

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

PARIS

①1 N° de publication :

**2 618 452**

(à n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction)

②1 N° d'enregistrement national :

**87 10359**

⑤1 Int Cl<sup>4</sup> : C 12 M 1/24.

①2

## DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 22 juillet 1987.

③0 Priorité :

④3 Date de la mise à disposition du public de la  
demande : BOPI « Brevets » n° 4 du 27 janvier 1989.

⑥0 Références à d'autres documents nationaux appa-  
rentés :

⑦1 Demandeur(s) : Robert CASSOU, Maurice CASSOU et  
Bertrand CASSOU. — FR.

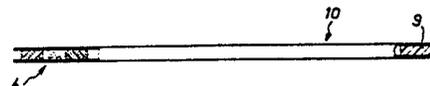
⑦2 Inventeur(s) : Robert Cassou ; Joseph Henry.

⑦3 Titulaire(s) :

⑦4 Mandataire(s) : Cabinet Bonnet-Thirion et G. Foldés.

⑤4 Paillettes pour la conservation de petites quantités de substances notamment biologiques.

⑤7 Paillette pour la conservation de petites quantités de substances de manipulations délicates ou dangereuses, notamment d'échantillons biologiques, du genre se composant d'un segment 8 de tube muni à l'intérieur vers l'une de ses deux extrémités, dite première extrémité 2, d'un premier bouchon 4 tripartite initialement perméable aux gaz, ledit bouchon étant constitué par deux tampons d'une substance fibreuse qui enserrant une poudre susceptible de se transformer, au contact d'un liquide, en une pâte ou gel imperméable adhérent à la paroi du tube en créant un bouchon étanche dont la disposition vers l'autre extrémité, dite seconde extrémité 3, comporte un deuxième bouchon 9 en élastomère qui obture le tube d'une manière étanche même après une ou plusieurs piqûres d'une aiguille creuse amovible, le premier bouchon 4 tripartite pouvant être éventuellement précédé d'un système d'obturation complémentaire rigide ou élastique.



FR 2 618 452 - A1

D

"Paillettes pour la conservation de petites quantités de substances notamment biologiques"

La présente invention concerne des paillettes du genre de celles utilisées pour la conservation de petites quantités dosées de liquides biologiques, en particulier aux paillettes universellement connues à ce jour sous la dénomination "paillettes françaises".

Telles que décrites pour la première fois dans le brevet français 995 878, ces paillettes se présentent sous la forme d'un fin tube allongé bouché à l'une de ses extrémités par un bouchon tripartite contenant une poudre neutre susceptible, au contact du liquide à conserver, de se transformer en un gel imperméable adhérent à la paroi du tube et durcissant au contact de l'air. L'autre extrémité de la paillette demeure normalement ouverte pour l'introduction du liquide à conserver, généralement par aspiration exercée à travers le bouchon tripartite.

Pour mettre le liquide chargé dans le tube à l'abri de toute contamination, l'extrémité ouverte doit naturellement être obturée et l'on dispose à cet effet de diverses possibilités :

- obturation par bouchage,
- soudage, par exemple aux ultrasons,
- application de la technique décrite au brevet précité consistant à tremper l'extrémité à obturer dans une poudre analogue à celle utilisée dans le bouchon tripartite, etc...

Dans tous les cas, il importe de ménager dans le volume confiné à l'intérieur de la paillette une bulle d'air de dimensions suffisantes pour absorber les variations de volume qu'entraînent les variations de température liées aux techniques de conservation cryogéniques.

Il y a là, une source de complications dans la manutention des paillettes lors de leur chargement.

Par ailleurs, en raison des besoins de plus en plus fréquents de stockage d'échantillons biologiques particulièrement dangereux, le besoin est apparu d'un renforcement de la protection contre tous risques de contamination des opérateurs et de l'environnement.

La présente invention concerne la création d'une paillette offrant une haute protection contre tous risques de contamination tout en se prêtant à une manipulation simple, commode et sûre avec gain de volume de stockage et préidentification individualisée.

La présente invention a ainsi pour objet une paillette pour la conservation de petites quantités de substances, notamment d'échantillons biologiques, ceux du genre se composant d'un segment de tube muni à l'intérieur vers l'une de ses deux extrémités, dite première extrémité, d'un premier bouchon tripartite initialement perméable aux gaz, ledit bouchon étant constitué par deux tampons d'une substance fibreuse qui ensèrent une poudre susceptible de se transformer au contact d'un liquide, en une pâte ou gel imperméable adhérent à la paroi du tube en créant un bouchon étanche, et qui comporte vers l'autre extrémité, dite seconde extrémité, d'un deuxième bouchon en élastomère obturant le tube d'une manière étanche même après une ou plusieurs piqûres d'une aiguille creuse amovible.

