

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la
Propriété Intellectuelle
Bureau international



WIPO | PCT



(10) Numéro de publication internationale
WO 2014/083000 A1

(43) Date de la publication internationale
5 juin 2014 (05.06.2014)

(51) Classification internationale des brevets :
G01N 1/40 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/EP2013/074750

(22) Date de dépôt international :
26 novembre 2013 (26.11.2013)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
12 61282 27 novembre 2012 (27.11.2012) FR

(71) Déposant : COMMISSARIAT À L'ÉNERGIE ATOMIQUE ET AUX ÉNERGIES ALTERNATIVES
[FR/FR]; Bâtiment le Ponant D, 25 rue Leblanc, F-75015 Paris (FR).

(72) Inventeur : HENNEQUIN, Yves; John Franklinstraat 41-2, NL-1056 SX Amsterdam (NL).

(74) Mandataires : BLOT, Philippe et al.; Cabinet Lavoix, 2, place d'Estienne d'Orves, F-75009 Paris (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM,

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

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

Publiée :

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

[Suite sur la page suivante]

(54) Title : METHOD FOR FORMING A LIQUID FILM ON A SUBSTRATE

(54) Titre : PROCÉDÉ DE FORMATION D'UN FILM LIQUIDE SUR UN SUPPORT

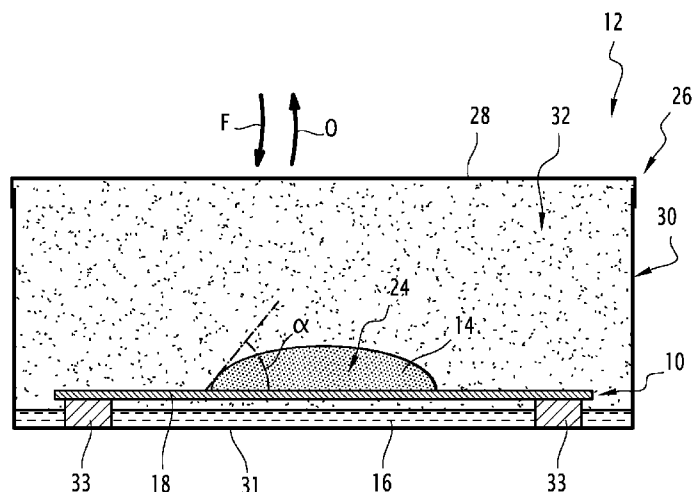


FIG.1

(57) Abstract : This method for forming a liquid film on a substrate (10) comprises the following elements: - placing the substrate (10) in a chamber (12), and depositing a composition (14) on the substrate (10), the composition (14) comprising water, - introducing a volatile liquid (16) into the chamber (12), and - closing the chamber (12) for a predefined period, the volatile liquid (16) evaporating in the chamber (12) during this step during which the chamber is closed. The method further comprises extracting at last part of the vapour formed by the evaporation of the volatile liquid (16) out of the chamber (12), this extraction causing the composition (14) to spread over the substrate (10), said spread composition (14) then forming the liquid film on the substrate (10).

(57) Abrégé :

[Suite sur la page suivante]

WO 2014/083000 A1



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

Ce procédé de formation d'un film liquide sur un support (10) comprend les étapes suivantes : - le placement du support (10) dans une enceinte (12), et le dépôt d'une composition (14) sur le support (10), la composition (14) comportant de l'eau, - l'introduction d'un liquide volatil (16) dans l'enceinte (12), et - la fermeture de l'enceinte (12) pendant une durée prédéterminée, le liquide volatil (16) s'évaporant dans l'enceinte (12) lors de cette étape de fermeture. Le procédé comprend en outre l'extraction, en dehors de l'enceinte (12), au moins partiellement de la vapeur formée par l'évaporation du liquide volatil (16), cette extraction produisant un étalement de la composition (14) sur le support (10), ladite composition étalée (14) formant alors le film liquide sur le support (10).

Procédé de formation d'un film liquide sur un support

La présente invention concerne un procédé de formation d'un film liquide sur un support. Le procédé de formation comprend les étapes suivantes :

- le placement du support dans une enceinte, et le dépôt d'une composition sur le support, la composition comportant de l'eau,
- l'introduction d'un liquide volatile dans l'enceinte, et
- la fermeture de l'enceinte pendant une durée prédéterminée, le liquide volatile s'évaporant dans l'enceinte lors de cette étape de fermeture.

L'invention s'applique en particulier à la détection de particules de taille micrométrique et sub-micrométrique, notamment des particules biologiques, telles que des cellules, des bactéries, ou encore des virus. L'invention s'applique également à la détection de particules en forme de microbilles. La composition comporte alors lesdites particules à détecter, et le support est une lame transparente, la lame transparente étant destinée à être éclairée par une source lumineuse, en vue de l'acquisition à l'aide d'un système de détection optique d'au moins une image de la composition comprenant les particules.

Afin d'acquérir des images de ces particules avec un capteur d'images de grande taille, c'est-à-dire un capteur présentant une aire de quelques cm², voire de quelques dizaines de cm², il convient d'étaler au mieux la composition sur la lame transparente, pour former un film de faible épaisseur et d'aire équivalente à celle du capteur d'images. Par faible épaisseur, on entend une épaisseur de valeur inférieure à 500 µm, de préférence comprise entre 50 µm et 200 µm.

Une première technique, dite de dépôt à la tournette (de l'anglais *spin coating*), consiste à déposer la composition sur le support et à faire subir une rotation au support, afin d'étaler la composition sur le support par l'action de la force centrifuge. Toutefois, cette première technique est complexe à mettre en œuvre, l'étalement de la composition étant relativement difficile à maîtriser. En outre, lorsque la composition comporte des bactéries, l'introduction de la composition dans un dispositif propre à mettre en œuvre cette technique est susceptible de contaminer la composition.

Une deuxième technique, dite de trempage du support (de l'anglais *dip coating*), consiste à tremper le support dans un réservoir comportant la composition, puis de retirer doucement le support de ce réservoir. Un film de cette composition se forme alors à la surface du support. Toutefois, cela nécessite un volume important de ladite composition, typiquement de plusieurs dizaines de µL, et un tel volume n'est pas forcément disponible.

