ce moyen de réglage et de pouvoir positionner selon un axe longitudinal, préférentiellement vertical, la collerette pouvant servir de moyen de préhension de chaque tube relativement à la partie mobile et à la
5 partie vibrante du dispositif selon l'invention, notamment lorsque celui-ci est utilisé avec un robot pipetteur.

Un autre intérêt de ce moyen de réglage est de permettre, lorsque la partie mobile est en position de repos, de retenir et positionner le tube positionné dans l'espace ménagé entre la
10 partie mobile et vibrante correspondante selon un axe longitudinal et relativement aux parties mobile et vibrante. Ceci permet notamment de pouvoir procéder à des opérations de pipettage sur un robot pipetteur, ces opérations nécessitant un positionnement très précis du tube.

Des moyens de réglage pouvant être utilisés sont par exemple une vis, une tige fileté, un pion
15 emmanché dans un alésage ou tout autre moyen bien connu de l'homme du métier.

Avantageusement, le moyen de réglage est un conducteur thermique, afin d'optimiser le transfert de chaleur, notamment lors d'une étape incubation.

Le moyen de réglage étant en contact avec le fond du tube, également appelé partie inférieure
20 du tube, lorsque celui-ci est positionné ou emprisonné dans le dispositif, celui-ci peut avantageusement être un conducteur thermique de façon à transmettre l'énergie d'un moyen de chauffage vers le tube et son contenu, notamment lors d'une étape d'incubation. Cette caractéristique permet donc d'améliorer l'étape d'incubation et/ ou de maintien de la température du contenu du tube. Cette caractéristique permet également de dissiper la chaleur
25 emmagasinée par le tube lors de l'étape de sonication en permettant à celle-ci d'être évacuée par le fond du tube vers le dispositif, avantageusement vers la partie mobile sans que la partie inférieure du tube ne soit mécaniquement contraint et ne réduise l'effet de transmission des ultrasons au contenu du tube.

30 De façon préférentielle, le moyen de serrage comprend un vérin électrique et/ou un vérin pneumatique et/ou un moyen de rappel élastique tel qu'un ressort de compression. Le dispositif peut facilement être adapté pour une utilisation manuelle, automatique ou semi-automatique en fonction des éléments constituant le moyen de serrage.

35 Dans un mode de réalisation particulier, le moyen de serrage comprend un poussoir en liaison avec la partie mobile. Le poussoir peut être déplacé en translation relativement au support entraînant ainsi la partie mobile d'une position de repos à une position de serrage. Dans le cas d'une utilisation manuelle, le poussoir pourra être déplacé par une poignée actionnée par un opérateur. Dans le cas d'une utilisation semi-automatique, le poussoir pourra être déplacé par

un vérin commandé par un opérateur. Dans le cas d'une utilisation automatique, un automate actionnera le vérin selon un protocole préétabli.

Dans un mode de réalisation particulier, le moyen de serrage comprend un poussoir en liaison
5 avec la partie mobile ainsi qu'un moyen de rappel élastique tel qu'un ressort de compression
disposé en appui sur le support et le poussoir. Le moyen de rappel élastique, lorsqu'il est
compressé, exerce une force sur le poussoir et sur le support. Dans ce mode de réalisation,
lorsque la partie mobile est en position de serrage, le moyen de rappel élastique exerce sur le
10 tube entre la partie mobile et la partie vibrante. La force d'emprisonnement ainsi générée est
directement proportionnelle à la raideur du moyen de rappel élastique. Toujours dans ce mode
de réalisation, lorsque la partie mobile est en position de repos, le moyen de rappel élastique est
contraint par le poussoir contre le support de sorte à libérer la partie mobile, permettant ainsi au
tube d'être retiré de l'espace ménagé entre les parties mobile et vibrante. L'intérêt de
15 l'utilisation d'un moyen de rappel élastique est de pouvoir assurer un serrage élastique du tube
autorisant ainsi une plus grande tolérance géométrique et plus particulièrement de tolérance de
forme, notamment du diamètre extérieur du tube pouvant être réceptionné puis serré afin
d'assurer un couplage ultrasonore convenable et reproductible lorsque la partie mobile est en
position de serrage.

20

De façon alternative, le moyen de serrage comprend un poussoir en liaison avec la partie
mobile ainsi qu'un moyen de rappel élastique tel qu'un ressort de compression disposé en appui
sur le poussoir et sur la partie mobile de manière à assurer un serrage élastique du tube. Dans ce
mode de réalisation, lorsque la partie mobile est en position de serrage, le moyen de rappel
25 élastique exerce sur le poussoir une force répercutée sur la partie mobile et les parois du tube,
emprisonnant ainsi le tube entre la partie mobile et la partie vibrante de manière élastique. La
force d'emprisonnement ainsi générée est directement proportionnelle à la raideur du moyen de
rappel élastique.

30 De façon avantageuse, la partie mobile comprend un moyen de rappel élastique disposé sur ses
surfaces de contact de manière à assurer un serrage élastique du tube. Dans ce mode de
réalisation, lorsque la partie mobile est en position de serrage, le moyen de rappel élastique
exerce une force sur les parois du tube, emprisonnant ainsi le tube entre le moyen de rappel
élastique et la partie vibrante de manière élastique. La force d'emprisonnement ainsi générée
35 est directement proportionnelle à la raideur du moyen de rappel élastique.

Par moyen de rappel élastique, on entend un ressort de compression, un support élastique
(silent block en langue anglaise) ou encore une poche d'air comprimée.

Selon un mode de réalisation particulier, au moins une partie mobile est solidaire du support par l'intermédiaire d'un chariot de partie mobile apte à se déplacer en translation relativement à une glissière solidaire du support. Dans ce mode de réalisation, le chariot de partie mobile peut être disposé puis maintenu entre deux positions, une position proximale et une position distale, afin de modifier la distance entre la partie mobile correspondante et la partie vibrante du dispositif.

L'intérêt de ce chariot de partie mobile est de pouvoir adapter la taille de l'espace ménagé entre les parties mobile et vibrante correspondantes lorsque la partie mobile correspondante est en position de repos. De ce fait, le diamètre extérieur du tube et/ou la taille du tube selon son axe longitudinal, apte à être réceptionné dans cet espace est modifiée par le déplacement du chariot de partie mobile.

Ledit chariot de partie mobile peut être disposé et maintenu dans une première position du chariot de partie mobile dite proximale, le diamètre extérieur du tube pouvant être réceptionné dans cet espace étant alors minimal.

Ledit chariot de partie mobile peut également être disposé et maintenu dans une seconde position du chariot de partie mobile dite distale, la taille du tube, préférentiellement assemblé avec son bouchon ou septum, selon l'axe longitudinal du tube, et pouvant être réceptionné dans cet espace est alors maximale.

Entre ces deux positions du chariot de partie mobile, proximale et distale, le chariot pourra être disposé et maintenu selon l'écartement souhaité entre les parties mobile correspondante et vibrante (l'écartement correspondant à la taille de l'espace ménagé entre les parties mobile et vibrante correspondante) de manière à pouvoir réceptionner le tube que l'on souhaite utiliser avec le dispositif lorsque la partie mobile correspondante est en position de repos. L'axe longitudinal du tube positionné étant perpendiculaire, parallèle ou disposé selon l'axe de sonication lorsque la partie mobile correspondante est en position de repos. L'axe longitudinal du tube emprisonné étant perpendiculaire, parallèle ou disposé selon l'axe de sonication lorsque la partie mobile correspondante est en position de serrage.

Dans ce but, le chariot de partie mobile peut être disposé et maintenu par un moyen de maintien, tel qu'une vis de serrage, dans une des positions entre les positions proximale et distale.

Dans ce mode de réalisation, la partie mobile est solidaire du chariot de partie mobile correspondant et apte à se déplacer, de préférence en translation, relativement au chariot de partie mobile correspondant, d'une position de repos vers une position de serrage et inversement, par le biais d'un moyen de serrage.

Un intérêt majeur de ce mode de réalisation comprenant un chariot de partie mobile est de pouvoir adapter le dispositif selon l'invention a des tubes de diamètres et de contenance très différents, notamment à des tubes pouvant contenir entre 1mL et 50mL.

Ce mode de réalisation permet notamment de positionner et d'emprisonner un tube en appliquant une force de serrage selon l'axe transversal du tube ou selon son axe longitudinal.

- 5 Dans une première configuration de ce mode de réalisation et afin de lyser des petits volumes (de 50µL à 1mL) d'échantillon dans le fond d'un tube de petit volume, par exemple pouvant contenir jusqu'à 1,5mL ou jusqu'à 2mL, le chariot de partie mobile est disposé et maintenu dans sa position proximale ou à proximité de sa position proximale de manière à appliquer une force de serrage selon un axe transversal du tube sur la paroi du tube, perpendiculairement à
10 l'axe longitudinal du tube, lorsque la partie mobile est en position de serrage.

- Dans une seconde configuration de ce mode de réalisation et afin de lyser des petits volumes (de 50µL à 1mL) d'échantillon dans le fond d'un tube de grand volume, par exemple pouvant contenir jusqu'à 50mL, le chariot de partie mobile est disposé et maintenu dans une position
15 entre sa proximale et distale de manière à appliquer une force de serrage selon un axe transversal du tube sur la paroi du tube, perpendiculairement à l'axe longitudinal du tube lorsque la partie mobile est en position de serrage.

- Dans une troisième configuration de ce mode de réalisation et afin de lyser des grands volumes
20 (de 1mL à 50mL) d'échantillon dans un tube de grand volume, par exemple pouvant contenir jusqu'à 50mL, le chariot de partie mobile est disposé et maintenu dans sa position distale ou à proximité de sa position distale de manière à appliquer une force de serrage selon un axe longitudinal du tube sur la paroi du tube, lorsque la partie mobile est en position de serrage. Avantageusement, dans cette troisième configuration, le dispositif selon l'invention est incliné
25 ou placé verticalement de manière à incliner ou placer verticalement l'axe longitudinal du tube lorsque celui-ci est positionné ou emprisonné.

- Dans ces trois configurations, l'axe de sonication peut être perpendiculaire, parallèle ou selon l'axe selon lequel est appliqué la force de serrage. Autrement dit, l'axe de sonication peut être
30 perpendiculaire, parallèle ou selon l'axe longitudinal du tube.

- Un intérêt de ce mode de réalisation est donc de pouvoir proposer un dispositif pouvant réceptionner des tubes de façon à orienter l'axe longitudinal du tube parallèlement à l'axe de sonication, perpendiculairement à l'axe de sonication ou selon l'axe de sonication, en
35 appliquant une force de serrage selon l'axe longitudinal du tube ou perpendiculairement à l'axe longitudinal du tube lorsque la partie mobile est en position de serrage.

Afin de pouvoir réceptionner et emprisonner un même type de tube selon l'axe longitudinal du tube ou perpendiculairement à l'axe longitudinal du tube, la surface de contact de la partie

mobile pourra être sensiblement plane afin de pouvoir coopérer avec le bouchon d'un tube, la surface de contact de la partie vibrante présentant une forme apte à coopérer à la fois avec le fond dudit tube et avec la paroi dudit tube.

5 Dans ce mode de réalisation, le dispositif comprend

- au moins une partie destinée à recevoir au moins un tube apte à contenir un échantillon biologique, ladite partie comportant :

- un support apte à recevoir et maintenir la partie fixe d'une sonde de sonication
- 10 ○ une partie vibrante apte à être accouplée avec la sonotrode d'une sonde de sonication,
- une partie mobile solidaire du support par l'intermédiaire d'un chariot de partie mobile apte à être déplacée en translation relativement à une glissière solidaire du support, d'une position proximale vers une position distale et à être maintenu dans cette position par un moyen de maintien,
- 15 ○ ladite partie mobile étant apte à se déplacer, de préférence en translation, relativement au chariot de partie mobile, d'une position de repos vers une position de serrage et inversement, par le biais d'un moyen de serrage,
- 20

de sorte que lorsque la partie mobile est en position de repos, un espace est ménagé entre ladite partie mobile et la partie vibrante permettant de positionner ou retirer ledit au moins un tube, alors que lorsque la partie mobile est en position de serrage en présence d'au moins un tube, ladite partie mobile est en appui contre ledit au moins un tube et exerce une force contre la paroi de ce dernier appliqué selon l'axe longitudinal du tube ou selon l'axe transversal du tube, répercutée sur la partie vibrante, emprisonnant ainsi ledit au moins un tube, ladite force étant générée par le moyen de serrage sur la partie mobile.

25

30 Dans ce mode de réalisation, le dispositif selon l'invention peut comprendre plusieurs parties mobiles ainsi qu'un ou plusieurs chariots de parties mobiles. Plusieurs parties mobiles pouvant être solidaires du support par l'intermédiaire d'un chariot de partie mobile apte à être déplacée en translation relativement à une glissière solidaire du support, d'une position proximale vers une position distale et à être maintenu dans cette position par un moyen de maintien,

35

Dans ce mode de réalisation, le dispositif selon l'invention permet la sonication d'un ou plusieurs tubes selon leur axes transversaux ou selon leurs axes longitudinaux. Dans ce mode de réalisation, le dispositif pourra être disposé horizontalement, verticalement ou incliné par rapport à l'horizontale. L'intérêt de disposer le dispositif verticalement ou incliné par rapport à

l'horizontale est de limiter l'encombrement selon un plan horizontal du dispositif, pour une utilisation dans un automate d'analyse ou un robot pipetteur. De plus, disposer le dispositif verticalement ou incliné par rapport à l'horizontale permet de faciliter le chargement/déchargement des tubes entre les parties mobile et vibrante lorsque la/les parties

5 mobiles correspondantes est/sont en position de repos.

Que le dispositif soit disposé horizontalement, verticalement ou incliné par rapport à l'horizontale, le(s) chariot(s) de partie(s) mobile(s) pourront être disposés indépendamment entre les positions distales et proximales afin d'adapter la taille de l'espace ménagé entre les parties mobiles et vibrantes correspondante.

10 Un autre objet de l'invention concerne un système pour la préparation d'échantillons biologiques comprenant

- un dispositif selon l'invention
 - une sonde de sonication, comprenant une partie fixe et une sonotrode, la
- 15 sonotrode définissant un axe de sonication, le support du dispositif étant solidaire de la sonde de sonication par sa partie fixe, la partie vibrante du dispositif étant accouplée à la sonotrode

Un autre objet de l'invention concerne l'utilisation d'un système selon l'invention pour la

20 préparation d'échantillons biologiques comprenant les étapes suivantes :

- a) Insérer un tube contenant un échantillon biologique dans l'espace du dispositif la partie mobile étant en position de repos
- b) Déplacer la partie mobile de sa position de repos à sa position de serrage de sorte que le tube soit emprisonné dans l'espace du dispositif,
- 25 c) Effectuer une étape de sonication de l'échantillon biologique en activant la sonotrode

Avantageusement, une étape supplémentaire antérieure à l'étape c) et consistant à ajouter des billes dans le tube est réalisée. L'intérêt de ces billes est d'améliorer la disruption des parois de microorganismes ou des matrices contenus dans l'échantillon biologique.

