

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 27.01.12.

③③ Priorité :

④③ Date de mise à la disposition du public de la
demande : 02.08.13 Bulletin 13/31.

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

⑥③ Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

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

⑦② Inventeur(s) : PIERQUIN JOSEPH.

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

⑦④ Mandataire(s) : CABINET BLEGER-RHEIN.

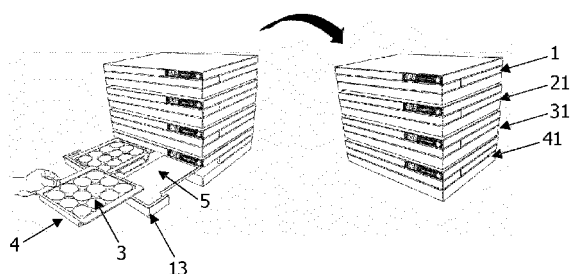
⑤④ DISPOSITIF DE DETECTION RAPIDE DE MICRO-ORGANISMES.

⑤⑦ La présente invention concerne un dispositif (1) per-
mettant une détection, rapide et sans mesure de fluores-
cence, de colonies issues de la multiplication de micro-
organismes présents dans un échantillon à tester, ledit dis-
positif (1) comprenant :

- une surface de détection (5) sensiblement plane et ho-
rizontale sur laquelle est disposé, immobile, au moins un
support de croissance (3) des micro-organismes sous forme
de colonies, ce support (3) étant de type membrane ou mi-
lieu gélosé,

- un système de détection (7), de type scanner linéaire,
monté mobile et à plat pour balayer en tout ou partie ladite
surface (5), comportant au moins un capteur CCD (8) au-
quel est associé un système optique composé d'au moins
un éclairage (9) et d'au moins une optique, de type lentille
(10),

Le capteur CCD (8) du système de détection (7) pré-
sente une résolution supérieure ou égale à 4800 dpi, et le
système de détection (7) permet la détection par imagerie
de colonies présentant un diamètre inférieur à 50 µm par un
grandissement utile supérieur ou égal à 60.



La présente invention concerne le domaine la détection de micro-organismes en phase de croissance.

La présente invention trouvera son application principalement dans le domaine de la microbiologie industrielle, par exemple dans les industries pharmaceutiques, biotechnologiques ou agroalimentaires.

L'invention concerne plus particulièrement un dispositif permettant une détection rapide de la formation de colonies, à partir de micro-organismes présents dans l'échantillon, à la surface d'une membrane ou d'un milieu de culture solide ou semi-solide.

De nombreuses techniques sont mises en œuvres, à l'heure actuelle, pour permettre la détection de contaminants, par exemple de bactéries, dans un échantillon qui doit être testé.

La méthode la plus classique et la plus ancienne consiste en un dépôt à la surface d'un milieu de croissance gélosé, ce dernier pouvant être plus ou moins sélectif d'un ou plusieurs types de micro-organismes. Le milieu est ensuite incubé à la température adéquate pour la croissance du micro-organisme recherché, pendant une durée pouvant souvent aller jusqu'à plusieurs jours.

Une telle méthode présente l'inconvénient de nécessiter une période d'incubation relativement longue pour permettre une détection à l'œil nu des colonies qui se sont formées sur la gélose.

Il est aussi connu de l'état de la technique de réaliser une réaction de polymérisation en chaine, également appelée amplification PCR, pour déterminer la présence de micro-organismes spécifiques au sein d'un échantillon, par amplification d'une séquence d'ADN ou d'ARN.

Ces méthodes présentent l'inconvénient de nécessiter plusieurs brins d'ADN c'est-à-dire plusieurs micro-organismes contaminants, généralement au moins plusieurs dizaines de micro-organismes. De telles méthodes sont donc moins sensibles que les méthodes basées sur la croissance.

On connaît encore la possibilité d'utiliser des techniques consistant à marquer les micro-organismes de manière à accentuer le contraste entre la lumière émise par les micro-organismes et celle émise par le support de croissance. L'utilisation de marqueurs spécifiques fluorescents, les fluorophores, ou d'enzymes permettant de révéler la bioluminescence émise par exemple par l'ATP (adénosine tri-phosphate), permettent de détecter de manière précoce les micro-organismes, grâce à l'utilisation de systèmes optiques sensibles aux caractéristiques de la lumière émise, par exemple la longueur d'onde ou l'intensité.

Cependant, ces techniques peuvent s'avérer lourdes à mettre en œuvre et nécessitent l'emploi de réactifs souvent coûteux et la présence d'une main d'œuvre qualifiée. De plus, elles se prêtent mal à la détection de contaminants sur un grand nombre d'échantillons, l'opération de marquage étant souvent difficilement automatisable. Enfin ces techniques présentent un risque de contamination de l'échantillon. En effet, l'ajout de réactif nécessite une mise en contact dudit réactif avec les micro-organismes à détecter.

On connaît également, dans l'état de la technique, des méthodes basées sur une utilisation des propriétés lumineuses émises naturellement par les micro-organismes, en détectant par exemple l'auto-fluorescence desdits micro-organismes. Ainsi, il est possible de faciliter la distinction de colonies en utilisant le contraste existant entre la fluorescence naturelle émise par lesdits micro-organismes et le milieu de culture sur lequel ils ont été ensemencés.

Ces techniques permettent certes de faciliter la détection des colonies ou des micro-organismes auto-fluorescents, ceux-ci présentant alors un meilleur contraste avec la membrane ou le milieu de culture. Cependant, le niveau de fluorescence généré naturellement est de faible amplitude ce qui ne permet pas d'obtenir des temps de détection rapides par rapport à un marquage avec un fluorophore spécifique par exemple. De plus, l'émission parasite de fluorescence naturelle par d'autres

particules présentes dans l'environnement, telles que des poussières, des fibres de membranes ou des particules plastiques provenant du support, peut engendrer un résultat faussement positif.