Une troisième technique est décrite dans l'article intitulé « *Overcoming the 'coffee-stain' effect by compositional Marangoni-flow-assisted drop-drying* » de Majumder et al, publié dans 'The Journal of Physical Chemistry' en 2012. Cette troisième technique consiste à déposer une goutte d'eau sur un support en Teflon, et à placer ce support dans une atmosphère saturée en éthanol, par exemple à l'intérieur d'une boîte de Petri. La goutte s'étale alors sur le support au fur et à mesure de la présence du support dans l'atmosphère saturée en éthanol. Le support doit être placé dans cette atmosphère saturée en éthanol pendant une durée de l'ordre de 1000 secondes, afin d'observer un étalement correct de la goutte.

Toutefois, cet étalement de la goutte n'est pas optimal, et nécessite une quantité relativement importante de la composition afin d'obtenir un film présentant une aire de quelques cm², voire de quelques dizaines de cm².

Le but de l'invention est donc de proposer un procédé de formation d'un film liquide sur un support, le film étant formé par étalement d'une composition, le procédé permettant d'améliorer l'étalement de la composition sur le support.

A cet effet, l'invention a pour objet un procédé du type précité, dans lequel le procédé comprend en outre l'extraction, en dehors de l'enceinte, au moins partiellement de la vapeur formée par l'évaporation du liquide volatile, cette extraction produisant un étalement de la composition sur le support, ladite composition étalée formant alors le film liquide sur le support.

À la différence du procédé de l'état de la technique correspondant à la troisième technique, l'étalement de la composition n'est, selon l'invention, pas observé pendant l'étape de fermeture hermétique de l'enceinte, c'est-à-dire pendant l'évaporation du liquide volatile à l'intérieur de l'enceinte, mais seulement à partir du moment où la vapeur formée par l'évaporation du liquide volatile est extraite au moins partiellement en dehors de l'enceinte.

Suivant d'autres aspects avantageux de l'invention, le procédé comprend une ou plusieurs des caractéristiques suivantes, prises isolément ou suivant toutes les combinaisons techniquement possibles :

- la durée prédéterminée présente une valeur comprise entre 1 minute et 30 minutes, de préférence comprise entre 5 minutes et 20 minutes, de préférence encore sensiblement égale à 10 minutes ;

- lors de l'introduction du liquide volatile, le liquide volatile est disposé à l'écart de la composition, en l'absence d'un contact entre le liquide volatile et la composition ;

- le liquide volatile introduit dans l'enceinte comporte un alcool, tel que de l'éthanol ;

- l'enceinte est une boîte, telle qu'une boîte de Petri, la boîte comportant un couvercle et un réceptacle présentant une ouverture, le couvercle étant mobile entre une position ouverte dans laquelle le couvercle est à l'écart de l'ouverture du réceptacle et une position fermée dans laquelle le couvercle est propre à obturer l'ouverture du réceptacle, ladite position fermée correspondant à une fermeture hermétique de la boîte, et lors de l'étape de fermeture, le couvercle est déplacé de sa position ouverte vers sa position fermée, puis maintenu en position fermée pendant la durée prédéterminée, et lors de l'étape d'extraction, le couvercle est déplacé de sa position fermée vers sa position ouverte, puis maintenu en position ouverte ;

- le réceptacle comporte un fond, le liquide volatile est disposé contre le fond lors de l'étape d'introduction, et la boîte comporte en outre au moins une cale de maintien du support à l'écart du fond, afin de disposer le liquide volatile à l'écart de la composition lors de l'étape d'introduction ;

- la composition comprend en outre des particules, un surfactant et un polymère hydrophile, les particules présentant un diamètre de préférence inférieur à 10 μm , de préférence encore inférieur à 1 μm , le surfactant présentant une concentration de préférence au moins égale à la concentration micellaire critique, et le polymère hydrophile présentant une température d'ébullition supérieure à celle de l'eau, le polymère étant de préférence un polyéthylène glycol défini par la formule suivante : $\text{H}(-\text{OCH}_2-\text{CH}_2)_n\text{OH}$, où n représente le nombre de motif(s) d'oxyéthylène du polymère ;

- la composition présente un volume de valeur comprise entre 0,5 μL et 5 μL ;

- le support est réalisé en un matériau hydrophile, tel que du verre ou encore tel qu'un matériau plastique ;

- le support est une lame transparente, la lame transparente étant destinée à être éclairée par une source lumineuse, en vue de l'acquisition, à l'aide d'un système de détection optique, d'au moins une image de la composition comprenant des particules ; et

- la composition comprend en outre des particules, les particules étant des espèces biologiques, telles que des espèces biologiques vivantes, par exemple des bactéries.

Les caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront à la lecture de la description qui va suivre, donnée uniquement à titre d'exemple non limitatif, et faite en référence aux dessins annexés, sur lesquels :

- la figure 1 est une représentation schématique en coupe d'une enceinte en forme de boîte dans laquelle un liquide volatile est introduit après avoir déposé une composition sur un support placé dans cette enceinte,

- la figure 2 est un organigramme du procédé de formation du film selon l'invention, comprenant l'introduction du liquide volatil dans l'enceinte, la fermeture de l'enceinte pendant une durée prédéterminée, le liquide volatil s'évaporant dans l'enceinte lors de cette fermeture, et l'extraction en dehors de l'enceinte au moins partiellement de la vapeur formée par l'évaporation du liquide volatil,

- la figure 3 est une courbe représentant l'évolution du rayon de la composition en fonction du temps, à partir du moment où la vapeur formée par l'évaporation du liquide est extraite de l'enceinte, et

- la figure 4 est une représentation schématique d'un système de détection optique de particules, comprenant une source de lumière, le support en forme de lame transparente sur lequel est agencée la composition, et un dispositif d'acquisition d'images de la composition éclairée.

Sur la figure 1, un support 10 est placé dans une enceinte 12, et une composition 14 comportant de l'eau ainsi que des particules 24, est déposée sur le support 10. Un liquide volatil 16 est disposé dans l'enceinte 12, et l'enceinte 12 est fermée de manière hermétique, le liquide volatil 16 s'évaporant à l'intérieur de l'enceinte 12 lorsque celle-ci est fermée de manière hermétique.

Le support 10 est de préférence réalisé en un matériau hydrophile, tel que du verre ou encore tel qu'un matériau plastique rendu hydrophile.

Le support 10 est, par exemple, en forme d'une lame transparente 18 destinée à être éclairée par une source lumineuse 20, en vue de l'acquisition, à l'aide d'un système de détection optique 22, d'au moins une image de la composition 14 comprenant les particules 24, comme représenté sur la figure 4.

