

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
COURBEVOIE

①1 N° de publication :  
(à n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction)

3 065 227

②1 N° d'enregistrement national : 17 53250

⑤1 Int Cl<sup>8</sup> : C 12 Q 1/04 (2017.01), C 12 Q 1/24, B 01 L 3/00

⑫

## DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 13.04.17.

③0 Priorité :

④3 Date de mise à la disposition du public de la demande : 19.10.18 Bulletin 18/42.

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 :

○ Demande(s) d'extension :

⑦1 Demandeur(s) : BIOMERIEUX Société anonyme — FR.

⑦2 Inventeur(s) : MICHEL FLORIAN, FOUCAULT FREDERIC et ROZAND CHRISTINE.

⑦3 Titulaire(s) : BIOMERIEUX Société anonyme.

⑦4 Mandataire(s) : CABINET BEAU DE LOMENIE Société civile.

⑤4 DISPOSITIF DE CONTROLE MICROBIOLOGIQUE, PROCEDE DE MISE A DISPOSITION ET UTILISATION D'UN TEL DISPOSITIF.

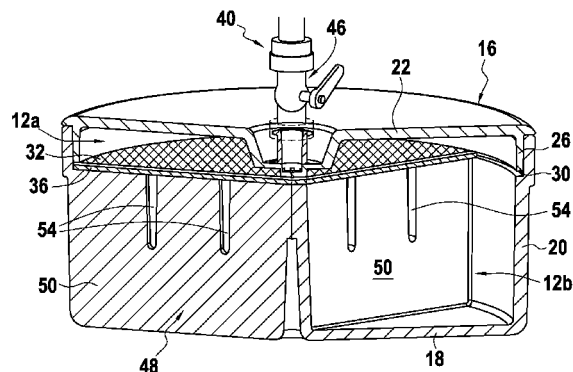
⑤7 L'invention concerne un dispositif de contrôle micro-biologique (10) pour contrôler un liquide à analyser susceptible de contenir au moins un microorganisme, du type comportant:

- un espace interne fermé (12);
- un moyen de filtration microbiologique (32);
- un port d'entrée (40),

caractérisé en ce que le dispositif (10) comporte une couche nutritive (36) en contact avec le moyen de filtration (32), et en ce que, dans une configuration de mise à disposition du dispositif (10):

- un obturateur (46) du port d'entrée (40) est dans un état fermé;
- la pression gazeuse absolue à l'intérieur de l'espace interne fermé (12) est strictement inférieure à la pression atmosphérique standard, de manière que le dispositif est apte à créer une aspiration au travers du port d'entrée lors d'une première ouverture de l'obturateur (46).

L'invention concerne aussi un procédé de mise à disposition et une utilisation d'un tel dispositif.



FR 3 065 227 - A1



La présente invention concerne, de façon générale, le domaine de l'analyse microbiologique. Plus particulièrement, elle porte sur un dispositif de contrôle microbiologique pour contrôler un liquide à analyser, ce liquide étant susceptible de contenir au moins un micro-organisme. Elle porte aussi sur un procédé de mise à disposition d'un tel dispositif et sur des utilisations d'un tel dispositif dans un procédé de contrôle d'un liquide à analyser susceptible de contenir au moins un micro-organisme.

L'invention vise plus particulièrement le domaine du contrôle microbiologique industriel agroalimentaire, pharmaceutique ou cosmétique.

L'invention a été développée suite à de travaux ayant bénéficié de la participation du Centre National d'Etudes Spatiales (CNES).

Il existe de nombreuses situations dans lesquelles on cherche à contrôler la présence d'au moins un micro-organisme dans un liquide, en vue généralement de pouvoir constater l'absence de ce micro-organisme.

Bien entendu, le liquide à analyser peut-être un fluide biologique (sang total, sérum, plasma, urine, liquide céphalo-rachidien, sécrétion organique, etc...). Toutefois, le liquide peut aussi être un liquide industriel, notamment un liquide alimentaire (eau, boisson en général et notamment jus de fruits, lait, soda, etc...) ou un liquide pharmaceutique ou cosmétologique.

De nombreuses techniques de laboratoire sont connues qui permettent de filtrer le liquide à analyser pour recueillir d'éventuels micro-organismes contenus dans le liquide, de mettre en culture ces micro-organismes pour être ensuite en mesure de les détecter, de les dénombrer, de les caractériser et/ou de les identifier. Ces techniques requièrent un certain nombre de manipulations bien connues des laborantins.

Dans ces techniques, on est parfois amené à utiliser un dispositif de filtration qui comprend un espace interne fermé délimité par une enceinte et qui destiné à recevoir le liquide à analyser. Une telle technique est notamment appelé « filtration sur membrane ». Un moyen de filtration microbiologique, par exemple une membrane filtrante, est disposé dans l'espace interne fermé et sépare, dans l'espace interne fermé, un premier compartiment d'un second compartiment de l'espace interne fermé. Le

dispositif comporte un port d'entrée pour le liquide à analyser qui débouche dans le premier compartiment de l'espace interne fermé.

Dans les dispositifs de filtration connus, comme dans ceux du document EP-1.783.494, il est prévu un port d'aspiration qui est destiné à être relié à une source externe d'aspiration. Dans l'utilisation d'un tel dispositif, on doit donc raccorder la source externe d'aspiration au port d'aspiration pour générer, lors de l'introduction du liquide à analyser dans le dispositif par le port d'entrée, une dépression à l'intérieur de l'espace interne fermé, cette dépression étant favorable, voire nécessaire, à la filtration.

Une fois la filtration réalisée, les micro-organismes étant retenus sur le moyen de filtration, le dispositif est ouvert pour récupérer le moyen de filtration, lequel est transféré dans un dispositif de mise en culture pour permettre l'incubation des micro-organismes.

Une telle technique est aisément réalisable en laboratoire.

En revanche, une telle technique est difficilement mise en œuvre dans un milieu opérationnel, notamment dans un milieu industriel dans lequel les liquides sont produits, conditionnés, distribués ou utilisés. En effet, dans ce contexte, il est intéressant de pouvoir disposer de moyens pour détecter une éventuelle contamination du liquide par un micro-organisme non souhaité. Cependant, les techniques habituelles telles que décrites ci-dessus nécessitent de transporter un échantillon du liquide à analyser vers un laboratoire où les méthodes habituelles peuvent être mises en œuvre. Il est en effet peu envisageable de réaliser ces opérations habituelles in situ, sur le site industriel de production, conditionnement, distribution ou utilisation du liquide. En effet la manipulation d'un liquide contaminé dans un tel environnement poserait le risque d'une propagation de la contamination en cas de mauvaise manipulation. Par ailleurs, l'étape de mise en culture des éventuels micro-organismes nécessite la présence d'un milieu nutritionnel qui est, par définition, favorable au développement des micro-organismes. On ne souhaite bien entendu pas qu'un tel milieu nutritionnel soit introduit dans un tel contexte industriel. De plus, les techniques habituelles de détection nécessitent aussi de protéger l'échantillon à analyser de toute contamination

externe, donc de travailler dans un environnement le plus stérile possible pour éviter les faux positifs.

L'invention a donc pour but de proposer un dispositif et un procédé de contrôle microbiologique d'un liquide à analyser qui permettent des opérations de contrôle particulièrement simplifiées, qu'il serait même envisageable d'utiliser ou de conduire en dehors du laboratoire microbiologique, y compris dans un environnement industriel.

Dans ce but, l'invention propose tout d'abord un dispositif de contrôle microbiologique pour contrôler un liquide à analyser susceptible de contenir au moins un micro-organisme, du type comportant :

- un espace interne fermé délimité par une enceinte et destiné à recevoir le liquide à analyser ;
- un moyen de filtration microbiologique disposé dans l'espace interne fermé et séparant, dans l'espace interne fermé, un premier compartiment d'un second compartiment de l'espace interne fermé ;
- un port d'entrée pour le liquide à analyser, le port d'entrée débouchant dans le premier compartiment de l'espace interne fermé.

Un tel dispositif est caractérisé en ce que le dispositif de contrôle microbiologique comporte, à l'intérieur de l'espace interne fermé, une couche nutritive comprenant une composition d'un milieu de culture microbiologique, la couche nutritive étant en contact avec le moyen de filtration, en ce que le port d'entrée du dispositif de contrôle microbiologique comporte un obturateur, et en ce que, dans une configuration de mise à disposition du dispositif de contrôle microbiologique avant utilisation :

- l'obturateur du port d'entrée est dans un état fermé pour fermer le port d'entrée et l'espace interne fermé de manière étanche à l'air ;
- la pression gazeuse absolue à l'intérieur de l'espace interne fermé, ramenée à une température de 25°C, est strictement inférieure à la pression atmosphérique standard de 1bar à 25°C, de manière que le dispositif est apte à créer une aspiration au travers du port d'entrée lors d'une première ouverture de l'obturateur.

