

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①1 N° de publication :

2 946 059

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

②1 N° d'enregistrement national :

09 02645

⑤1 Int Cl⁸ : C 12 Q 1/24 (2006.01)

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 02.06.09.

③0 Priorité :

④3 Date de mise à la disposition du public de la
demande : 03.12.10 Bulletin 10/48.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

⑥0 Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦1 Demandeur(s) : INTERLAB Société à responsabilité
limitée — FR.

⑦2 Inventeur(s) : JALENQUES EMMANUEL.

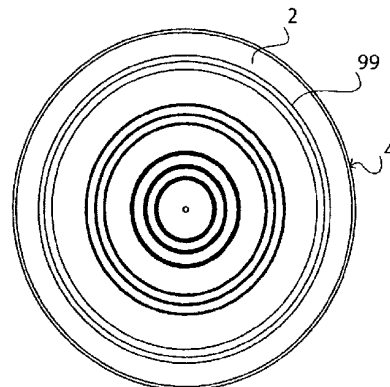
⑦3 Titulaire(s) : INTERLAB Société à responsabilité limi-
tée.

⑦4 Mandataire(s) : CABINET MOUTARD.

⑤4 PROCÉDE D'ENSEMENCEMENT D'UN SUBSTRAT DE CULTURE PAR UN AUTOMATE.

⑤7 La présente invention se rapporte à un procédé pour
ensemencer un substrat (2) contenu dans un boiter de Pétri
(4) avec un échantillon sensiblement liquide, caractérisé en
ce qu'avec l'échantillon, on trace sur le substrat un motif
comprenant au moins deux lignes (99) parallèles entre el-
les. De préférence, les lignes sont des cercles rassemblés
en plusieurs groupes, chaque groupe ayant une densité
d'échantillon respective.

Un tel procédé permet une lecture plus fiable et plus fa-
cile des résultats.



FR 2 946 059 - A1



5

10 La présente invention se rapporte au domaine des automates permettant l'ensemencement d'un substrat de culture avec un échantillon à analyser, généralement un échantillon sensiblement liquide.

Elle se rapporte plus particulièrement à un procédé d'ensemencement, plus particulièrement à un motif d'ensemencement d'un échantillon sur un
15 substrat.

Chaque échantillon est prélevé par l'automate dans un bac d'échantillon, à l'aide d'un stylet, puis réparti à la surface du substrat à l'aide du même stylet.

Dans les automates de l'art antérieur l'échantillon est ensemencé selon
20 un motif formant une spirale sur le substrat. Le motif est réalisé en déplaçant radialement le stylet à vitesse linéaire constante, alors que la boîte de Pétri tourne sur elle-même à vitesse angulaire constante. Une telle méthode est particulièrement avantageuse en ce qu'elle permet de faire diminuer progressivement la densité surfacique en échantillon à mesure ou l'on s'éloigne
25 du centre de la boîte. Cependant, l'interprétation des résultats est compliquée et nécessite des abaques particuliers à l'ensemenceur utilisé. Les risques d'erreur d'interprétation sont importants.

L'invention a pour but de proposer un procédé qui permette d'obtenir un résultat plus facilement et plus sûrement.

30

Selon l'invention, un procédé, pour ensemer un substrat avec un échantillon sensiblement liquide est caractérisé en ce qu'avec l'échantillon, on trace sur le substrat un motif comprenant au moins deux lignes parallèles entre elles. Ces lignes peuvent être droites ou courbes. Elles peuvent composer des formes, de préférence des formes homothétiques entre elles. Ces formes peuvent être des carrés.

Ces lignes peuvent en outre former au moins deux groupes, chaque groupe de lignes ayant une densité linéaire différente de chacun des autres groupes.

Les lignes peuvent aussi comprendre des arcs de cercle l'un concentrique à l'autre. Avantageusement, le motif comprend des groupes de un ou plusieurs arcs de plusieurs cercles radialement voisins, chaque groupe étant radialement éloigné l'un de l'autre.

Selon un premier mode de mise en œuvre, les arcs sont concentriques autour d'un axe on fait tourner le substrat autour de l'axe de sorte que tous les arcs de cercle du motif sont tracés à une vitesse angulaire identique et constante.

Selon un deuxième mode de mise en œuvre du procédé, les arcs sont concentriques autour d'un axe on fait tourner le substrat autour de l'axe de sorte que tous les arcs de cercle d'un même groupe sont tracés à une vitesse linéaire identique et constante.

Chaque arc de cercle peut former un cercle complet.