L'enceinte 12 est, par exemple, une boîte 26, telle qu'une boîte de Petri, la boîte 26 comportant un couvercle 28 et un réceptacle 30 présentant un fond 31 et une ouverture 32. Le couvercle 28 est mobile entre une position ouverte dans laquelle le couvercle 28 est à l'écart de l'ouverture 32 du réceptacle et une position fermée dans laquelle le couvercle 28 est propre à obturer l'ouverture 32 du réceptacle, ladite position fermée correspondant à une fermeture hermétique de la boîte 26.

Dans l'exemple de réalisation de la figure 1, l'enceinte 12 est de forme cylindrique. L'enceinte 12 présente, par exemple, un diamètre d'environ 10 cm et une hauteur d'environ 1,5 cm.

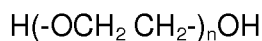
En complément, l'enceinte 12 comporte au moins une cale 33 de maintien du support 10 à l'écart du fond 31 du réceptacle, afin de disposer le liquide volatil 16 à l'écart de la composition 14 lorsqu'il est introduit dans l'enceinte 12. Dans l'exemple de réalisation de la figure 1, l'enceinte 12 comporte deux cales de maintien 33.

La composition 14 comprend, par exemple, les particules à détecter 24 et une solution, la solution comportant de l'eau, un surfactant et, de préférence, un polymère hydrophile. Autrement dit, la composition 14 est une dispersion des particules à détecter 24 dans une solution aqueuse comprenant de l'eau, le surfactant et le polymère hydrophile.

Dans l'exemple de réalisation décrit, la solution de la composition 14 est constituée d'eau, du surfactant et du polymère hydrophile. La composition 14 est alors constituée des particules à détecter 24, d'eau, du surfactant et du polymère hydrophile.

La composition 14 présente un volume de valeur comprise entre 0,5 µL et 5 µL.

Le polymère hydrophile présente une température d'ébullition supérieure à celle de l'eau. Le polymère hydrophile est, par exemple, un polyéthylène glycol défini par la formule suivante :



où n représente le nombre de motif(s) d'oxyéthylène du polymère.

Le nombre n de motif(s) d'oxyéthylène est un nombre entier, de préférence compris entre 1 et 180, de préférence encore compris entre 4 et 16, de préférence encore égal à 13.

Le nombre n de motifs est, par exemple, égal à 2, et le polymère est alors appelé diéthylène glycol, également noté DiEG.

En variante, le nombre n de motifs d'oxyéthylène est égal à 13, et le polymère hydrophile est appelé polyéthylène glycol 600, également noté PEG 600, le PEG 600 présentant un poids moléculaire de l'ordre de 600 g/mol.

Lorsque le nombre n de motifs d'oxyéthylène est égal à 13, le polymère hydrophile, à savoir le PEG 600, présente une concentration massique de préférence comprise entre 0,2 % et 0,8 %, de préférence encore comprise entre 0,4 % et 0,6 %.

En variante encore, le nombre n de motifs d'oxyéthylène est égal à 180, et le polymère hydrophile est appelé polyéthylène glycol 8000, également noté PEG 8000, le PEG 8000 présentant un poids moléculaire sensiblement égal à 8000 g/mol.

Le surfactant, également appelé tensioactif, présente une concentration de préférence au moins égale à la concentration micellaire critique (CMC). Le surfactant comporte, par exemple, du polyoxyéthylène 20 sorbitan monolaurate, également connu sous le nom commercial TWEEN20.

En variante, le surfactant comporte un copolymère de polyoxyéthylène et de polyoxypropylène, tel qu'un poloxamère, par exemple celui connu sous le nom commercial PLURONIC F-68. En variante encore, le surfactant comporte du dodécylsulfate de sodium, également appelé SDS.

Le surfactant, éventuellement complété par le polymère hydrophile, est destiné à former un film recouvrant les particules 24 lors de l'évaporation de l'eau de la solution 14. L'adjonction de polymère hydrophile permet de prolonger la durée durant laquelle ce film recouvre les particules 24.

5 Le liquide volatil 16 disposé dans l'enceinte 12 comporte un alcool, tel que de l'éthanol. Dans l'exemple de réalisation décrit, le liquide volatil 16 est constitué de cet alcool, tel que l'éthanol.

En variante, le liquide volatil 16 est de l'isopropanol ou tout autre solvant volatil.

10 Le liquide volatil 16 préféré est toutefois l'éthanol, car il est adapté au cas où les particules 24 sont des espèces biologiques, et plus particulièrement des espèces biologiques vivantes, notamment les bactéries ou tout autre microorganisme. Dans ces conditions particulières, il est en effet préférable de disposer d'un liquide volatil 16 peu agressif vis-à-vis des espèces biologiques 24.

15 La lame transparente 18 présente une épaisseur E selon une direction longitudinale X correspondant à la direction d'éclairement de la composition 14 par la source lumineuse 20, comme représenté sur la figure 4. L'épaisseur E est, par exemple, de valeur comprise entre 10 μm et 100 μm , de préférence comprise entre 20 μm et 50 μm .

20 La lame 18 est de préférence hydrophile, afin qu'un angle de contact α , visible sur la figure 1, entre la composition 14 et la lame 18 présente une faible valeur. La valeur de l'angle de contact α obtenu entre la lame hydrophile 18 et la composition 14 est inférieure à 20°, de préférence inférieure à 10°, de préférence encore de l'ordre du degré.

25 Le caractère hydrophile de la lame 18 est, par exemple, obtenu en préparant la lame 18 selon les étapes suivantes. La première étape de préparation est une sonication dans une eau savonneuse pendant une durée de l'ordre de dix minutes. L'eau savonneuse comporte, par exemple, de l'eau et du liquide vaisselle, l'eau étant de préférence une eau pure de type 1 conforme à la norme ISO 3696, également connue sous le nom commercial de Mili-Q. La deuxième étape est une étape de rinçage à l'eau, telle qu'à l'eau Mili-Q, à l'acétone et à l'isopropanol. La troisième étape est une étape de séchage, par exemple de séchage à l'azote, et la quatrième étape est un passage au plasma oxygène pendant une durée supérieure à 15 secondes, de préférence de l'ordre de 30 secondes.

Le procédé de formation d'un film liquide sur le support 10, le film étant formé par étalement de la composition 14, va être à présent décrit à l'aide de la figure 2.

Lors de l'étape initiale 50, le support 10 est placé dans l'enceinte 12, et la composition 14 est déposée sur le support 10, la composition 14 comportant notamment de l'eau.