30 Un autre objet de l'invention concerne l'utilisation d'un système selon l'invention pour la préparation d'échantillons biologiques, le dispositif comprenant un moyen de chauffage, selon les étapes suivantes :

- a) Insérer un tube contenant un échantillon biologique dans l'espace du dispositif, la partie mobile étant en position de repos
- 35 b) Déplacer la partie mobile de la position de repos à la position de serrage de sorte que le tube soit emprisonné dans l'espace du dispositif,
- c) Effectuer une étape de sonication de l'échantillon biologique en activant la sonotrode

- d) Effectuer un étape d'incubation de l'échantillon biologique en activant le moyen de chauffage

Avantageusement, une étape supplémentaire antérieure à l'étape c) et consistant à ajouter des billes dans le tube est réalisé.

Des billes pouvant être utilisées avec l'invention présentent un diamètre compris entre 0.01 mm et 2 mm, préférentiellement entre 0.1 mm à 1 mm et encore plus préférentiellement un mélange de bille de diamètres compris entre 0.1mm et 1 mm. Des billes pouvant être utilisées avec l'invention sont réalisées en verre, zirconium ou céramique.

De façon avantageuse et quelle que soit le mode de réalisation, le moyen de serrage peut comprendre un moyen de rappel élastique, une poignée, ainsi qu'un poussoir. La poignée est mobile en rotation autour d'un axe relativement au poussoir. Le poussoir se déplace en translation relativement au support. Le moyen de rappel élastique est disposé en appui sur le support et sur le poussoir.

La poignée peut être déplacée d'une première position de repos à une position de serrage afin de déplacer la partie mobile d'une position de repos de la partie mobile à une position de serrage de la partie mobile. La poignée peut également être déplacée de ladite position de serrage à ladite première position de repos de la poignée.

Préférentiellement, la poignée peut être déplacée d'une seconde position de repos à ladite position de serrage afin de déplacer la partie mobile de ladite position de repos de partie mobile à ladite position de serrage de la partie mobile. La poignée peut alors également être déplacée de ladite position de serrage à ladite seconde position de repos de la poignée.

La poignée du moyen de serrage comprend à cet effet une surface de contact avec le support configurée de sorte à éloigner du support l'axe de rotation de la poignée entraînant ainsi le poussoir lorsque la poignée est déplacé de la position de serrage vers la première position de repos et de sorte à pouvoir bloquer le poussoir dans cette position, le moyen de rappel élastique étant alors contraint.

Le cas échéant, ladite surface de contact avec le support est également configurée de sorte à éloigner du support l'axe de rotation de la poignée relativement au poussoir lorsque la poignée est déplacé de la position de serrage vers la seconde position de repos et maintenue dans cette seconde position de repos. Ladite surface de contact est configurée de telle sorte que le poussoir reprenne sa position de repos sous l'action du moyen de rappel élastique lorsque la force appliquée pour déplacer et maintenir la poignée dans cette seconde position de repos est supprimée.

Ainsi, lorsque la poignée est en position de serrage, l'axe se rapproche du support, déplaçant le poussoir de sorte que celui-ci soit contraint par la force exercée par le moyen de rappel élastique en direction de la partie vibrante. Dans le cas où un tube est positionné dans le dispositif dans l'espace, la partie mobile vient ainsi en appui contre le tube et exerce une force contre ce dernier, répercutée sur la partie vibrante, emprisonnant ainsi le tube.

Lorsque la poignée est déplacée de sa position de serrage vers sa première position repos, l'axe est éloigné du support, déplaçant le poussoir de sorte que celui-ci contraigne le moyen de rappel élastique en direction du support. Dans le cas où un tube était emprisonné entre les parties mobiles et vibrantes correspondantes, celui-ci peut alors être retiré/déchargé du dispositif, un espace étant ménagé entre ces deux parties.

Lorsque la poignée est déplacée de sa position de serrage vers sa seconde position repos, l'axe est éloigné du support, déplaçant le poussoir de sorte que celui-ci contraigne le moyen de rappel élastique en direction du support. Un espace permettant le chargement /déchargement d'un tube est ainsi ménagé entre la partie mobile correspondante et la partie vibrante. Dans le cas où la poignée est maintenue dans ladite seconde position repos, si un tube était emprisonné entre les parties mobiles et vibrantes correspondantes, celui-ci peut alors être retiré/déchargé du dispositif, un espace étant ménagé entre ces deux parties. Si la force assurant le maintien de la poignée dans sa seconde position de repos est retirée, la poignée reprend naturellement sa position de serrage sous l'action du moyen de rappel élastique.

Alternativement, l'invention concerne également un dispositif pour la préparation d'échantillons biologiques comprenant au moins une sonde de sonication, comprenant une partie fixe et une sonotrode, la sonotrode définissant un axe de sonication, au moins une partie destinée à recevoir au moins un tube contenant l'échantillon biologique, ladite partie comportant :

- un support solidaire de la sonde de sonication par sa partie fixe
 - une partie vibrante accouplée à la sonotrode,
 - une partie mobile solidaire du support, apte à se déplacer, de préférence en translation, relativement au support, d'une position de repos vers une position de serrage et inversement, par le biais d'un moyen de serrage,
 - un moyen de chauffage du contenu du tube
- de sorte que lorsque la partie mobile est en position de repos, un espace est ménagé entre ladite partie mobile et la partie vibrante permettant de positionner ou retirer ledit au moins un tube, alors que lorsque la partie mobile est en position de serrage en

présence d'un au moins tube, ladite partie mobile est en appui contre ledit au moins un tube et exerce une force selon un axe transversal du tube et contre la paroi de ce dernier, répercutée sur la partie vibrante, emprisonnant ainsi ledit au moins un tube, ladite force étant générée par le moyen de serrage sur la partie mobile, selon l'axe de sonication de la sonotrode

5

De façon avantageuse, le moyen de chauffage peut être compris dans une partie mobile.

Le dispositif peut également comprendre un moyen de réglage de la position du tube relativement à la partie mobile et vibrante selon un axe longitudinal défini par le tube

10

Avantageusement, le moyen de réglage est un conducteur thermique et est adapté à la partie inférieure de la forme du tube en contact avec ledit moyen sans contraindre mécaniquement le tube afin de ne pas atténuer le couplage ultrasonore.

15

De façon préférentielle, le moyen de serrage comprend un vérin ou un actionneur électromécanique pilotable manuellement, pneumatiquement ou électriquement.

De façon préférentielle, le moyen de serrage comprend un moyen de rappel élastique tel qu'un ressort de compression

20

BREVE DESCRIPTION DES DESSINS

L'invention sera bien comprise et d'autres caractéristiques et avantages de l'invention ressortiront clairement de la description qui en est faite ci-après, à titre indicatif et nullement

5 limitatif, en référence au dessin, dans lequel :

- la figure 1 est une représentation en perspective d'une première forme de réalisation du dispositif selon l'invention ;
- la figure 2 est une représentation en vue de côté d'une sonde de sonication pouvant être
10 utilisé avec ladite forme de réalisation préférée du dispositif selon l'invention ;
- la figure 3 est une représentation en vue de côté de ladite forme de réalisation du dispositif selon l'invention lorsque la partie mobile est en position de repos ;
- la figure 4 est une représentation en vue de côté de ladite forme de réalisation du dispositif selon l'invention lorsque la partie mobile est en position de serrage ;
- 15 - la figure 5 est une représentation en vue de dessus de ladite forme de réalisation du dispositif selon l'invention lorsque la partie mobile est en position de repos ;
- la figure 6 est une représentation en coupe, selon le plan B défini à la figure 5, de la partie mobile de ladite forme de réalisation du dispositif selon l'invention lorsque la partie mobile est en position de serrage ;
- 20 - la figure 7 est une représentation en coupe, selon le plan B défini à la figure 5, de la partie mobile de ladite forme de réalisation du dispositif selon l'invention lorsque la partie mobile est en position de repos ;
- la figure 8 est une représentation en vue de dessus d'une seconde forme de réalisation particulière du dispositif selon l'invention lorsque la partie mobile est en position de serrage et la chariot de partie mobile est en position proximale, le dispositif étant disposé
25 horizontalement.
- la figure 9 est une représentation en vue de face de ladite seconde forme de réalisation particulière du dispositif selon l'invention présentant le chariot de partie mobile en position distale, le dispositif étant disposé verticalement.
- 30 - la figure 10 est une représentation en vue de côté de ladite seconde forme de réalisation particulière du dispositif selon l'invention présentant le chariot de partie mobile en position distale, le dispositif étant incliné
- la figure 11 est une représentation en vue de dessus de la partie vibrante de ladite forme de réalisation particulière du dispositif selon l'invention visible sur les figures 8,9, 10.

- la figure 12 est une représentation en vue de face de la partie vibrante de ladite forme de réalisation particulière du dispositif selon l'invention visible sur les figures 8,9, 10.
 - la figure 13 est une représentation en vue de dessus d'une troisième forme de réalisation particulière du dispositif selon l'invention
 - 5 - la figure 14 est une représentation en vue de côté d'une quatrième forme de réalisation particulière du dispositif selon l'invention
 - la figure 15a, présente les résultats de l'exemple 1 pour les tubes contenant des souches d'*Escherichia coli*.
 - la figure 15b, présente les résultats de l'exemple 1 pour les tubes contenant des souches de
 - 10 *Candida Albicans*.
 - la figure 15c, présente les résultats de l'exemple 1 pour les tubes contenant des souches de *Staphylococcus Epidermidis*
 - La figure 16a, présente les résultats de l'exemple 2 pour les tubes contenant des souches d'*Escherichia coli*.
 - 15 - La figure 16b, présente les résultats de l'exemple 2 pour les tubes contenant des souches de *Candida Albicans*.
 - La figure 16c, présente les résultats de l'exemple 2 pour les tubes contenant des souches de *Staphylococcus Epidermidis*.
- 20 Par simplification, les parties ou éléments d'une forme de réalisation qui se retrouvent de manière identique ou similaire dans une autre forme de réalisation seront identifiés par les mêmes références numériques et ne seront pas à nouveau décrits.

EXPOSE DETAILLE DE L'INVENTION

Les figures 1 à 7 présentent un premier mode de réalisation du dispositif (10) selon l'invention, cet exemple étant nullement limitatif quant à la portée de l'invention.

5 Le dispositif (10) comprend une partie (20) destinée à recevoir au moins un tube (21).

La partie (20) comprend également une partie vibrante (24) apte à être accouplée avec la sonotrode (16) d'une sonde de sonication. La partie (20) destinée à recevoir au moins un tube (21) comprend également une partie mobile (26) solidaire du support (22), apte à se déplacer, de préférence en translation, relativement au support, d'une position de repos vers une position

10 de serrage et inversement, par l'intermédiaire d'un moyen de serrage (36).

Le dispositif peut être utilisé avec des tubes de volumes, de tailles et de diamètres légèrement différents pour une même réalisation du dispositif. Lorsque les diamètres des tubes sont très différents, la partie mobile et la partie vibrante du dispositif peuvent aisément être démontées et

15 remplacées par des parties mobiles et parties vibrantes ayant des surfaces de contact adaptées aux parois des tubes souhaités, notamment les formes et diamètres de ces surfaces de contact. Les parties mobiles et vibrantes peuvent également être définies pour traiter des tubes de formes et de diamètres différents par usinage spécifique des parties mobile et vibrante adaptées aux tubes souhaités. Le tube (21) présenté dans cet exemple est un tube plastique de type

20 Eppendorf 1,5mL. Ce tube comprend une section ovale s'étendant selon un axe longitudinal. Le fond du tube comprend une partie en tronc de cône, la partie débouchante du tube est obturable par un bouchon ou un septum refermable à travers lequel un pipetteur peut venir pipetter le contenu du tube.

25 De façon avantageuse et de manière à pouvoir recevoir et emprisonner indépendamment plus d'un tube, la partie (20) comprend également une seconde partie mobile (28), solidaire du support (22), apte à se déplacer, de préférence en translation, relativement au support, d'une position de repos vers une position de serrage et inversement, par l'intermédiaire d'un moyen de serrage (38).

30

Plus précisément et en référence à la figure 2, la partie (20) comprend un support (22) apte à recevoir et maintenir la partie fixe (14) d'une sonde de sonication (12) selon au moins un axe de sonication. Dans le mode de réalisation présenté, la partie (20) peut recevoir jusqu'à huit tubes (21). Le nombre de tubes pouvant être reçus étant facilement adaptable en modifiant la

35 partie (20).

En référence à la figure 3, la partie mobile (26) et la partie vibrante (24) sont agencées de sorte que lorsque la partie mobile (26) est en position de repos, un espace (46) est ménagé entre

ladite partie mobile (26) et la partie vibrante (24). Cet espace permet de positionner ou retirer ledit au moins un tube (21) dans la partie (20). Le tube (21) peut ainsi être positionné selon la flèche A dans l'espace (46).

- 5 En référence à la figure 4, lorsque la partie mobile (26) est en position de serrage en présence d'au moins un tube (21), ladite partie mobile (26) est en appui contre ledit au moins un tube (21) et exerce une force transversale contre la paroi de ce dernier, répercutée sur la partie vibrante (24), emprisonnant ainsi ledit au moins un tube (21), ladite force étant générée par le moyen de serrage (28) sur la partie mobile (26), selon un axe transversal du tube et selon l'axe
10 de sonication

La figure 5 représente le même mode de réalisation du dispositif en vue de dessus. Dans ce mode de réalisation, chaque tube peut être positionné et emprisonné de manière indépendante. Pour cela, le dispositif comprend huit parties mobiles, en correspondance avec une unique
15 partie vibrante. Lorsque chacune des parties mobiles est en position de repos, un espace apte à recevoir un tube est ménagé entre ladite partie mobile et la partie vibrante. Le dispositif pourra facilement être modifié pour qu'une partie mobile puisse ménager deux espaces aptes à recevoir deux tubes et les emprisonner.

Un plan de coupe B selon un axe de sonication est défini.

20

La figure 6 représente une vue en coupe selon le plan de coupe B de la partie mobile (26) du dispositif selon l'invention lorsque celle-ci est en position de serrage.

Le tube (21) présente une collerette (23) pouvant être utilisée comme moyen de préhension.

Dans cette position de serrage, le tube est en contact avec les surfaces de contact (25a, 25b) de
25 la partie mobile (26) et la partie vibrante (24) sur une partie de sa paroi.

Dans ce mode de réalisation, la partie mobile (26) comprend un moyen de chauffage (40) du contenu du tube sous la forme d'une cartouche chauffante comprenant une résistance. La partie mobile (26) comprend également un moyen de réglage (50) de la position du tube relativement
30 à la partie mobile (26) lorsque celui-ci est positionné ou emprisonné dans le dispositif. A titre d'exemple, le moyen de réglage comprend ici une vis assemblée dans un alésage fileté réalisé dans la partie mobile (26). La vis s'étend selon un axe parallèle à l'axe longitudinal du tube lorsque celui-ci est positionné ou emprisonné dans le dispositif. La vis utilisée est réalisée en métal de manière à pouvoir transmettre la chaleur emmagasinée par le tube et sa paroi et
35 inversement de façon à transmettre la chaleur provenant de la partie mobile, notamment lorsque le moyen de chauffage qu'elle comprend est activé. Le moyen de réglage, ici une vis, peut avoir une forme adaptée à son extrémité en contact avec la partie inférieure du tube, permettant un chauffage optimal du volume de liquide contenu dans le tube, celui-ci pouvant être faible. Cette fonction de chauffage est assurée tout en conservant un jeu mécanique fonctionnel

suffisant pour garantir une transmission efficace des ultrasons dans le contenu du tube, assurant ainsi un couplage ultrasonore convenable et reproductible. La vis peut être déplacée entre une position haute et une position basse sur une plage de deux centimètres environ afin de réceptionner des tubes de différentes tailles selon leur axe longitudinal. Le positionnement du tube relativement à la partie mobile et vibrante est ainsi optimisé ainsi que le pipetage ou la
5 préhension automatique du tube en garantissant un positionnement dans l'axe longitudinal du tube reproductible et le cas échéant en garantissant un accès à la collerette du tube pour un robot pipetteur. La taille de la plage suivant laquelle le moyen de réglage pourra se déplacer pourra aisément être adaptée par l'homme du métier à la taille du tube utilisé avec l'invention.