Selon d'autres caractéristiques optionnelles d'un dispositif selon l'invention, prises seules ou en combinaison :

- 5 - Dans la configuration de mise à disposition du dispositif de contrôle microbiologique avant utilisation, l'espace interne fermé est isolé de toute source externe d'aspiration.
- Le second compartiment de l'espace interne fermé est dépourvu de port de communication fluide avec l'extérieur de l'espace interne fermé.
- Dans la configuration de mise à disposition du dispositif avant utilisation, le milieu de culture microbiologique de la couche nutritive est  
10 déshydraté.
- Tout échange fluide entre le premier et le second compartiment de l'espace interne fermé se fait au travers du moyen de filtration.
- Le dispositif de contrôle microbiologique comporte un support pour le moyen de filtration et la couche nutritive.
- 15 - La couche nutritive est agencée entre le moyen de filtration et le support pour le moyen de filtration.
- La couche nutritive est serrée localement entre le moyen de filtration et le support pour le moyen de filtration.
- Le support pour le moyen de filtration comprend des cloisons de support agencées dans le second compartiment.
- 20 - Des cloisons de support sont ajourées pour permettre la circulation de fluide de part et d'autre des dites cloisons dans le second compartiment.
- Un matériau absorbant l'eau est agencé dans le second compartiment.
- 25 - L'obturateur du port d'entrée comporte une vanne.
- L'obturateur du port d'entrée comporte une membrane étanche, et l'obturateur du port d'entrée est amené dans un état ouvert par rupture de la membrane.
- L'enceinte du dispositif de contrôle microbiologique comporte au  
30 moins un corps principal qui délimite au moins en partie le second compartiment, et comporte un couvercle qui délimite au moins en partie le premier compartiment, le corps principal et le couvercle étant formés de

pièces distinctes assemblées l'une à l'autre pour former le dispositif de contrôle microbiologique.

- L'enceinte du dispositif de contrôle microbiologique comporte au moins une partie transparente.

5 - Le port d'entrée comporte un répartiteur comportant plusieurs passages distincts pour le liquide à analyser.

- Le port d'entrée comprend une portion interne qui débouche dans le premier compartiment de l'espace interne fermé, et une portion externe de raccordement à un contenant de liquide à analyser, et l'obturateur du port  
10 d'entrée est interposé entre la portion interne et la portion externe du port d'entrée.

- Dans la configuration de mise à disposition du dispositif de contrôle microbiologique avant utilisation, la pression gazeuse absolue à l'intérieur de l'espace interne fermé est telle qu'elle permet l'entrée d'un volume  
15 prédéterminé de l'échantillon à analyser sans évacuation de fluide depuis l'espace interne lors de l'entrée d'un volume prédéterminé de l'échantillon à analyser. Notamment, la pression gazeuse absolue à l'intérieur de l'espace interne fermé est de préférence strictement inférieure à la pression  
20 atmosphérique standard multipliée par le rapport du volume libre final dans l'espace interne, après l'entrée d'un volume prédéterminé de l'échantillon à analyser, divisé par le volume de l'espace interne. En pratique, dans la configuration de mise à disposition du dispositif de contrôle microbiologique avant utilisation, la pression gazeuse absolue à l'intérieur de l'espace interne fermé est strictement inférieure à 600 millibars absolus, de préférence  
25 strictement inférieure à 300 millibars absolus, plus préférentiellement strictement inférieure à 200 millibars absolus.

L'invention concerne aussi un procédé de mise à disposition d'un dispositif de contrôle microbiologique pour contrôler un liquide à analyser susceptible de contenir au moins un micro-organisme, du type comprenant la  
30 fourniture d'un dispositif de contrôle microbiologique comportant :

- une enceinte prévue pour délimiter un espace interne fermé destiné à recevoir le liquide à analyser ;

- un moyen de filtration microbiologique prévu pour être disposé dans l'espace interne fermé et pour séparer, dans l'espace interne fermé, un premier compartiment d'un second compartiment de l'espace interne fermé ;

- un port d'entrée pour le liquide à analyser, le port d'entrée débouchant dans le premier compartiment de l'espace interne fermé,

caractérisé en ce que le procédé comprend la fourniture d'une couche nutritive, prévue pour être reçue à l'intérieur de l'espace interne fermé et imprégnée d'une composition d'un milieu de culture microbiologique, la couche nutritive étant en contact avec le moyen de filtration,

et en ce que le procédé comprend, avant tout raccordement du dispositif de contrôle microbiologique à un contenant de liquide à analyser, successivement et dans cet ordre :

- une étape de dépressurisation pour abaisser la pression gazeuse absolue à l'intérieur de l'espace interne fermé,;

- une étape d'obturation pour fermer l'espace interne fermé de manière étanche à l'air.

L'invention concerne aussi l'utilisation d'un dispositif de contrôle microbiologique, ayant l'une quelconque des caractéristiques énoncées ci-dessus, dans un procédé de contrôle d'un liquide à analyser susceptible de contenir au moins un micro-organisme.

Cette utilisation peut en outre comporter les étapes consistant à :

- raccorder un contenant de liquide à analyser au port d'entrée ;  
- ouvrir l'obturateur du port d'entrée pour permettre le passage du liquide à analyser du récipient vers l'espace interne fermé.

Elle peut comporter les étapes ultérieures consistant à :

- refermer l'obturateur du port d'entrée ;  
- déconnecter le contenant de liquide à analyser ;  
- faire incuber, dans le dispositif de contrôle microbiologique, un éventuel micro-organisme contenu initialement dans le liquide à analyser.

Elle peut comporter une étape encore ultérieure consistant à détecter, dénombrer, identifier et/ou caractériser visuellement un éventuel micro-organisme contenu initialement dans le liquide à analyser par vision au

travers d'une portion transparente de l'enceinte du dispositif de contrôle microbiologique.

Diverses autres caractéristiques ressortent de la description faite ci-dessous en référence aux dessins annexés qui montrent, à titre  
5 d'exemples non limitatifs, des formes de réalisation de l'objet de l'invention.

La **Figure 1** est une vue en perspective éclatée d'un exemple de réalisation d'un dispositif selon l'invention.

La **Figure 2** est une vue en perspective du dispositif de la **Fig. 1**,  
assemblé.

10 La **Figure 3** est une vue en coupe du dispositif de la **Fig. 2**, le plan de coupe étant illustré à la **Fig. 1**.

La **Figure 4** est une vue en perspective, en vue de dessous, du couvercle du dispositif de la **Fig. 1**.

On a illustré sur les Figures **1** à **4** un exemple de réalisation d'un  
15 dispositif **10** de contrôle microbiologique pour contrôler un liquide à analyser, ledit liquide étant susceptible de contenir au moins un micro-organisme.

Au sens de la présente invention, le terme micro-organisme recouvre notamment les bactéries à Gram positif ou à Gram négatif, les levures, les  
20 amibes, les virus et plus généralement, les organismes unicellulaires, invisibles à l'œil nu, qui peuvent être manipulés et multipliés en laboratoire.

Selon un mode préféré de réalisation de l'invention, le micro-organisme est une bactérie, à Gram négative ou positive, ou une levure.

Ce dispositif de contrôle microbiologique, dans son état opérationnel  
25 illustré aux **Figs. 2** et **3**, présente un espace interne fermé **12**, délimité par une enceinte et destiné à recevoir le liquide à analyser.

Dans l'exemple illustré, l'enceinte du dispositif de contrôle microbiologique comporte au moins un corps principal **14** et un couvercle **16**. Le corps principal **14** et le couvercle **16** sont formés de pièces  
30 distinctes qui sont assemblées l'une à l'autre pour former l'enceinte du dispositif de contrôle microbiologique. Le couvercle **16** vient refermer le corps principal **14** pour délimiter l'espace interne fermé **12** du dispositif de

contrôle microbiologique **10**. Le couvercle **16** présente donc une forme complémentaire de celle du corps principal **14** pour assurer la fermeture de ce dernier.

Dans l'exemple illustré, le corps principal **14** présente une paroi de fond **18** et une paroi latérale périphérique **20** de sorte que le corps principal **14** est ouvert par une extrémité opposée à sa paroi de fond **18**. Dans l'exemple illustré, la paroi latérale périphérique **20** présente un axe central **A1**. La paroi de fond **18** est dans le cas illustré une paroi transversale perpendiculaire à l'axe central **A1** du corps principal **14**.