Le support 10, par exemple sous forme de la lame transparente 18, est de préférence agencé sur les cales de maintien 33, afin d'être disposé à l'écart du fond 31 du réceptacle de l'enceinte 12.

Le liquide volatile 16 est ensuite introduit dans l'enceinte 12, lors de l'étape 55. Le liquide volatile 16 est, par exemple, disposé contre le fond 31.

Lors de l'introduction du liquide volatile 16, celui-ci est disposé à l'écart de la composition 14. Lors de cette étape d'introduction, le liquide volatile 16 et la composition 14 ne sont alors pas au contact l'un de l'autre.

Lors de l'étape suivante 60, l'enceinte 12 est fermée de manière hermétique pendant une durée prédéterminée, le liquide volatile 16 s'évaporant alors dans l'enceinte 12 lors de cette étape de fermeture. Autrement dit, le support 10 est, lors de cette étape de fermeture, placé sous atmosphère du liquide volatile 16, par exemple sous atmosphère d'éthanol.

La durée prédéterminée présente une valeur comprise entre 1 minute et 30 minutes, de préférence comprise entre 5 minutes et 20 minutes, de préférence encore égale à 10 minutes à plus ou moins 1 minute.

Lorsque l'enceinte 12 est en forme de la boîte 26 comportant le couvercle 28 et le réceptacle 30, le couvercle 28 est, lors de cette étape de fermeture 60, déplacé de sa position ouverte vers sa position fermée, comme représenté par la flèche F sur la figure 1, puis le couvercle 28 est maintenu en position fermée pendant la durée prédéterminée.

Enfin, lors de l'étape 65, après expiration de ladite durée prédéterminée, la vapeur formée par l'évaporation du liquide 16 est extraite au moins partiellement en dehors de l'enceinte 12. Cette extraction au moins partielle de la vapeur précédemment formée produit alors un étalement de la composition 14 sur le support 10, cette composition étalée 14 formant le film liquide sur le support 10.

Lorsque l'enceinte 12 est en forme de la boîte 26 comportant le couvercle 28 et le réceptacle 30, le couvercle 28 est, lors de l'étape d'extraction 65, déplacé de sa position fermée vers sa position ouverte, comme représenté par la flèche O sur la figure 1, puis le couvercle 28 est maintenu en position ouverte.

La vapeur du liquide 16 étant confinée à l'intérieur de l'enceinte 12 lors de l'étape de fermeture 60, l'ouverture de la boîte 26, par déplacement du couvercle 28 de sa position fermée à sa position ouverte (flèche O), provoque l'extraction au moins partielle de cette vapeur en dehors de l'enceinte 12.

Sur la figure 3, la courbe 68 représente l'évolution, en fonction du temps, du rayon de la composition 14 dans un plan perpendiculaire à la direction longitudinale X, à partir du moment où la vapeur formée par l'évaporation du liquide est extraite de l'enceinte, c'est-à-dire à partir du début de l'étape 65.

La courbe 68 a été obtenue avec une lame de verre 18 rendue hydrophile de la manière décrite précédemment, pour une composition 14 présentant un volume d'environ 10 μL , et avec l'introduction d'environ 1 mL d'éthanol dans l'enceinte 12 et une durée prédéterminée de 10 minutes pour l'étape de fermeture 60. La composition 14 a été préparée avec les proportions suivantes : pour un volume total d'un mL de la composition 14, 45 μL de surfactant TWEEN20 à 0,2% et 600 μL de PEG 600 de concentration massique égale à 0,5%.

La courbe 68 montre alors une évolution très rapide du rayon de la composition 14 en fonction du temps, c'est-à-dire un étalement très rapide de la composition 14 sur le support 10 à partir du moment où la vapeur formée par l'évaporation du liquide est extraite de l'enceinte. Dans l'exemple de la figure 3, la composition 14 présente initialement un rayon d'environ 4 mm, et la valeur du rayon est doublée en un peu plus de quatre secondes à partir du début de l'étape 65, la valeur du rayon étant triplée environ 18 secondes après le début de l'étape 65.

Ainsi, lorsque la durée prédéterminée de l'étape 60 est égale à 10 minutes, la valeur du rayon de la composition 14 est triplée en un peu plus de 10 minutes avec le procédé de formation selon l'invention, alors qu'avec le procédé de formation de l'état de la technique, le triplement de la valeur du rayon n'est obtenu au mieux qu'après environ 1500 secondes, soit 25 minutes.

Le procédé selon l'invention permet donc d'améliorer de manière importante l'étalement de la composition 14 sur le support 10.

Après la formation du film liquide sur le support 10 suivant le procédé selon l'invention, le film liquide est éclairé par la source de lumière 20 afin que les particules 24 soient détectées à l'aide du système de détection optique 22, visible sur la figure 4.

La source de lumière 20 est propre à émettre un faisceau lumineux 70 selon la direction longitudinale X, afin d'éclairer la composition 14 disposée sur la lame transparente 18.

La source de lumière 20 est disposée à une première distance D1 de la lame transparente 18 selon la direction longitudinale X. La première distance D1 présente, de préférence, une valeur comprise entre 1 cm et 30 cm, par exemple égale à 10 cm.

Dans l'exemple de réalisation de la figure 4, la source de lumière 20 est une source ponctuelle. La cohérence spatiale de la source de lumière 20 est en complément

améliorée, par exemple en la couplant avec un sténopé, de diamètre compris entre 50 μm et 500 μm , placé au contact de la source 20.

La source de lumière 20 est, par exemple, une diode électroluminescente, également appelée LED (de l'anglais *Light Emitting Diode*), monochromatique et présentant des dimensions suffisamment réduites pour être considérée comme spatialement cohérente, le diamètre de la diode électrode lumineuse étant inférieur au dixième de la première distance D1 séparant cette diode électroluminescente de la lame 18. La diode électroluminescente de la source de lumière 20 présente, par exemple, une longueur d'onde d'émission égale à 555 nm et une puissance égale 1,7 W.

En variante, la source de lumière 20 est une source spatialement ou temporellement cohérente, telle qu'une diode laser (DL) ou encore une diode laser de type VCSEL (de l'anglais *Vertical Cavity Surface Emitting Laser*).

Le système de détection optique 22 comprend la source de lumière 20, un dispositif 72 d'acquisition d'images, la lame transparente 18 et la composition 14 étalée sur la lame 18, la composition 14 comportant les particules à détecter 24.

Le système de détection 22 est destiné à détecter les particules 24, lors d'une évaporation de la composition 14, cette évaporation étant décorrélée de l'étalement, décrit précédemment, de la composition 14 sur la lame transparente 18.