Les caractéristiques et avantages de l'invention ressortiront d'ailleurs de la description qui va suivre, à titre d'exemples, en référence aux dessins annexés sur lesquels :

la figure 1 représente, en coupe axiale partielle une paillette de l'art antérieur ;

les figures 2 à 8 représentent chaque fois, en coupe axiale partielle des modes de réalisation d'une paillette selon la présente invention ;

la figure 9 représente une vue schématique d'un appareil destiné à la fabrication des paillettes représentées aux figures 5, 7 et 8.

La figure 1 représente une paillette de l'art antérieur.

Elle se compose d'un tube 1 cylindrique ouvert à ses deux extrémités 2, 3. Vers la première extrémité 2, se trouve entièrement à l'intérieur du tube, un bouchon tripartite 4.

Ce bouchon 4 est constitué par un segment 5 d'une poudre spéciale entre 2 tampons 6,7 d'une substance fibreuse perméable au fluide qui se présente ici sous la forme d'une mèche tressée. La poudre spéciale du segment 5 initialement poreuse aux gaz a la propriété de se transformer rapidement au contact d'un liquide en une pâte ou gel imperméable adhérant à la paroi du tube et durcissant au contact de l'air, formant ainsi un bouchon hermétique aux fluides. Le tube de l'art antérieur ne présente ainsi qu'un seul bouchon. Le remplissage du segment 8 du tube 1 par un liquide ne peut avoir lieu que par l'extrémité ouverte 3 à cause de la fonction même du bouchon tripartite.

La figure 2 représente une paillette selon l'invention qui par rapport à la paillette de l'art antérieur comporte vers la seconde extrémité 3 du tube 1, à l'intérieur, un bouchon 9 en élastomère. Ce bouchon a une longueur limitée à une faible fraction de la longueur totale du tube par exemple d'un vingtième de celle-ci.

Ce bouchon 9 est constitué d'un élastomère qui adhère à la paroi intérieure du tube correspondante et qui a la propriété de se laisser traverser de part en part par une aiguille creuse d'injection et création d'une sorte de canal qui enserre le corps de l'aiguille d'une manière étanche. Ce perçage momentané permet de faire communiquer l'intérieur du tube avec l'extérieur via le bouchon 9 en élastomère, et donc d'opérer des transferts de matière via le conduit de l'aiguille entre l'intérieur du tube et l'extérieur. Lorsque ces transferts sont terminés l'aiguille creuse est retirée, et l'élastomère est suffisamment élastique pour que le

canal de passage de l'aiguille se referme hermétiquement. Avantageusement l'élastomère aura une dureté finale Shore comprise entre 40 et 50.

L'élastomère peut également être un caoutchouc thermoplastique choisi parmi les CARIFLEX TR (marque déposée de la Société Shell) le Solprene (marque déposée de la Société Philips). L'Europrene Sol T (marque déposée de la Société Anic) ou un élastomère à un ou deux composants, vulcanisable à température ambiante comme le mastic silicone translucide Rhodorsil (marque déposée de la Société Rhône-Poulenc), le Silopren (marque déposée de la Société Bayer) ou le Silicone Coulable (marque déposée de la Société Rezolin).

Le bouchon 9 en élastomère peut être mis en place à l'intérieur du tube par bouchage classique, à l'aide d'un bouchon préformé, par enfoncement à force à l'intérieur du tube 1. Le tube est maintenu pendant cette opération dans un canon de soutien qui l'enserme étroitement pour éviter toute déformation ou flambage.

Un autre procédé préféré consiste à injecter à l'intérieur du tube vers son extrémité 3 une quantité dosée d'un élastomère thermoplastique ou se vulcanisant à froid.

La figure 3 représente une paillette selon l'invention qui comporte au voisinage immédiat du bouchon 9 du côté vers l'intérieur du tube, un étranglement circulaire 11 du tube et de l'autre côté un ourlet 12 globalement circulaire situé à l'extrémité du tube, ces restrictions de diamètre du tube ont pour fonction de parfaire le maintien longitudinal du bouchon 9, tout en permettant le passage des aiguilles creuses.