10

Alternativement, le dispositif comprend un moyen de mesure de la température du tube et/ou de son contenu et/ou du dispositif, en communication avec des moyens de régulation du moyen de chauffage afin d'améliorer le chauffage et / ou le refroidissement du tube et/ou de son contenu et/ou du dispositif. Alternativement, ledit moyen de mesure de la température du tube et/ou de
15 son contenu et/ou du dispositif son compris dans une partie mobile. Alternativement, ledit moyen de mesure de la température du tube et/ou de son contenu son placés dans un ou le cas échéant plusieurs tubes afin de mesurer la température du tube et/ou de son contenu à tout moment, notamment pendant une étape de sonication ou d'incubation.

20 Un moyen de mesure de la température du tube tel qu'une sonde de température (non représentée) peut être disposée dans une des partie mobile de manière à relever une température effective de chauffage du tube et/ou de son contenu . Cette information de température peut avantageusement être utilisée par un moyen de régulation tel qu'un boîtier de régulation thermique pour ajuster la consigne de chauffage de la cartouche chauffante, en fonction de la
25 température de chauffage désirée. La température de chaque tube peut également être régulée de manière individuelle en déterminant différentes température de chauffage désirée et de façon avantageuse en disposant une sonde de température dans chaque cartouche chauffante. La température de chaque tube peut également être régulée de manière simultanée en utilisant la même consigne pour les huit tubes.

30

Toujours selon la figure 6, le moyen de serrage (36) comprend un ressort de compression (60), une poignée (70), ainsi qu'un poussoir (80). La poignée (70) est mobile en rotation autour d'un axe (90) relativement au poussoir (80). Le poussoir (80) se déplace en translation relativement au support (22). Un ressort de compression (60), d'une raideur de 8,92N/mm, est en appui sur
35 le support (22) à une de ses extrémité et sur un épaulement (82), formé sur le poussoir (80), à son autre extrémité. Le ressort de compression (60) exerce ainsi une force sur l'épaulement selon un axe transversal, correspondant à l'axe principal du poussoir. Afin de contraindre en

translation le déplacement de la partie mobile (26), un pion de guidage (90) est emmanché dans la partie mobile (26) et ajusté mobile en translation relativement au support (22).

La poignée (70) peut être déplacée d'une première position de repos à une position de serrage afin de déplacer la partie mobile (26) d'une position de repos à une position de serrage.

- 5 La poignée (70) peut être déplacée d'une seconde position de repos à ladite position de serrage afin de déplacer la partie mobile (26) d'une position de repos à une position de serrage.

La poignée (70) peut également être déplacée de ladite position de serrage à ladite première position de repos de la poignée (70) ou être déplacée de ladite position de serrage à ladite seconde position de repos de la poignée (70).

10

La poignée (70) du moyen de serrage (36) comprend à cet effet une surface de contact (71) avec le support (22) configurée de sorte à éloigner du support (22) l'axe de rotation (90) de la poignée (70) lorsque la poignée (70) est déplacé de la position de serrage vers la première position de repos. Ladite surface de contact avec le support (22) est également configurée de
15 sorte à éloigner du support (22) l'axe de rotation (90) de la poignée (70) lorsque la poignée (70) est déplacé de la position de serrage vers la seconde position de repos et maintenue dans cette seconde position de repos, par exemple par un opérateur.

- 20 Ainsi, lorsque la poignée (70) est en position de serrage, l'axe (90) se rapproche du support (22), déplaçant le poussoir (80) de sorte que celui-ci soit contraint par la force exercée par le ressort de compression (60) en direction de la partie vibrante (24). Dans le cas où un tube est positionné dans le dispositif dans l'espace (46), la partie mobile (26) vient ainsi en appui contre le tube (21) et exerce une force contre la paroi de ce dernier selon un axe transversal du tube,
25 répercutée sur la partie vibrante (24), emprisonnant ainsi le tube (21).

Lorsque la poignée (70) est déplacée de sa position de serrage vers sa première position de repos, l'axe (90) est éloigné du support (22), déplaçant le poussoir (80) de sorte que celui-ci contraigne le ressort de compression (60) en direction du support (22) selon un axe transversal
30 du tube et parallèlement à l'axe de sonication. Dans le cas où un tube (21) était emprisonné entre les parties mobiles (26) et vibrantes (24) correspondantes, celui-ci peut alors être retiré/déchargé du dispositif, un espace (46) étant ménagé entre ces deux parties.

- Lorsque la poignée (70) est déplacée et maintenue de sa position de serrage vers sa seconde
35 position repos, l'axe (90) est éloigné du support (22), déplaçant le poussoir (80) de sorte que celui-ci contraigne le ressort de compression (60) en direction du support (22) selon un axe transversal du tube et parallèlement à l'axe de sonication. Un espace (46) permettant le chargement /déchargement d'un tube (21) est ainsi ménagé entre la partie mobile (26)

correspondante et la partie vibrante (36). Dans le cas où la poignée (70) est maintenue dans ladite seconde position repos, si un tube (21) était emprisonné entre les partie mobile (26) et vibrante (24) correspondantes, celui-ci peut alors être retiré/déchargé du dispositif, un espace (46) étant ménagé entre ces deux parties. Si la force assurant le maintien de la poignée dans sa
5 seconde position de repos est retirée, la poignée (70) reprend naturellement sa position de serrage, sous l'action du moyen de rappel élastique, ici un ressort de compression (60). La partie mobile (26) correspondante reprend également sa position de serrage.

La figure 7 représente une vue en coupe selon le plan de coupe B de la partie mobile (26) du
10 dispositif selon l'invention lorsque celle-ci est dans ladite première position de repos. Lorsque la partie mobile (26) est dans ladite première position de repos, l'axe (90) est éloigné du support (22) par la poignée (70) entraînant ainsi le poussoir (80). Le ressort de compression (60) est alors comprimé et contraint d'avantage que lorsque la partie mobile (26) est dans la position de serrage. Il en résulte que la partie mobile (26) s'éloigne de la partie vibrante (24) de
15 sorte à pouvoir retirer ou insérer un tube (21) dans l'espace (46) entre la partie fixe est la partie mobile. Lorsque le tube est positionné dans l'espace (46), celui-ci vient prendre appui sur le moyen de réglage (50). La surface de contact (71) présente une forme particulière de manière à pouvoir bloquer le poussoir (80) dans cette position de repos.

20 Les figures 8, 9, 10, 11 et 12 présentent un second mode de réalisation du dispositif (110) selon l'invention, cet exemple étant nullement limitatif quant à la portée de l'invention.

Le dispositif (110) comprend une partie (120) destinée à recevoir au moins un tube (121).

25 Selon ce mode de réalisation particulier, au moins une partie mobile (126) est solidaire du support par l'intermédiaire d'un chariot de partie mobile (190) apte à se déplacer en translation relativement à une glissière (200) solidaire du support. Dans ce mode de réalisation, le chariot de partie mobile peut être disposé puis maintenu entre deux positions, une position proximale et une position distale, afin de modifier la distance entre la partie mobile correspondante et la
30 partie vibrante du dispositif.

La partie (120) comprend une partie vibrante (124) apte à être accouplée avec la sonotrode (116) d'une sonde de sonication. La partie (120) destinée à recevoir au moins un tube (121)
35 comprend également une partie mobile (126) solidaire du support (122) par l'intermédiaire d'un chariot de partie mobile (190) apte à se déplacer en translation relativement à une glissière (200) solidaire du support (122). La partie mobile (126) est apte à se déplacer, de préférence en translation, relativement au chariot de partie mobile correspondant (136) et au support (122),

d'une position de repos vers une position de serrage et inversement, par l'intermédiaire d'un moyen de serrage (136).

De façon avantageuse et de manière à pouvoir recevoir et emprisonner indépendamment plus
5 d'un tube, la partie (120) comprend également une seconde partie mobile (128). Ladite seconde partie mobile (128) est solidaire du support (122) par l'intermédiaire du chariot de partie mobile (190). Ladite seconde partie mobile (128) est apte à se déplacer, de préférence en translation, relativement au chariot de partie mobile (190) et au support (122), d'une position de repos vers une position de serrage et inversement, par l'intermédiaire d'un second moyen de
10 serrage (138).

Le dispositif (110) peut être utilisé avec des tubes de volumes, de tailles et de diamètres très différents pour une même réalisation du dispositif. Lorsque les diamètres des tubes sont très différents, la partie mobile et la partie vibrante du dispositif peuvent aisément être démontées et
15 remplacées par des partie mobile et partie vibrante ayant des surfaces de contact adaptées aux parois des tubes souhaités, notamment les formes et diamètres de ces surfaces de contact. Les partie mobile et vibrante peuvent également être définies pour traiter des tubes de formes et de diamètres différents par usinage spécifique des parties mobile et vibrante adaptées aux tubes souhaités.

20

Le tube (121) présenté dans cet exemple est un tube plastique de type Becton Dickinson Falcon d'une contenance de 50mL. Ce tube comprend une section ronde s'étendant selon un axe longitudinal. Le fond du tube comprend une partie inférieure en tronc de cône, la partie débouchante du tube est obturable par un bouchon ou un septum refermable à travers lequel un
25 pipetteur peut venir pipeter le contenu du tube.

Plus précisément et toujours en référence à la figure 8, la partie (120) comprend un support (122) apte à recevoir et maintenir la partie fixe (114) d'une sonde de sonication selon au moins un axe de sonication. Dans le mode de réalisation présenté, la partie (120) peut recevoir jusqu'à
30 quatre tubes. Le nombre de tubes pouvant être reçus étant facilement adaptable en modifiant la partie (120).

La partie mobile (126) et la partie vibrante (124) sont agencées de sorte que lorsque la partie mobile (126) est en position de repos, un espace (non représenté) est ménagé entre ladite partie
35 mobile (126) et la partie vibrante (124). Cet espace permet de positionner ou retirer ledit au moins un tube (121) dans la partie (20).

Toujours en référence à la figure 8, le chariot de partie mobile (190) est maintenu dans une position proche de sa position proximale afin de pouvoir réceptionner un tube Becton

Dickinson Falcon d'une contenance de 50mL lorsque la partie mobile (126) est en position de repos. Lorsque la partie mobile (126) est en position de serrage en présence d'au moins un tube (121), ladite partie mobile (126) est en appui contre ledit au moins un tube (121) et exerce une force transversale contre la paroi de ce dernier, répercutée sur la partie vibrante (124),
5 emprisonnant ainsi ledit au moins un tube (121), ladite force étant générée par le moyen de serrage (128) sur la partie mobile (126), selon l'axe de sonication. L'axe longitudinal du tube (121) est ainsi maintenu perpendiculairement à l'axe de sonication. Cette position/configuration correspond à la configuration de sonication de grand volume (1mL à 50mL) dans un tube de grande contenance tel qu'un tube Falcon 50mL.

10

Dans ce mode de réalisation, chaque tube peut être positionné et emprisonné de manière indépendante. Pour cela, le dispositif comprend quatre parties mobiles, en correspondance avec une unique partie vibrante. Lorsque chacune des parties mobile est en position de repos, un
15 espace apte à recevoir un tube est ménagé entre ladite partie mobile et la partie vibrante. Le dispositif pourra facilement être modifié pour qu'une partie mobile puisse ménager deux espaces aptes à recevoir deux tubes et les emprisonner. Toutes les parties mobiles sont solidaires du chariot de partie mobile (190) de sorte que le déplacement du chariot de partie mobile entraîne le déplacement de toutes les parties mobiles. Le dispositif pourra facilement
20 être modifié pour qu'une partie mobile puisse être solidaire d'un chariot de partie mobile indépendamment des autres parties mobiles.

En référence à la figure 9, le chariot de partie mobile (190) est déplacé et maintenu dans une position proche de sa position distale afin de pouvoir réceptionner un tube Becton Dickinson
25 Falcon d'une contenance de 50mL lorsque la partie mobile (126) est en position de repos. Lorsque la partie mobile (126) est en position de serrage en présence d'au moins un tube (121), ladite partie mobile (126) est en appui contre ledit au moins un tube (121) et exerce une force selon l'axe longitudinal de ce dernier, répercutée sur la partie vibrante (124), emprisonnant ainsi ledit au moins un tube (121), ladite force étant générée par le moyen de serrage (128) sur
30 la partie mobile (126), selon l'axe de sonication. L'axe longitudinal du tube (121) est ainsi maintenu parallèlement à l'axe de sonication. Le dispositif est disposé verticalement, de façon à limiter l'empreinte au sol de celui-ci, notamment pour une utilisation dans un robot pipetteur, et pour faciliter le chargement/déchargement par un opérateur. Cette position/configuration correspond à la configuration de sonication de faible volume (50µL à 1mL) dans un tube de
35 grande contenance tel qu'un tube Becton Dickinson Falcon 50mL.

De façon avantageuse et afin d'améliorer le maintien d'au moins un tube (121), la surface de contact de la partie mobile (126) est plane de manière à pouvoir coopérer avec la partie

supérieur du bouchon du tube (121). La surface de contact de la partie vibrante (124) comprend une rainure, de manière à pouvoir coopérer avec la partie inférieure du tube (121).

En référence à la figure 10, le chariot de partie mobile (190) est déplacé et maintenu dans une position proche de sa position distale afin de pouvoir réceptionner un tube Becton Dickinson Falcon d'une contenance de 50mL lorsque la partie mobile (126) est en position de repos. Lorsque la partie mobile (126) est en position de serrage en présence d'au moins un tube (121), ladite partie mobile (126) est en appui contre ledit au moins un tube (121) et exerce une force selon l'axe longitudinal de ce dernier, répercutée sur la partie vibrante (124), emprisonnant ainsi ledit au moins un tube (121), ladite force étant générée par le moyen de serrage (128) sur la partie mobile (126), selon l'axe de sonication. L'axe longitudinal du tube (121) est ainsi maintenu parallèlement à l'axe de sonication. Le dispositif est incliné par rapport à l'horizontale, de façon à limiter l'empreinte au sol de celui-ci tout en facilitant le chargement/déchargement par un opérateur, les tubes étant plus facilement positionnable dans cette position. Cette position/configuration correspond à la configuration de sonication de faible volume (50µL à 1mL) dans un tube de grande contenance tel qu'un tube Flacon 50mL.

De façon avantageuse et afin d'améliorer le maintien d'au moins un tube (121), la surface de contact de la partie mobile (126) est plane de manière à pouvoir coopérer avec la partie supérieure du bouchon du tube (121). La surface de contact de la partie vibrante (124) comprend une rainure de manière à pouvoir coopérer avec la partie inférieure du tube (121).

En référence à la figure 11, la surface de contact (125) de la partie vibrante (124) comprend une rainure (127) de manière à pouvoir coopérer avec la partie inférieure du tube (121, partiellement représenté) et emprisonner le tube selon l'axe longitudinal du tube lorsque la partie mobile est en position de serrage.