Les particules à détecter 24 sont, par exemple, des particules biologiques, c'est-à-dire des cellules (par exemple des globules rouges, des globules blancs, ou des plaquettes), des composants cellulaires (par exemple des mitochondries), des bactéries, des virus ou encore tout autre molécule ou agrégats de molécule, notamment des agrégats de protéines.

En variante, les particules à détecter 24 sont des microbilles.

Les particules à détecter 24 présentent un diamètre de préférence inférieur à 1 μm , le diamètre des particules 24 étant par exemple compris entre 50 nm et 1 μm , de préférence encore compris entre 10 nm et 1 μm .

Le faisceau lumineux 70 est propre à éclairer directement la composition 14 disposée sur la lame transparente 18.

Le dispositif d'acquisition d'images 72 comprend un photodétecteur matriciel 74 comportant une pluralité de pixels, non représentés. Chaque pixel du photodétecteur 74 présente des dimensions inférieures ou égales à 10 μm , voire 4 μm . Chaque pixel est, par exemple, en forme d'un carré dont le côté est de valeur inférieure ou égale à 10 μm , voire à 4 μm . En variante, chaque pixel est en forme d'un carré de 2,2 μm de côté.

Le dispositif d'acquisition 72 est disposé à une deuxième distance D2 de la lame transparente 18 selon la direction longitudinale X. La deuxième distance D2 présente une valeur inférieure à 1 cm, et de préférence comprise entre 100 μm et 2 mm.

Dans l'exemple de réalisation de la figure 4, la deuxième distance D2 est égale à 500 μm . Le fait de privilégier une distance courte entre le dispositif d'acquisition 72 et la lame transparente 18 permet de limiter les phénomènes d'interférences entre différentes figures de diffraction lorsque la composition 14 est éclairée.

Le dispositif d'acquisition d'images 72 est propre à acquérir des images du rayonnement transmis par la lame 18 sur laquelle est agencée la composition 14 éclairée par le faisceau lumineux 70. Par rayonnement transmis, on entend le rayonnement traversant la composition 14 et la lame 18, de telle sorte que le dispositif d'acquisition 72 et la source de lumière 20 sont situés de part et d'autre de la lame transparente 18 et de la composition 14.

Le photodétecteur matriciel 74 est un capteur d'images en deux dimensions, à savoir dans un plan perpendiculaire à l'axe longitudinal X. Le photodétecteur matriciel 74 est un capteur d'image pixélisé, et par exemple un capteur CMOS (de l'anglais *Complementary Metal Oxide Semi-conductor*).

En variante, le photodétecteur matriciel 74 est un capteur CCD (de l'anglais *Charged-Couple Device*).

Les images acquises par le photodétecteur matriciel 74 sont formées par le rayonnement transmis directement par la composition 14 éclairée, en l'absence d'une optique de grossissement disposée entre la lame transparente 18 et le photodétecteur matriciel 74. Cependant, cela n'exclut pas la présence de microlentilles, chacune étant couplée à un pixel correspondant du capteur, ces microlentilles permettant une meilleure collecte du signal. Le photodétecteur matriciel 74 est également appelé dispositif d'imagerie sans lentille, et est apte à former une image de la composition 14, tout en étant placé à une faible distance de cette dernière. Par faible distance, on entend une distance inférieure à 1 cm, la deuxième distance D2 étant par exemple de l'ordre de 500 μm .

Pour la détection optique des particules 24, des images successives de la composition 14 étalée en forme de film et contenant les particules 24 sont alors acquises à l'aide du système de détection optique 22. Lors de l'évaporation du film, on observe la formation d'une pellicule recouvrant les particules 24, la pellicule présentant une épaisseur très faible, telle qu'une épaisseur de valeur comprise entre 10 nm et 5 μm .

Lorsque la composition 14 est éclairée par la source de lumière 20 dans ces conditions, la pellicule joue alors le rôle d'une ou plusieurs microlentilles formées au-dessus des particules 24, ce qui permet d'améliorer la détection de ces particules.

L'ajout du polymère hydrophile dans la composition 14 permet de prolonger la durée pendant laquelle la pellicule subsiste au contact des particules 24 lors de l'évaporation de la composition 14. Le polymère hydrophile permet de prolonger la durée d'apparition de la pellicule, tout en conservant un étalement correct de la composition 14 sur la lame 18. L'angle de contact α obtenu entre la lame 18 et la composition 14 présente en effet une valeur inférieure à 20°, de préférence inférieure à 1° et 10°, de préférence encore de l'ordre du degré.

Le polymère hydrophile entraîne également une diminution de l'épaisseur de la pellicule obtenue lors de l'évaporation de la composition 14, ce qui permet de détecter des particules 24 de taille plus réduite, tout en conservant un bon rapport signal sur bruit. En effet, si l'épaisseur de la pellicule est trop importante par rapport aux particules 24 que l'on souhaite détecter, alors le rapport signal sur bruit décroît.

Lorsque le surfactant présente une concentration au moins égale à la concentration micellaire critique, la composition 14 s'étale encore mieux, tout en présentant une vitesse d'évaporation suffisante pour permettre la formation de la pellicule.

Le système de détection 22 permet alors de détecter des particules 24 présentant un diamètre de très faible valeur, comme par exemple des particules présentant un diamètre de 200 nm.

12
REVENDICATIONS

1.- Procédé de formation d'un film liquide sur un support (10), le procédé comprenant les étapes suivantes :

5 - le placement (50) du support (10) dans une enceinte (12), et le dépôt d'une composition (14) sur le support (10), la composition (14) comportant de l'eau,

 - l'introduction (55) d'un liquide volatile (16) dans l'enceinte (12), et

 - la fermeture (60) de l'enceinte (12) pendant une durée prédéterminée, le liquide volatile (16) s'évaporant dans l'enceinte (12) lors de cette étape de fermeture (60),

10 le procédé étant caractérisé en ce qu'il comprend en outre l'étape suivante :

 - l'extraction (65), en dehors de l'enceinte (12), au moins partiellement de la vapeur formée par l'évaporation du liquide volatile (16), cette extraction (65) produisant un étalement de la composition (14) sur le support (10), ladite composition étalée (14) formant alors le film liquide sur le support (10).

15 2.- Procédé selon la revendication 1, dans lequel la durée prédéterminée présente une valeur comprise entre 1 minute et 30 minutes, de préférence comprise entre 5 minutes et 20 minutes, de préférence encore sensiblement égale à 10 minutes.