L'étranglement 11 pourra être produit par l'action d'un conformateur à molette et l'ourlet 12 par déformation à chaud de l'extrémité du tube au moyen d'un conformateur rotatif.

Une forme de réalisation non représentée, variante de la réalisation de la figure 3 est constituée par un tube 1 où le bouchon 9 est disposé plus à l'intérieur du tube entre deux étranglements analogues à celui 11 de la figure 3. Il n'est pas alors utile de prévoir un ourlet 12 et la partie du tube vers l'extrémité 3 peut recevoir un bouchon dur, amovible de surprotection.

Dans d'autres formes de réalisations non représentées variantes de la réalisation de la figure 3 l'étranglement 11 est absent, mais l'ourlet 12 reste présent. De même l'étranglement 11 peut être présent avec l'ourlet 12 absent.

La figure 4 représente une paillette où le bouchon 4 tripartite a été déplacé vers l'intérieur du tube à la fabrication pour ménager la place nécessaire pour enfoncer, après remplissage du tube par la substance à conserver, un bouchon amovible 13 en matériau rigide. La partie cylindrique 14 de ce bouchon 13 qui dépasse la paillette a avantageusement un diamètre égal à celui extérieur du tube pour ne pas augmenter l'encombrement radial de la paillette au stockage.

Le matériau rigide peut être notamment en PVC ou en polyamide.

La figure 5 représente une paillette selon l'invention où a été installée par perforation du deuxième bouchon 9 à la fabrication en usine une aiguille creuse 15 à pointe biseautée et équipée d'un embout tronconique mâle 16 adapté à se raccorder à un cône Luer femelle d'une aiguille d'injection classique.

Le tronc de cône 16 est pourvu d'une garde 17 destinée à faciliter l'extraction ultérieure de l'aiguille du bouchon 9 et également à solidariser et à désolidariser le raccord mâle-femelle du tronc de cône 16 avec une aiguille d'injection classique. Une pince spéciale peut être prévue pour réaliser ces opérations. La garde 17 n'est cependant pas indispensable. La pointe

biseauté de l'aiguille 15 dépasse à l'intérieur du tube le bouchon d'une certaine longueur . Ce dépassement est prévu en cas d'injection de liquide par l'aiguille 15 pour obtenir la création d'une bulle de gaz dont la longueur sera d'autant plus importante que la pointe de l'aiguille 15 s'avance à l'intérieur du tube. En effet, lors d'un chargement du tube par un liquide, l'aspiration par l'extrémité 2 du tube crée une sorte de piston de liquide qui va en grossissant et qui se déplace vers le bouchon tripartite jusqu'à atteindre la poudre du segment 5, ce qui arrête par colmatage l'aspiration. Il reste ainsi une bulle de gaz située entre la pointe biseauté de l'aiguille et le bouchon 9. Le gaz est normalement de l'air, mais peut être un autre gaz inerte si le tube a été rempli d'un autre gaz.

La paillette équipée de l'aiguille 15 selon la figure 5 peut être également réalisée par l'utilisateur au moment où il en a besoin à partir d'une paillette équipée d'un bouchon 9 par perforation manuelle ou en se servant d'un outil aidant la pénétration axiale de l'aiguille 15 livrée séparément.

La figure 6 représente une paillette selon l'invention où l'aiguille 15 précédente de la figure 5 a été remplacée par une aiguille classique 18. Un bicon "double mâle Luer" non représenté permet de relier cette aiguille creuse classique à une autre aiguille creuse classique.

La figure 7 représente une paillette selon l'invention équipée à son extrémité 3 d'une aiguille 15 équipée d'un embout mâle et vers son autre extrémité 2 d'un troisième bouchon 19 en élastomère ayant les mêmes propriétés que le bouchon 9 précédemment décrit.

Ce mode de réalisation de la paillette ne comporte qu'un ourlet 20, mais il est possible de prévoir un étranglement comme celui 11 de la figure 3. Le bouchon tripartite 4 a été déplacé à la fabrication

vers l'intérieur du tube pour laisser la place au bouchon 19. Un espace 21 rempli de gaz notamment d'air existe entre le bouchon 19 et le bouchon tripartite 4. Cet espace est ménagé pour permettre la sortie de la pointe biseautée qui viendra traverser de part en part le bouchon 19. Cet espace 21 n'est pas cependant en général indispensable.

La figure 8 représente une forme de réalisation de la paillette selon l'invention où ont été installées en usine une aiguille classique 22 qui traverse le bouchon 19 et une aiguille 23 à embout mâle en tronc de cône sans garde.