5 Enfin des techniques utilisant des systèmes optiques à fort grossissement peuvent être utilisées pour visualiser des colonies à des stades précoces de développement : c'est le cas des microscopes par exemple. Néanmoins, ces dispositifs se limitent à une détection sur de faibles surfaces, inférieures à
10 1mm² en général. Ainsi la mise en œuvre de ce type de techniques pour la détection sur un ou plusieurs supports de détection, tels que des membranes ou des milieux gélosés, s'avère à la fois long, de l'ordre de plusieurs minutes par cm², et couteux, du fait de la nécessité d'utiliser des systèmes à balayage.

15 L'invention offre la possibilité de pallier les divers inconvénients de l'état de la technique en proposant un dispositif permettant une détection précoce, et pouvant être automatisée, de l'apparition de colonies à la surface d'un support de croissance, notamment une membrane ou un milieu de
20 culture gélosé. De plus, le dispositif selon la présente invention permet de s'affranchir de l'utilisation de matériel couteux ou de réactifs nécessitant la présence d'un opérateur qualifié.

 A cet effet, la présente invention concerne un dispositif
25 permettant une détection, rapide et sans mesure de fluorescence, de colonies issues de la multiplication de micro-organismes présents dans un échantillon à tester, ledit dispositif comprenant :

- une surface de détection sensiblement plane et
30 horizontale sur laquelle est disposé, immobile, au moins un support de croissance des micro-organismes sous forme de colonies, ce support étant de type membrane ou milieu gélosé,
- un système de détection, de type scanner linéaire, monté mobile et à plat pour balayer en tout ou partie ladite
35 surface, comportant au moins un capteur CCD auquel est associé

un système optique composé d'au moins un éclairage et d'au moins une optique, de type lentille,

Le capteur CCD du système de détection présente une résolution supérieure ou égale à 4800 dpi, et ledit système de
5 détection permet la détection par imagerie de colonies présentant un diamètre inférieur à 50 μm par un grandissement utile supérieur ou égal à 60.

Préférentiellement, ladite surface présente un format A5 ou A5*2ⁿ, n étant un nombre entier supérieur ou égal à 1.

10 Selon un mode de réalisation particulièrement avantageux, le système optique présente une profondeur de champ supérieure ou égale à 4mm.

De façon intéressante, le système de détection est situé au dessus de ladite surface.

15 Préférentiellement, ladite surface consiste en un tiroir apte à passer d'une position ouverte, pour recevoir les supports de croissance, à une position fermée, dans laquelle il permet un balayage desdits supports par ledit système de détection, lesdits supports étant disposés directement dans ledit tiroir
20 ou sur au moins un plateau destiné à être placé dans ledit tiroir.

Avantageusement, le système optique du système de détection mobile comporte un miroir, un éclairage à diode électroluminescente et une lentille.

25 Selon une autre particularité de l'invention, le présent dispositif comporte encore un système de chauffage pour le maintien en température sensiblement constante du ou des supports de croissance disposés sur ladite surface de détection. Celui-ci permet avantageusement de maintenir le ou les supports
30 de croissance à une température comprise entre 22°C et 38°C.

De manière intéressante, le système de détection mobile comporte une unité de gestion pour une prise d'images et un enregistrement d'images à intervalle de temps régulier.

La présente invention comporte de nombreux avantages. D'une
35 part, la taille importante de la surface de détection permet l'analyse simultanée de plusieurs supports de croissance,

notamment de type membranes ou milieux gélosés. En effet, le nombre d'échantillons analysés simultanément par le dispositif selon l'invention peut aller jusqu'à plusieurs dizaines. Ainsi, grâce au dispositif selon l'invention, dans un laps de temps
5 réduit, il est possible d'obtenir un plus grand nombre de résultats par rapport aux techniques de détection existantes à l'heure actuelle.

De plus, selon le présent dispositif, les supports de croissance analysés peuvent être préférentiellement immobiles
10 sur la surface de détection et, de ce fait, n'ont pas besoin d'être déplacés ; c'est le système de détection qui est mobile. Au contraire, dans les systèmes existants, les échantillons à analyser sont généralement empilés et sont amenés individuellement vers le détecteur, par exemple le microscope ou
15 la caméra, manuellement ou par l'intermédiaire notamment d'un bras robotisé. Cependant, la manipulation de l'échantillon, qu'elle soit manuelle ou automatique, est critique pour un système de détection rapide : elle peut en effet être une source de contamination par des micro-organismes ou par d'autres
20 particules parasites de petite taille, telles que des poussières, qui peuvent fausser la détection de colonies, également de petite taille.

Il est également possible d'inclure au dispositif selon l'invention des moyens permettant l'incubation des supports de croissance, en particulier des moyens de chauffage permettant le
25 maintien à une température sensiblement constante des supports. Ainsi, lesdits supports peuvent être analysés pendant leur incubation, ce qui permet d'éviter que les supports de croissance ne soient déplacés de l'incubateur au système de
30 détection et ainsi de réduire le temps de détection.

D'autre part, l'utilisation d'un système de détection à haute résolution, comportant notamment au moins un capteur linéaire CCD et une optique à forte profondeur de champ, permet de détecter des colonies de très petite taille et totalement
35 invisibles à l'œil nu, de l'ordre de quelques dizaines de micromètres. Ainsi, la détection de contaminants dans un

échantillon est précoce. De plus, le temps de balayage des différents échantillons est relativement court, de l'ordre de quelques secondes par cm^2 , par rapport au temps nécessaire pour la réalisation d'un balayage d'un ou plusieurs échantillons à l'aide d'un microscope, pour lequel, pour mémoire, le temps de balayage est estimé à plusieurs minutes par cm^2 .