Pour la clarté de la description, on considère dans la suite de la description que l'axe central **A1** est orienté verticalement et que la paroi de fond **18** est agencée à une extrémité inférieure du dispositif de contrôle microbiologique, la paroi latérale périphérique **20** s'étendant vers le haut, selon la direction de l'axe **A1**, depuis la paroi de fond **18**. Cependant, les notions de verticalité, d'horizontalité, et les notions « haut », « bas », « supérieur » et « inférieur » ne sont utilisées que par référence à l'orientation du dispositif de contrôle microbiologique tel qu'illustré sur les figures, de manière relative entre elles, sans avoir de caractère limitatif sur la portée de l'invention ou sur l'orientation du dispositif de contrôle microbiologique en utilisation.

La paroi latérale périphérique **20** est par exemple une surface de révolution autour de l'axe central **A1**. Dans l'exemple illustré, la paroi latérale **20** est sensiblement cylindrique. Cependant, d'autres formes peuvent être proposées.

En conséquence, le couvercle **16** présente une paroi transversale **22**, perpendiculaire à l'axe central **A1**, qui en l'occurrence présente sensiblement une forme circulaire correspondant à la géométrie d'un bord supérieur **24** de la paroi latérale périphérique **20** du corps principal **14**. Dans l'exemple illustré, le couvercle **16** présente une collerette cylindrique **26**, en l'occurrence cylindrique de révolution autour de l'axe central **A1**, qui s'étend vers le bas depuis une face inférieure de la paroi transversale **22** du couvercle. La collerette cylindrique **26** est destinée à venir s'engager selon la

direction verticale de l'axe central **A1**, à l'intérieur d'une extrémité supérieure de la paroi latérale périphérique **20** du corps principal **14**.

On remarque que, dans cet exemple de réalisation, l'extrémité supérieure de la paroi latérale périphérique **20** du corps principal présente, sur une face interne, un décrochement transversal qui délimite une surface annulaire d'appui **28** d'axe central **A1**, tournée vers le haut. La collerette cylindrique **26** présente un bord inférieur **30** qui, lorsque le couvercle **16** est assemblé sur le corps principal **14**, vient en regard de la surface annulaire d'appui **28**.

10 Le dispositif de contrôle microbiologique **10** selon invention comporte un moyen de filtration microbiologique **32** qui est disposé dans l'espace interne fermé **12** et qui sépare, dans l'espace interne fermé, un premier compartiment **12a** d'un second compartiment **12b** de l'espace interne fermé **12**.

15 Dans l'exemple illustré, le premier compartiment **12a** est délimité au moins en partie par le couvercle **16**, tandis que le second compartiment **12b** est délimité au moins en partie par le corps principal **14**.

En effet, le moyen de filtration microbiologique **32** s'étend dans l'espace interne fermé **12** sensiblement transversalement, selon toute la section de l'espace interne fermé. Dans l'exemple, le moyen de filtration microbiologique **32** présente une forme sensiblement plane, ici la forme d'un disque. Il est de préférence agencé perpendiculairement à l'axe central **A1**. Dans l'exemple illustré, le moyen de filtration microbiologique **32** présente un bord périphérique **34** qui présente la même forme et les mêmes dimensions qu'une section de la face interne de la paroi périphérique latérale **20** du corps principal **14**. Dans l'exemple illustré, le bord périphérique **34** est destiné à venir en appui axialement vers le bas, directement ou indirectement, contre la surface annulaire d'appui **28** du corps principal **14**. Comme on le verra plus loin, le bord périphérique **34** du moyen de filtration microbiologique **32** est de préférence prévu pour être serré axialement entre le bord inférieur **30** de la collerette cylindrique **26** du couvercle **16** et la surface annulaire d'appui **28** du corps principal **14**.

Le dispositif de contrôle microbiologique comporte, à l'intérieur de l'espace interne fermé **12**, une couche nutritive **36** imprégnée d'une composition d'un milieu de culture microbiologique, la couche nutritive **36** étant en contact avec le moyen de filtration microbiologique **32**.

5 Dans le mode de réalisation illustré, la couche nutritive **36** est un élément distinct du moyen de filtration microbiologique **32**, tout en étant en contact avec le moyen de filtration microbiologique **32**. La couche nutritive **36** et le moyen de filtration microbiologique **32** sont mis en contact l'un avec l'autre au sein du dispositif de contrôle microbiologique une fois  
10 celui-ci assemblé.

Dans ce cas, la couche nutritive **36** est située de préférence, avec les conventions exprimées plus haut, en-dessous du moyen de filtration microbiologique **32**. Dans ce cas, la couche nutritive **36** est située dans le second compartiment **12b** de l'espace interne fermé **12**.

15 Dans l'exemple illustré, la couche nutritive **36** présente une forme sensiblement plane, ici la forme d'un disque. La couche nutritive **36** présente un bord périphérique **38** qui, de préférence, coïncide avec le bord périphérique **34** du moyen de filtration microbiologique **32**. Ainsi, la couche nutritive **36** et le moyen de filtration **32** présentent la même forme. De la  
20 sorte, le bord périphérique **38** peut venir en appui axialement vers le bas contre la surface annulaire d'appui **28**, en s'intercalant entre la surface annulaire d'appui **28** du corps principal **14** et le bord périphérique **34** du moyen de filtration microbiologique **32**. Avantagusement, le bord périphérique **38** de la couche nutritive **36** est de préférence prévu pour être  
25 serré axialement, conjointement avec le bord périphérique **34** du moyen de filtration microbiologique **32**, entre le bord inférieur **30** de la collerette cylindrique **26** du couvercle **16** et la surface annulaire d'appui **28** du corps principal **14**.

Au sens de la présente invention, la couche nutritive **36** comprend un  
30 support contenant un milieu de culture microbiologique.

Le support peut être à base de divers composés absorbants, de préférence à très fort pouvoir de rétention d'eau, tels que la rayonne, le

coton, les fibres cellulosiques naturelles ou modifiées chimiquement comme la carboxy-méthyl cellulose, les polymères chimiques absorbants ou super-absorbants tels que sels de polyacrylate, copolymère acrylate/acrylamide. Ce support peut être imprégné d'un milieu de culture microbiologique sous  
5 forme liquide. Ce milieu de culture microbiologique peut être avantageusement déshydraté, c'est à dire ayant une « Aw » (Activity of water, Activité en eau) incompatible avec le développement microbien. Alternativement, le support peut être recouvert ou imprégné à sec d'un milieu de culture microbiologique ou de ses constituants sous forme de  
10 poudre. Alternativement, l'imprégnation liquide peut, après déshydratation, être complétée par ajout de poudre.

On entend par milieu de culture microbiologique, un milieu comprenant des éléments nutritifs nécessaires à la survie et/ou à la croissance de micro-organismes, notamment un ou plusieurs parmi les hydrates de carbone, dont  
15 les sucres, les peptones, les facteurs de croissances, les sels minéraux et/ou les vitamines, etc... . En pratique, l'homme du métier choisira le milieu de culture microbiologique en fonction des micro-organismes cibles, selon des critères parfaitement connus et à la portée de cet homme de l'art.

La couche nutritive **36** peut contenir d'éventuels éléments additifs  
20 comme par exemple :

- un ou plusieurs agents sélectifs tels que des inhibiteurs ou des antibiotiques pour favoriser la croissance et le développement d'une espèce/souche de micro-organisme particulier plutôt qu'une autre ;
- des tampons, colorants.

25 D'une manière générale, la couche nutritive **36** peut en sus contenir un substrat permettant la détection d'une activité enzymatique ou métabolique des micro-organismes cibles grâce à un signal détectable directement ou indirectement. Pour une détection directe, ce substrat peut être lié à une partie faisant office de marqueur, fluorescent ou chromogène. Pour une  
30 détection indirecte, la couche nutritive selon l'invention peut comporter en sus un indicateur de pH, sensible à la variation de pH induite par la consommation du substrat et révélant la croissance des micro-organismes

cibles. Ledit indicateur de pH peut être un chromophore ou un fluorophore. On citera comme exemples de chromophores le rouge neutre, le bleu d'aniline, le bleu de bromocresol. Les fluorophores comprennent par exemple la 4-méthylumbelliférol, les dérivés de l'hydroxycoumarine ou les dérivés de la résorufine. Ainsi, le substrat fluorescent de PC-PLC préférentiellement utilisé pour la mise en œuvre du procédé selon l'invention correspond au 4-Méthyl- Umbelliferyl-Choline Phosphate (4 MU-CP).

Selon un mode de réalisation préféré de l'invention, le milieu de culture microbiologique de la couche nutritive **36** est, dans une configuration de mise à disposition du dispositif de contrôle microbiologique avant utilisation, déshydraté. Dans ce cas, après imprégnation à sec du support de la couche nutritive par le milieu de culture microbiologique déshydraté, la couche nutritive **36** peut faire l'objet d'une opération de calandrage. Le calandrage, par la pression et la température de chauffe générées, permet la rétention et le maintien stable dans le temps du milieu de culture microbiologique déshydraté dans le support de la couche nutritive, en assurant la rétention des éléments nutritifs et des éventuels éléments additifs dans la couche nutritive.