Plusieurs modes d'exécution de l'invention seront décrits ci-après, à titre d'exemples non limitatifs, en référence aux dessins annexés dans lesquels :

- la figure 1 illustre schématiquement le fonctionnement d'un automate d'ensemencement selon l'invention;
- la figure 2 est une coupe qui illustre schématiquement un dispositif selon l'invention pour l'approvisionnement de l'automate de la figure 1, ce dispositif comprenant un bras monté sur une tourelle rotative;

- la figure 3 est une demi-coupe qui illustre des moyens pour fixer un stylet à l'extrémité du bras de la figure 2;
- les figures 4 et 5 illustrent deux modes de mise en œuvre d'un procédé d'ensemencement selon l'invention;
- 5 - la figure 6 est une vue en coupe d'une zone stockage et de prélèvement pour un produit à ensemercer, dans l'automate de la figure 1;
- la figure 7 est une vue en coupe de moyens de nettoyage pour le stylet de la figure 3;
- La figure 8 est une vue similaire à celles des figures 4 et 5, dans
10 laquelle la boîte de Pétri est carrée et l'ensemencement a la forme de lignes droites parallèles entre elles; et,
- la figure 9 est une vue similaire à celle de la figure 8, dans laquelle l'ensemencement a la forme de carrés sensiblement homothétiques.

La figure 1 illustre un système d'automate pour ensemercer un substrat
15 2 avec un échantillon 3 à tester. Dans l'exemple illustré, le substrat est contenu dans une boîte de Pétri 4, sous forme d'un gel, et le produit 3 est sensiblement liquide.

Le système illustré comprend une zone d'approvisionnement 11 pour l'échantillon à tester et une zone d'ensemencement 12. Il comprend des moyens
20 10 pour prélever l'échantillon 3 dans la zone d'approvisionnement et le déposer, au moins en partie, à la surface du substrat 2. L'automate comprend un plateau 6, tournant autour d'un axe vertical X6. Le plateau 6 constitue un support pour la boîte de Pétri 4. Il est au moins indirectement entraîné en rotation autour de son axe X6 par un moteur 7.

25 Un procédé d'ensemencement selon l'invention sera plus particulièrement décrit en référence aux figures 4 et 5.

Les moyens de prélèvement comprennent une tourelle 13, mobile en rotation autour d'un axe vertical X13, sous l'action d'un moteur 15. La tourelle est munie d'un bras 14. Le bras 14 est mobile dans un plan vertical,
30 relativement à la tourelle 13, en rotation autour d'un axe X14 sensiblement

horizontal porté par la tourelle 13. Une extrémité distale 16 du bras 14 porte un tube 17, souple, dont une extrémité 18, s'étendant vers le bas depuis le bras 16, forme un stylet 18. La tourelle sera décrite plus en détails en référence aux figures 2 et 3. De préférence, le tube est réalisé en un matériau peu adhérent, par exemple du polytétrafluoroéthylène (PTFE). Cette disposition est particulièrement avantageuse en ce qu'elle limite les adhérences, notamment lorsqu'un échantillon a une consistance relativement épaisse et collante.

L'automate de la figure 1 comprend en outre des moyens de nettoyage 20 pour le stylet. Dans l'exemple illustré, les moyens de nettoyage 20 comprennent un bac à déversement 21, des moyens de vidange 22, pour l'évacuation des effluents de nettoyage depuis le bac à déversement 21 et un vase de rétention 23 pour les effluents ainsi évacués par pompage. Dans l'exemple illustré, les moyens de vidange 22 comprennent une pompe à membrane. Le vase de rétention est fermé par un bouchon 24. Le bouchon est percé d'un évent 25, ayant la forme d'un tube. Ce tube 25 est muni d'un filtre 26 de 0,2 μm , de sorte que l'atmosphère est protégée de toute éventuelle contamination microbienne. Le bac à déversement 21 et son utilisation seront plus particulièrement décrits en référence à la figure 7.

L'automate de la figure 4 comprend aussi des réserves 31 et 32 prévues pour contenir des liquides pour le nettoyage du stylet 18. De préférence chacune de ces réserves est amovible et peut être remplacée par une pleine, chaque fois que nécessaire. Chaque réserve 31,32 a la forme d'une bouteille fermée par un bouchon 33 muni d'une prise d'air 34 pour maintenir l'intérieur de la bouteille à la pression atmosphérique à mesure du prélèvement du liquide qu'elle contient. Chaque prise d'air 34 est munie d'un filtre 35, par exemple d'un filtre 0,2 μm , afin d'assurer la stérilité du liquide contenue dans la réserve correspondante. Une première réserve 31, parmi les deux réserves contient un produit désinfectant 36, de l'alcool 36 dans l'exemple illustré. La deuxième réserve 37 contient un liquide de rinçage 37, de l'eau distillée 37 dans l'exemple illustré.

L'automate comprend en outre des moyens de pompage 40 et des moyens de distribution 41 pour les différents fluides 3, 36, 37 manipulés par l'automate 1. Dans l'exemple illustré, les moyens de pompage comprennent une seringue 40 formée d'un cylindre 42 dans lequel coulisse un piston 43. Le piston est entraîné par un moteur 44, de préférence un moteur pas à pas.

Les moyens de distribution sont ici schématisés par trois vannes 50, 51. Une première vanne 50 parmi les trois vannes comprend deux positions, la première position, illustrée à la figure, permet d'aspirer ou de rejeter un fluide au travers du tube 17. La deuxième position de la première vanne 50 permet de mettre en prise la seringue 40 avec une conduite 52 d'approvisionnement en liquide de nettoyage 36,37. La conduite 52 comprend deux branches 521 et 522, chacune en prise avec une réserve respective 31,32 de liquide de nettoyage.