D'autres caractéristiques et avantages de l'invention ressortiront de la description détaillée qui va suivre des modes de réalisation non limitatifs de l'invention, en référence aux figures annexées dans lesquelles :

- la figure 1 est une représentation schématisée de la préparation des échantillons qui doivent être analysés ;
- la figure 2 illustre schématiquement un mode de réalisation de l'invention, dans lequel le dispositif n'incorpore pas directement un système permettant l'incubation des milieux de culture ;
- la figure 3 est une illustration du système de détection du dispositif selon l'invention ; plus particulièrement, la figure 3A représente une vue de dessus tandis que la figure 3B correspond à une vue en coupe du dispositif selon l'invention ;
- la figure 4 représente un mode de réalisation différent, dans lequel le dispositif incorpore directement un système de maintien à température constante, permettant l'incubation des supports de croissance ;
- la figure 5 représente l'analyse des résultats par le dispositif selon l'invention, et la transmission de l'information du dispositif sur un écran ou autre périphérique ;
- la figure 6 correspond à trois images prises successivement, à $t_1=12\text{h}$ (figure 6A), $t_2=24\text{h}$ (figure 6B) et $t_3=36\text{h}$ (figure 6C), de supports de croissanceensemencés avec des bactéries du genre *Methylobacterium*, le grandissement appliqué étant de 150.

Le dispositif 1 selon la présente invention permet une détection particulièrement rapide de micro-organismes

contaminants, tels que des bactéries, des levures, des mycoplasmes, des moisissures, présents éventuellement dans un échantillon qui doit être analysé. En effet, un tel dispositif permet de détecter des colonies même lorsque celles-ci sont
5 encore invisibles à l'œil nu, et, de plus, en utilisant la lumière naturellement émise par lesdites colonies, sans ajout de réactif et sans dispositif de mesure de fluorescence naturelle ou induite. Un tel dispositif est notamment représenté sur les figures 2 et 3 annexées.

10 A propos des échantillons devant être analysés, ceux-ci peuvent notamment provenir d'industries travaillant dans des domaines divers, tels que les industries pharmaceutiques, agroalimentaires, biotechnologiques ou encore cosmétiques. En effet, dans ce type d'industries, il est particulièrement
15 intéressant, et même nécessaire, de détecter rapidement la présence d'éventuels contaminants. En effet, les produits fabriqués et/ou transformés dans ce type d'industrie sont particulièrement sensibles, du fait notamment de leur destination (l'alimentation, la santé des consommateurs, etc.)
20 et il est primordial de s'assurer le plus rapidement possible que leur qualité microbiologique est irréprochable.

Ainsi, dans un premier temps, les échantillons provenant de ces industries doivent être préparés afin d'être, par la suite, disposés dans le dispositif 1 de détection selon la présente
25 invention pour finalement être analysés. La préparation des échantillons est illustrée sur la figure 1 ci annexée.

Lorsque l'échantillon consiste en un milieu liquide quelconque, une boisson par exemple, un médicament à boire ou une lotion cosmétique liquide, celui-ci peut être filtré par
30 l'intermédiaire d'une membrane filtrante 2 adaptée. Ensuite, ladite membrane 2 peut être avantageusement déposée à la surface d'un support 3 apte à permettre une croissance bactérienne, par exemple une gélose nutritive.

Selon un autre mode de réalisation, notamment lorsque le
35 volume à analyser est faible, il est possible de procéder à un

prélèvement direct de l'échantillon liquide, puis de le déposer à la surface d'un support de croissance 3.

Les supports de croissance 3, pouvant être de type membrane ou milieu gélosé, permettent donc la croissance et la multiplication des micro-organismes isolés, présents éventuellement au sein de l'échantillon à analyser. La multiplication de ces micro-organismes va aboutir à la formation de colonies à la surface desdits supports 3.

Les supports de croissance 3, ainsiensemencés, peuvent alors être chargés sur un plateau 4, ou rack, comme illustré sur la figure 1, ledit plateau 4 étant apte à recevoir au moins un, et de préférence une pluralité, de supports de croissance 3. En effet, le plateau 4 peut comporter préférentiellement au moins un logement 18 ménagé dans l'épaisseur du plateau 4, ledit logement 18 étant apte à recevoir un support de croissance 3.

Le plateau 4 peut ensuite être chargé dans le dispositif 1 selon l'invention, de manière à permettre la détection de colonies se formant à la surface desdits supports 3.

L'utilisation d'un plateau 4 est avantageuse car elle permet de faciliter le déplacement d'une pluralité de supports 3 en même temps. De plus, ledit plateau 4 est autoclavable, ce qui permet de favoriser son nettoyage.

Cependant, un tel mode de réalisation ne doit pas être considéré comme limitatif de l'invention, le ou les supports de croissance 3 pouvant également être déposés directement, sans positionnement préalable sur le plateau 4, sur une surface sensiblement plane du dispositif de détection 1 selon la présente invention.

Pour en revenir à présent audit dispositif 1, celui-ci est représenté, dans un de ses modes de réalisation, sur la figure 2 annexée.

Le dispositif de détection 1 selon l'invention comporte, d'une part, une surface de détection 5, préférentiellement sensiblement plane et horizontale, sur laquelle peut être disposé au moins un support de croissance 3 ensemencé selon les indications ci-dessus. Préférentiellement, une pluralité de

supports de croissance 3 est posée sur ladite surface 5, de manière à permettre une détection simultanée d'éventuels contaminants présents dans plusieurs échantillons.

5 Ainsi, la taille de la surface de détection 5 doit être adaptée pour permettre la réception d'une pluralité de supports 3, par exemple 24 supports 3, ces derniers pouvant être préférentiellement posés sur ladite surface 5 par l'intermédiaire d'au moins un plateau 4. De ce fait, la surface 5 présente préférentiellement une aire minimum correspondant
10 sensiblement à un format A5, soit au moins 31000 mm². Plus préférentiellement encore, ladite surface présente un format type A4 ou même A3. Pour résumer, la surface de détection 5 présente avantageusement un format A5 ou un format A5*2ⁿ, n étant un nombre entier supérieur ou égal à 1. Ainsi, ladite
15 surface de détection 5 permet de recevoir un nombre important de supports de croissance 3 de manière à traiter simultanément plusieurs échantillons.

