

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

(21)

N° 81 15921

(54) Procédé et appareil de stockage de substances biologiques congelées.

(51) Classification internationale (Int. Cl.³). F 25 D 25/04 // A 61 K 35/14.

(22) Date de dépôt..... 19 août 1981.

(33) (32) (31) Priorité revendiquée : RFA, 26 août 1980, n° P 30 32 088.8.

(41) Date de la mise à la disposition du
public de la demande..... B.O.P.I. — « Listes » n° 9 du 5-3-1982.

(71) Déposant : LINDE AG, résidant en RFA.

(72) Invention de : Max Bräutigam.

(73) Titulaire : *Idem* (71)

(74) Mandataire : Marc-Roger Hirsch, conseil en brevets,
34, rue de Bassano, 75008 Paris.

PROCEDE ET APPAREIL DE STOCKAGE DE SUBSTANCES BIOLOGIQUES CONGELEES.

La présente invention concerne un procédé de stockage de substances biologiques, congelées dans des bio-récipients à des températures inférieures à 200 K, dans une cuve de réfrigération close.

La conservation de substances biologiques pour empêcher des détériorations cellulaires irréversibles pose un problème difficile à résoudre, notamment pour la conservation du sang. On dispose en effet depuis quelques temps de stock:
5 de prélèvements sanguins obtenus par congélation poussée.

On connaît un procédé de ce genre, par exemple d'après la demande de brevet en Allemagne Fédérale mise à l'inspection publique sous le No. 12 38 618. On mélange aux substances biologiques, telles que du sang, un additif de protection pour empêcher que, pendant le processus de congélation poussée, lors-
10 que le sang est amené dans la plage des températures de congélation, l'intégrité de la membrane cellulaire des globules rouges soit endommagée et que les cellules puissent être hémolysées. Ensuite, le sang est déversé dans un récipient et il est refroidi, avec agitation, dans un agent de refroidissement tel de
15 l'azote liquide. De cette manière, il est évidemment possible de conserver du sang sur une assez longue période. On a cependant constaté que ce procédé connu, ne permettait pas des stockages illimités et qu'en fait un pourcentage important des prélèvements sanguins stockés était avarié et ne pouvait être utilisé.

L'invention a en conséquence pour objectif l'obtention d'un procédé simple
20 permettant le stockage de substances biologiques soumises à une congélation poussée, ce procédé rendant possible un stockage sûr pendant de longues périodes et réduisant au minimum le pourcentage de substances biologiques avariées. Ce problème est résolu selon l'invention par déplacement des substances biologiques à l'aide d'un dispositif de circulation, uniformément le long d'un tra-
25 jet fermé dans la cuve de réfrigération.

Par le déplacement des bio-récipients dans une cuve de réfrigération, on assure un brassage et on obtient par conséquent d'une manière très simple une égalisation des conditions de températures sans agents auxiliaires additionnels.

En outre, le procédé selon l'invention permet d'obtenir une durée de stockage pratiquement illimitée des bio-réipients. Cela est extrêmement important, notamment pour la conservation du sang, car, à la différence avec la situation actuelle, le procédé de stockage selon l'invention ne permet pratiquement plus
5 d'altération des conserves de sang, c'est-à-dire qu'on peut pratiquement ré-utiliser tous les prélèvements sanguins stockés.

Conformément à un mode particulièrement avantageux de mise en oeuvre du procédé selon l'invention, les bio-réipients sont introduits, au début du stockage, par l'intermédiaire d'un sas et avec conjugaison de formes, dans
10 les supports du dispositif de circulation et, en cas de besoin, ils sont à nouveau sortis par l'intermédiaire du sas.

Du fait qu'on doit stocker dans la cuve de réfrigération plusieurs milliers de bio-réipients et qu'il faut trouver rapidement, notamment dans le cas d'échantillons sanguins autologues, un bio-réipient déterminé, la position des bio-réipients sur le dispositif de circulation est mémorisée dans une
15 banque de données en vue de l'introduction ou de l'extraction des bio-réipients. Par l'intermédiaire d'un dispositif de commande, le moteur peut alors être réglé de telle sorte que le dispositif de circulation ou bien le support portant le bio-réipient désiré soit amené exactement devant le sas.