Le calandrage de la couche nutritive **36** permet également l'obtention d'une surface lisse et plane de la couche nutritive. Le calandrage permet en outre l'accélération de la réhydratation de la couche nutritive par rapport à une couche nutritive non-calandree, du fait de la compression de la couche nutritive qu'il induit. Dans le cas où le support est formé de fibres, cette compression, associée à la présence du milieu déshydraté au sein de la couche nutritive **36**, génère une forte augmentation du pouvoir capillaire de cette dernière, provoquant sa réhydratation quasi- instantanée. Cela peut aussi contribuer à un phénomène d'aspiration du moyen de filtration microbiologique **32** distinct disposé contre sa surface. Le moyen de filtration microbiologique **32** peut ainsi se retrouver plaqué contre la couche nutritive **36**, assurant ainsi l'absence d'espace ou la réduction d'espace entre les deux, au profit d'une croissance et/ou survie microbienne optimale(s) sur toute la surface du moyen de filtration microbiologique **32**. On peut ainsi

éviter la présence de moyen de liaison (par exemple éviter la présence de couche liante) entre le moyen de filtration microbiologique **32** et la couche nutritive **36** quand sont ceux-ci sont distincts. Ceci représente un avantage significatif, dans la mesure où un tel moyen de liaison ralentirait le passage  
5 des éléments nutritifs et des éventuels éléments additifs de la couche nutritive **36** réhydratée vers les micro-organismes présents sur le moyen de filtration microbiologique **32**, réduisant ainsi la croissance et/ou les chances de survie de ces micro-organismes.

Le moyen de filtration microbiologique **32** comporte un filtre qui est  
10 perméable à l'eau et qui retient les micro-organismes, notamment à sa surface. Dans les cas où le moyen de filtration microbiologique **32** est distinct de la couche nutritive **36**, le moyen de filtration microbiologique **32** est perméable aux éléments nutritifs et aux éventuels éléments additifs compris dans la couche nutritive **36** située sous le moyen de filtration  
15 microbiologique **32**. Ce filtre peut comprendre un corps poreux qui peut être constitué par un matériau qui par sa nature, sa taille, son arrangement stérique possède ces propriétés. Ce corps poreux peut avoir ces propriétés par l'aménagement de pores.

Le moyen de filtration microbiologique **32** peut par exemple être à base  
20 de un ou plusieurs matériaux, ou dérivés de ces matériaux, parmi le latex, le polytetrafluoroéthylène, le poly(vinylidène) fluoride, le polycarbonate, le polystyrène, le polyamide, le polysulphone, le polyethersulfone, la cellulose, un mélange de celluloses et nitrocellulose. Préférentiellement le moyen de filtration microbiologique **32** est réalisé sous la forme d'une membrane poreuse perméable aux éléments nutritifs et des éventuels éléments additifs  
25 compris dans la couche nutritive **36**, et apte à retenir les micro-organismes à sa surface. De préférence, le moyen de filtration microbiologique **32** recouvre toute la couche nutritive **36**. La Demanderesse a découvert que les membranes de microfiltration de l'eau (et d'une manière générale des  
30 liquides) actuellement commercialisées présentent généralement les propriétés requises pour être utilisées comme moyen de filtration microbiologique **32**. Elles permettent d'obtenir une très bonne résistance au

déchirement lors de la manipulation, une porosité maîtrisée, une surface lisse, une fine épaisseur et la plupart du temps une forte hydrophilie. Leur couleur, généralement blanche, permet d'optimiser la différenciation de colonies colorées sur leur surface. La capacité de filtration et l'hydrophilie d'une telle

5 membrane de filtration, quant à elles, sont mises à profit pour permettre et optimiser le passage des éléments nutritifs et des éventuels éléments additifs présents dans la couche nutritive (éventuellement après sa réhydratation) vers une surface supérieure du moyen de filtration microbiologique **32** tout en empêchant ou limitant la migration en sens inverse des bactéries,

10 levures etc... filtrées à la surface supérieure du moyen de filtration microbiologique **32**. Aux fins de la présente demande, les susdites membranes de filtration sont indifféremment désignées « membranes de filtration », « membranes de microfiltration » ou encore « membranes filtrantes », ces expressions étant synonymes les unes des autres. Ces

15 membranes de filtration sont comprises dans le groupe constitué par les membranes poreuses.

Le moyen de filtration microbiologique **32** permet le passage des éléments du milieu nutritif et des agents sélectifs ou réactifs. Avantagement, le moyen de filtration comporte des pores dont le

20 diamètre est compris entre 0,01 et 0,8 microns préférentiellement entre 0,2 microns et 0,6 microns de manière à retenir les bactéries, levures et moisissures sur sa surface. Selon un mode de réalisation particulier, le moyen de filtration comporte des pores dont le diamètre est compris

25 entre 0,25 microns et 0,6 microns, par exemple entre 0,3 microns et 0,6 microns, ou encore entre 0,4 microns et 0,6 microns. Alternativement, il peut s'agir d'une couche ne présentant pas de pores mesurables comme une membrane de dialyse.

Par exemple, un moyen de filtration microbiologique peut être une membrane de filtration « Fisherbrand™ General Filtration Membrane Filters »

30 commercialisées par Fisher Scientific Company L.L.C, 300 Industry Drive, Pittsburgh, PA 15275, USA, ou encore une membrane de de filtration

« Nitocellulose Membrane Filters », fabriquées par Zefon International, Inc., 5350 SW 1st Lane, Ocala, FL 34474, USA, ou des membranes analogues.

Dans certaines variantes, la couche nutritive peut être intégrée au moyen de filtration microbiologique **32**, celui servant de support au milieu de culture microbiologique. Dans ce cas, il va de soi que la couche nutritive est en contact avec le moyen de filtration microbiologique **32**.

Le dispositif de contrôle microbiologique **10** selon l'invention comporte un port d'entrée **40** pour le liquide à analyser. Le port d'entrée **40** permet, lorsque le dispositif de contrôle microbiologique **10** est assemblé de telle sorte que l'enceinte délimite l'espace interne fermé, par exemple lorsque le couvercle **16** est assemblé avec corps principal **14**, d'introduire le liquide à analyser à l'intérieur de l'espace interne fermé délimité par l'enceinte, en provenance de l'extérieur de l'espace interne fermé **12**.

Dans l'exemple de réalisation, le port d'entrée **40** comprend une portion interne **42** qui débouche dans le premier compartiment **12a** de l'espace interne fermé **12**, et une portion externe **44** de raccordement à un contenant de liquide à analyser, le contenant pouvant être par exemple une seringue, une tubulure, une poche, un entonnoir etc...

Dans l'exemple illustré, le port d'entrée **40** est agencé selon l'axe central **A1**, verticalement. Le port d'entrée est avantageusement agencé sur le couvercle **16**, en l'occurrence par exemple au centre de la paroi transversale **22** de celui-ci.

La portion interne **42** du port d'entrée **40** peut comporter un répartiteur **56** comportant plusieurs passages distincts pour le liquide à analyser. Un tel répartiteur **56** favorise la distribution du liquide à analyser, qui est introduit par le port d'entrée **40**, sur une plus grande portion de la superficie du moyen de filtration microbiologique **32**. Notamment dans le cas de la configuration de l'exemple de réalisation, la portion interne **42** du port d'entrée **40** peut comprendre un répartiteur **56** qui présente des orifices dont chacun débouche au moins en partie selon une direction radiale par rapport à l'axe central **A1**, les orifices étant de préférence répartis angulairement tout autour de l'axe central **A1** du port d'entrée **40**.

La portion externe **44** de raccordement du port d'entrée **40** peut comporter des moyens d'accouplement avec le contenant. La portion externe **44** de raccordement peut elle-même présenter une forme d'entonnoir. La portion externe **44** de raccordement peut comporter en plus  
5 des moyens d'arrimage mécanique pour arrimer le contenant au port d'entrée **40**.

Le dispositif de contrôle microbiologique **10** comporte un obturateur **46** qui, dans l'exemple de réalisation, est interposé entre la portion interne **42** et la portion externe **44** du port d'entrée, de manière à obturer le port  
10 d'entrée **40**, empêchant, dans un état fermé de l'obturateur, toute circulation gazeuse entre l'espace interne fermé **12** du dispositif de contrôle microbiologique **10** et l'extérieur au travers du port d'entrée **40**.

De préférence, le port d'entrée **40** est un port refermable. Dans ce cas, qui est celui illustré, l'obturateur **46** peut comporter une vanne. Une telle  
15 canne peut de préférence être amenée successivement plusieurs fois d'un état ouvert à un état fermé et inversement.