Le dispositif 1 selon la présente invention comporte d'autre part un système de détection 7, par exemple de type
20 scanner, monté mobile, et permettant de balayer au moins une partie, et de préférence la totalité, de la surface de détection 5. Un tel système de détection est représenté sur la figure 3 annexée.

Ainsi, le(s) support(s) de croissance 3 restent immobiles
25 sur la surface 5, tandis que le système de détection 7 est mobile pour permettre la détection. Cela permet d'éviter un mouvement des supports pouvant être source d'erreurs sur les résultats obtenus.

Généralement, un système de détection 7 comprend un rayon
30 lumineux balayant la surface 5 sur laquelle est disposé par exemple au moins support de croissance 3. Un capteur permet de transformer la lumière reçue en un signal électrique, qui peut alors être sauvegardé ou analysé.

Le système de détection 7 du dispositif 1 selon la présente
35 invention comporte préférentiellement au moins un capteur CCD 8

(Charge-Coupled Device ou dispositif à transfert de charge en français).

Le capteur CCD 8 du dispositif 1 selon l'invention est généralement associé à un système optique, lui-même composé d'au moins un éclairage 9 et d'au moins une optique, par exemple de type lentille 10.

Selon un mode de réalisation particulièrement préférentiel, le capteur CCD 8 du système de détection 7 du dispositif de détection 1 selon l'invention présente une résolution supérieure ou égale à 4800 dpi (dot per inch ou point par pouce ppp), de manière à permettre la détection par imagerie de colonies, présentes sur les supports de croissance 3, lorsque celles-ci présentent un diamètre inférieur ou égal à 50 μm , voir inférieur à 20 μm , par un grandissement utile supérieur ou égal à 60.

En effet, la résolution du capteur CCD 8, lorsque celle-ci est supérieure ou égale à 4800 dpi, soit 5 microns environ, permet d'obtenir un grandissement utile, qui correspond au ratio entre la taille réelle de la colonie et son image restituée sans interpolation à l'utilisateur, supérieur ou égal à 60. Ainsi, le dispositif 1 selon l'invention permet de restituer une image correspondant à au moins 60 fois la taille réelle de la colonie et ce sans perte de qualité au niveau de l'image. Ainsi, grâce à ce niveau de résolution optique, il n'est pas nécessaire d'utiliser des techniques d'interpolation de pixels, et le grandissement est obtenu sans perte d'informations. De par l'utilisation d'au moins un capteur CCD 8 présentant une telle résolution, la détection de la formation de colonies, à partir de micro-organismes isolés présents dans un échantillon, à la surface d'un support 3, est extrêmement précoce.

Cependant, le grandissement obtenu par le système de détection 7 peut également être obtenu, au moins partiellement, par l'intermédiaire de la lentille 10.

Ainsi, le système de détection 7 du dispositif 1 permet de visualiser une colonie lorsque celle-ci présente un diamètre de l'ordre de quelques micromètres, par exemple 20 μm , tandis que

l'œil nu ne perçoit rien en dessous d'une centaine de micromètres à une distance de lecture habituelle d'un échantillon, cette distance étant typiquement de l'ordre de 30 centimètres. Le présent dispositif 1 permet donc une détection
5 rapide de la présence de contaminants éventuels dans un échantillon.

De ce fait, un contaminant qui serait détecté en 5 jours en utilisant des techniques connues de détection sera, avec le dispositif 1 selon l'invention, visualisé en 48h maximum, et
10 préférentiellement en 24h ou moins.

De plus, l'utilisation d'un système de détection 7 comportant au moins un capteur CCD 8 permet de balayer relativement rapidement plusieurs dizaines de supports de croissance 3 ensemencés à partir des échantillons à tester. En
15 effet, il convient de compter quelques dizaines de minutes, typiquement, pour analyser une vingtaine de supports 3 disposés sur la surface de détection 5 ; au contraire, l'utilisation d'un microscope et d'un système de balayage à la place du système de détection 7 nécessiterait plusieurs heures de temps d'analyse.

Ainsi, préférentiellement, comme illustré notamment sur la figure 3B, un support de croissance 3 est maintenu immobile, dans un logement 18 du plateau 4, pendant le transport et l'analyse. Cela permet avantageusement un positionnement constant dudit support 3 par rapport au système de détection 7
25 qui va permettre la détection de colonies. Il est notamment nécessaire de s'assurer d'une distance la plus petite possible entre le support de croissance 3 et le système de détection 7 mobile, typiquement de l'ordre de 0.2 mm. Cette distance minimale d est également illustrée sur la figure 3B.

De ce fait, la hauteur du logement 18 dépend du type de supports de croissance 3 utilisé et l'utilisation de plateaux 4 adaptés permet l'utilisation de différentes tailles de support de croissance 3, dont la hauteur et le diamètre peuvent varier, en fonction par exemple de l'échantillon à analyser.

Pour en revenir à présent au système optique du dispositif
35 1 selon l'invention, celui-ci présente, selon une

caractéristique particulièrement intéressante, une profondeur de champ supérieure ou égale à 4 mm. La profondeur de champ est définie comme étant la zone de l'espace dans laquelle doit se trouver le micro-organisme, ou la colonie, par rapport au système de détection mobile 7 pour que l'on puisse en obtenir une image nette.

Une telle profondeur de champ, obtenue par l'utilisation d'une optique adaptée, par exemple de type lentille, permet la détection des colonies sur le support de croissance 3, étant donné que la gélose ou la membrane dudit support 3, sur laquelle sont retrouvées les colonies à détecter, présente un certain éloignement par rapport au système de détection 7. De plus, la surface sur laquelle croissent les micro-organismes n'est pas, en général, parfaitement plane.