20 Comme autres données, on enregistre, en plus de la position du bio-réipient sur le dispositif de circulation, la date d'entrée, les caractéristiques biologiques de la substance congelée et, dans le cas de prélèvements sanguins autologues, des informations quant à la personne ayant fait l'objet du prélèvement. Pour le positionnement du support des bio-réipients sur le dispositif
25 de circulation, il est prévu avantageusement à cet égard des arrêtoirs.

Pour le maintien des basses températures, on utilise, conformément à une caractéristique particulièrement avantageuse du procédé selon l'invention, un agent réfrigérant, comme un gaz liquéfié bouillant à basse température, de préférence de l'azote liquéfié. Cet agent réfrigérant est introduit d'une manière
30 réglée, par exemple par une sonde de température placée à l'intérieur de la cuve de réfrigération et commandant une valve d'admission de l'agent réfrigérant, par l'intermédiaire de serpentins de refroidissement dans la zone supérieure de la cuve de réfrigération, qui peut être librement introduit dans la cuve (contact direct) ou bien passé dans un serpentin de refroidissement clos (contact indirect). Il s'établit une convection naturelle, de sorte que, sans ap-
35 pareils auxiliaires, on établit une température uniforme dans toute la zone de stockage. Les températures classiques de stockage sont comprises entre -130° et -190°C , et sont par exemple dans le cas du sang, de préférence de -140°C environ.

Comme appareil pour la mise en oeuvre du procédé selon l'invention, il est avantageux d'utiliser des cuves de réfrigération qui comportent un dispositif de circulation, entraîné par un moteur placé à l'extérieur et comportant des supports pour les bio-récipients. Pour l'introduction ou l'extraction des bio-récipients, il est prévu dans la zone supérieure de cette cuve de réfrigération un sas dont la forme est adaptée au profil de section droite des bio-récipients. En outre, des serpentins de refroidissement sont placés à la partie supérieure de la cuve de réfrigération. La forme des bio-récipients est de préférence adaptée à la forme des supports.

Une cuve de réfrigération particulièrement appropriée pour la mise en oeuvre du procédé selon l'invention a, conformément à un mode avantageux de réalisation, une forme cylindrique et allongée dans la direction horizontale. Le dispositif de circulation prévu dans la cuve de réfrigération est agencé avantageusement sous la forme d'une bande transporteuse et il est disposé sur un arbre d'entraînement monté coaxialement par rapport à l'axe de la cuve. Le mécanisme d'entraînement de la bande transporteuse est alors placé à l'extrémité de la cuve de réfrigération dans une position placée verticalement en haut. Conformément à un autre mode d'agencement de la cuve de réfrigération, la bande transporteuse est constituée de maillons solides, et il est prévu sur chaque maillon au moins un support pour des bio-récipients qui ont une forme adaptée à celle du support.

Conformément à un autre mode de réalisation de l'invention, le bio-récipient peut également avoir une forme parallélépipédique et comporter dans sa zone supérieure un canal d'air chaud dans lequel passe l'arbre d'entraînement du dispositif de circulation. Le dispositif de circulation proprement dit est constitué de deux éléments transporteurs, placés l'un en regard de l'autre, entraînés en synchronisme et reliés entre eux par des éléments transversaux pouvant être agencés sous forme de chaînes, de bandes ou de panneaux. Les éléments transversaux sont disposés l'un derrière l'autre à des intervalles réguliers qui sont déterminés par la grosseur des bio-récipients et ils comportent, en fonction du mode de réalisation des éléments transversaux, différents supports pour les bio-récipients.

D'autres buts et avantages de la présente invention apparaîtront à la lecture de la description suivante et des figures jointes, données à titre illustratif mais non limitatif.

La Figure 1 est une coupe longitudinale d'une cuve de réfrigération servant au stockage de bio-récipients.

La Figure 2 est une section droite de la cuve de réfrigération de la Figure 1.

La Figure 3 représente un dispositif de circulation d'une autre cuve de réfrigération.