Chacune des deuxième et troisième vannes 51 est affectée à une réserve respective 31,32 de liquide de nettoyage 36,37. Dans une première position ouverte 51A chaque vanne 51 permet l'écoulement du liquide respectif dans la conduite 52. Dans une deuxième position fermée 51B, illustrée à la figure 1, chaque vanne 51 empêche l'écoulement du liquide respectif dans la conduite 52.

Un capteur 55 est disposé sur chacune des branches 521,522. Le capteur 55 est prévu pour détecter l'absence ou la présence du liquide correspondant dans la branche. L'absence de liquide dans l'une des branches impose l'arrêt de l'automate 1 et le remplacement ou le remplissage de la réserve correspondante.

Il est préférable que l'échantillon prélevé dans le tube soit maintenu suffisamment en aval de la seringue 40, de sorte que celle-ci ne puisse être contaminée par l'échantillon. Ainsi, le tube est prévu d'une longueur suffisante pour que son volume intérieur puisse contenir un échantillon suffisant pour l'ensemencement. Pour permettre l'arrangement de cette longueur de tube à l'intérieur de l'automate 1, celui-ci comprend un rouleau 57 autour duquel est

enroulée une portion 17A du tube 17. De préférence, le rouleau 57 comprend une forme en pas de vis le long de laquelle la portion 17A de tube est disposée, et, de préférence fixée par encliquetage à l'intérieur du pas de vis.

Ainsi disposé, le tube (17) est apparent et accessible sur toute sa
5 longueur. Il est monté par emboitement et encliquetage, de sorte qu'il est démontable sans outillage.

Dans l'exemple illustré, l'automate comprend un corps en tôle inoxydable, sur laquelle sont montés les différents éléments qui le composent. Le corps n'est pas représenté à la figure 1. Le corps comprend notamment une
10 plateforme sensiblement horizontale 62, notamment visible aux figures 2, 6, 7 et 8.

On va maintenant décrire, de façon générale un cycle d'ensemencement.

Un échantillon est d'abord approvisionné dans la zone
15 d'approvisionnement, par exemple dans un récipient 60.

Le bras 14 est amené dans une position de prélèvement 14A de sorte que le stylet 18 soit au-dessus du récipient 60. Le bras 14 est ensuite abaissé pour que le stylet plonge d'une profondeur PA dans l'échantillon. La vanne 50 étant dans la position 50A, une partie suffisante de l'échantillon est aspirée
20 dans le tube à l'aide de la seringue 40.

Le bras est ensuite relevé, puis amené dans une position 14B par une rotation de la tourelle 13 autour de son axe X13, particulièrement illustrée à la figure 1, pour l'ensemencement du substrat 2. Le bras 14 est rabaisé de sorte que la pointe du stylet soit suffisamment proche du substrat pour y déposer
25 l'échantillon avec la précision souhaitée. Par une combinaison de mouvements rotatifs de la tourelle 13 autour de son axe X13 et du plateau 6 autour de son axe X6, l'échantillon est automatiquement déposé selon un motif préalablement défini. Le motif peut être une spirale ou une combinaison de points et/ou de cercles ou d'arcs de cercle concentriques, tel que cela est
30 illustré en référence aux figures 4 et 5.

Une fois l'ensemencement terminé, le bras est relevé, puis amené dans une position de nettoyage 14C par une rotation de la tourelle 13 autour de son axe X13, pour le nettoyage du stylet. Le surplus d'échantillon encore présent dans le tube en est expulsé dans le bac à déversement 21, à l'aide de la seringue
5 40, la première vanne 50 étant toujours dans la position 50A. On abaisse le bras 14, de sorte que le stylet 18 plonge dans le bac à déversement.

La vanne 50 est mise dans la position 50 B, la troisième vanne 51 est maintenue fermée, en position 51B, la deuxième vanne 51 est mise dans la position 51A, et la seringue est actionnée de sorte qu'elle se remplit d'alcool
10 36. Ensuite, les positions de la première vanne 50 et de la deuxième vanne 51 sont inversées, et le piston 43 est repoussé à l'intérieur du cylindre 42, de sorte que l'alcool 36 est expulsé dans le bac 21, en parcourant toute la longueur du tube 17. L'intérieur du tube 17 est ainsi entièrement désinfecté. L'extérieur du tube, à l'endroit du stylet est lui-même désinfecté à mesure où le bac 21 se
15 remplit d'alcool.

La vanne 50 est remise dans la position 50 B, la deuxième vanne 51 est maintenue fermée, en position 51B, la troisième vanne 51 est mise dans la position 51A, et la seringue est actionnée de sorte qu'elle se remplit d'eau distillée 37. Ensuite, les positions de la première vanne 50 et de la troisième
20 vanne 51 sont inversées, et le piston 43 est repoussé à l'intérieur du cylindre 42, de sorte que l'eau distillée est expulsé dans le bac 21, en parcourant toute la longueur du tube 17. L'intérieur du tube 17 est ainsi entièrement rincé. L'extérieur du tube, à l'endroit du stylet est lui-même rincé à mesure où le bac
21 se remplit d'eau distillée 37.