20 3.- Procédé selon la revendication 1 ou 2, dans lequel lors de l'introduction (55) du liquide volatile (16), le liquide volatile (16) est disposé à l'écart de la composition (14), en l'absence d'un contact entre le liquide volatile (16) et la composition (14).

25 4.- Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel le liquide volatile (16) introduit dans l'enceinte (12) comporte un alcool, tel que de l'éthanol.

30 5.- Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel l'enceinte (12) est une boîte (26), telle qu'une boîte de Petri, la boîte (26) comportant un couvercle (28) et un réceptacle (30) présentant une ouverture (32), le couvercle (28) étant mobile entre une position ouverte dans laquelle le couvercle (28) est à l'écart de l'ouverture (32) du réceptacle et une position fermée dans laquelle le couvercle (28) est propre à obturer l'ouverture (32) du réceptacle, ladite position fermée correspondant à une fermeture hermétique de la boîte (26), et

35 dans lequel, lors de l'étape de fermeture (60), le couvercle (28) est déplacé de sa position ouverte vers sa position fermée, puis maintenu en position fermée pendant la

durée prédéterminée, et lors de l'étape d'extraction (65), le couvercle (28) est déplacé de sa position fermée vers sa position ouverte, puis maintenu en position ouverte.

5 6.- Procédé selon la revendication 5, dans lequel le réceptacle (30) comporte un fond (31), le liquide volatile (16) est disposé contre le fond (31) lors de l'étape d'introduction (55), et la boîte (26) comporte en outre au moins une cale (33) de maintien du support (10) à l'écart du fond (31), afin de disposer le liquide volatile (16) à l'écart de la composition (14) lors de l'étape d'introduction (55).

10 7.- Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel la composition (14) comprend en outre des particules (24), un surfactant et un polymère hydrophile, les particules (24) présentant un diamètre de préférence inférieur à 10 μm , de préférence encore inférieur à 1 μm , le surfactant présentant une concentration de préférence au moins égale à la concentration micellaire critique, et le polymère hydrophile
15 présentant une température d'ébullition supérieure à celle de l'eau,

le polymère étant de préférence un polyéthylène glycol défini par la formule suivante : $\text{H}(-\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}$

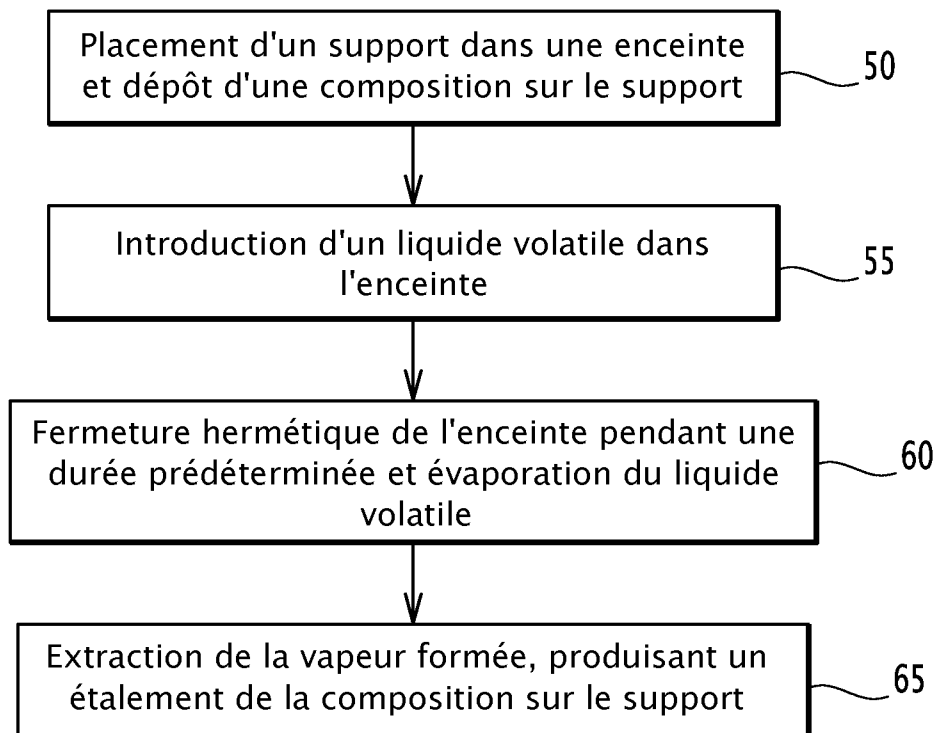
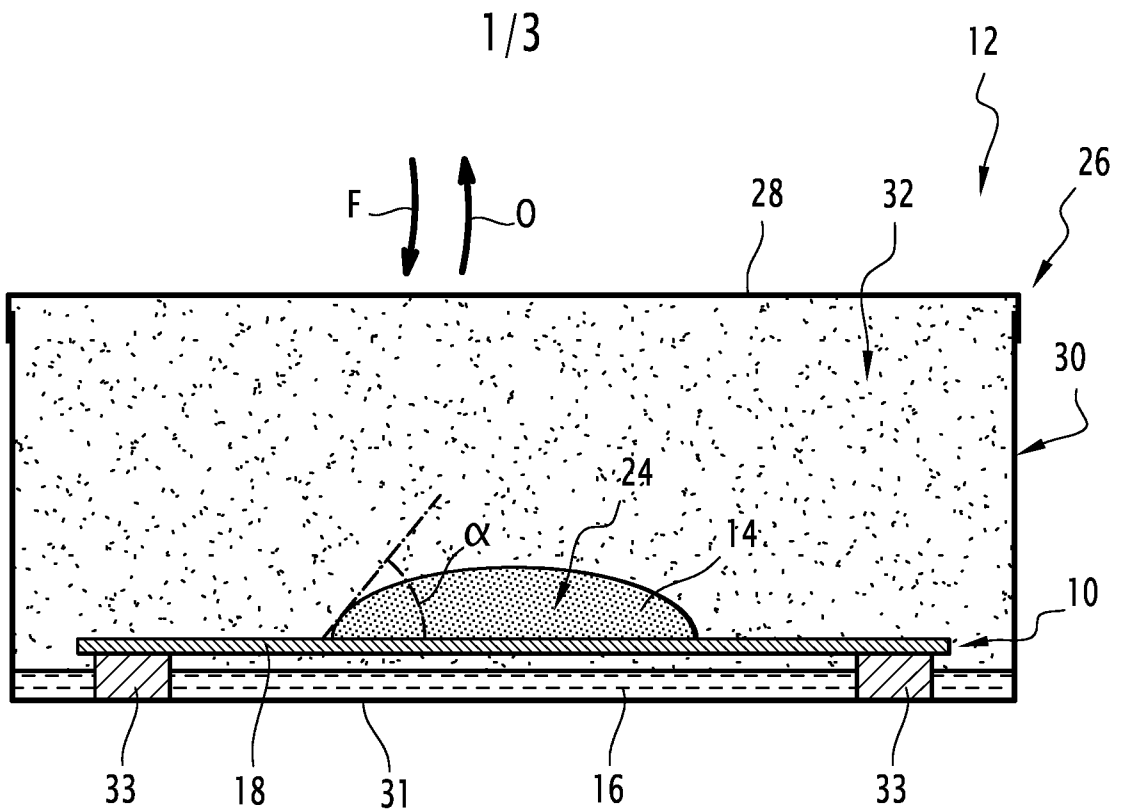
où n représente le nombre de motif(s) d'oxyéthylène du polymère.