La Figure 4 montre la disposition de la cuve de réfrigération par rapport au dispositif de circulation de la Figure 3.

5 La Figure 1 représente une cuve de réfrigération 1 présentant une forme cylindrique de profil allongé placée dans une position horizontale; un arbre d'entraînement 2 disposé coaxialement par rapport à l'axe longitudinal de la cuve, la traverse aux deux extrémités par l'intermédiaire des paliers 3 et 4. Un mécanisme d'entraînement 5 et un accouplement 10 sont installés en
10 regard du palier 4. Cette position constitue ainsi simultanément le point fixe du mouvement de retrait au cours du refroidissement. Sur l'arbre d'entraînement 2, il est prévu de chaque côté une bande transporteuse 6. Les axes 7 de ces bandes transporteuses 6 coupent l'arbre longitudinal 2. Le mécanisme d'entraînement 8 des bandes transporteuses 6 est placé, à l'extrémité de la
15 cuve, au point fixe de l'axe longitudinal 7, de sorte que les bandes transporteuses proprement dites ne sont entraînées que dans une position verticale et, lorsque cela est nécessaire, elles sont accouplées dans cette zone par un accouplement 9 logé dans la cuve de réfrigération 1.

Les bandes transporteuses 6 sont, de préférence, constituées de différents plateaux rigides individuels, à la façon d'un escalier roulant.
20 Sur chaque plateau est disposé un support 11, qui a la forme d'un quart de cercle, adapté en fonction de la position de la section droite de la cuve de refroidissement. Pour obtenir une plus grande rigidité propre de ces supports 11, il est avantageux de choisir pour ces supports une profondeur qui permette
25 de disposer l'un derrière l'autre plusieurs bio-récipients 12.

Pour la qualité des substances biologiques, il est avantageux de donner aux bio-récipients une forme aplatie relativement mince (environ 8 mm), à savoir, dans le cas considéré, la forme géométrique d'un secteur circulaire à paroi relativement mince. Les bio-récipients de ce type sont logés dans le
30 support et sont rangés l'un derrière l'autre et/ou également l'un à côté de l'autre, de façon à former un quart de cercle, de sorte qu'il soit possible, par augmentation du diamètre de la cuve de réfrigération, de loger dans un quart de cercle plusieurs bio-récipients.

L'amenée (ou bien l'enlèvement) des bio-récipients sur les bandes
35 transporteuses 6 est effectuée par l'intermédiaire d'un sas 13 en forme de fente, qui est placé au voisinage immédiat du mécanisme d'entraînement 8 des bandes transporteuses 6, c'est-à-dire par conséquent dans une position située verticalement en haut. Ainsi, les deux zones de traversée situées en haut

et à proximité du point de déplacement nul, ne sont pas influencées par le retrait se produisant lors du refroidissement. Avantageusement, la fente du sas 13 est orientée perpendiculairement à l'axe de la cuve.

Tous les entraînements, c'est-à-dire le mouvement de l'axe longitudinal 2 et le mouvement des bandes transporteuses 6, s'effectuent avec conjugaison de formes. Cela est nécessaire car chaque bio-récipient est défini d'une manière caractéristique par sa position sur la périphérie et sur l'axe longitudinal de la cuve de réfrigération. Il s'est avéré particulièrement avantageux d'enregistrer le positionnement des bio-récipients, qui s'effectue par des arrêteurs prévus sur le dispositif de circulation, à l'aide d'une banque de données.

Pour l'introduction d'un bio-récipient, on commande le mécanisme d'entraînement 8 des bandes transporteuses 6 de façon à placer en avant du sas 13 un support vide 11 dans lequel on met en place le bio-récipient. Comme autres données pour la banque de données, on fait en outre intervenir la date d'entrée les caractéristiques biologiques et, dans le cas de prélèvements sanguins autologues, des indications relatives à la personne faisant l'objet du prélèvement.