25 Un nouveau cycle peut alors être entamé.

L'échantillon étant maintenu en aval de la seringue, celle-ci et la partie amont du tube ne contiennent alternativement que de l'alcool 36 ou de l'eau 37. C'est l'eau résiduelle qui sert de piston liquide entre le piston 43 de la seringue 40 et l'échantillon, lorsque l'échantillon est manipulé, d'abord pour le prélever
30 et ensuite pour l'ensemencer.

On va maintenant décrire la tourelle 13 en référence à la figure 2. La tourelle comprend une base 61 sensiblement en forme de disque et équipée d'une jupe 610 périphérique. La plateforme 62 comprend un orifice circulaire 63. Un relevé 64 est formé dans la plateforme 62 en périphérie de l'orifice 63.

5 La jupe 610 est prévue pour venir en recouvrement du relevé 63, de sorte qu'ils contribuent ensemble à éviter la pénétration de liquide et/ou de solide, à l'intérieur 65 du corps de l'automate 1.

Des moyens d'entraînement 66 s'étendent sous la base vers l'intérieur du corps. Ils sont liés, au moins indirectement, au moteur 15 de la tourelle 13.

10 La base porte en outre une chape 67 définissant l'axe horizontal X14 de basculement du bras 14, et portant le bras. A l'opposé de son extrémité distale 16, relativement à l'axe X14, l'arbre comprend une extrémité proximale 68 sur laquelle est fixé un contrepoids 69, de sorte que le basculement du bras se fait sensiblement sans effort. L'extrémité proximale 68 et le contrepoids 69 sont à

15 l'aplomb de la base 61.

Un vérin 71 s'étend verticalement vers le haut depuis la base 61. Le vérin est disposé à proximité de la chape 67, entre la chape et l'extrémité distale 16. Le bras repose par son propre poids sur l'extrémité supérieure 72, mobile verticalement, du vérin 71. Ainsi, le bras 14 est mobile dans un plan

20 vertical porté par la tourelle 13. L'extrémité distale 16 du bras 14 se relève ou s'abaisse avec l'extrémité 72 du vérin 71. Un capot hémisphérique 73 vient recouvrir et protéger l'intérieur de la tourelle 73.

La figure 3 décrit un montage particulier pour fixer le tube à l'extrémité 16 du bras 14. Ce montage comprend les éléments suivants, chacun

25 sensiblement de révolution, et montés coaxialement les uns aux autres:

- un logement 75 traversant de haut en bas l'extrémité 16;
- une bague 76 prévue pour être collée, sur le tube, la partie du tube dépassant en aval de la bague formant le stylet 18;
- un écrou 77 pour maintenir la bague dans le logement.

Le logement 75 comprend, de bas en haut, une portion cylindrique 81 de petit diamètre, suffisant pour y passer le stylet 12, puis une portion conique allant en s'élargissant 82, et une portion cylindrique de grand diamètre 84 formant avec la portion conique un épaulement 85. L'intérieur de la portion 85 est taraudé.

La bague 76 comprend, d'aval en amont, une portion conique 81 allant en s'élargissant progressivement selon un angle identique à la portion 82 du logement 75. Les portions coniques sont prévues pour coopérer entre elles afin de positionner transversalement et longitudinalement la bague dans le logement 75, donc le stylet relativement à l'extrémité 16 du bras 14. Le plus grand diamètre de la portion 91 est supérieur au plus grand diamètre de la portion 82, de sorte que la portion 91 s'étende au-delà de la portion 82, à l'intérieur de la portion cylindrique 84. Au-delà de la portion conique 91, la bague comprend une nervure annulaire 92 s'étendant radialement au-delà de la portion conique, puis une portion cylindrique 93, radialement en retrait de la nervure 92.

L'écrou 77 comprend un perçement cylindrique axial 96, prévu pour le passage de la portion cylindrique 94 de la bague 76, et une face antérieure 97 prévue pour venir en appui sur la nervure 93 de la bague. Ainsi, lorsque le montage est réalisé, l'écrou étant en prise avec le taraudage du logement 75, la face antérieure de l'écrou vient en appui contre la nervure et maintient la bague en position dans le logement. De ce fait, le stylet est alors maintenu dans une position fixe et définie relativement à l'extrémité 16 du bras.

On va maintenant décrire des motifs améliorés pour l'ensemencement d'une boîte de Pétri 4.

Dans les automates de l'art antérieur l'échantillon est ensemencé selon un motif formant une spirale sur le substrat. Le motif est réalisé en déplaçant radialement le stylet à vitesse linéaire constante, alors que la boîte de Pétri tourne sur elle-même à vitesse angulaire constante. Une telle méthode est particulièrement avantageuse en ce qu'elle permet de faire diminuer

progressivement la densité surfacique en échantillon à mesure ou l'on s'éloigne du centre de la boîte. Cependant, l'interprétation des résultats est compliquée et nécessite des abaques particuliers à l'ensemencement utilisé. Les risques d'erreur d'interprétation sont importants.