Selon un mode de réalisation préférentiel du dispositif 1 selon l'invention, qui est celui représenté sur les figures annexées, le système de détection 7 balayant la surface 5 de détection est situé au dessus de ladite surface 5. Cependant, un tel mode de réalisation n'est pas limitatif de l'invention, et ledit système de détection 7 du dispositif 1 pourrait également balayer la surface 5 par le dessous.

Préférentiellement, le système optique du système de détection mobile 7 comporte un miroir 11, un éclairage 9 à diodes électroluminescentes 12 et une lentille 10. L'éclairage 9 permet d'éclairer les supports de croissance 3 et la lumière qu'ils réfléchissent est renvoyée par ledit miroir 11 à la lentille 10, elle-même permettant le renvoi de la lumière réfléchie vers le capteur CCD 8.

Tel que représenté sur la figure 2, le dispositif 1 selon l'invention peut être utilisé en parallèle à un système permettant l'incubation séparée des supports de croissance 3, un tel système pouvant notamment être une étuve 6, et maintenant lesdits supports 3 à une température sensiblement constante, pour favoriser la croissance des micro-organismes. Les supports de croissance 3 sont alors transférés, soit manuellement, soit automatiquement, depuis l'étuve 6 dans laquelle ils sont

maintenus à une température particulière, vers le dispositif 1 selon l'invention dans lequel la détection de colonie va être effectuée. Les supports de croissance 3 sont préférentiellement disposés sur un plateau 4, qui permet de faciliter leur
5 déplacement depuis l'étuve 6 vers le dispositif 1 de détection.

Cependant, il est encore plus avantageux que le dispositif de détection 1 selon l'invention incorpore directement un système de chauffage apte à maintenir les supports de croissance 3 à une température sensiblement constante au niveau de la
10 surface de détection 5. Un tel mode de réalisation particulier est représenté sur la figure 4 annexée.

Ainsi, la surface de détection 5 peut consister préférentiellement en un tiroir 13 comportant au moins une surface sensiblement plane permettant un chargement des supports
15 de croissance 3, directement ou par l'intermédiaire d'au moins un plateau 4, sur ladite surface du tiroir 13. Ce dernier est avantageusement fermé latéralement, facilitant ainsi le maintien desdits supports 3 à une température sensiblement constante, par l'intermédiaire de moyens adaptés, par exemple un système de
20 chauffage. Cependant, la mise en place d'un tiroir 13 peut également être utile lorsque l'on passe les supports de croissance 3 depuis une étuve 6 vers le dispositif 1.

Préférentiellement, le tiroir 13 permet la réception de deux plateaux 4 sur lesquels sont disposés les supports de
25 croissance 3, comme visible notamment sur la figure 4 annexée.

Le plateau 4 permet alors avantageusement de maintenir une distance constante et minimale entre les supports de croissance 3 et le capteur CCD 8 du système de détection 8.

Les supports de croissance 3 sont avantageusement maintenus
30 à une température comprise entre 22°C et 38°C, en fonction par exemple de la température optimale de croissance d'un micro-organisme particulier que l'on souhaite détecter préférentiellement dans un échantillon.

L'avantage qui découle du maintien à une température
35 constante des supports de croissance 3 consiste à permettre une réduction du nombre d'opérations à effectuer pour obtenir un

résultat. Cela facilite également l'automatisation de la détection par le dispositif 1 selon l'invention, ce qui permet, en conséquence, une réduction du temps de détection des colonies.

5 Selon un mode de réalisation particulier, également représenté sur la figure 3 annexée, une pluralité de dispositifs de détection 1, 21, 31 et 41 selon l'invention peuvent être empilés les uns sur les autres afin de permettre un gain de place et une détection de contaminants éventuels dans un nombre
10 d'échantillons de départ plus important.

Un tel mode de réalisation est possible du fait, d'une part, du faible coût d'un dispositif de détection 1 et, d'autre part, de la hauteur limitée dudit dispositif 1, de l'ordre d'une dizaine de centimètres habituellement. Ce mode de réalisation
15 particulier ne pourrait par exemple pas être mis en œuvre si l'on utilisait un système de détection basé sur une caméra linéaire, ce type de système étant privilégié dans les dispositifs existants actuellement.

Le dispositif 1 selon l'invention peut également incorporer
20 une unité de gestion apte à permettre d'une part une prise d'images successives des supports de croissance 3, à intervalle de temps régulier, et d'autre part, un enregistrement desdites images pour favoriser leur analyse ultérieure.

Ladite unité de gestion comporte préférentiellement des
25 moyens permettant une comparaison des images prises à intervalles régulier, de manière à mettre en évidence une apparition et/ou une croissance des colonies sur le(s) support(s) de croissance 3 disposé(s) sur la surface de détection 5.

30 Avantagement, ladite unité comprend encore au moins un écran 14 permettant une visualisation des images des supports de croissance 3 qui ont été prises, comme illustré sur la figure 5.

Les images peuvent également être transmises par tous
35 moyens adaptés vers des périphériques consistant notamment en des Smartphones 15, des ordinateurs portables 16 ou encore des tablettes 17.

Plus préférentiellement encore, de tels moyens permettant une comparaison d'image sont aptes à permettre la détection des colonies par soustraction d'images, ladite soustraction étant effectuée entre une image prise au temps t et une image prise
5 antérieurement au temps $t-1$.

L'opération de soustraction d'images successives permet avantageusement à l'opérateur de différencier une colonie en croissance par rapport à une contamination (poussière, etc.) du support de croissance 3, la taille de la contamination ne
10 variant pas entre deux prises de vue. De ce fait, la prise de décision concernant la présence ou non de micro-organismes dans un échantillon de départ est facilitée.