En référence à la figure 12, la surface de contact (125) de la partie vibrante (124) comprend une partie de forme cylindrique de manière à pouvoir coopérer avec la paroi du tube (121, partiellement représenté) et emprisonner le tube selon un axe transversal du tube lorsque la partie mobile est en position de serrage.

La figure 13 présente un troisième mode de réalisation du dispositif (310) selon l'invention, cet exemple étant nullement limitatif quant à la portée de l'invention.

Le dispositif (310) comprend une partie (320) destinée à recevoir au moins un tube (321,323). La partie (320) comprend également une partie vibrante (324) apte à être accouplée avec la sonotrode (316) d'une sonde de sonication (non représentée). La partie (320) destinée à recevoir au moins un tube (321,323) comprend également quatre parties mobiles (326a, 326b,

326c, 326d) solidaires du support (non représenté), apte à se déplacer en translation, relativement au support (non représenté), d'une position de repos vers une position de serrage et inversement, par l'intermédiaire d'un moyen de serrage (non représenté).

- 5 Dans ce mode de réalisation, les espaces de réception (346) de tubes (321,323) sont répartis de façon radiale, à équidistance de l'axe de sonication. L'axe longitudinal de chacun des tubes (321,323) lorsqu'ils sont positionnés dans les espaces de réception du dispositif selon ce mode de réalisation et que la partie mobile correspondante est en position de serrage, est parallèle à l'axe de sonication. Dans ce mode de réalisation particulier, la partie vibrante (324) comprend
- 10 un disque présentant, en coopération avec des parties mobiles correspondante, plusieurs espaces de réceptions(346) de tubes. Dans ce mode de réalisation particulier, la sonotrode (non représenté) pouvant être accouplée à la partie vibrante selon l'invention est disposé verticalement, le disque étant centré sur l'axe de sonication, les tubes pouvant être réceptionnés dans des espaces de réception répartis radialement autour de l'axe de sonication.
- 15 L'axe de sonication est perpendiculaire au plan de la figure et passe ainsi par le centre du disque. Préférentiellement, les tubes sont réceptionnés et maintenus verticalement.

La figure 14 présente un quatrième mode de réalisation du dispositif (410) selon l'invention, cet exemple étant nullement limitatif quant à la portée de l'invention.

20

Le dispositif (410) comprend une partie (420) destinée à recevoir au moins un tube (421,423).

- La partie (420) comprend également une partie vibrante (424) apte à être accouplée avec la sonotrode (416) d'une sonde de sonication (414). La partie (420) destinée à recevoir au moins un tube (421,428) comprend également plusieurs parties mobiles (426, 428) solidaires du
- 25 support (422), apte à se déplacer en translation, relativement au support (422), d'une position de repos vers une position de serrage et inversement, par l'intermédiaire d'un moyen de serrage (436,438).

- Dans ce mode de réalisation, les espaces de réception (446) de tubes (421,428) sont répartis de
- 30 façon radiale, à équidistance de l'axe de sonication. L'axe longitudinal de chacun des tubes (321,328) lorsqu'ils sont positionnés dans les espaces de réception du dispositif selon ce mode de réalisation et que la partie mobile correspondante est en position de serrage, est parallèle à l'axe de sonication. Dans ce mode de réalisation particulier, la partie vibrante (424) peut comprendre un disque présentant, en coopération avec des parties mobiles correspondante,
- 35 plusieurs espaces de réceptions(446) de tubes, le nombre de parties mobiles étant aisément adapté avec la géométrie de la partie vibrante afin de pouvoir réceptionner le nombre de tubes désiré. Dans ce mode de réalisation particulier, la sonotrode (416) pouvant être accouplée à la partie vibrante (424) selon l'invention est disposé verticalement, la partie vibrante (424) étant avantageusement centrée sur l'axe de sonication, les tubes pouvant être réceptionnés dans des

espaces de réception répartis radialement autour de l'axe de sonication. Préférentiellement, les tubes sont réceptionnés et maintenus verticalement.

Les moyens de serrage (436), (438) reprennent avantageusement les caractéristiques des moyens de serrage (36),(38) du premier mode de réalisation illustrés dans les figures 6 et 7 et
5 précédemment décrits. Les parties vibrantes comprennent un moyen de chauffage (440) du contenu du tube sous la forme d'une cartouche chauffante comprenant une résistance.

EXEMPLES

10 Un dispositif selon l'invention, et pouvant recevoir jusqu'à huit tubes Eppendorf de 1,5mL ou 2mL est utilisé. Ce dispositif reprend les caractéristiques du mode de réalisation décrit dans les figures 1 à 7. Chaque tube peut être positionné ou retiré indépendamment dans le dispositif. Pour cela, le dispositif comprend huit parties mobiles et une partie vibrante. La partie vibrante comprend ainsi huit logements coopérant chacun avec une partie mobile afin de former huit
15 espaces aptes à recevoir chacun un tube. Chaque tube peut être emprisonné indépendamment en déplaçant la partie mobile correspondante, par l'intermédiaire d'une poignée, d'une position de repos à une position de serrage.

La sonde de sonication est reliée à un boîtier générateur permettant d'exciter la sonotrode, accouplée à la partie vibrante, à une fréquence de 30kHz. La puissance générée et délivrée aux
20 tubes se situe dans un gamme de 0 à 80% de la puissance maximale du boîtier générateur ; 40% de la puissance max correspondant à 89W dissipés.

Un boîtier de régulation thermique est associé à huit cartouches chauffantes, chaque partie mobile comprenant une cartouche chauffante constituée d'une résistance. Une sonde de température est disposée dans une des cartouches chauffante de manière à relever une
25 température effective de chauffage, utilisée par le boîtier de régulation thermique pour ajuster la consigne de chauffage de la cartouche chauffante, en fonction de la température de chauffage désirée.

Une vis de réglage permet de régler la position de chaque tube relativement à la partie vibrante et la partie mobile correspondante selon l'axe longitudinal du tube. La vis de réglage est en
30 métal de façon à conduire la chaleur générée par la cartouche chauffante correspondante.

Trois souches ATCC (American Type Culture Collection) de microorganismes sont sélectionnées pour représenter des espèces à Gram négatif, Gram positif et levures. Ces souches sont Escherichia coli (n° ATCC 11775T), Staphylococcus epidermidis (n° ATCC 14990),
35 Candida albicans (n° ATCC 18804).

Les microorganismes Gram négatif et Gram positif sont mis en culture sur une gélose

Columbia au sang de mouton et les levures sur une gélose Dextrose Sabouraud, toutes deux commercialisés par la demanderesse. Après culture, quelques colonies sont collectées avec une oëse de 10µL et remises en suspension. Ces suspensions sont alors calibrées à 10⁸ CFU/mL (Colony Forming Unit ou Unité Formant Colonies) en ajustant leur concentration pour atteindre
5 une valeur de turbidité définie. Les valeurs de turbidité sont mesurées au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 550 nm. Les valeurs de densité optique correspondant à des suspensions à 10⁸ CFU/mL sont les suivantes pour les souches étudiées :

- 0,2 (*E.coli*, ATCC 11775T)
- 0,43 (*S.epidermidis*, ATCC 14990)
- 10 - 0,67 (*C.albicans*, ATCC 18804, pour une suspension à 10⁷ CFU/mL)

Un millilitre de chacune de ces suspensions à 10⁸ CFU/mL est ensuite introduit dans des tubes de 1,5mL de référence « protein Low Bind » commercialisés par la société Eppendorf. Ces tubes sont alors centrifugés a 10000g pendant 5 minutes afin d'obtenir, après élimination du
15 surnageant, des culots de bactéries contenant 10⁸ CFU.

Une sonde de sonication de l'état de l'art VialTweeterTm, excitée par un générateur ultrasonore
20 UIS250v d'une puissance de 250W à 24kHz, tous deux commercialisés par la société Hielscher sont utilisés en comparaison du dispositif selon l'invention. Seules les 6 positions distales de la sonotrode du VialTweeterTm sont utilisées car les deux positions les plus proches du générateur reçoivent une puissance inhomogène des autres positions lors de la sonication.

25 Exemple 1

Dans un premier protocole, chaque culot contenant 10⁸ CFU de microorganisme est dispersé dans 150µL de tampon de NH₄HCO₃ à 50mM, PH 8.0. Après un mélange rapide, le volume des liquide est transféré dans un tube de 1,5mL contenant un mélange contenant 50mg de billes de zirconium enrobé d'une couche de silice de 0,1mm de diamètre (référence 11079101z
30 commercialisée par Biospec Products) et 200mg de billes de verre de 1mm de diamètre (référence 11079110 commercialisée par Biospec Products). 3,5 µL de DTT à 150mM sont également ajoutés. Pour chacun des souches, 9 tubes sont ainsi préparés puis fermés par des bouchons.

35 Pour chacune des souches, huit tubes sont par la suite placés dans les espaces de réception des

tubes du dispositif selon l'invention appelé dispositif « Si » dans les figures correspondantes, le neuvième tube est placé dans un des espaces de réception de la sonde de sonication de l'état de l'art, appelée sonde « Hi » dans les figures correspondantes.

- 5 Une étape de sonication entraînant une lyse-réduction est alors réalisée sur chacun des dispositifs selon l'invention « Si » et de l'état de l'art « Hi ».

Pour le dispositif de l'état de l'art « Hi », l'amplitude est réglée sur 100 et cycle 1 pendant 5 minutes. A la fin de cette étape de sonication, la température du tube atteint environ 95°C.

- 10 Après refroidissement dans la glace pendant 1 min, une étape d'alkylation est effectuée en ajoutant 9 µL d'IAA à 150 mM dans un tampon de NH_4HCO_3 à 50 mM pH 8.0. De la trypsine à 1 µg.µL⁻¹ est ensuite ajoutée. Par la suite, le tube est transféré dans un thermo-mixeur pour procéder à une étape de digestion de 15 minutes à 50°C et 850 tour/minutes. La digestion est ensuite stoppée.

15

Pour le dispositif selon l'invention « Si », l'amplitude est réglée sur 40% de la puissance soit 89 W pendant 5 minutes. A la fin de cette étape de sonication, la température du tube atteint environ 95°C. Après refroidissement dans la glace pendant 1 min, une étape d'alkylation est effectuée en ajoutant 9 µL d'IAA à 150 mM dans un tampon de NH_4HCO_3 à 50 mM pH 8.0. De

20 la trypsine à 1 µg.µL⁻¹ est ensuite ajoutée. Par la suite, les huit tubes sont transférés dans un thermo-mixeur pour procéder à une étape de digestion de 15 minutes à 50°C et 850 tour/minutes. La digestion est ensuite stoppée.

Ce protocole est reproduit successivement pour les deux souches suivantes soit au total trois séries de neuf tubes.

25

Les peptides issus de l'enchaînement de ces étapes de Lyse-Réduction-Alkylation et Digestion ont alors été injectés dans un système de chromatographie liquide couplé à un spectromètre de masse électrospray. Ces analyses LC-ESI-MS/MS, menées en mode Multiple Reaction Monitoring (MRM) avec 3 méthodes différentes selon les micro-organismes en question, sont

30 des méthodes dites ciblées dans lesquelles un nombre défini de peptides de masses connues sont recherchés dans l'échantillon. Dans le cas où l'identification du micro-organisme de l'échantillon aurait été obtenue par une analyse préalable, ce type d'analyse ciblée permettrait de rechercher et de quantifier la présence de peptides marqueurs de résistance, de typage, de virulence ou de confirmation d'identification. Dans le cadre de la présente invention, ce type

35 d'analyse a été employé afin de comparer de façon quantitative différents protocoles de lyse-

digestion menés sur des sondes ultrasonores différentes. Les méthodes ciblent un soixantaine de peptides. Chaque peptide est recherché au travers de la détection de 3 transitions. Lorsque ces trois transitions répondent à deux critères d'intensité et d'aire, le peptide est considéré comme présent et les aires de ses trois transitions sont sommées. Les indicateurs de performance des protocoles de lyse-digestion sont le nombre total de peptides correctement détectés et la somme de leurs aires.

La figure 15a, présente les résultats des tubes contenant des souches d'*Escherichia coli*. Les résultats du tube traité par la sonde de sonication de l'état de l'art sont notés P2A_Hi_EC1. Les résultats des huit tubes ayant été traités avec le dispositif selon l'invention sont notés P2A_Si_EC1, P2A_Si_EC2, P2A_Si_EC3, P2A_Si_EC4, P2A_Si_EC5, P2A_Si_EC6, P2A_Si_EC7, P2A_Si_EC8.

La figure 15b, présente les résultats des tubes contenant des souches de *Candida Albicans*. Les résultats du tube traité par la sonde de sonication de l'état de l'art sont notés P2A_Hi_CA1. Les résultats des huit tubes ayant été traités avec le dispositif selon l'invention sont notés P2A_Si_CA1, P2A_Si_CA2, P2A_Si_CA3, P2A_Si_CA4, P2A_Si_CA5, P2A_Si_CA6, P2A_Si_CA7, P2A_Si_CA8.

La figure 15c, présente les résultats des tubes contenant des souches de *Staphylococcus Epidermidis*. Les résultats du tube traité par la sonde de sonication de l'état de l'art sont notés SE_P2A_Hi_01. Les résultats des huit tubes ayant été traités avec le dispositif selon l'invention sont notés SE_P2A_Si_1, SE_P2A_Si_2, SE_P2A_Si_3, SE_P2A_Si_4, SE_P2A_Si_5, SE_P2A_Si_6, SE_P2A_Si_7, SE_P2A_Si_8.

Ces résultats montrent une excellente reproductibilité inter-tubes. Les résultats des huit tubes traités simultanément pour une même espèce sur le dispositif selon l'invention présente en effet des aires cumulées et des nombres de peptides détectés comparables pour chacune des positions.

Ces résultats démontrent également la capacité du dispositif selon l'invention à réaliser une étape de sonication comparable au dispositif de l'état de l'art, et ce que l'espèce traitée soit à Gram positif, Gram négatif ou une levure.

Exemple 2

Dans un second protocole, chaque culot de 10^8 CFU est dispersé dans 150 μ L de tampon de NH_4HCO_3 à 50mM, PH 8.0. Après un mélange rapide, le volume des liquide est transféré dans un tube de 1,5mL contenant un mélange contenant 50mg de billes de zirconium enrobé d'une couche de silice de 0,1mm de diamètre (référence 11079101z commercialisée par Biospec Products) et 200mg de billes de verre de 1mm de diamètre (référence 11079110 commercialisée par Biospec Products). 5 μ L de DTT à 150mM sont également ajoutés.

2 tubes pour EC et SE, 3 tubes pour CA, sont par la suite placés dans les espaces de réception des tubes du dispositif selon l'invention appelé dispositif « Si », 2 autres tubes par espèce sont placés dans deux des espaces de réception de la sonde de sonication de l'état de l'art, appelée sonde « Hi ».

Pour le dispositif de l'état de l'art « Hi », un mode de réalisation utilisant un seul tube est réalisé comme suit. L'agent d'alkylation est directement introduit avant d'initier la sonication (13,5 μ L d'IAA à 150mM dans un tampon de NH_4HCO_3 à 50mM PH 8.0) ainsi que 10 μ L de trypsine à 1 $\mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$. L'étape de sonication est alors initiée en réglant l'amplitude sur 80 et cycle 0,5 pendant 30 minutes. Les 4 étapes (lyse-réduction-alkylation-digestion) sont donc menées simultanément. La digestion est ensuite stoppée par ajout d'acide formique.