5 Il est proposé selon l'invention de réaliser des motifs sous forme de cercles concentriques 99. La densité varie selon la distance au centre de la boîte, comme pour les spirales de l'art antérieur, mais elle reste constante sur un même cercle, l'interprétation est simplifiée, puisqu'elle ne dépend plus de l'angle sous lequel est regardé le résultat de la culture. Dans l'exemple illustré à
10 la figure 4, le motif comprend trois groupes de trois cercles rapprochés. Les cercles de chaque groupe étant très rapprochés, ils ont une densité très proche. Ainsi, chaque groupe correspond sensiblement à une concentration donnée. Pour améliorer la précision des résultats, l'automate comprend avantagement des moyens pour faire varier la vitesse de rotation de la boîte
15 de Pétri, de sorte que la densité est sensiblement identique pour les cercles d'un même groupe.

Dans le mode de réalisation de la figure 5, représentée à une échelle réduite, les cercles ont été limités à des arcs de cercles 99. Ce motif produit des résultats similaires. Cependant, il permet d'éviter de déposer de l'échantillon
20 sur une partie déjà ensemencée, lors de la fermeture d'un cercle.

On va maintenant décrire la zone de prélèvement 11, en référence à la coupe de la figure 6. La zone 11 comprend un orifice circulaire 101 dans la plateforme 62, le bord périphérique de l'orifice a la forme d'un relevé 102. Un récipient cylindrique 103 est disposé dans l'orifice 101. Une jupe 104 s'étend
25 depuis le bord supérieur 105 du récipient et vient reposer sur la plateforme 62, autour du relevé 102. La jupe 104 vient en recouvrement du relevé 102, de sorte qu'ils contribuent ensemble à éviter la pénétration de liquide et/ou de solide, à l'intérieur 65 du corps de l'automate 1.

Le produit à ensemer, c'est-à-dire l'échantillon 3 est contenu dans
30 un gobelet 106 dont le bord supérieur 107 repose sur le bord supérieur 105 du

réceptacle 103. Ainsi, un échantillon 3 peut être approvisionné ou retiré de l'automate sans risque de renversement dans le corps de l'appareil qui reste protégé par le réceptacle 103. En outre, si du produit 3 se renverse dans le réceptacle, ce dernier est amovible et peut être retiré pour être nettoyé.

5 Lors du prélèvement de l'échantillon, le stylet 18 est prévu pour s'enfoncer de la profondeur PA, mesurée sous le bord 107 du gobelet 106.

On va maintenant décrire le fonctionnement du bac à déversement, et le procédé de nettoyage, en référence à la figure 7.

Le bac à déversement 21 a sensiblement une forme de révolution
10 autour d'un axe vertical. Il comprend deux bols 111,112 coaxiaux, ayant une base commune 113. Le bol intérieur 111 est destiné plus particulièrement à recevoir le stylet 18 et les liquides de nettoyage 36,37. Il est de forme étroite, de sorte qu'il y offre radialement, une place suffisante, mais sans excès, pour y loger le stylet et permettre un écoulement des liquides 36,37 autour du stylet.
15 Le bol extérieur 112 est destiné à récupérer les liquides qui se déversent du bol intérieur 11 lorsque celui-ci déborde. Les deux bols 111,112 comprennent des conduites de vidange 114,115 respectives, formées dans la base 113, et qui s'y rejoignent pour n'en former qu'une 116, reliée à la pompe de vidange 22.

Comme la tourelle 13 et le réceptacle 103, le bac à déversement 21 est
20 inséré dans un orifice 117 de la plateforme 62. Le bac 21 comprend une jupe 119 qui s'étend depuis un bord supérieur 121 du bol extérieur 112 et vient en recouvrement d'un relevé périphérique 118 de l'orifice 117. Cette disposition comme expliqué précédemment pour le réceptacle 103, protège l'intérieur 65 et permet de rendre le bac 21 aisément amovible, notamment en vue de son
25 nettoyage.

Lorsque l'ensemencement du substrat 2 est terminé, comme précédemment expliqué, l'extrémité du bras 14 est amenée dans une position 14C dans laquelle le stylet 18 est au-dessus du bac 21, de préférence au-dessus du bol extérieur 112, pour que le tube 17 y soit purgé du reste d'échantillon qui
30 n'aurait pas été utilisé pour l'ensemencement.

Ensuite, le bras est déplacé dans une position 14C1, dans laquelle le stylet 18 est enfoncé d'une profondeur PB dans le bol intérieur 111. Le stylet est maintenu dans cette position pendant l'opération de désinfection. Comme précédemment décrit, lors de cette opération, l'alcool 36 parcourt le tube jusqu'à s'écouler du stylet 18. L'alcool remplit alors le bol intérieur jusqu'à déborder dans le bol extérieur, par-dessus son bord supérieur 120. Ainsi, le niveau de l'alcool dans le bol intérieur 111 est toujours le même, sensiblement égal à celui du bord supérieur 120 du bol 11. La profondeur PB est choisie supérieure à la profondeur PA de prélèvement de l'échantillon dans le gobelet 106. Cette étape garantit que la désinfection extérieure du stylet 18, sur toute la hauteur susceptible d'avoir été souillée lors du prélèvement.