Un exemple de résultats, obtenus lors de la détection par prise d'images successives avec le dispositif 1 selon la
15 présente invention, est illustré sur les figures 6A, 6B et 6C annexées. Le grandissement appliqué ici est de 150. Il est visible, en comparant les deux images prises successivement à $t=12h$ et $t=24h$, correspondant respectivement aux figures 6A et 6B, après l'ensemencement du support de croissance par des
20 micro-organismes du genre *Methylobacterium*, qu'une micro-colonie est apparue. L'image prise à 24h, illustrée sur la figure 6B permet de conclure de manière certaine à la présence d'une contamination. L'image prise à $t=36h$, illustrée sur la figure 6C, permet de visualiser l'ensemble des colonies présentes sur
25 la surface considérée, bien que leur taille ne leur permettent pas encore d'être visibles à l'œil nu, cette taille étant inférieure à 100 μm . La détection à l'œil nu devient certaine au plus tôt 48h après l'ensemencement, et l'ensemble des colonies sur la totalité du support de détection, ici une membrane,
30 peuvent être comptées de manière certaine à partir de 4 jours dans cet exemple. Le dispositif 1 permet donc une détection extrêmement rapide, précoce, de micro-organismes dans un échantillon de départ.

La présente invention présente également d'autres
35 avantages : d'une part, le système de détection utilisé dans le dispositif 1 est très économique, notamment en comparaison avec

les systèmes existants dans l'état de la technique, et employant des appareillages ou des réactifs coûteux. D'autre part, l'automatisation possible du dispositif favorise également la réduction du temps de détection des contaminants.

- 5 Bien entendu, l'invention n'est pas limitée aux exemples illustrés et décrits précédemment qui peuvent présenter des variantes et modifications sans pour autant sortir du cadre de l'invention.

REVENDEICATIONS

1. Dispositif (1) permettant une détection, rapide et sans mesure de fluorescence, de colonies issues de la multiplication de micro-organismes présents dans un échantillon à tester, ledit dispositif (1) comprenant :

- une surface de détection (5) sensiblement plane et horizontale sur laquelle est disposé, immobile, au moins un support de croissance (3) des micro-organismes sous forme de colonies, ce support (3) étant de type membrane ou milieu gélosé,
- un système de détection (7), de type scanner linéaire, monté mobile et à plat pour balayer en tout ou partie ladite surface (5), comportant au moins un capteur CCD (8) auquel est associé un système optique composé d'au moins un éclairage (9) et d'au moins une optique, de type lentille (10),

ledit dispositif (1) étant caractérisé en ce que ledit capteur CCD (8) du système de détection (7) présente une résolution supérieure ou égale à 4800 dpi, ledit système de détection (7) permettant la détection par imagerie de colonies présentant un diamètre inférieur à 50 μm par un grandissement utile supérieur ou égal à 60.

2. Dispositif (1) selon la revendication 1 caractérisé en ce que ladite surface (5) présente un format A5 ou $A5 \times 2^n$, n étant un nombre entier supérieur ou égal à 1.

3. Dispositif (1) selon l'une quelconque des revendications 1 ou 2 caractérisé en ce que ledit système optique présente une profondeur de champ supérieure ou égale à 4mm.

4. Dispositif (1) selon l'une quelconque des revendications 1 à 3 caractérisé en ce que le système de détection (7) est situé au dessus de ladite surface (5).

5. Dispositif (1) selon l'une quelconque des revendications 1 à 4 caractérisé en ce que ladite surface (5) consiste en un tiroir (13) apte à passer d'une position ouverte,

pour recevoir les supports de croissance (3), à une position fermée, dans laquelle il permet un balayage desdits supports (3) par ledit système de détection (7), lesdits supports (3) étant disposés directement dans ledit tiroir (13) ou sur au moins un
5 plateau (4) destiné à être placé dans ledit tiroir (13).

6. Dispositif (1) selon l'une quelconque des revendications 1 à 5 caractérisé en ce que le système optique du système de détection (7) mobile comporte un miroir (11), un éclairage (9) à diode électroluminescente (12) et une lentille
10 (10).

7. Dispositif (1) selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 caractérisé en ce qu'il comporte encore un système de chauffage pour le maintien en température sensiblement constante du ou des supports de croissance (3)
15 disposés sur ladite surface de détection (5).

8. Dispositif (1) selon la revendication 7 caractérisé en ce que le système de chauffage permet de maintenir le ou les supports de croissance (3) à une température comprise entre 22°C et 38°C.

20 9. Dispositif (1) selon l'une quelconque des revendications 1 à 8 caractérisé en ce que le système de détection mobile (7) comporte une unité de gestion pour une prise d'images et un enregistrement d'images à intervalle de temps régulier.