20 8.- Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel la composition (14) présente un volume de valeur comprise entre 0,5 μL et 5 μL .

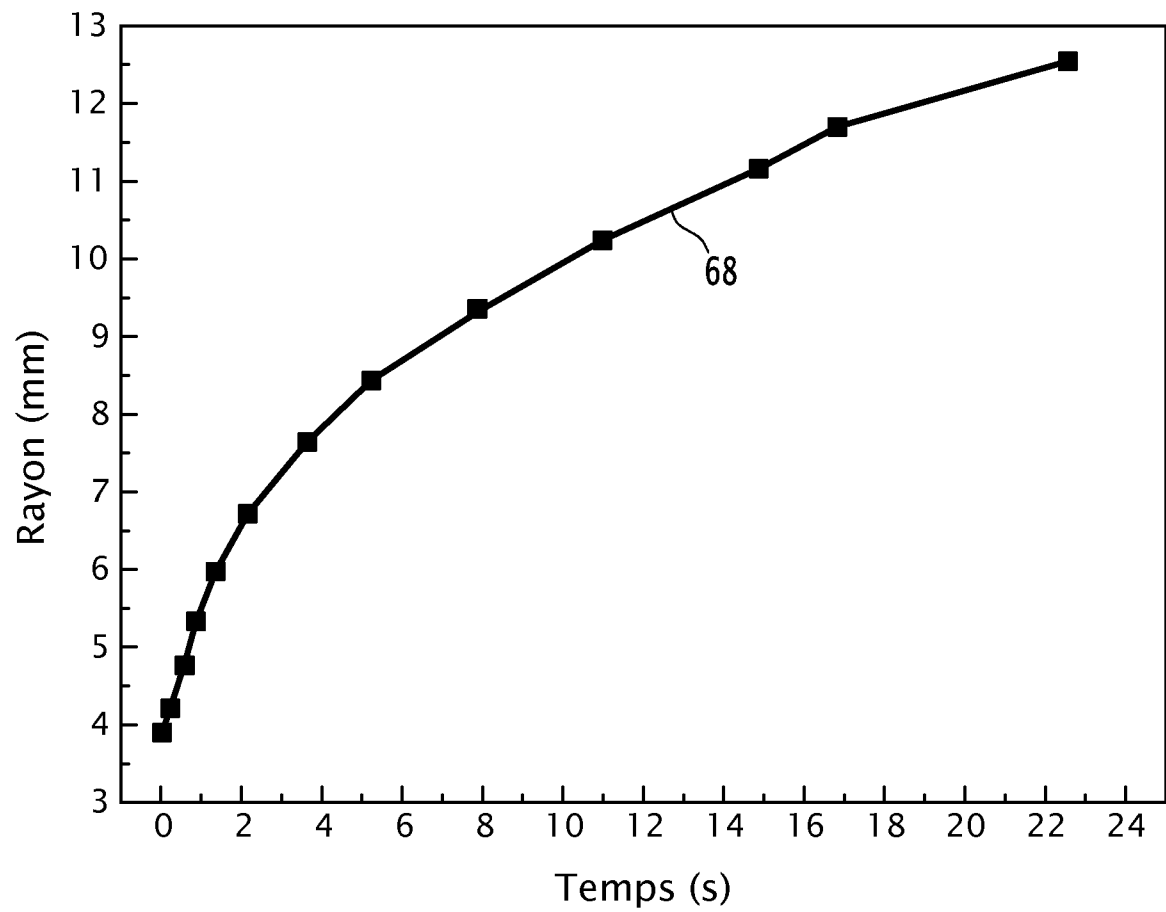
9.- Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel le support (10) est réalisé en un matériau hydrophile, tel que du verre ou encore tel qu'un
25 matériau plastique.

10.- Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel le support (10) est une lame transparente (18), la lame transparente (18) étant destinée à être éclairée par une source lumineuse (20), en vue de l'acquisition, à l'aide d'un système
30 de détection optique (22), d'au moins une image de la composition (14) comprenant des particules (24).