Ensuite, le bras est déplacé dans une position 14C2, dans laquelle le stylet 18 est enfoncé d'une profondeur PC dans le bol intérieur 111. Le stylet est maintenu dans cette position pendant l'opération de rinçage. Comme précédemment décrit, lors de cette opération, l'eau 37 parcourt le tube jusqu'à s'écouler du stylet 18. L'eau remplit alors le bol intérieur jusqu'à déborder dans le bol extérieur, par-dessus son bord supérieur 120. Ainsi, le niveau de l'eau dans le bol intérieur 111 est toujours le même, sensiblement égal à celui du bord supérieur 120 du bol 11. La profondeur PC est choisie supérieure à la profondeur PB précédemment utilisée pour la désinfection. Ce procédé garantit que l'alcool précédemment utilisée pour le nettoyage extérieur du stylet 18, est entièrement rincé et ne risque pas de stériliser accidentellement un futur ensemencement.

Les figures 8 et 9 illustrent deux autres modes de mise en œuvre pour un procédé d'ensemencement selon l'invention. Dans ces exemples, les boîtes de Pétri 4 sont carrées.

Dans l'exemple illustré à la figure 8, l'ensemencement est réalisé sous une forme de lignes droites 131 parallèles entre elles, ayant sensiblement la même longueur. Les lignes 131 sont regroupées en trois groupes de trois lignes. Les lignes d'un même groupe ont une densité sensiblement identique

entre elles. Le groupe représenté le plus à gauche comprend trois lignes de forte densité, le groupe le plus à droite comprend trois lignes de faible densité, et, le groupe du milieu comprend trois lignes de densité intermédiaire.

Dans l'exemple illustré à la figure 9, l'ensemencement est réalisé sous
5 une forme de lignes droites regroupées en carrés 132. Les carrés sont homothétiques entre eux autour de même centre. Les carrés 132 sont regroupés en trois groupes de deux carrés. Les lignes de tous les carrés d'un même groupe ont une densité sensiblement identique entre elles. Le groupe représenté le plus à l'intérieur comprend des lignes de forte densité, le groupe
10 le plus à l'extérieur comprend des lignes de faible densité, et, le groupe intermédiaire comprend des lignes de densité intermédiaire.

Bien sûr, l'invention n'est pas limitée aux exemples qui viennent d'être décrits.

Ainsi, plutôt qu'une tourelle, il peut être prévu des moyens de
15 préplacement linéaires pour le stylet.

Aussi, au lieu d'être prévu amovible, le bac à déversement, ou le récipient de la zone de prélèvement, peuvent être prévus fixes et formés par emboutissage directement dans la plateforme de l'automate.

Le bac de déversement, comme schématiquement illustré à la figure 1,
20 peut avoir une forme parallélépipédique, et comprendre deux compartiments séparés par une paroi pour le déversement d'un compartiment vers l'autre.

Au lieu de motifs uniquement circulaires, il peut en outre être prévu des motifs ayant notamment des formes de points plus ou moins épais.

Revendications

1. Procédé pour ensemer un substrat (2) avec un échantillon (3) sensiblement liquide, caractérisé en ce qu'avec l'échantillon, on trace sur le substrat un motif comprenant au moins deux lignes (99,131,132) parallèles entre elles.
5
2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que les lignes du motif composent des formes (99, 132), de préférence sensiblement homothétiques entre elles.
10
3. Procédé selon l'une des revendications 1 ou 2, caractérisé en ce que les lignes forment au moins deux groupes, chaque groupe de lignes ayant une densité linéaire différente de chacun des autres groupes.
15
4. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que les lignes du motif comprennent au moins deux arcs de cercle (99) l'un concentrique à l'autre.
20
5. Procédé selon la revendication 4, caractérisé en ce que le motif comprend des groupes de un ou plusieurs arcs de plusieurs cercles radialement voisins, chaque groupe étant radialement éloigné l'un de l'autre
25
6. Procédé selon la revendication 4 ou 5, caractérisé en ce que les arcs sont concentriques autour d'un axe (X6) et en ce que l'on fait tourner le substrat autour de l'axe (X6) de sorte que tous les arcs de cercle du motif sont tracés à une vitesse angulaire identique et constante.
30
7. Procédé selon la revendication 5, caractérisé en ce que les arcs sont concentriques autour d'un axe (X6) et en ce que l'on fait tourner le substrat

autour de l'axe (X6) de sorte que tous les arcs de cercle d'un même groupe sont tracés à une vitesse linéaire identique et constante.

- 5 8. Procédé selon l'une des revendications 4 à 7, caractérisé en ce que chaque arc de cercle forme un cercle complet.
9. Procédé selon la revendication 2 ou 3, caractérisé en ce que les lignes composent des carrés.
- 10 10. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que les lignes sont des lignes droites.