Pour le dispositif selon l'invention « Si », un mode de réalisation utilisant un seul tube peut être conduit par ajout séquentiel des réactifs en tirant avantage de la possibilité d'accéder et d'ouvrir aisément les tubes et de pouvoir utiliser la fonction chauffage de la sonde.

Une étape de sonication est directement effectuée en réglant l'amplitude sur 40% de la puissance soit 89W pendant 5 minutes. A la fin de cette étape de sonication, les tubes sont ouverts pour y ajouter 13,5 μ L d'IAA à 150mM dans un tampon de NH_4HCO_3 à 50mM PH 8.0. ainsi que 10 μ L de trypsine à 1 $\mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$. Une étape de digestion de 25 minutes à 50°C est alors réalisée en désactivant la sonication est en chauffant les tubes par l'intermédiaire des cartouches chauffantes de chacune des huit positions. La digestion est ensuite stoppée.

30

Par la suite, le contenu des tubes est analysé sur le même système LC-ESI-MS/MS que précédemment décrit.

La figure 16a, présente les résultats des tubes contenant des souches d'*Escherichia coli*. Les résultats de deux tubes traités par la sonde de sonication de l'état de l'art sont notés

OP_Hi_EC1 et OP_Hi_EC2. Les résultats de deux tubes ayant été traités avec le dispositif selon l'invention sont notés OP_Si_EC5_1 et OP_Si_EC5_2.

La figure 16b, présente les résultats des tubes contenant des souches de Candida Albicans. Les
5 résultats de deux tubes par la sonde de sonication de l'état de l'art sont notés OP_Hi_CA1 et OP_Hi_CA2. Les résultats de deux des huit tubes ayant été traités avec le dispositif selon l'invention sont notés OP_Si_CA5_7 et OP_Si_CA5_8.

La figure 16c, présente les résultats des tubes contenant des souches de Staphylococcus
10 Epidermidis. Les résultats de deux tubes traité par la sonde de sonication de l'état de l'art sont notés SE_OP_Hi_1 et SE_OP_Hi_2. Les résultats de deux des huit tubes ayant été traités avec le dispositif selon l'invention sont notés SE_OP_Si_5_3 et SE_OP_Si_5_4.

Ces résultats démontrent la capacité du dispositif selon l'invention à simplifier un procédé
15 comprenant une étape de sonication et une étape de chauffage dans le même dispositif sans transfert de tubes ou de liquides. Ces résultats démontrent également cette capacité quelle que soit l'espèce traitée. Les temps d'exécution d'un protocole comprenant une étape de sonication sont ainsi raccourcis en supprimant des manipulations tel que des transferts de tubes ou de liquides. Les risques de contamination liés aux étapes de pipetages sont également diminués.

REVENDICATIONS

1. Dispositif comprenant :

- au moins une partie destinée à recevoir au moins un tube apte à contenir un échantillon biologique, ladite partie comportant :

- un support apte à recevoir et maintenir la partie fixe d'une sonde de sonication,

- une partie vibrante apte à être accouplée avec la sonotrode d'une sonde de sonication,

- une partie mobile solidaire du support, apte à se déplacer, de préférence en translation, relativement au support, d'une position de repos vers une position de serrage et inversement, par le biais d'un moyen de serrage,

- un moyen de chauffage du contenu du tube,

de sorte que lorsque la partie mobile est en position de repos, un espace est ménagé entre ladite partie mobile et la partie vibrante permettant de positionner ou retirer ledit au moins un tube, alors que lorsque la partie mobile est en position de serrage en présence d'au moins un tube, ladite partie mobile est en appui contre ledit au moins un tube et exerce une force contre la paroi de ce dernier, répercutée sur la partie vibrante, emprisonnant ainsi ledit au moins un tube, ladite force étant générée par le moyen de serrage sur la partie mobile

2. Dispositif selon la revendication 1 **caractérisé en ce qu'il** comprend plusieurs parties mobiles chaque partie mobile étant apte à se déplacer, de préférence en translation, relativement au support, d'une position de repos vers une position de serrage et inversement, par le biais d'un moyen de serrage correspondant,

de sorte que lorsque une des parties mobiles est en en position de repos, un espace est ménagé entre ladite partie mobile et ladite partie vibrante permettant de positionner ou retirer ledit au moins un tube, alors que lorsque une des parties mobiles est en en position de serrage en présence d'au moins un tube, ladite partie mobile est en appui contre ledit au moins un tube et exerce une force contre la paroi de ce dernier, répercutée sur la partie vibrante, emprisonnant ainsi ledit au moins un tube, ladite force étant générée par le moyen de serrage sur la partie mobile

3. Dispositif selon la revendication 1 ou 2 **caractérisé en ce que** lorsque la partie mobile est en position de serrage en présence d'au moins un tube, ladite partie mobile est en

appui contre ledit au moins un tube, et exerce ladite force contre la paroi du tube, selon un axe transversal de ce dernier, répercutée sur la partie vibrante, emprisonnant ainsi ledit au moins un tube, ladite force étant générée par le moyen de serrage sur la partie mobile.

5

4. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 3 **caractérisé en ce que** ledit support est apte à recevoir et maintenir la partie fixe d'une sonde de sonication selon au moins un axe de sonication et ladite force est exercée parallèlement à l'axe de sonication, selon l'axe de sonication ou perpendiculairement à l'axe de sonication.

10

5. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, **caractérisé en ce que** une partie mobile est solidaire du support par l'intermédiaire d'un chariot de partie mobile apte à se déplacer en translation relativement à une glissière solidaire du support et à être disposé puis maintenu entre deux positions, une position proximale et une position distale.

15

6. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, **caractérisé en ce qu'**au moins une partie mobile comprend un moyen de chauffage

20

7. Dispositif selon l'une des revendications 1 à 6 **caractérisé en ce qu'il** comprend, un moyen de réglage de la position du tube relativement à la partie mobile et vibrante selon un axe longitudinal définit par le tube

25

8. Dispositif selon la revendication 7 **caractérisé en ce que** le moyen de réglage est un conducteur thermique

9. Dispositif selon l'une des revendications 1 à 8, **caractérisé en ce qu'**au moins un moyen de serrage comprend un vérin

30

10. Dispositif selon l'une des revendications 1 à 9, **caractérisé en ce qu'**au moins un moyen de serrage comprend un moyen de rappel élastique tel qu'un ressort de compression

35

11. Système pour la préparation d'échantillons biologiques comprenant

- un dispositif selon l'une des revendications 1 à 10
- une sonde de sonication, comprenant une partie fixe et une sonotrode
- le support étant solidaire de la sonde de sonication par sa partie fixe, la partie vibrante étant accouplée à la sonotrode

12. Utilisation d'un système selon la revendication 11 pour la préparation d'échantillons biologiques comprenant les étapes suivantes :

- 5 a) Insérer un tube contenant un échantillon biologique dans l'espace de réception, la partie mobile étant en position de repos
- b) Déplacer la partie mobile de sa position de repos à sa position de serrage de sorte que le tube soit emprisonné,
- 10 c) Effectuer une étape de sonication de l'échantillon biologique en activant la sonotrode

13. Utilisation d'un système selon la revendication 11 pour la préparation d'échantillons biologiques, selon les étapes suivantes :

- 15 a) Insérer un tube contenant un échantillon biologique dans l'espace, la partie mobile étant en position de repos
- b) Déplacer la partie mobile de la position de repos à la position de serrage de sorte que le tube soit emprisonné dans l'espace,
- c) Effectuer une étape de sonication de l'échantillon biologique en activant la sonotrode,
- 20 d) Effectuer un étape d'incubation de l'échantillon biologique en activant le moyen de chauffage