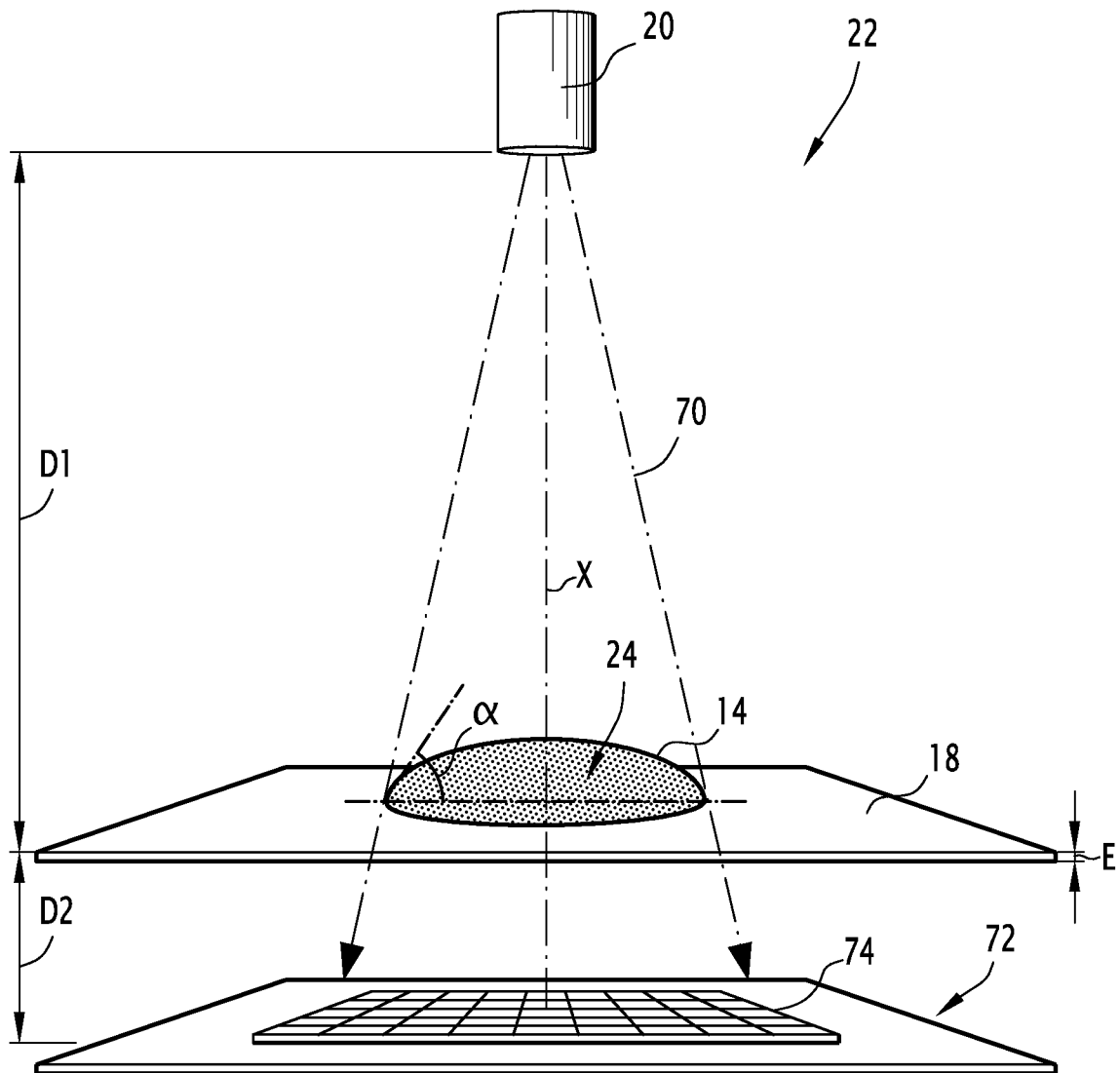
11.- Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel la composition (14) comprend en outre des particules (24), les particules (24) étant des
35 espèces biologiques, telles que des espèces biologiques vivantes, par exemple des bactéries.



2/3

FIG.3

3/3

FIG. 4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2013/074750

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. G01N1/40
ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
G01N

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

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

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	MAINAK MAJUMDER ET AL: "Overcoming the "Coffee-Stain" Effect by Compositional Marangoni-Flow-Assisted Drop-Drying", THE JOURNAL OF PHYSICAL CHEMISTRY B, vol. 116, no. 22, 7 June 2012 (2012-06-07), pages 6536-6542, XP055080960, ISSN: 1520-6106, DOI: 10.1021/jp3009628 cited in the application abstract; figures 1,3 paragraphes 2.1 et 2.2 page 6537 paragraphe 3.2 pages 6538-3540 -----	1-11
A	WO 2011/045360 A1 (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE [FR]; ALLIER CEDRIC [FR]) 21 April 2011 (2011-04-21) claim 1; figure 1 page 8, line 10 - line 20 ----- -/-	1



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 March 2014

Date of mailing of the international search report

10/04/2014

Name and mailing address of the ISA/

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

Authorized officer

Bockstahl, Frédéric

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2013/074750

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	FR 2 943 785 A1 (CENTRE NAT RECH SCIENT [FR]; INST CURIE [FR]) 1 October 2010 (2010-10-01) figures 2-3 page 18, line 18 - page 20, line 20 -----	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2013/074750

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2011045360	A1	21-04-2011	CN 102575977 A 11-07-2012
			EP 2488847 A1 22-08-2012
			FR 2951542 A1 22-04-2011
			JP 2013507630 A 04-03-2013
			US 2011228256 A1 22-09-2011
			WO 2011045360 A1 21-04-2011

FR 2943785	A1	01-10-2010	CA 2756098 A1 07-10-2010
			EP 2414099 A1 08-02-2012
			FR 2943785 A1 01-10-2010
			JP 2012522237 A 20-09-2012
			US 2012070911 A1 22-03-2012
			WO 2010112699 A1 07-10-2010

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE INV. G01N1/40 ADD.		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) G01N Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	MAINAK MAJUMDER ET AL: "Overcoming the "Coffee-Stain" Effect by Compositional Marangoni-Flow-Assisted Drop-Drying", THE JOURNAL OF PHYSICAL CHEMISTRY B, vol. 116, no. 22, 7 juin 2012 (2012-06-07), pages 6536-6542, XP055080960, ISSN: 1520-6106, DOI: 10.1021/jp3009628 cité dans la demande abrégé; figures 1,3 paragraphes 2.1 et 2.2 page 6537 paragraphe 3.2 pages 6538-3540 -----	1-11
A	WO 2011/045360 A1 (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE [FR]; ALLIER CEDRIC [FR]) 21 avril 2011 (2011-04-21) revendication 1; figure 1 page 8, ligne 10 - ligne 20 ----- -/-	1
☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents ☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités: "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier "&" document qui fait partie de la même famille de brevets		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée 17 mars 2014		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale 10/04/2014
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé Bockstahl, Frédéric

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	FR 2 943 785 A1 (CENTRE NAT RECH SCIENT [FR]; INST CURIE [FR]) 1 octobre 2010 (2010-10-01) figures 2-3 page 18, ligne 18 - page 20, ligne 20 -----	1

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/EP2013/074750

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)		Date de publication
WO 2011045360	A1	21-04-2011	CN	102575977 A	11-07-2012
			EP	2488847 A1	22-08-2012
			FR	2951542 A1	22-04-2011
			JP	2013507630 A	04-03-2013
			US	2011228256 A1	22-09-2011
			WO	2011045360 A1	21-04-2011

FR 2943785	A1	01-10-2010	CA	2756098 A1	07-10-2010
			EP	2414099 A1	08-02-2012
			FR	2943785 A1	01-10-2010
			JP	2012522237 A	20-09-2012
			US	2012070911 A1	22-03-2012
			WO	2010112699 A1	07-10-2010