Lorsque le bio-récipient est placé sur un support 11, se trouvant par exemple sur la bande transporteuse 6a, les deux bandes transporteuses sont à nouveau remises en mouvement, notamment en outre pour favoriser le maintien en température. Pour l'introduction (ou l'évacuation) d'un bio-récipient sur la bande transporteuse 6b, on désaccouple en 9 l'axe d'entraînement 7 des bandes transporteuses 6, et on accouple en 10 l'arbre d'entraînement 2 de manière qu'un mouvement de rotation puisse se faire dans la direction de la flèche.

La Figure 2 montre la position des bandes transporteuses tournée de 90°. L'axe 7, qui traverse l'arbre d'entraînement 2, est désaccouplé en 9 et est tourné de 90°. De cette manière, il est également possible d'alimenter la "bande transporteuse inférieure" 6b par l'intermédiaire du sas 13. Sur la Figure 2, on a en outre montré, dans la zone supérieure de la cuve de réfrigération 1, des serpentins de refroidissement 14 qui n'ont pas été mis en évidence sur la Figure 1 (pour simplifier le dessin). Ces serpentins de refroidissement peuvent consister, soit en un système fermé, soit en un système ouvert, ce qui signifie qu'un agent réfrigérant, comme de l'azote liquéfié, peut être introduit par l'intermédiaire des serpentins de refroidissement, mais peut cependant parvenir librement dans le volume intérieur de la cuve de réfrigération. La sortie de l'agent réfrigérant sous forme gazeuse est alors effectuée avantagement par l'intermédiaire du sas. La régulation du refroidissement peut, par exemple, être assurée par l'intermédiaire

d'une sonde de température placée à l'intérieur de la cuve de réfrigération, non visible sur les figures et qui commande la valve d'entrée d'agent réfrigérant. Les bio-réipients sont fixés par des supports de manière à être solidement maintenus aussi bien dans la zone de renvoi des bandes transporteuses que dans la position de tête.

La Figure 3 représente un dispositif de circulation, tel que celui placé avantageusement dans une cuve de réfrigération de forme parallélépipédique. Un arbre 15 entraîné par un moteur 16 actionne, en synchronisme et dans la direction de la flèche — par l'intermédiaire d'engrenages 17, 18, par exemple — deux éléments transporteurs 19 et 20 qui se déplacent dans des positions opposées. Comme éléments transporteurs, on peut utiliser des chaînes, des bandes, des courroies trapézoïdales ou des organes semblables. Ils passent au moins sur un renvoi, comme indiqué en 21, en vue d'une compensation d'allongement. Les éléments transporteurs 19 et 20 sont reliés entre eux par des éléments transversaux 22. Ces éléments transversaux 22 peuvent également être agencés sous forme de chaînes, mais ils peuvent être également rigides, et se présenter par exemple sous forme de tiges ou de panneaux. Sur les éléments transversaux 22, il est prévu des arrêtoirs 23 pour les supports 24. Par exemple, on peut prévoir pour ces supports des crochets, des oreilles ou d'autres organes d'arrêt sur des éléments transversaux en forme de panneaux.

Les bio-réipients peuvent, en correspondance aux supports, avoir également des formes différentes, comme le montre notamment la Figure 3.

L'introduction (ou l'extraction) des bio-réipients est effectuée de la manière indiquée sur la Figure 4 par l'intermédiaire du sas 25 en forme de fente. Le sas 25, de même que l'arbre d'entraînement 15, est placé dans un canal d'air chaud 26, qui est pourvu d'un dispositif supplémentaire servant à retenir le froid. Cette isolation frigorifique supplémentaire peut être enlevée temporairement au moment de l'introduction ou de l'extraction des bio-réipients.

Le mouvement du dispositif de circulation ne doit, dans ce cas, absolument pas être effectué obligatoirement vers le haut ou vers le bas, mais il est possible par exemple de produire un mouvement de va-et-vient en forme de serpent.

Egalement, dans cette cuve de réfrigération, la position ainsi que l'entrée et la sortie des bio-réipients sont avantageusement mémorisées dans une banque de données. L'entrée, la sortie et le positionnement des bio-réipients, toutes les traversées ainsi que le système supérieur de refroidissement 14, peuvent être appliqués, en correspondance à l'agencement de la cuve de réfrigération

cyindrique décrit ci-dessus, également à cette cuve de réfrigération de forme parallélépipédique.