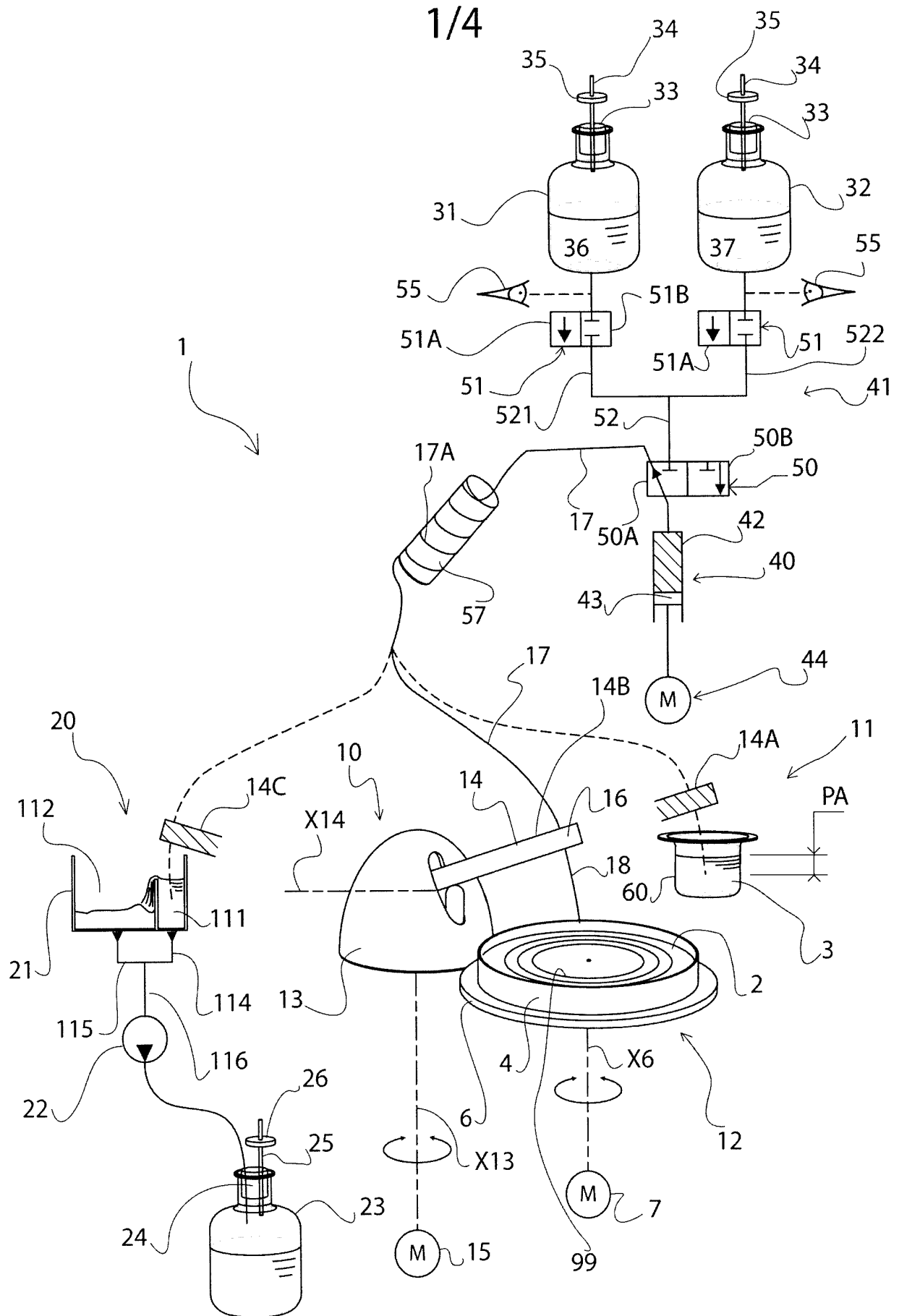


Fig. 1

3/4

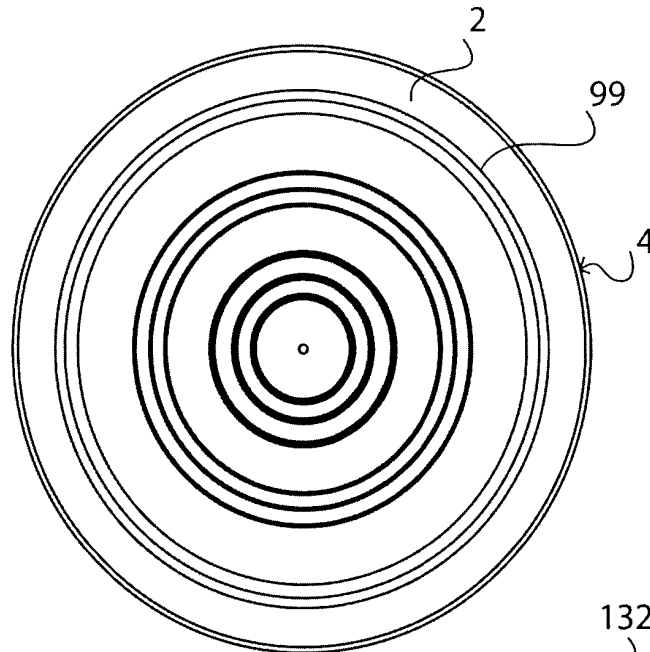


Fig. 4

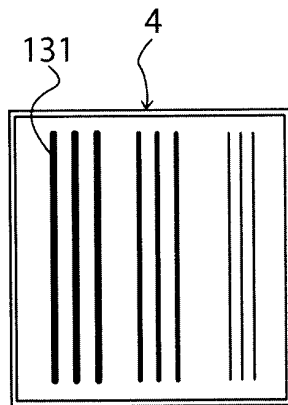


Fig. 8

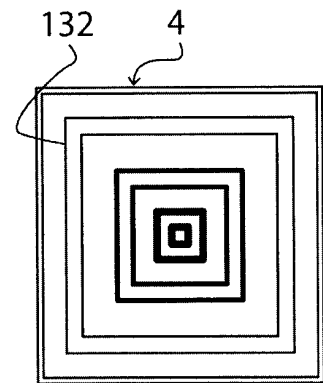


Fig. 9

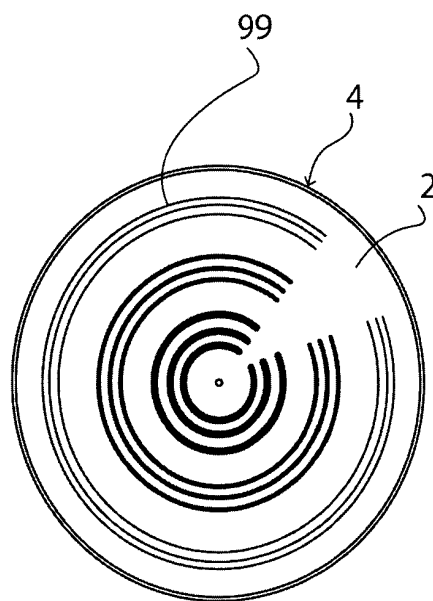


Fig. 5



**RAPPORT DE RECHERCHE
PRÉLIMINAIRE**

N° d'enregistrement
national

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

FA 726597
FR 0902645

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI	
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes			
X	JP 11 346796 A (NAKAGAWA SOICHI; MATSUSHITA MASAMI) 21 décembre 1999 (1999-12-21) * abrégé; figure 3 *	1	C12Q1/24	
X	US 4 010 077 A (PARDOS GEORGE) 1 mars 1977 (1977-03-01) * colonne 3, ligne 63 - colonne 4, ligne 11 *	1		
X	WO 2005/071055 A (MEDVET SCIENCE PTY LTD [AU]; GLASSON JOHN [AU]; SMITH LACHLAN [AU]) 4 août 2005 (2005-08-04) * revendication 59; figure 10 *	1		
X	WO 2006/044424 A (MERCK & CO INC [US]; DUFRESNE CLAUDE [US]; KATH GARY S [US]; KING GREG) 27 avril 2006 (2006-04-27) * page 4, alinéa 3 - page 8, alinéa 2 *	1		
X	EP 0 302 387 A (SIRE SAS [IT]) 8 février 1989 (1989-02-08) * phrases 52-57; figure 3 *	1		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
X	EP 0 242 114 A (VISTA LAB LTD [CA]) 21 octobre 1987 (1987-10-21) * colonne 5, ligne 34 - colonne 7, ligne 15; figures 10,11 *	1		C12M
A	US 4 287 301 A (ASTLE THOMAS W) 1 septembre 1981 (1981-09-01) * figure 10 *	1		
Date d'achèvement de la recherche		Examineur		
18 janvier 2010		Clement, Jean-Paul		