Dans certains cas, l'obturateur peut comporter une membrane étanche, et l'obturateur peut être amené dans un état ouvert par rupture de la membrane. Dans l'hypothèse, la membrane ne peut pas être refermée. Dans  
20 ce cas, on peut prévoir de refermer le port d'entrée **40** par un obturateur secondaire rapporté sur la portion externe **44** de raccordement. Un tel obturateur secondaire (non représenté) peut être formé par exemple par un bouchon, une membrane étanche ou un capuchon.

On note qu'un tel obturateur secondaire peut aussi être prévu dans le  
25 cas de présence d'un obturateur de type vanne comme évoqué ci-dessus. Un tel obturateur secondaire permet par exemple de renforcer l'étanchéité aux gaz de la vanne, notamment à l'air, et notamment l'étanchéité à long terme pendant une période de stockage du dispositif **10** avant utilisation.

Dans les deux cas, un tel obturateur secondaire permet de protéger le  
30 port d'entrée de toute contamination pendant une période de stockage du dispositif **10** avant utilisation.

Dans l'exemple illustré, le dispositif de contrôle microbiologique **10**, une fois assemblé, ne comporte qu'un seul port de communication fluidique entre l'espace interne fermé **12** et l'extérieur, ici le port d'entrée **40**. Dans l'exemple illustré, on remarque que le second compartiment **12b** de l'espace interne fermé **12** est dépourvu de port de communication fluidique avec l'extérieur de l'espace interne fermé. Cela n'empêche toutefois pas que le dispositif de contrôle microbiologique **10** pourrait comporter plusieurs ports de communication fluidique, dont le port d'entrée **40**, débouchant tous dans le premier compartiment **12a** de l'espace interne fermé.

10 Dans l'exemple de réalisation, le moyen de filtration microbiologique **32** présente une faible épaisseur par rapport à son étendue. Par exemple, le diamètre du moyen de filtration est supérieur à 50 millimètres, par exemple compris entre 80 et 100 millimètres. Son épaisseur est de l'ordre de quelques millimètres, généralement inférieure à 5 millimètres.

15 Aussi, il est avantageux de prévoir que le dispositif de contrôle microbiologique **10** comporte un support **48** pour le moyen de filtration microbiologique **32** et pour la couche nutritive **36**.

Le support **48** permet de maintenir le moyen de filtration microbiologique **32** et la couche nutritive **36** dans leur position entre le premier compartiment **12a** et le second compartiment **12b**.

Dans l'exemple de réalisation illustré, le support **48** pour le moyen de filtration microbiologique **32** et pour la couche nutritive **36** comprend des cloisons de support **50** agencées dans le second compartiment **12b**.

Par exemple, les cloisons de support **50** peuvent être de forme plane, agencées chacune dans un plan radial contenant l'axe central **A1**. Elles peuvent par exemple s'étendre depuis la paroi de fond **18** du corps principal **14** et présenter un bord supérieur **52** contre lequel le moyen de filtration microbiologique **32** et la couche nutritive **36** peuvent venir en appui verticalement vers le bas, directement ou indirectement. Dans l'exemple illustré, chaque cloison de support **50** s'étend diamétralement en travers de l'intégralité du second compartiment **12b**, en étant donc limitée transversalement par deux portions diamétralement opposées de la paroi

latérale périphérique **20** du corps principal **14**. Dans ce mode de réalisation particulier, on comprend que les cloisons de support **50** exercent leur fonction de support par le biais de leur bord supérieur **52**. Dans l'exemple illustré, les bords supérieurs **52** des cloisons de support **50** s'étendent tous  
5 dans un même plan transversal perpendiculaire à l'axe central **A1**.

Toutefois, en elles-mêmes, les cloisons de support **50** délimitent entre elles, dans le second compartiment **12b**, des subdivisions de ce second compartiment **12b**. De telles cloisons de support **50** peuvent être ajourées pour permettre la circulation de fluide de part et d'autre des dites cloisons  
10 dans le second compartiment **12b**. Dans l'exemple illustré, il est choisi de munir les cloisons de support **50** d'ouverture traversantes **54** qui permettent une communication fluidique entre deux subdivisions adjacentes du second compartiment **12b** qui sont séparées par une de ces cloisons de support **50**. Ces ouvertures traversantes **54** sont optionnelles. Dans l'exemple illustré,  
15 elles sont réalisées sous la forme de fentes qui s'étendent selon la direction de l'axe central **A1**, depuis un point bas situé sensiblement à mi-hauteur du second compartiment **12b**, et elles débouchent de manière ouverte dans le bord supérieur **52**. Ces ouvertures traversantes pourraient présenter une tout autre géométrie et être par exemple réalisées sous la forme de trous,  
20 notamment circulaires. Elles ne sont pas nécessairement débouchantes dans le bord supérieur **52**.

Dans l'exemple illustré, les cloisons de support **50** permettent aussi de renforcer mécaniquement l'enceinte du dispositif, notamment pour la rendre plus résistante à une différence de pression entre l'intérieur et l'extérieur de  
25 l'enceinte.

Le support **48** pour le moyen de filtration microbiologique **32** pourrait être réalisé de manière différente. Il pourrait par exemple être réalisé sous la forme d'une grille s'étendant dans un plan transversal perpendiculaire à l'axe central **A1**. Une telle grille pourrait par exemple être supportée en appui sur  
30 la surface d'appui **28** du corps principal **14**. Le support pour le moyen de filtration microbiologique **32** pourrait être réalisé sous la forme d'une ou plusieurs colonnes s'étendant verticalement selon la direction de l'axe **A1**

depuis la paroi transversale de fond **18** du corps principal **14**. Le support pour le moyen de filtration microbiologique **32** pourrait aussi être réalisé sous la forme d'une ou plusieurs consoles s'étendant transversalement depuis une face interne de la paroi latérale périphérique **20**.

5 Le support pour le moyen de filtration microbiologique **32** est, dans l'exemple illustré, réalisé en une seule pièce avec le corps principal **14**. Toutefois, ce support pourrait être réalisé sous la forme d'une ou plusieurs pièces indépendantes. De telles pièces peuvent être simplement posées à l'intérieur du second compartiment **12b**, ou peuvent être assemblé au corps principal **14**, par exemple par collage, par soudage, par encliquetage ou par emboîtement.

Dans l'exemple illustré, on note que la couche nutritive **36** est agencée entre le moyen de filtration microbiologique **32** et le support **48** pour le moyen de filtration.

15 Avantageusement, on peut prévoir que la couche nutritive **36** est serrée localement entre le moyen de filtration microbiologique **32** et son support **48**. Par exemple, le couvercle **16** peut comporter des éléments d'appui, correspondant par exemple au bord supérieur d'une ou des cloisons de support **50**, pour que, lorsque le dispositif de contrôle microbiologique est  
20 assemblé, le moyen de filtration microbiologique **32** et la couche nutritive **36** se retrouvent serrés entre ces éléments d'appui du couvercle **16** et le support **48**. Dans l'exemple illustré, le répartiteur **56** présente, sur une face inférieure, de tels moyens d'appui pour, au centre du dispositif de contrôle microbiologique, serrer le moyen de filtration microbiologique **32** et la  
25 couche nutritive **36** contre le support **48**.

Dans l'exemple illustré, le volume du second compartiment **12b** de l'espace interne fermé **12** est supérieur au volume du premier compartiment **12a** de l'espace interne fermé. De préférence, le volume du second compartiment **12b** de l'espace interne fermé **12** est au moins deux  
30 fois, de préférence au moins trois fois supérieur au volume du premier compartiment **12a** de l'espace interne fermé. Dans un mode de réalisation, pour un dispositif destinée à l'analyse d'un échantillon de 100 millilitres, le

volume du second compartiment **12b** de l'espace interne fermé **12** est par exemple d'au moins 100 millilitres, de préférence supérieur à 100 millilitres et inférieur à 150 millilitres, pour pouvoir contenir l'intégralité du volume d'un liquide à analyser. Le volume total de l'espace interne fermé délimité par l'enceinte est par exemple compris entre 120 et 300 millilitres, ce volume total étant par exemple de 150 millilitres.

Dans une configuration de mise à disposition du dispositif de contrôle microbiologique **10** avant utilisation, l'obturateur **46** est dans un état fermé pour fermer le port d'entrée **40** et l'espace interne fermé **12** de manière étanche à l'air.