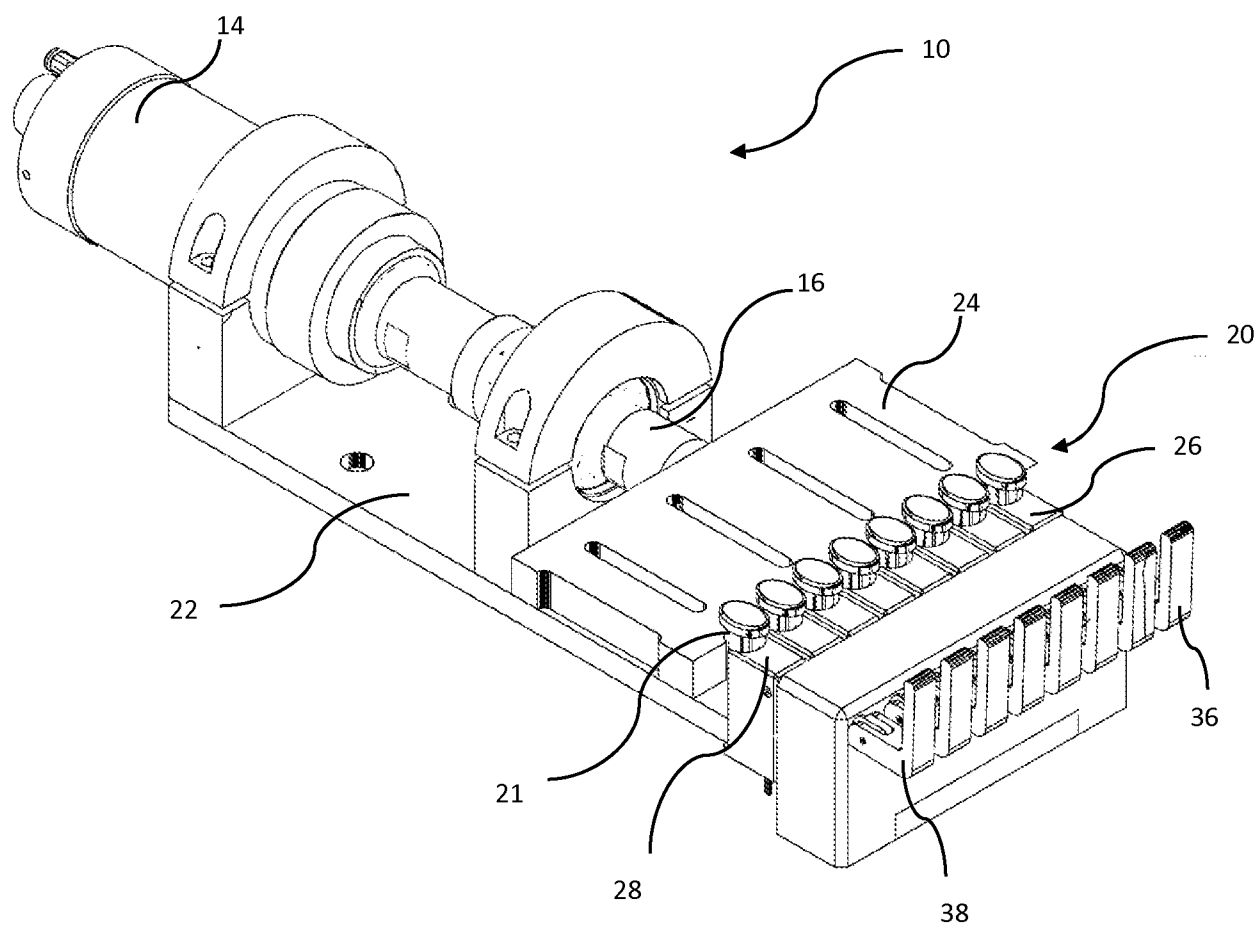


Figure 1

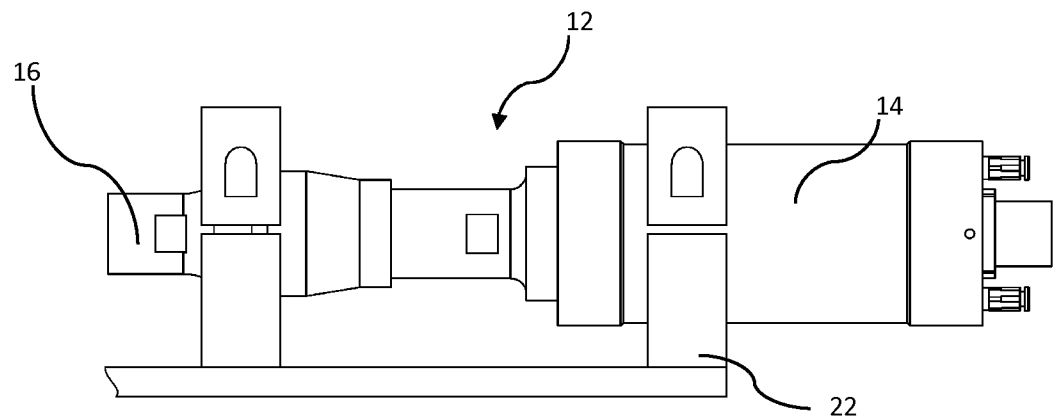


Figure 2

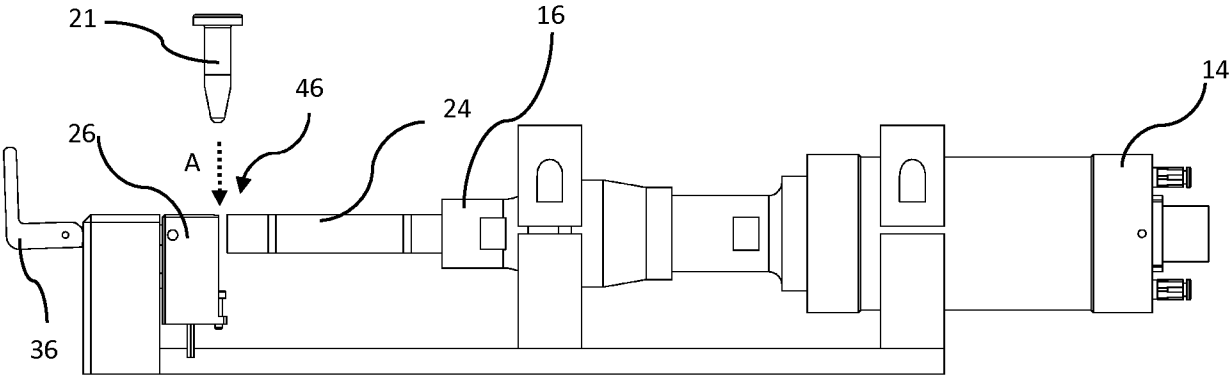


Figure 3

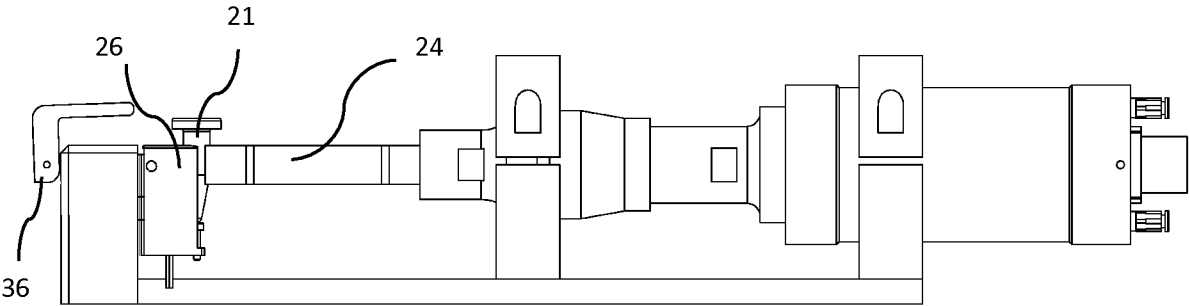


Figure 4

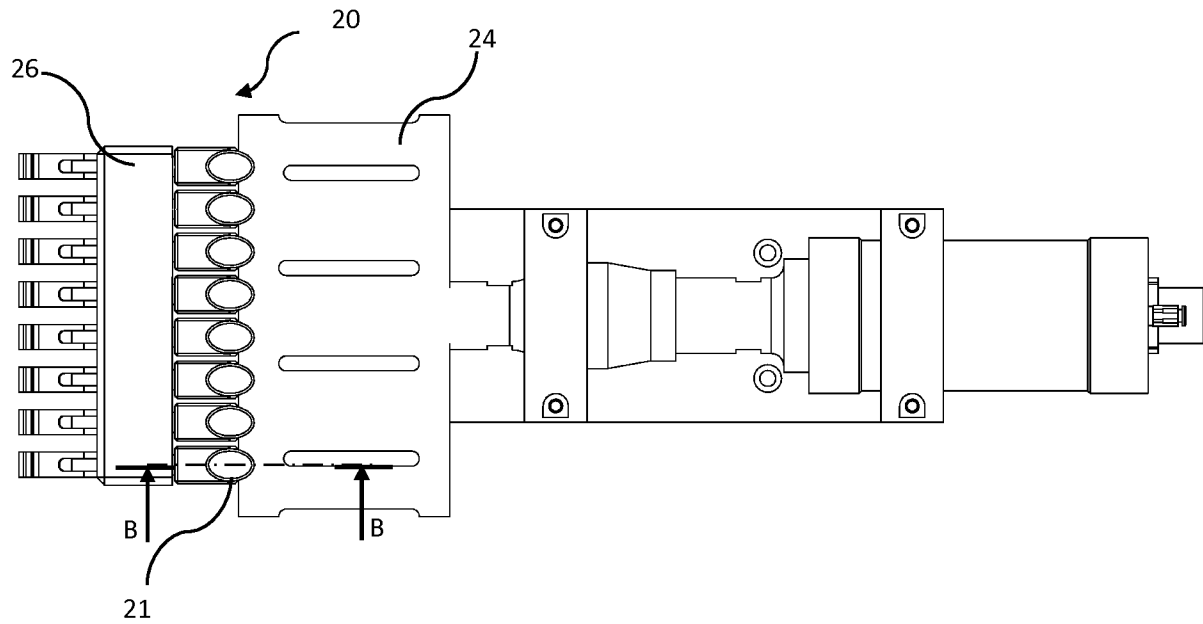