- Bien entendu, la présente invention n'est nullement limitée aux modes de réalisation décrits et représentés; elle est susceptible de nombreuses
- 5 variantes accessibles de l'homme de l'art, suivant les applications envisagées et sans que l'on ne s'écarte de l'esprit de l'invention.

REVENDEICATIONS

- 1.- Procédé pour stocker des substances biologiques, congelées dans des bio-récipients, à des températures inférieures à 200 K dans une cuve de réfrigération close, caractérisé en ce qu'on fait déplacer les substances biologiques, à l'aide d'un dispositif de circulation, uniformément le long d'un trajet fermé dans la cuve de réfrigération.
- 2.- Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que les bio-récipients sont placés, au début du stockage, par l'intermédiaire d'un sas présentant une forme appropriée, dans des supports du dispositif de circulation et sont à nouveau sortis, en cas de besoin, par l'intermédiaire du sas.
- 3.- Procédé selon la revendication 2, caractérisé en ce que, pour l'introduction et l'extraction des bio-récipients, leur position sur le dispositif de circulation est mémorisée dans une banque de donnée et est transférée par l'intermédiaire d'un dispositif de commande dans la zone du sas.
- 4.- Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce qu'un agent réfrigérant destiné à assurer un refroidissement direct ou indirect est introduit dans le volume intérieur de la cuve de réfrigération d'une manière réglée.
- 5.- Procédé selon la revendication 4, caractérisé en ce que l'agent réfrigérant est un gaz liquéfié bouillant à basse température, de préférence de l'azote liquéfié.
- 6.- Appareil pour la mise en oeuvre du procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce qu'il comprend une cuve de réfrigération (1) pourvue d'un dispositif de circulation (6a, 6b, 19, 20) entraîné par un moteur placé à l'extérieur et comportant des supports (11, 24) pour des bio-récipients (12), d'un sas (13, 25) placé dans la zone supérieure de la cuve de réfrigération et dont la forme est adaptée au profil de section droite des bio-récipients (12), ainsi que de serpentins de refroidissement (14) placés dans la partie supérieure de la cuve de réfrigération.
- 7.- Appareil selon la revendication 6, caractérisé en ce qu'il est prévu des arrêtoirs (23) pour le positionnement des supports (24) des bio-récipients (12).
- 8.- Appareil selon la revendication 6 ou 7, caractérisé en ce que les bio-récipients (12) ont une forme adaptée à celle du support.
- 9.- Appareil selon l'une quelconque des revendications 6 à 8, caractérisé en ce que la cuve de réfrigération (1) a une forme cylindrique et allongée horizontalement.

10.- Appareil selon l'une quelconque des revendications 6 à 9, caracté-
risé en ce que le dispositif de circulation est agencé sous forme d'une bande
transporteuse (6a, 6b) et est monté sur un arbre d'entraînement (2) disposé
coaxialement par rapport à l'axe de la cuve de réfrigération, la bande
5 transporteuse (6a, 6b) comportant un mécanisme d'entraînement (8) qui est
placé à l'extrémité de la cuve dans une position située verticalement en
haut.

11.- Appareil selon la revendication 10, caractérisé en ce que la bande
transporteuse se compose de différents plateaux rigides, et en ce qu'il est
10 prévu sur chaque plateau au moins un support (11) pour les bio-récipients (12).

12.- Appareil selon l'une quelconque des revendications 6 à 8, caracté-
risé en ce que la cuve de réfrigération a une forme parallélépipédique et
comporte, dans sa zone supérieure, un canal d'air chaud (26) dans lequel passe
l'arbre d'entraînement (15) du dispositif de circulation (19, 20, 22).

15 13.- Appareil selon la revendication 12, caractérisé en ce que la cuve
de réfrigération comporte un dispositif d'entraînement sans fin se composant
de deux éléments transporteurs (19, 20) placés l'un en regard de l'autre,
entraînés en synchronisme et reliés entre eux par des éléments transversaux
(22), qui sont placés l'un derrière l'autre à des intervalles réglables en
20 fonction de la grosseur des bio-récipients et qui comportent des supports
(24) pour les bio-récipients.