Dans cette configuration de mise à disposition, le dispositif de contrôle microbiologique **10** est donc fermé de manière étanche, sans communication gazeuse possible entre l'espace interne fermé **12** délimité par l'enceinte et l'extérieur. Dans cette configuration de mise à disposition, le moyen de filtration microbiologique **32** et la couche nutritive **36** sont contenus à l'intérieur de cet espace interne fermé **12** délimité par l'enceinte, formant un ainsi un dispositif de contrôle microbiologique prêt à l'emploi pour filtrer le liquide à analyser afin d'en recueillir d'éventuels micro-organismes, sur le moyen de filtration microbiologique **32**, et pour permettre le développement de ces micro-organismes en vue d'une détection, d'un dénombrement, d'une caractérisation et/ou une identification.

De plus, dans cette configuration de mise à disposition du dispositif de contrôle microbiologique **10** avant l'utilisation, la pression gazeuse absolue à l'intérieur de l'espace interne fermé est à une valeur de pression initiale réduite de telle sorte que le dispositif est apte à créer une aspiration au travers du port d'entrée lors d'une première ouverture de l'obturateur **46**.

Pour cela, la valeur de pression initiale réduite de la pression gazeuse absolue à l'intérieur de l'espace interne fermé (**12**), ramenée à une température de 25°C, est strictement inférieure à la pression atmosphérique standard de 1bar à 25°C.

En pratique, ce phénomène d'aspiration se traduira par une entrée, dans l'espace interne du dispositif, d'un volume prédéterminé de liquide de

manière plus rapide, lors de la première ouverture de l'obturateur, que dans le cas où la pression initiale dans l'espace interne serait égale à la pression atmosphérique.

On notera qu'il n'est pas nécessaire de connaître avec précision la valeur précise de la pression initiale réduite. En effet, cette valeur est avant tout déterminée de manière à être suffisante pour aspirer au moins en partie, voire en totalité, un volume prédéterminé de l'échantillon à analyser à l'intérieur du dispositif.

De préférence, cette valeur est déterminée de manière à être suffisante pour que le dispositif soit apte à aspirer en totalité un volume prédéterminé de l'échantillon à analyser à l'intérieur du dispositif, sans qu'il soit nécessaire de soumettre l'échantillon à analyser à une pression supérieure à la pression atmosphérique standard pour le faire entrer à l'intérieur du dispositif.

De préférence, cette valeur de pression initiale réduite est suffisamment basse pour permettre l'entrée en totalité d'un volume prédéterminé de l'échantillon à analyser dans l'espace interne sans évacuation de fluide depuis l'espace interne lors de l'entrée du volume prédéterminé de l'échantillon à analyser. Cela permet de s'assurer d'une entrée facile de tout l'échantillon dans le dispositif. Cela permet aussi d'éviter toute propagation d'éléments initialement contenus dans le dispositif, notamment d'éléments du milieu de culture, vers l'extérieur, lors de l'entrée de l'échantillon dans le dispositif.

L'homme du métier pourra, par une évaluation initiale, éventuellement complétée de quelques essais, déterminer une pression initiale réduite souhaitée pour le dispositif, en fonction des conditions envisagées pour la mise en œuvre du dispositif (volume total de l'espace interne fermé **12** délimité par l'enceinte du dispositif, volume de l'échantillon, conditions de température et de pression lors de la mise en œuvre du dispositif, ...).

De manière pratique, on peut évaluer la valeur de la pression initiale réduite souhaitée de la manière suivante. On considère le volume total VT de l'espace interne fermé **12** délimité par l'enceinte. On prédétermine ensuite un volume prédéterminé VE de l'échantillon à analyser que l'on souhaite pouvoir introduire dans le dispositif **10** pour effectuer l'analyse. On en déduit

ensuite le volume libre final VL dans l'espace interne, après l'entrée du volume prédéterminé de l'échantillon à analyser dans l'espace interne. Ce volume libre final VL vaut donc le volume total VT de l'espace interne fermé **12** délimité par l'enceinte auquel on soustrait le volume prédéterminé  
 5 VE de l'échantillon à analyser que l'on souhaite pouvoir introduire dans le dispositif **10** pour effectuer l'analyse :

$$VL = VT - VE$$

On applique ensuite, à titre d'approximation, la loi des gaz parfaits aux variations de conditions dans l'espace interne fermé **12** délimité par  
 10 l'enceinte entre l'instant juste avant l'entrée de l'échantillon et l'instant juste après l'entrée de cet échantillon, en supposant que seulement du liquide contenant l'échantillon est introduit, sans variation de température significative. Cette entrée de l'échantillon se traduit par une variation de la pression depuis la valeur de pression initiale réduite Pi, qui est la valeur de la  
 15 pression gazeuse absolue à l'intérieur de l'espace interne fermé dans la configuration de mise à disposition, jusqu'à une valeur finale Pf, qui est la valeur pression gazeuse absolue à l'intérieur de l'espace interne, après l'entrée d'un volume prédéterminé de l'échantillon à analyser.

On obtient donc la relation

$$20 \quad Pf \times VL = Pf \times (VT - VE) = Pi \times VT$$

ce qui donne

$$Pi = Pf \times (VT - VE) / VT = Pf \times VL / VT$$

On en déduit donc que dans la configuration de mise à disposition du dispositif de contrôle microbiologique **10** avant utilisation, la pression gazeuse absolue à l'intérieur de l'espace interne fermé **12**, dite pression  
 25 initiale réduite, est de préférence strictement inférieure à la pression atmosphérique multipliée par le rapport du volume libre final dans l'espace interne, après l'entrée d'un volume prédéterminé de l'échantillon à analyser, divisé par le volume total de l'espace interne.

30 De manière pratique, on peut fixer de manière arbitraire la valeur de la pression atmosphérique standard à 1 bar à 25°C.

Dans la pratique, on considère généralement qu'un échantillon doit avoir un volume VE d'au moins 20 millilitres, de préférence au moins 50 millilitres, plus préférentiellement au moins 100 millilitres. En revanche on considère généralement qu'un échantillon doit avoir un volume VE de 300 millilitres ou moins, de préférence 200 millilitres ou moins, plus préférentiellement 150 millilitres ou moins.

Dans le cas d'un dispositif dont le volume total de l'espace interne VT est de 150 millilitres, et pour un échantillon de volume VE 100 millilitres, le rapide calcule ci-dessus donne la pression initiale réduite souhaitée, pour la pression gazeuse absolue à l'intérieur de l'espace interne fermé **12** dans la configuration de mise à disposition du dispositif avant utilisation, strictement inférieure à 333 millibars absolus. Cependant, en pratique, on préférera prévoir une pression initiale réduite strictement inférieure à 300 millibars absolus, pour tenir compte des approximations liées au décalage entre les hypothèses formulées et la réalité expérimentale. Plus préférentiellement, on préférera prévoir une pression initiale strictement inférieure à 200 millibars absolus, notamment pour favoriser une entrée rapide de l'échantillon dans le dispositif.

On notera que, pour un volume total VT de 300 millilitres de l'espace interne du dispositif, on détermine ainsi une pression initiale réduite souhaitée strictement inférieure à 666 millibars absolus, de préférence strictement inférieure à 600 millibars absolus, plus préférentiellement strictement inférieure à 400 millibars absolus.

On note que les valeurs ci-dessus sont des valeurs indicatives, y compris pour un dispositif donné et des conditions de mise en œuvre données. On aura en effet, tout intérêt à ce que la pression initiale réduite dans le dispositif soit effectivement inférieure aux valeurs ci-dessus.

Dans la pratique, ces valeurs pourront servir de base pour la mise au point d'un dispositif selon l'invention, et que les conditions de fabrication permettant le bon fonctionnement du dispositif seront aisément déterminées avec quelques essais de routine.

Aussi, les valeurs ci-dessus pourront être mesurées en branchant un manomètre à l'entrée du port d'entrée, au plus près de l'obturateur 46, même s'il en résulte une incertitude sur la valeur réelle de la pression initiale réduite, y compris si cette incertitude atteint 50 millibars.

5            Cela signifie que, au cours de la préparation du dispositif de contrôle microbiologique, un vide au moins partiel est créé dans l'espace interne fermé. Ce vide au moins partiel peut avoir été par exemple réalisé par un assemblage sous vide, ou tout au moins sous une pression inférieure ou égale à la pression initiale réduite souhaitée, en tous cas strictement  
10 inférieure à 1 bar à 25°C, ou par dépressurisation de l'espace interne fermé après assemblage du dispositif de contrôle microbiologique.

On comprend que, dans cette configuration de mise à disposition du dispositif de contrôle microbiologique **10** avant l'utilisation, l'espace interne fermé est isolé de toute source externe d'aspiration. On comprend donc la  
15 nécessité de prévoir que l'enceinte et le port d'entrée **40** dans son état fermé soient étanches aux gaz, notamment étanches à l'air. Cela est obtenu par tout moyen connu de l'homme du métier.

Dans l'exemple illustré, le couvercle **16** et le corps principal **14** sont ainsi assemblés de manière étanche à l'air.