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS		T : théorie ou principe à la base de l'invention		
X : particulièrement pertinent à lui seul		E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure		
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un		à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date		
autre document de la même catégorie		de dépôt ou qu'à une date postérieure.		
A : arrière-plan technologique		D : cité dans la demande		
O : divulgation non-écrite		L : cité pour d'autres raisons		
P : document intercalaire			
		& : membre de la même famille, document correspondant		

EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0902645 FA 726597**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.

Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du **18-01-2010**

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
JP 11346796	A	21-12-1999	AUCUN	

US 4010077	A	01-03-1977	AUCUN	

WO 2005071055	A	04-08-2005	CA 2554004 A1	04-08-2005
			CN 1918280 A	21-02-2007
			EP 1720971 A1	15-11-2006
			JP 2007518408 T	12-07-2007
			KR 20060127134 A	11-12-2006
			US 2007202564 A1	30-08-2007

WO 2006044424	A	27-04-2006	CA 2583260 A1	27-04-2006
			EP 1802739 A2	04-07-2007
			US 2008318310 A1	25-12-2008

EP 0302387	A	08-02-1989	IT 1222334 B	05-09-1990

EP 0242114	A	21-10-1987	AU 599094 B2	12-07-1990
			AU 7136987 A	22-10-1987
			CA 1302932 C	09-06-1992
			DE 3788079 D1	16-12-1993
			DE 3788079 T2	26-05-1994
			US 4981802 A	01-01-1991

US 4287301	A	01-09-1981	AUCUN	