La figure 9 représente d'une manière schématique un appareil destiné à la mise en place automatique de l'aiguille creuse à embout mâle 15 ou 23 dans une paillette selon l'invention avec guidage selon l'axe du tube 1.

L'appareil se compose d'une partie 24 qui maintient dans une gouttière le tube 1 et d'une partie 25 qui maintient l'aiguille 15 selon l'axe du tube. Une translation de 25 se rapprochant de 24 a enfoncé l'aiguille 15 dans la position désirée.

On a décrit ainsi quelques formes de réalisations possibles. Il est bien entendu que ces formes de réalisations peuvent se combiner entre elles pour donner des formes de réalisations qui n'ont pas été représentées, mais qui font partie intégrante de l'invention.

Ainsi par exemple la forme de réalisation de la partie à droite de la paillette de la figure 3 comportant un bouchon 9 en élastomère, un étranglement circulaire 11 et un ourlet 12 peut se retrouver à gauche de la paillette de la figure 7 à la place de l'ourlet 20 et du bouchon 19. De même d'une manière générale les aiguilles peuvent être à cône Luer mâle ou femelle.

Il est également possible d'utiliser toutes sortes d'aiguilles creuses possédant une ou deux

pointes, avec garde ou sans garde, avec cône ou sans cône installées en usine ou livrées séparément.

Toutes ces paillettes précédentes sont déposées pour la vente dans des conditions stériles sous emballages individuels étanches en atmosphère stérile.

Une paillette équipée comme à la figure 7 d'un bouchon élastomère 19 non équipé d'une aiguille et d'un bouchon 9 en élastomère non équipé d'une aiguille comme à la figure 3 permet la fabrication en usine d'une paillette qui contient entre ses deux bouchons 9, 19 une atmosphère inerte que l'on peut choisir notamment parmi l'air, le gaz carbonique, l'azote, les gaz rares, ou même un milieu de culture confiné entre deux bulles de gaz.

Le fonctionnement général des paillettes selon l'invention sera maintenant décrit.

Du côté du bouchon tripartite il est possible de faire arriver des gaz notamment air,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{N}_2$ , gaz rares tant que la poudre du segment 5 n'a pas réagi avec un liquide ou de l'eau. Ce gaz peut pénétrer à l'intérieur du tube si l'obturation du tube a été momentanément levée par la présence d'une aiguille équipant l'autre extrémité 3 de la paillette et traversant un bouchon élastomère. L'introduction d'un liquide aqueux par l'extrémité 2 a pour effet d'obturer le bouchon tripartite. Il est possible également d'aspirer le contenu gazeux du tube au travers du bouchon tripartite 4 non transformé si l'obturation de l'autre côté est momentanément levée.

Du côté de l'extrémité 3 il est possible d'introduire ou de recueillir gaz et liquides variés d'une manière séquentielle.

L'arrachement des aiguilles de leur bouchon élastomère recrée une étanchéité qui peut être encore protégée à l'aide de bouchons durs comme celui 13 décrit à la figure 4. Les aiguilles sont d'un emploi unique et jetées après utilisation dans des conditions définies d'après les risques de contamination et de toxicité.

Ainsi les paillettes selon l'invention permettent le stockage en paillette de doses de toute substance non agressives chimiquement pour les composants du tube, sous forme liquide, gazeuse, ou particulaire. Les particules doivent être suffisamment fines pour pouvoir s'écouler à travers le canal d'une aiguille.

Ces paillettes conviennent parfaitement au stockage et conservation par cryogénie de liquides biologiques, cellules, gamètes animaux ou végétaux, microbes, virus.

Comme dans les paillettes de l'art antérieur il est possible de recueillir le contenu de la paillette en coupant le tube par un outil tranchant d'une manière perpendiculaire à l'axe dans une zone du tube voisine, mais non en vis-à-vis du bouchon obturant l'extrémité 3 du tube. Mais pour les produits toxiques ou dangereux il est préférable de couper le tube et le bouchon 9 en élastomère simultanément de façon à laisser un reste de bouchon sous forme d'un opercule plus ou moins mince. Si le tube comporte un bouchon 19 en élastomère bouchant la première extrémité 2 du tube il est possible de couper le tube dans l'espace 21 compris entre le bouchon 19 en élastomère et le bouchon tripartite 4. Le bouchon tripartite peut alors être poussé par une tige ce qui provoque l'éjection dudit opercule et la sortie du contenu de la paillette. On peut par exemple utiliser un pistolet classique d'insémination comme celui décrit notamment dans le brevet français 1 224 918.