20            L'assemblage peut être un assemblage démontable, permettant une ouverture du dispositif de contrôle microbiologique sans destruction après son utilisation, par exemple pour en retirer le moyen de filtrage microbiologique **32**. Un assemblage démontable peut être réalisé par exemple au moyen de filetages complémentaires agencés respectivement sur  
25 le couvercle **16** et le corps principal **16**. Dans la configuration illustrée, de tels filetages complémentaires (non représentés) peuvent être aménagés respectivement sur une face externe de la collerette cylindrique **26** du couvercle **16** et sur une face interne de l'extrémité supérieure de la paroi latérale périphérique **20** du corps principal **14**. Un autre exemple possible  
30 d'assemblage démontable peut être obtenu par un système d'assemblage à baïonnette. Encore un autre exemple d'assemblage démontable peut être

obtenu en prévoyant une bride externe d'assemblage, ou en prévoyant des vis d'assemblage du couvercle **16** sur le corps principal **14**.

L'assemblage peut être un assemblage non-démontable, ne permettant pas une ouverture du dispositif de contrôle microbiologique **10** sans destruction après son utilisation, par exemple par collage, par soudage ou par rivetage.

Pour assurer l'étanchéité requise aux gaz, notamment à l'air, on peut prévoir, notamment dans le cas d'un assemblage démontable, un ou plusieurs joints d'étanchéité (non représentés) entre le corps principal **14** et le couvercle **16**.

Dans la configuration de mise à disposition du dispositif de contrôle microbiologique avant utilisation, le milieu de culture microbiologique de la couche nutritive **36** est avantageusement déshydraté. Il est alors prévu que ce milieu de culture microbiologique soit réhydraté au moment de l'utilisation. Cette réhydratation peut être réalisée par le liquide à analyser lui-même.

En effet, le moyen de filtration microbiologique **32** et la couche nutritive **36** sont agencés pour que tout échange fluide entre le premier compartiment **12a** et le second compartiment **12b** de l'espace interne fermé se fasse au travers du moyen de filtration microbiologique **32** et de la couche nutritive **36**. On peut ainsi prévoir qu'il ne soit pas possible pour un fluide de contourner ni le moyen de filtration microbiologique **32** ni la couche nutritive **36** pour passer du premier compartiment **12a** au second compartiment **12b**. Dans le mode de réalisation illustré, cela découle du fait que le moyen de filtration microbiologique **32** et la couche nutritive **36** s'étendent en travers de l'intégralité de la section de l'espace interne fermé **12** du dispositif de contrôle microbiologique entre le premier compartiment **12a** et le second compartiment **12b** de l'espace interne fermé.

Avantageusement, il peut être prévu qu'un matériau absorbant l'eau soit agencé dans le second compartiment. Dans l'exemple illustré, un tel matériau peut être agencé dans une, plusieurs, ou toutes parmi les

subdivisions du second compartiment **12b** entre les cloisons de support **50**. Un matériau absorbant peut être à base de divers composés absorbants, de préférence à très fort pouvoir de rétention d'eau, tels que la rayonne, le coton, les fibres cellulosiques naturelles ou modifiées chimiquement comme  
5 la carboxy-méthyl cellulose, les polymères chimiques absorbants ou super-absorbants tels que sels de polyacrylate, copolymère acrylate/acrylamide. Des tels matériaux peuvent ainsi être obtenus auprès de la société Technical Absorbents Limited, 1 Moody Lane, Great Coates, Grimsby, DN31 2SS, Royaume-Uni, sous la marque « Super Absorbent Fibre (SAF®) ».

10 L'enceinte du dispositif de contrôle microbiologique peut être avantageusement réalisée en matériau polymère. Cependant, il est aussi possible de la réaliser en d'autres matériaux, y compris au moins en partie en verre. Dans l'exemple illustré, le corps principal **14**, le couvercle **16** et le support **48** peuvent être réalisés dans le même matériau, ou en des  
15 matériaux différents.

De préférence, l'enceinte du dispositif de contrôle microbiologique comporte au moins une partie transparente. Notamment, cette partie transparente peut être aménagée de manière à ce qu'un observateur puisse voir au moins une partie de la face supérieure du moyen de filtration  
20 microbiologique **32** qui est tournée vers le premier compartiment **12a**. De préférence, cette partie transparente est aménagée de manière à ce qu'un observateur puisse voir l'intégralité de la face supérieure du moyen de filtration microbiologique **32** qui est tournée vers le premier  
25 compartiment **12a**. En effet, c'est sur cette face que seront visibles d'éventuels micro-organismes, après incubation. Dans l'exemple illustré, la partie transparente de l'enceinte est donc de préférence aménagée au moins dans la paroi transversale **22** du couvercle **16**. L'intégralité du couvercle **16** peut être transparente. Dans certains modes de réalisation, on prévoira que  
30 de l'enceinte est par exemple réalisée en poly(méthacrylate de méthyle) (PMMA) ou en verre.

Un dispositif de contrôle microbiologique tel que décrit ci-dessus a donc vocation à être utilisé dans un procédé de contrôle d'un liquide à analyser susceptible de contenir au moins un micro-organisme.

Dans une telle utilisation, on fournit préalablement un dispositif de contrôle microbiologique dans une configuration de mise à disposition avant utilisation. Comme on l'a vu plus haut, dans cette configuration, le dispositif de contrôle microbiologique dispose du moyen de filtration microbiologique **32** et de la couche nutritive **36** qui sont enfermés dans l'espace interne fermé **12** de manière étanche, et, dans cet espace interne fermé, il règne un niveau de dépression qui correspond à la pression initiale réduite, en tous cas à une pression gazeuse absolue à l'intérieur de l'espace interne fermé, ramenée à une température de 25°C, strictement inférieure à 1 bar.

Pour mettre à disposition un dispositif de contrôle microbiologique pour contrôler un liquide à analyser susceptible de contenir au moins un micro-organisme, on doit donc d'abord fournir un dispositif de contrôle microbiologique comportant, comme décrit ci-dessus :

- une enceinte prévue pour délimiter un espace interne fermé **12** fermé destiné à recevoir le liquide à analyser, par exemple sous la forme d'un corps principal **14** et d'un couvercle **16** ;
- un moyen de filtration microbiologique **32** prévu pour être disposé dans l'espace interne fermé **12** et pour séparer, dans l'espace interne fermé, un premier compartiment **12a** d'un second compartiment **12b** de l'espace interne fermé ;
- un port d'entrée **40** pour le liquide à analyser prévu pour déboucher dans le premier compartiment **12a** de l'espace interne fermé, le port d'entrée pouvant par exemple comprendre une portion interne **42** prévue pour déboucher dans le premier compartiment **12a** de l'espace interne fermé, et une portion externe **44** de raccordement.

Par ailleurs, le procédé comprend la fourniture d'une couche nutritive **36**, prévue pour être reçue à l'intérieur de l'espace interne fermé et comprenant une composition d'un milieu de culture microbiologique, la

couche nutritive **36** étant destinée à être en contact avec le moyen de filtration. Comme vu précédemment, cette couche nutritive **36** peut être distincte du moyen de filtration microbiologique **32** ou, en variante, on peut prévoir que la couche nutritive et le moyen de filtration microbiologique soient intégrés l'un à l'autre.

Selon l'invention, le procédé de mise à disposition du dispositif de contrôle microbiologique dans une configuration de mise à disposition comprend, avant toute utilisation donc avant tout raccordement à un contenant de liquide à analyser, successivement et dans cet ordre :

- 10 - une étape de dépressurisation pour abaisser la pression gazeuse absolue à l'intérieur de l'espace interne fermé **12** ;
- une étape d'obturation pour fermer l'espace interne fermé **12** de manière étanche à l'air.

On note qu'au moment de l'étape de dépressurisation, le dispositif de contrôle microbiologique **10** comprenant les éléments énoncés ci-dessus peut être déjà assemblé, de telle sorte que l'enceinte soit fermée et renferme les éléments ci-dessus. Dans ce cas, l'étape de dépressurisation peut être réalisée en reliant l'espace interne fermé **12** du dispositif de contrôle microbiologique à une source d'aspiration, par exemple une pompe à vide, par exemple au travers du port d'entrée **40**, celui-ci étant alors dans un état ouvert. De ce fait, on abaisse la pression jusqu'à la pression initiale réduite souhaitée qui est, en tous cas, ramenée à une température de 25°C, strictement inférieure à 1 bar.

Dans une autre variante, l'étape de dépressurisation peut être concomitante à une étape d'assemblage. En effet, dans l'exemple illustré on peut prévoir par exemple que l'assemblage du couvercle **16** sur le corps principal **14**, qui permet de fermer l'enceinte et donc de délimiter l'espace interne fermé **12**, peut se faire sous une pression gazeuse absolue égale ou inférieure à la pression initiale réduite souhaitée, soit notamment une pression, ramenée à une température de 25°C, strictement inférieure à 1 bar.