Figure 5

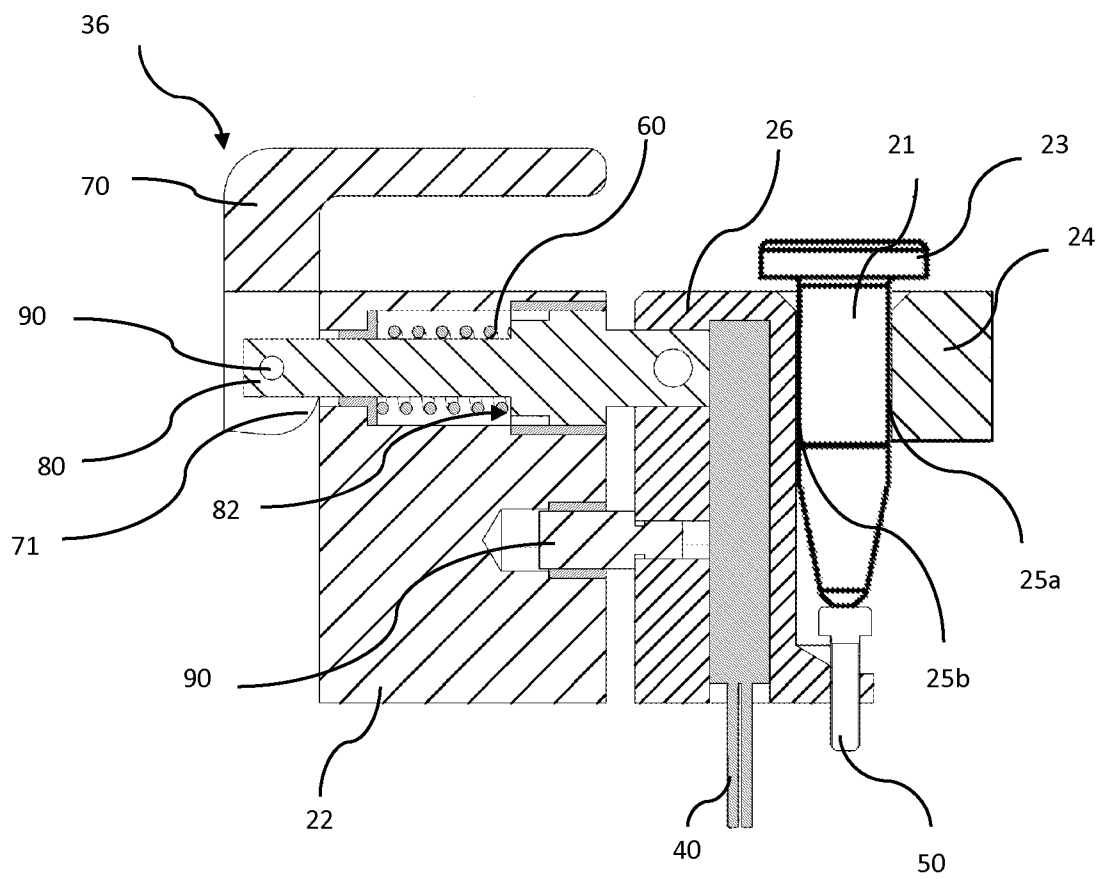


Figure 6

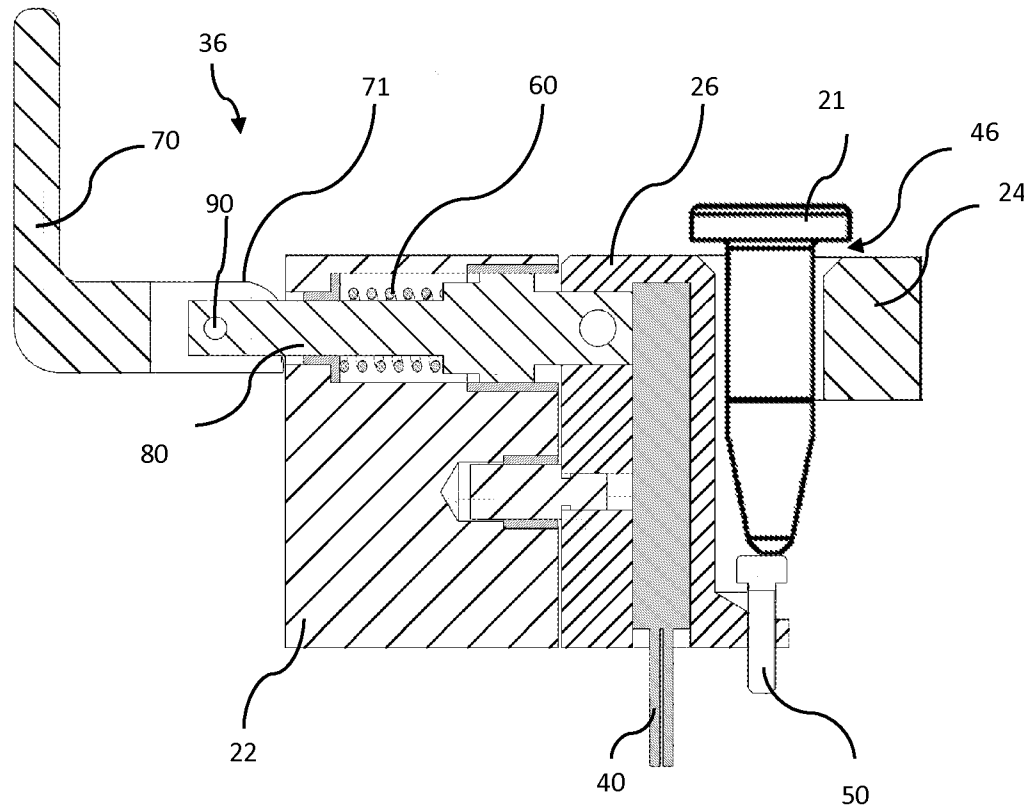


Figure 7

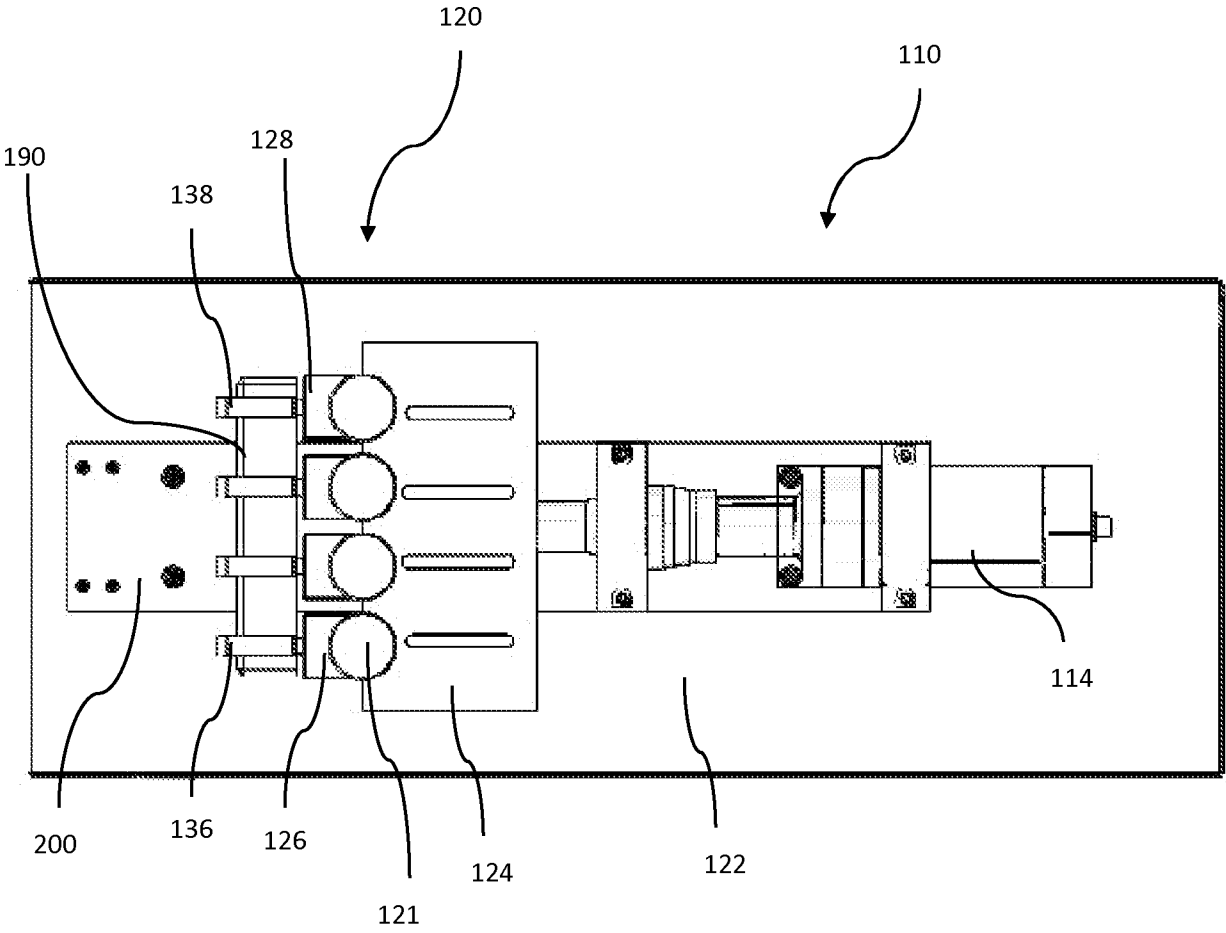


Figure 8

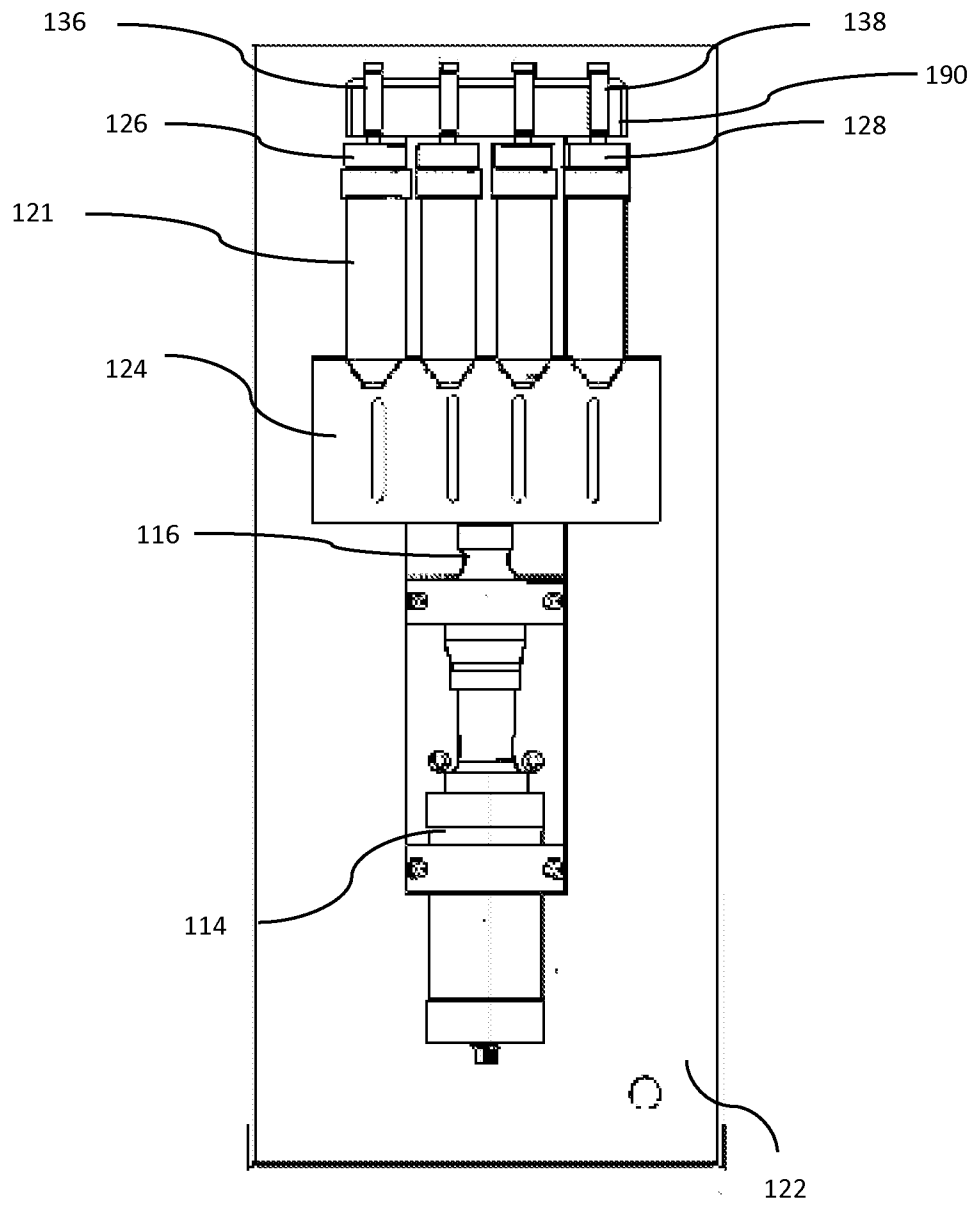
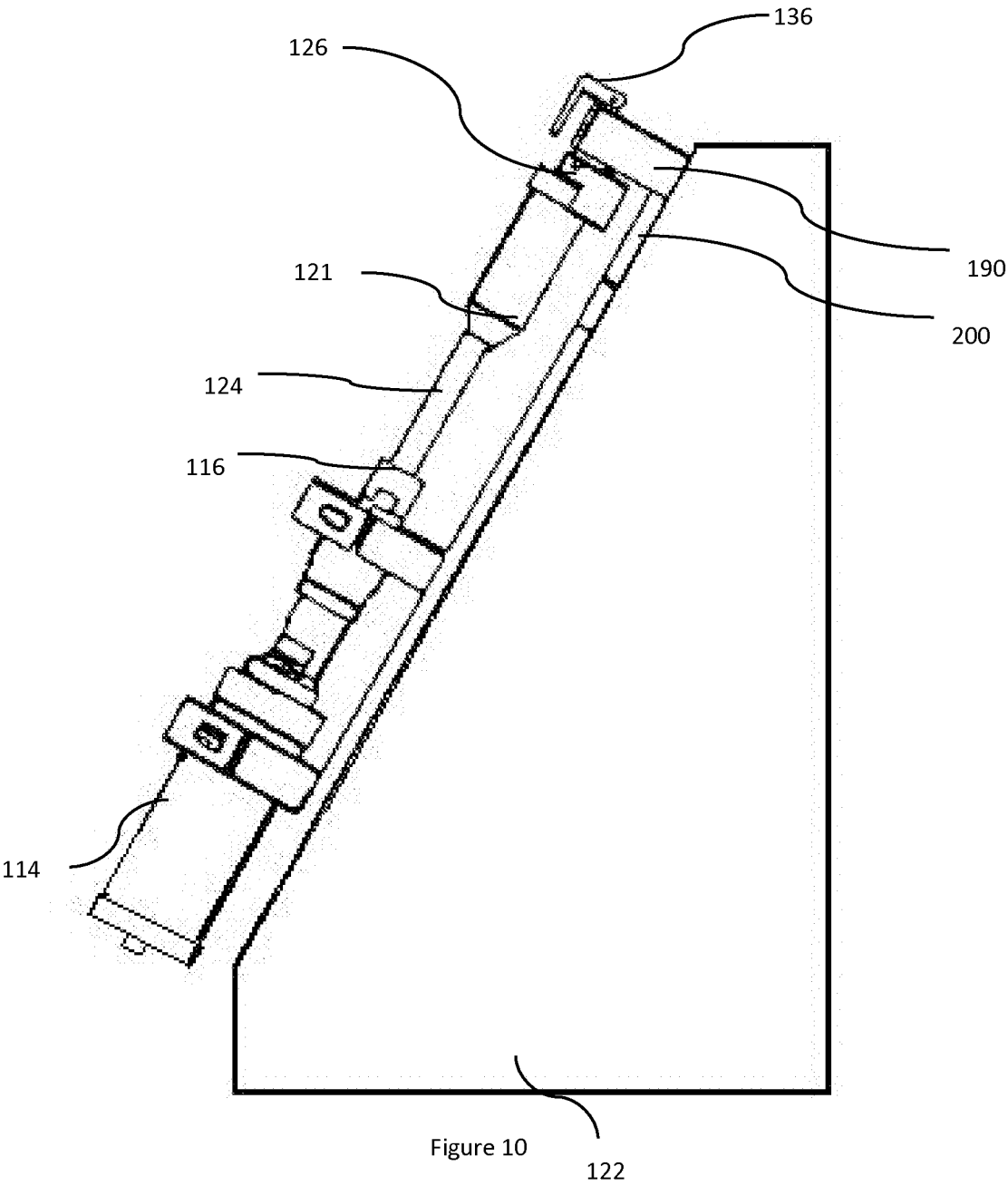