Une autre façon de recueillir, dans de bonnes conditions d'asepsie et de protection de l'utilisateur, le contenu du tube consiste à retranspercer le bouchon 9 en élastomère de la seconde extrémité 3 par une aiguille en la faisant dépasser cette fois très peu du bouchon en direction de l'intérieur du tube, de brancher cette aiguille par un conduit à un réceptacle, puis d'utiliser le bouchon tripartite comme un piston comme cela est décrit ci-dessus.

Ces nouvelles paillettes permettent la manipulation et la conservation de petites doses de produits chimiquement ou biologiquement dangereux dans des conditions de protection très améliorées.

D'une manière réciproque ces nouvelles paillettes permettent la manipulation et la conservation de substances diverses, notamment biologiques dans des conditions d'asepsie améliorées.

Comme les paillettes de l'art antérieur les paillettes selon l'invention supportent de brutales transitions dans les deux sens entre  $-196^{\circ}\text{C}$  et environ  $34^{\circ}\text{C}$ . Tous les composants de la paillette sont par ailleurs choisis pour pouvoir supporter la stérilisation notamment par irradiation.

Les paillettes étant avantageusement réalisées, de manière déjà connue, dans un matériau de qualité cristal d'épaisseur de paroi d'environ 10/100 mm, leur transparence optique est telle qu'il est possible de regarder avec une loupe binoculaire ce qui se passe à l'intérieur de la paillette, en particulier dans le cas de gamètes, d'observer les premiers stades de développement d'embryons.

Bien entendu l'invention ne se limite pas aux formes de réalisation décrites et représentées, mais englobe toutes variantes d'exécution et/ou de réalisation.

REVENDEICATIONS

1. Paillette pour la conservation de petites quantités de substances, notamment d'échantillons biologiques, du genre se composant d'un segment (8) de tube muni à l'intérieur vers l'une de ses deux extrémités, dite première extrémité (2), d'un premier bouchon (4) tripartite initialement perméable aux gaz, ledit bouchon étant constitué par deux tampons d'une substance fibreuse qui ensèrent une poudre susceptible de se transformer, au contact d'un liquide, en une pâte ou gel imperméable adhérent à la paroi du tube en créant un bouchant étanche, caractérisée par la disposition vers l'autre extrémité, dite seconde extrémité (3), d'un deuxième bouchon (9) en élastomère qui obture le tube d'une manière étanche même après une ou plusieurs piqûres d'une aiguille creuse amovible.

2. Paillette selon la revendication 1, caractérisée en ce que la seconde extrémité (3) comporte un ourlet (12) de restriction du diamètre du tube.

3. Paillette selon la revendication 1 ou 2, caractérisée, par la disposition au voisinage immédiat du deuxième bouchon (9) d'au moins un étranglement circulaire (11) du tube.

4. Paillette selon l'une des revendication 1 à 3, caractérisée par le déplacement du bouchon (4) tripartite vers l'intérieur du tube pour ménager la place nécessaire pour enfoncer, après remplissage du tube de la substance à conserver, un bouchon amovible (13) en matériau rigide.

5. Paillette selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisée par l'installation, par perçage du deuxième bouchon (9), d'une aiguille creuse à embout mâle (15).

6. Paillette selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisée par l'installation, par perçage du deuxième bouchon (9), d'une aiguille creuse à embout femelle (18).

7. Paillette selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisée par la disposition d'un troisième bouchon (19) en élastomère vers la première extrémité (2) du tube.

8. Paillette selon la revendications 7, caractérisée par l'installation, par perforation du troisième bouchon (19) d'une aiguille creuse à embout femelle.

9. Paillette selon la revendication 7, caractérisée par l'installation par perforation du troisième bouchon (19) d'une aiguille creuse à embout mâle.

10. Paillette selon la revendication 1 à 9, caractérisée en ce que l'élastomère est choisi pour avoir une dureté finale Shore comprise entre 40 et 50.

11. Paillette selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, caractérisée en ce que l'élastomère est choisi parmi le groupe constitué par les caoutchoucs thermoplastiques et les élastomères vulcanisables à température ambiante.

12. Paillette selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, caractérisée en ce que la ou les aiguilles creuses peuvent comporter ou non un cône mâle ou femelle avec ou sans garde et être biseautée sur une ou deux extrémités.