1/3

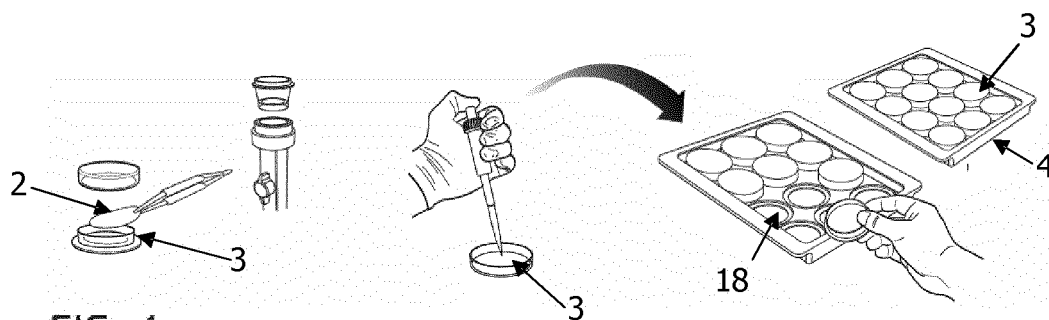


FIG. 1

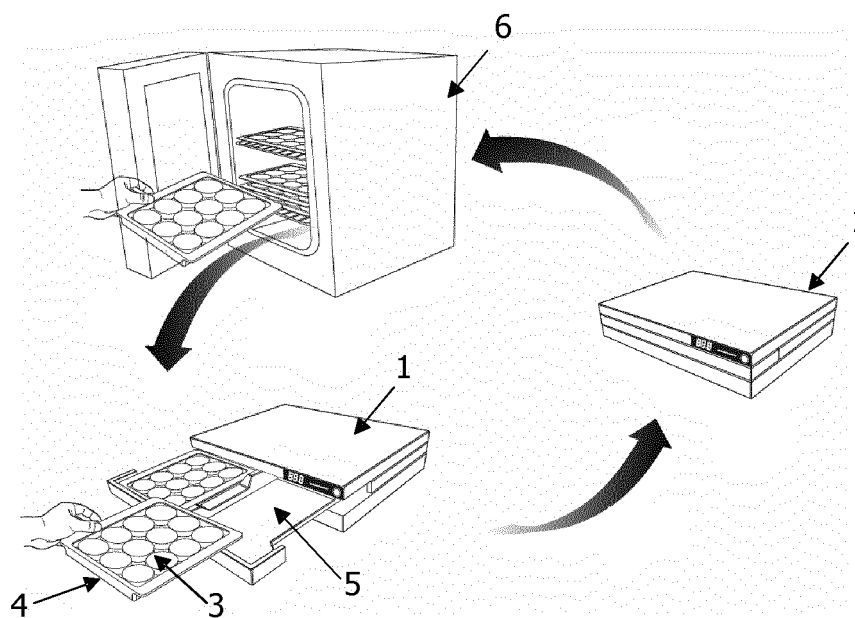


FIG. 2

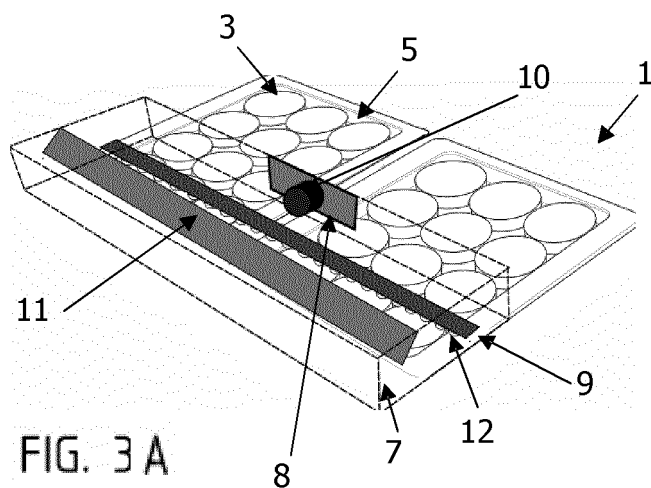


FIG. 3 A

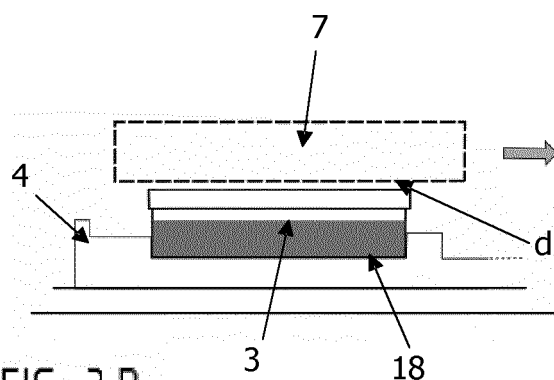


FIG. 3 B

2/3

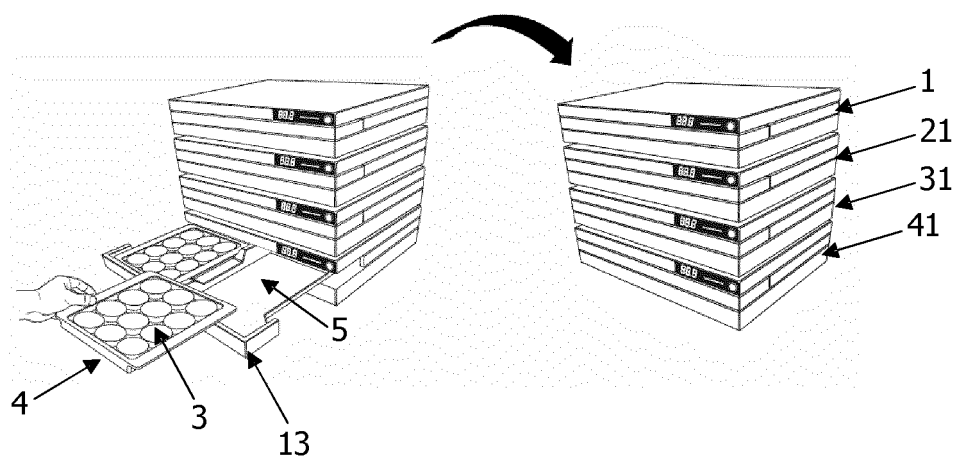


FIG. 4

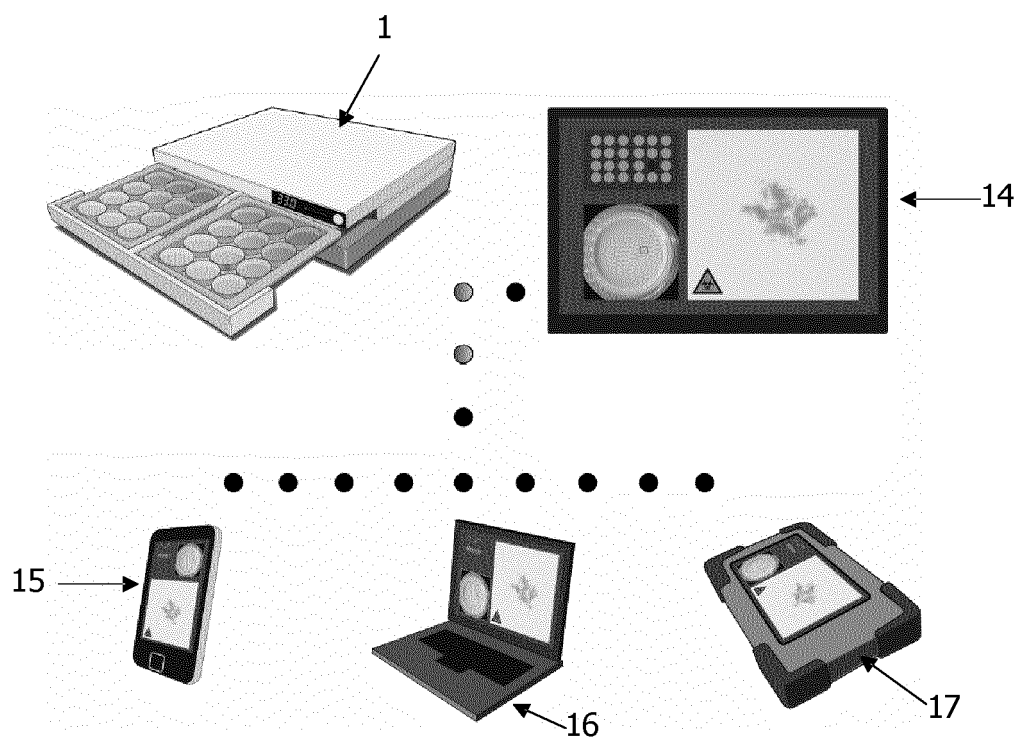
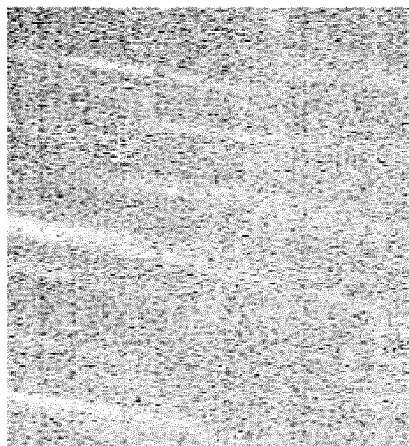


FIG. 5

3/3



x150

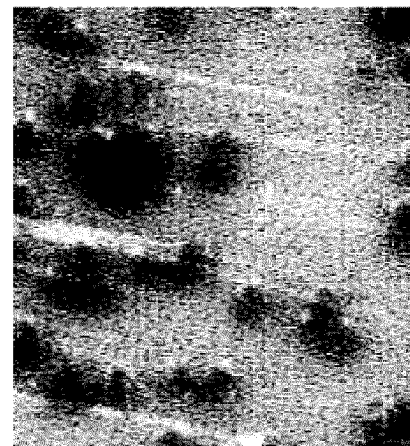
FIG. 6A



100 microns

x150

FIG. 6B



x150

FIG. 6C



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

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

N° d'enregistrement
national

FA 763998
FR 1250788

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	WO 03/022999 A2 (GENOMIC PROFILING SYSTEMS INC [US]) 20 mars 2003 (2003-03-20) * page 48, ligne 26 - page 54, ligne 10; figures 3,4 *	1-9	C12M1/34 G06T7/00
X	----- DATABASE WPI Week 200621 Thomson Scientific, London, GB; AN 2006-197819 XP002684558, & JP 2005 172680 A (UNITIKA LTD) 30 juin 2005 (2005-06-30) * abrégé *	1-9	
X	----- US 2003/155528 A1 (TOKUDA YOSHIYUKI [JP]) 21 août 2003 (2003-08-21) * alinéa [0018] - alinéa [0030] *	1-9	
A	----- US 6 002 789 A (OLSZTYN PAUL C [US] ET AL) 14 décembre 1999 (1999-12-14) * colonne 3, ligne 13 - ligne 45 *	1-9	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
			C12M G01N
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
4 octobre 2012		Clement, Jean-Paul	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			

ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 1250788 FA 763998

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 **04-10-2012**

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			
WO 03022999	A2	20-03-2003	AT 437216 T	15-08-2009			
			AT 470859 T	15-06-2010			
			AU 2002323649 A1	24-03-2003			
			AU 2002365913 A1	16-09-2003			
			CA 2458802 A1	01-05-2003			
			CA 2459320 A1	20-03-2003			
			CA 2460212 A1	12-09-2003			
			CN 1582327 A	16-02-2005			
			CN 1582394 A	16-02-2005			
			CN 1606691 A	13-04-2005			
			DK 1432786 T3	26-10-2009			
			EP 1428018 A1	16-06-2004			
			EP 1432786 A2	30-06-2004			
			EP 1502101 A2	02-02-2005			
			EP 2184346 A2	12-05-2010			
			EP 2311934 A2	20-04-2011			
			ES 2329986 T3	03-12-2009			
			JP 4363980 B2	11-11-2009			
			JP 2005502354 A	27-01-2005			
			JP 2005508495 A	31-03-2005			
			JP 2005518553 A	23-06-2005			
			US 2003082516 A1	01-05-2003			
			US 2003143580 A1	31-07-2003			
			US 2003170613 A1	11-09-2003			
			US 2009315987 A1	24-12-2009			
			US 2010248281 A1	30-09-2010			
			WO 03022999 A2	20-03-2003			
			WO 03036290 A1	01-05-2003			
			WO 03073817 A2	12-09-2003			

			JP 2005172680	A	30-06-2005	JP 4409273 B2	03-02-2010
						JP 2005172680 A	30-06-2005

US 2003155528	A1	21-08-2003	EP 1361282 A1	12-11-2003			
			JP 3734080 B2	11-01-2006			
			US 2003155528 A1	21-08-2003			
			WO 02064818 A1	22-08-2002			

US 6002789	A	14-12-1999	AU 8162098 A	04-01-1999			
			US 6002789 A	14-12-1999			
			WO 9859314 A1	30-12-1998			