Figure 9



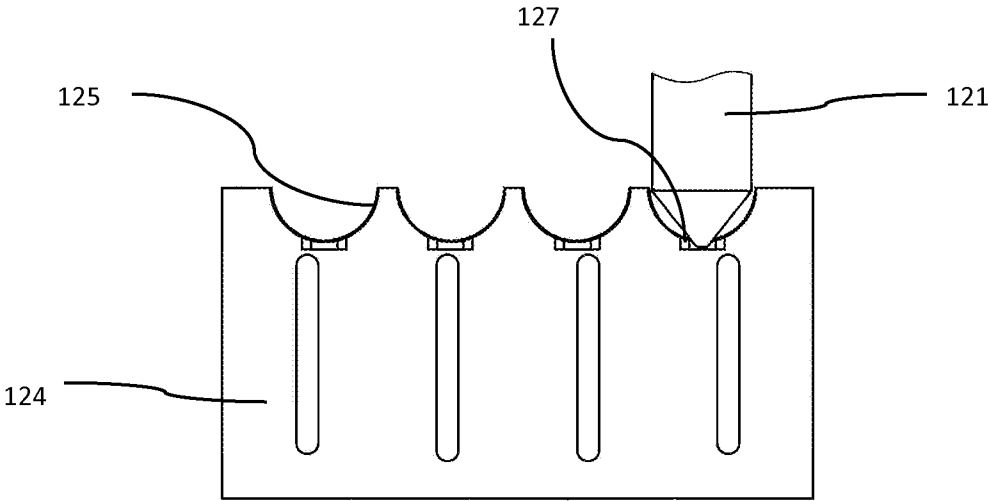


Figure 11

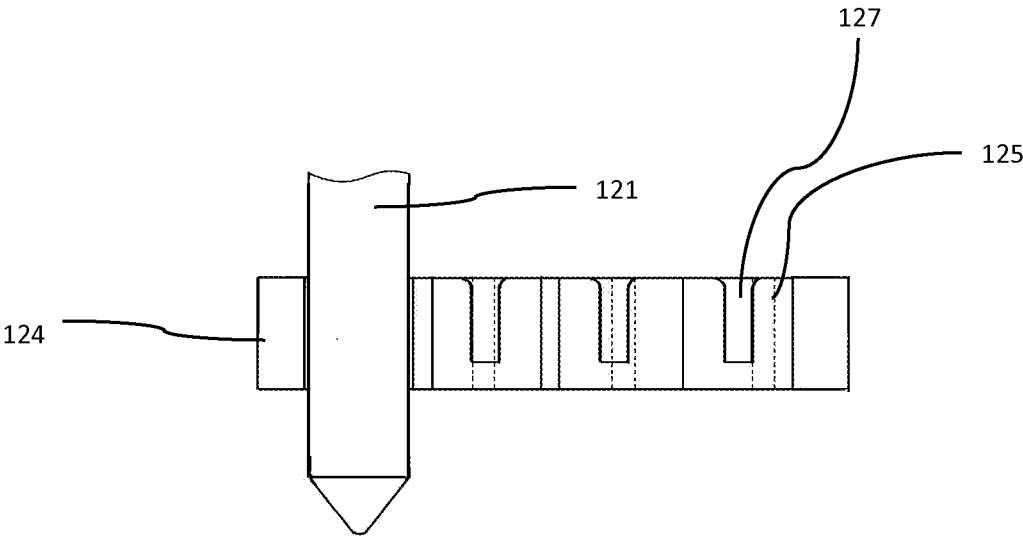


Figure 12

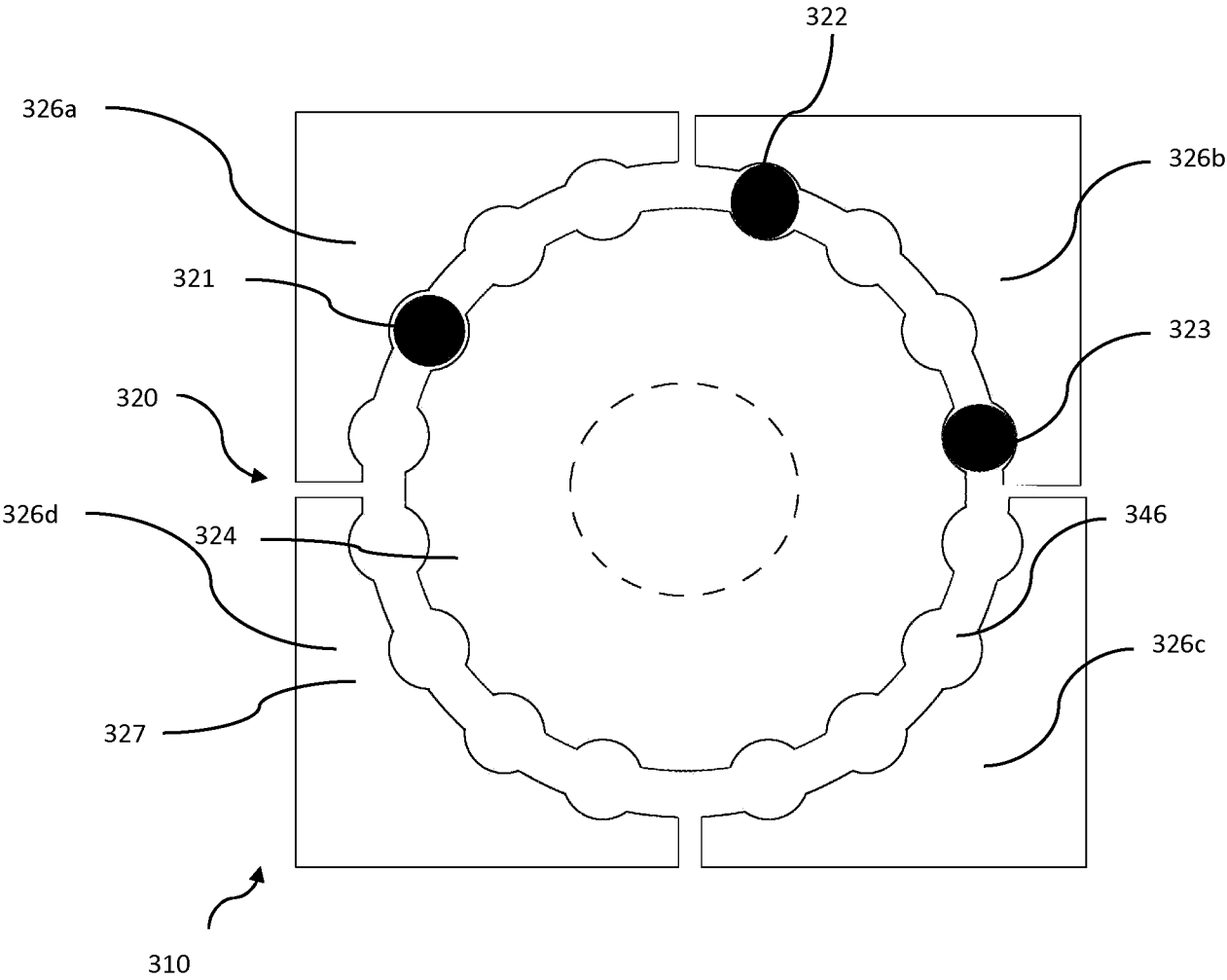


Figure 13

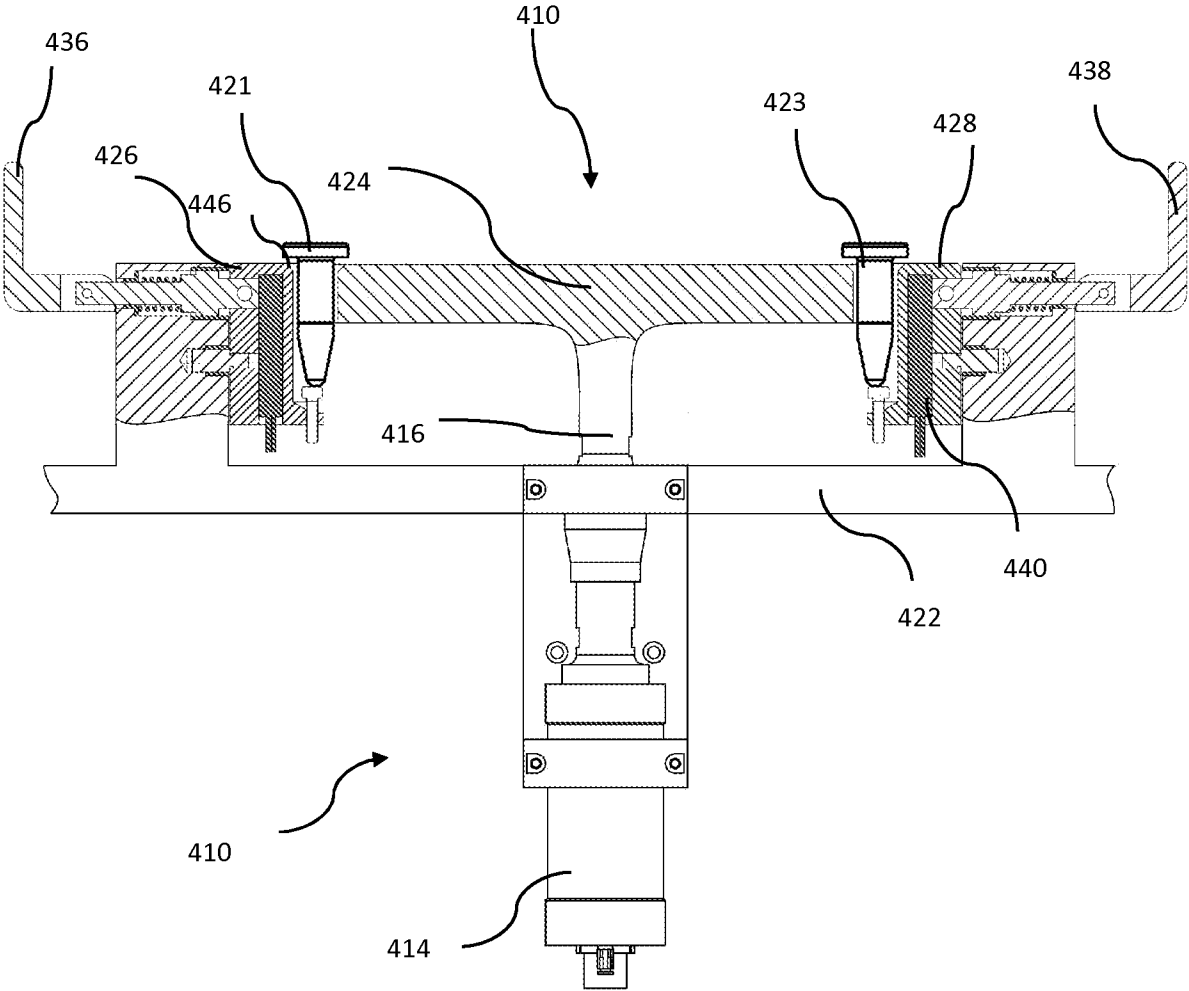


Figure 14

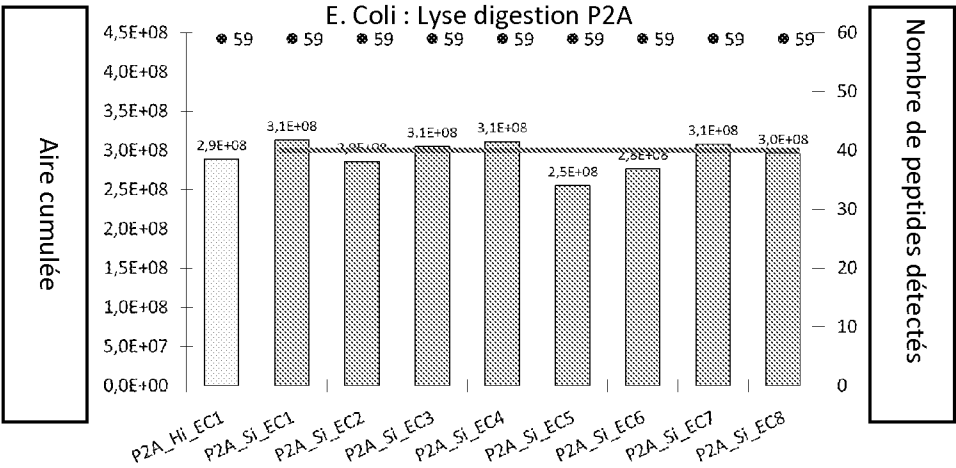


Figure 15a

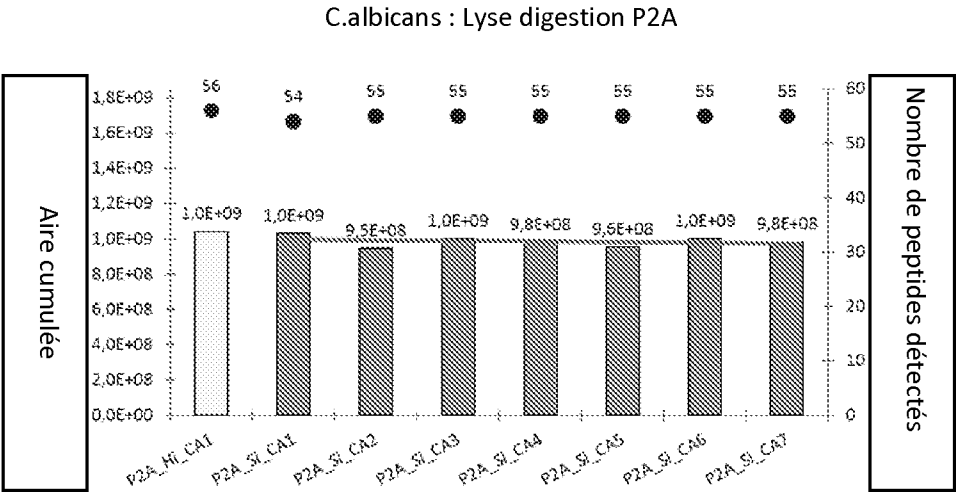


Figure 15b

S. Epidermidis : Lyse digestion P2A

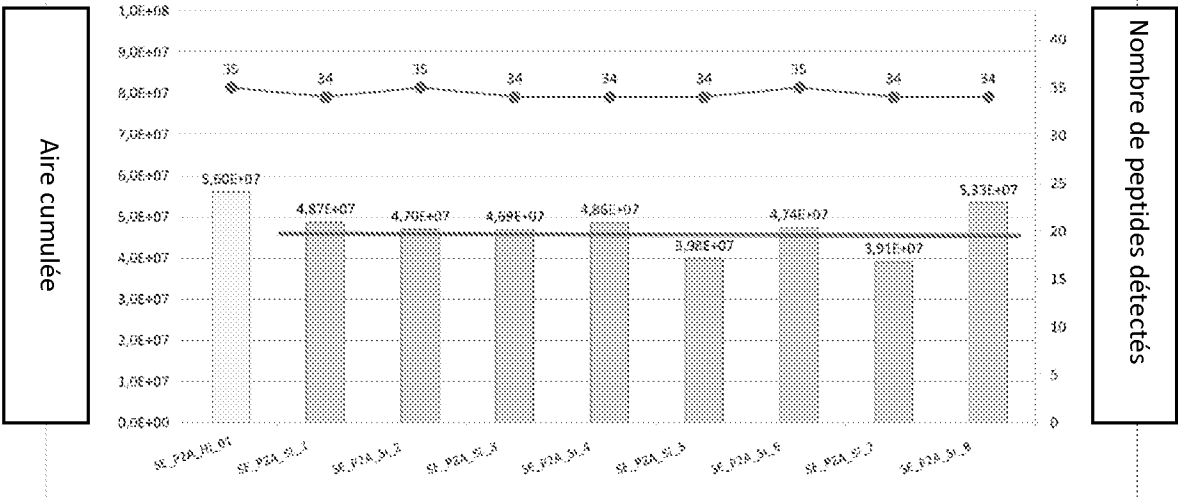


Figure 15c

E. Coli

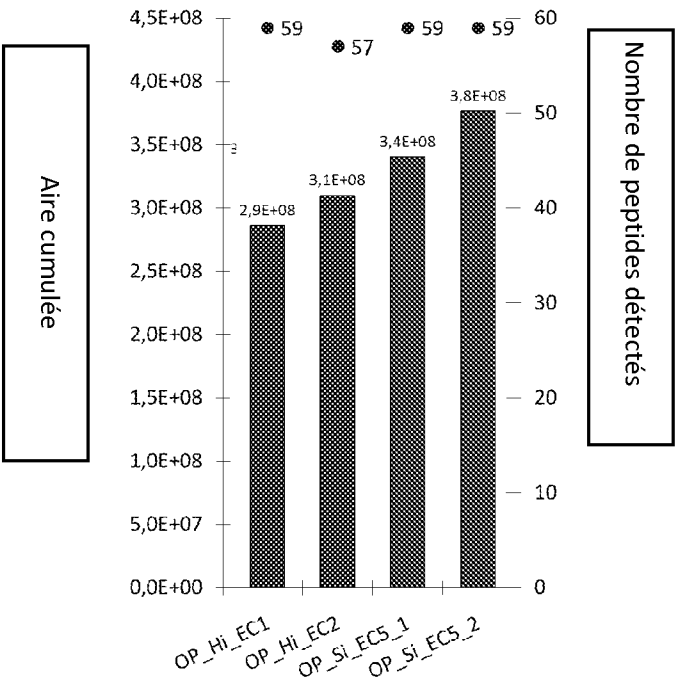


Figure 16a

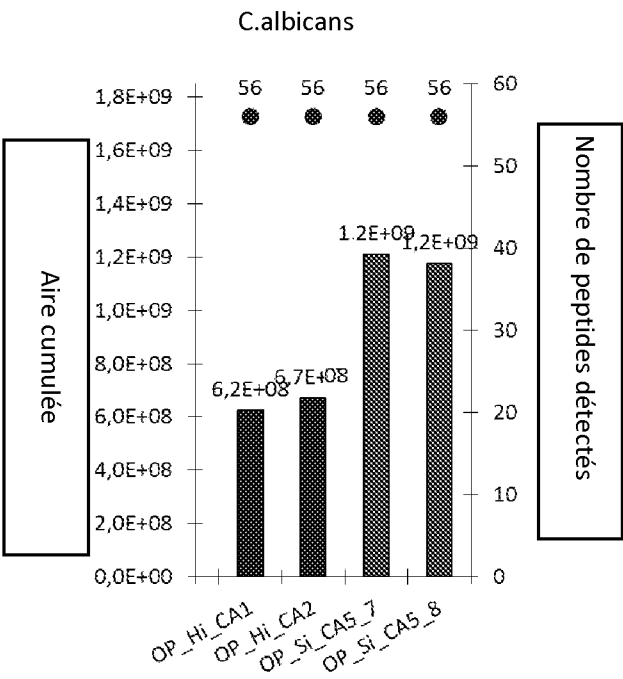


Figure 16b

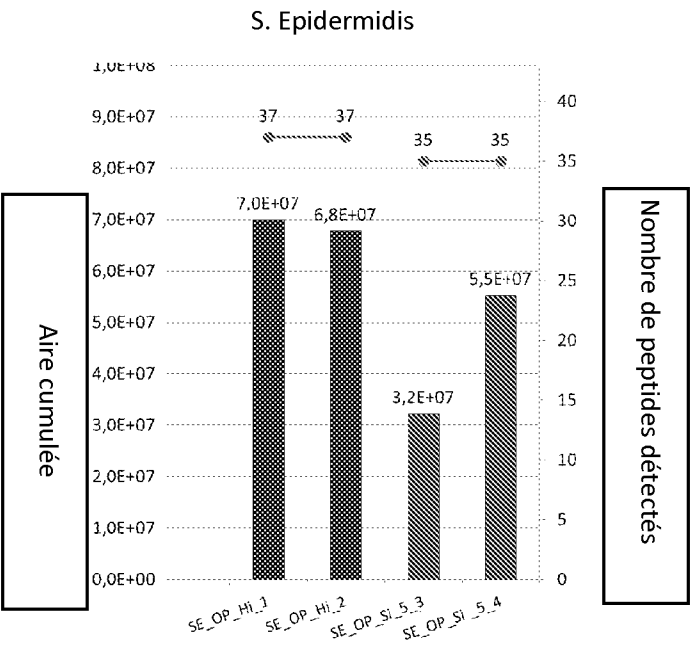


Figure 16c

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/FR2016/051255

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 INV. B01F11/02 B01F15/00 B01F13/10 G01N1/28
 ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

B01F G01N C12M B01J

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	US 2006/027686 A1 (TAYLOR MICHAEL T [US] ET AL) 9 February 2006 (2006-02-09) paragraph [0142] paragraph [0185] paragraph [0187] - paragraph [0190] paragraph [0217] - paragraph [0224] paragraph [0230] - paragraph [0231] paragraph [0234] - paragraph [0238] figures 21,28,29,36,37,51-56 -----	1,3-5, 9-13 2,6-8
X A	FR 2 791 697 A1 (BIOMERIEUX SA [FR]) 6 October 2000 (2000-10-06) page 1, line 3 - line 6 page 7, line 17 - page 8, line 5 page 10, line 21 - line 29 page 33 figures 1,3 ----- -/-	1,2,4,5, 10-13 3,6-9



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19 September 2016

Date of mailing of the international search report

27/09/2016

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Real Cabrera, Rafael

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/FR2016/051255

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2014/150290 A1 (THERANOS INC [US]) 25 September 2014 (2014-09-25) paragraph [0065] - paragraph [0067] paragraph [0088] paragraph [0161] paragraph [0163] - paragraph [0164] figures 5-7 -----	1-13
A	WO 2014/139630 A1 (MERCK PATENT GMBH [DE]) 18 September 2014 (2014-09-18) page 1, line 3 - line 9 page 6, line 11 - line 21 page 8, line 15 - page 10, line 2 figures 1,2 -----	1-13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/FR2016/051255

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2006027686	A1	09-02-2006	NONE
FR 2791697	A1	06-10-2000	AT 268376 T 15-06-2004
		AU 763480 B2 24-07-2003	
		AU 3664900 A 23-10-2000	
		CA 2365493 A1 12-10-2000	
		DE 60011253 D1 08-07-2004	
		DE 60011253 T2 07-07-2005	
		EP 1165748 A1 02-01-2002	
		EP 1466966 A1 13-10-2004	
		ES 2222190 T3 01-02-2005	
		FR 2791697 A1 06-10-2000	
		JP 2002540783 A 03-12-2002	
		US 6686195 B1 03-02-2004	
		WO 0060049 A1 12-10-2000	
WO 2014150290	A1	25-09-2014	AU 2014237362 A1 17-09-2015
		CA 2906484 A1 25-09-2014	
		CN 105229465 A 06-01-2016	
		EP 2972310 A1 20-01-2016	
		JP 2016517516 A 16-06-2016	
		KR 20150130387 A 23-11-2015	
		SG 11201507322U A 29-10-2015	
		US 2016069916 A1 10-03-2016	
		WO 2014150290 A1 25-09-2014	
WO 2014139630	A1	18-09-2014	CN 105102110 A 25-11-2015
		EP 2969169 A1 20-01-2016	
		JP 2016516982 A 09-06-2016	
		US 2016023174 A1 28-01-2016	
		WO 2014139630 A1 18-09-2014	

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/FR2016/051255

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE INV. B01F11/02 B01F15/00 B01F13/10 G01N1/28 ADD.		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) B01F G01N C12M B01J		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X A	US 2006/027686 A1 (TAYLOR MICHAEL T [US] ET AL) 9 février 2006 (2006-02-09) alinéa [0142] alinéa [0185] alinéa [0187] - alinéa [0190] alinéa [0217] - alinéa [0224] alinéa [0230] - alinéa [0231] alinéa [0234] - alinéa [0238] figures 21,28,29,36,37,51-56 -----	1,3-5, 9-13 2,6-8
X A	FR 2 791 697 A1 (BIOMERIEUX SA [FR]) 6 octobre 2000 (2000-10-06) page 1, ligne 3 - ligne 6 page 7, ligne 17 - page 8, ligne 5 page 10, ligne 21 - ligne 29 page 33 figures 1,3 ----- -/-	1,2,4,5, 10-13 3,6-9
☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents ☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités:		
"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier "&" document qui fait partie de la même famille de brevets		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée 19 septembre 2016		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale 27/09/2016
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé Real Cabrera, Rafael

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/FR2016/051255

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	WO 2014/150290 A1 (THERANOS INC [US]) 25 septembre 2014 (2014-09-25) alinéa [0065] - alinéa [0067] alinéa [0088] alinéa [0161] alinéa [0163] - alinéa [0164] figures 5-7 -----	1-13
A	WO 2014/139630 A1 (MERCK PATENT GMBH [DE]) 18 septembre 2014 (2014-09-18) page 1, ligne 3 - ligne 9 page 6, ligne 11 - ligne 21 page 8, ligne 15 - page 10, ligne 2 figures 1,2 -----	1-13

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/FR2016/051255

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 2006027686	A1	09-02-2006	AUCUN	
FR 2791697	A1	06-10-2000	AT 268376 T	15-06-2004
			AU 763480 B2	24-07-2003
			AU 3664900 A	23-10-2000
			CA 2365493 A1	12-10-2000
			DE 60011253 D1	08-07-2004
			DE 60011253 T2	07-07-2005
			EP 1165748 A1	02-01-2002
			EP 1466966 A1	13-10-2004
			ES 2222190 T3	01-02-2005
			FR 2791697 A1	06-10-2000
			JP 2002540783 A	03-12-2002
			US 6686195 B1	03-02-2004
			WO 0060049 A1	12-10-2000
WO 2014150290	A1	25-09-2014	AU 2014237362 A1	17-09-2015
			CA 2906484 A1	25-09-2014
			CN 105229465 A	06-01-2016
			EP 2972310 A1	20-01-2016
			JP 2016517516 A	16-06-2016
			KR 20150130387 A	23-11-2015
			SG 11201507322U A	29-10-2015
			US 2016069916 A1	10-03-2016
			WO 2014150290 A1	25-09-2014
WO 2014139630	A1	18-09-2014	CN 105102110 A	25-11-2015
			EP 2969169 A1	20-01-2016
			JP 2016516982 A	09-06-2016
			US 2016023174 A1	28-01-2016
			WO 2014139630 A1	18-09-2014