14.- Appareil selon la revendication 13, caractérisé en ce que les
éléments transversaux (22) sont agencés sous la forme de chaînes ou de
bandes comportant des crochets ou des oreilles (23, 24) servant de supports, ou
25 sont sous forme de panneaux avec moyens de manoeuvre des bio-récipients.

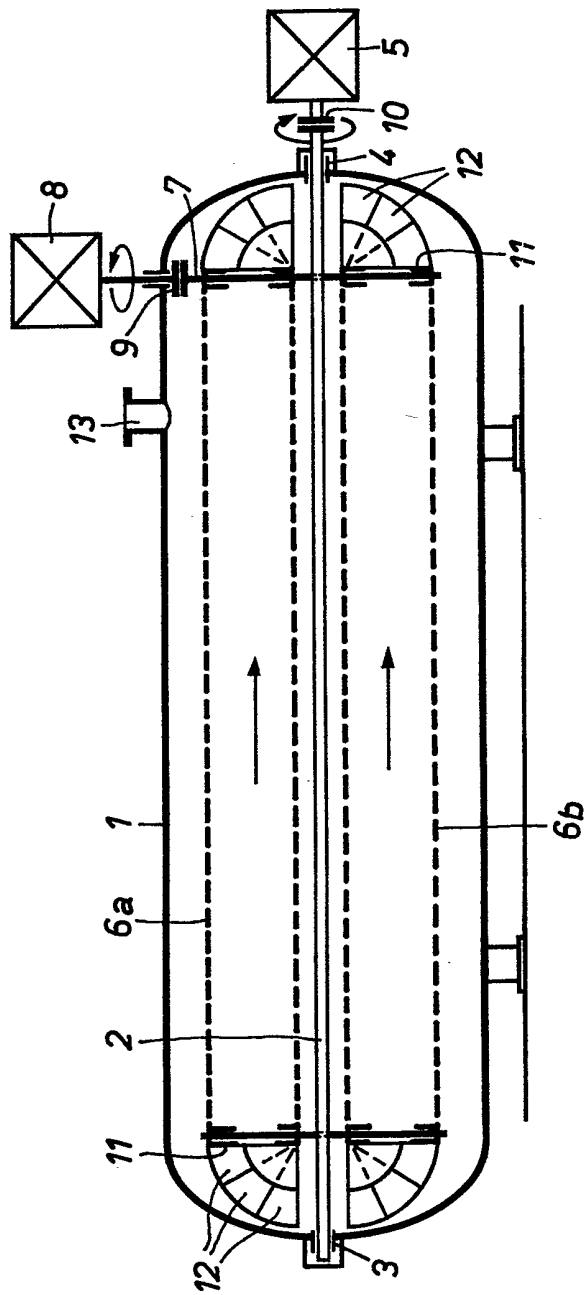


Fig. 1

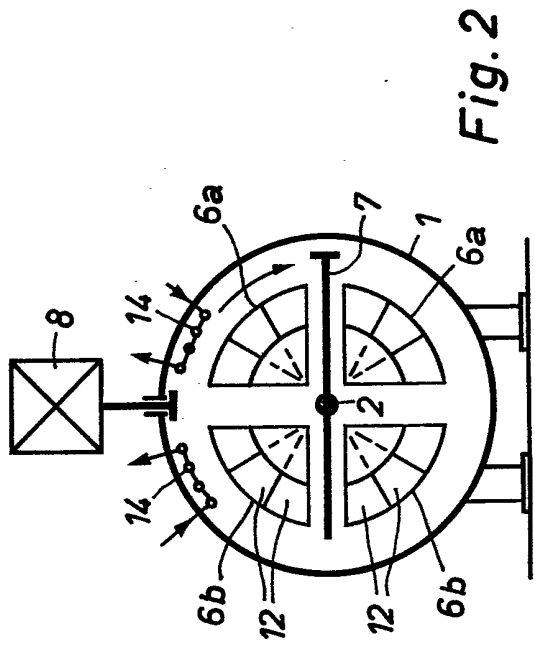


Fig. 2