Dans le premier cas, l'étape d'obturation peut consister en la fermeture d'une vanne du port d'entrée **40** ou la pose d'une membrane d'étanchéité, tant que l'on est encore sous une pression gazeuse absolue égale ou inférieure à la pression initiale réduite souhaitée. Dans le second cas, l'étape d'obturation peut consister en l'assemblage du couvercle **16** sur le corps principal **14** de manière étanche qui permet de fermer l'enceinte. Dans ce cas, l'obturateur du port d'entrée **40** est de préférence préalablement dans un état fermé.

Ainsi, on obtient un dispositif de contrôle microbiologique **10** dans une configuration de mise à disposition dans laquelle, à l'intérieur de l'espace interne fermé **12** délimité par l'enceinte, on trouve le moyen de filtration microbiologique **32** et la couche nutritive **36**, l'espace interne fermé **12** étant à un niveau initial de dépression prédéterminé, appelé pression initiale réduite, et qui correspond à une pression gazeuse dans l'espace interne fermé inférieure à un seuil prédéterminé, le seuil prédéterminé étant lui-même strictement inférieur à la pression atmosphérique standard, le seuil prédéterminé étant par exemple de 200 millibars de pression absolue ramenée à 25 °C.

On note que, dans cette configuration de mise à disposition, le dispositif de contrôle microbiologique peut être stocké, transporté, etc..., et que dans cette configuration de mise à disposition, aucun liquide à analyser n'a été introduit dans l'espace interne fermé **12** du dispositif de contrôle microbiologique.

L'utilisation d'un dispositif de contrôle microbiologique selon l'invention correspond à l'introduction, à l'intérieur de l'espace interne fermé **12**, du liquide à analyser, par le port d'entrée **40**. Cette introduction correspond généralement au raccordement d'un contenant, dans lequel se trouve le liquide à analyser, avec le port d'entrée **40**. Un tel raccordement peut prendre des formes variées, supposant simplement qu'une communication fluide soit établie entre le contenant et le port d'entrée **40**. De préférence, ce raccordement est un raccordement étanche aux fluides, et préférentiellement étanche aux gaz, notamment à l'air. Ce raccordement

peut comprendre un arrimage mécanique entre le contenant et le port d'entrée **40**.

De la sorte, l'utilisation d'un dispositif de contrôle microbiologique selon l'invention comporte les étapes consistant à :

5           - raccorder un contenant de liquide à analyser au port d'entrée **40**, notamment dans l'exemple de réalisation à la portion externe **42** de raccordement du port d'entrée **40**;

          - ouvrir l'obturateur **46** du port d'entrée pour permettre le passage du liquide à analyser du contenant vers l'espace interne fermé **12** du dispositif  
10 de contrôle microbiologique.

Cette étape ouvrir l'obturateur **46** du port d'entrée est une première ouverture de l'obturateur suivant une étape d'obturation pour fermer l'espace interne fermé **12** de manière étanche lors du procédé de mise à disposition.

C'est à cette étape que le niveau initial de dépression prédéterminé  
15 joue un rôle particulièrement important. En effet, la présence de cette dépression est favorable à l'introduction du liquide à analyser dans l'espace interne fermé **12** du dispositif de contrôle microbiologique. Cela est dû d'une part au phénomène d'aspiration exercé sur le liquide à analyser si celui-ci est initialement par exemple à la pression atmosphérique. Cela est dû d'autre  
20 part au fait que le niveau de dépression prédéterminé se traduit par la présence en faible quantité, de gaz dans le dispositif de contrôle microbiologique avant l'introduction du liquide à analyser, de sorte que le dispositif de contrôle microbiologique ne doit pas, lors de l'introduction du liquide à analyser, évacuer une quantité correspondante de gaz. Non  
25 seulement cela facilite l'entrée du liquide analyser dans l'espace interne fermé du dispositif de contrôle microbiologique, mais cela évite l'expulsion vers l'extérieur de particules ou molécules initialement contenues dans le dispositif de contrôle microbiologique vers l'extérieur.

On note que pendant cette étape d'utilisation du dispositif de contrôle  
30 microbiologique au cours de laquelle l'ouverture de l'obturateur permet le passage du liquide à analyser du contenant vers l'espace interne fermé **12**, l'espace interne fermé **12** peut être isolé de toute source externe

d'aspiration. En effet, l'aspiration est avantageusement obtenue grâce à la pression initiale réduite présente dans le dispositif avant la première ouverture du dispositif suivant une étape d'obturation pour fermer l'espace interne fermé **12** de manière étanche à l'air lors du procédé de mise à disposition.

De la sorte, l'introduction du liquide à analyser dans le dispositif de contrôle microbiologique **10** selon l'invention, au travers du port d'entrée **40**, permet au liquide d'être introduit tout d'abord dans le premier compartiment **12a** de l'espace interne fermé **12**, le liquide à analyser venant alors naturellement au contact du moyen de filtration microbiologique **32**. Le liquide à analyser est donc filtré au travers de ce moyen de filtration microbiologique **32**, de sorte que certains au moins des éventuels micro-organismes, notamment ceux ciblés pour le contrôle envisagé, sont retenus par le moyen de filtration microbiologique **32**. Au contraire, la partie liquide du liquide à analyser migre en direction du second compartiment **12b** de l'espace interne fermé **12**. Pour cela, on comprend qu'il est avantageux que le dispositif de contrôle microbiologique soit, pour cette étape au moins, dans l'orientation illustrée sur les figures, le second compartiment **12b** de l'espace interne fermé **12** se trouvant en dessous du premier compartiment, les deux compartiments étant séparés l'un de l'autre par le moyen de filtration microbiologique **32** qui, dans l'exemple illustré, s'étend selon un plan qui est alors horizontal.

Le liquide à analyser permet la réhydratation de la couche nutritive **36**. Comme la couche nutritive **36** est au contact du moyen de filtration, les éléments nutritifs et les éventuels éléments additifs de celle-ci peuvent migrer en direction des micro-organismes qui sont retenus par le moyen de filtration microbiologique **32**. De la sorte, pour peu que le dispositif de contrôle microbiologique **10** soit mis dans un environnement, notamment de température, favorable, on peut obtenir une incubation des micro-organismes à l'intérieur du dispositif de contrôle microbiologique **10** lui-même, sans qu'il soit nécessaire d'ouvrir celui-ci, en tout cas sans qu'il soit

nécessaire de retirer le moyen de filtration microbiologique **32** de l'enceinte du dispositif de contrôle microbiologique **10**.

Ainsi, l'utilisation d'un dispositif de contrôle microbiologique **10** selon l'invention peut, après l'étape d'introduction d'un liquide à analyser à l'intérieur de l'espace interne fermé **12** du dispositif de contrôle microbiologique, comprendre les étapes ultérieures consistant à :

- refermer l'obturateur **46** du port d'entrée **40** ;
- faire incuber, dans le dispositif de contrôle microbiologique, un éventuel micro-organisme contenu initialement dans le liquide à analyser.

Après une telle période d'incubation, l'utilisation peut comporter une étape ultérieure de contrôle consistant à détecter, dénombrer, identifier et/ou caractériser visuellement un éventuel micro-organisme contenu initialement dans le liquide à analyser, notamment par vision au travers d'une portion transparente de l'enceinte du dispositif de contrôle microbiologique. Là encore, cette étape de contrôle peut être réalisée sans qu'il soit nécessaire d'ouvrir le dispositif de contrôle microbiologique **10**, le moyen de filtration microbiologique **32**, sur lequel se trouvent les éventuels micro-organismes, restant donc à l'intérieur de l'espace interne fermé du dispositif de contrôle microbiologique **10**.

L'invention n'est pas limitée aux exemples décrits et représentés car diverses modifications peuvent y être apportées sans sortir de son cadre.

## REVENDICATIONS

- 1** - Dispositif de contrôle microbiologique (**10**) pour contrôler un liquide à analyser susceptible de contenir au moins un micro-organisme, du type
- 5 comportant :
- un espace interne fermé (**12**) délimité par une enceinte et destiné à recevoir le liquide à analyser ;
  - un moyen de filtration microbiologique (**32**) disposé dans l'espace interne fermé (**12**) et séparant, dans l'espace interne fermé, un

10 premier compartiment (**12a**) d'un second compartiment (**12b**) de l'espace interne fermé ;

  - un port d'entrée (**40**) pour le liquide à analyser, le port d'entrée débouchant dans le premier compartiment (**12a**) de l'espace interne fermé,

15 caractérisé en ce que le dispositif de contrôle microbiologique (**10**) comporte, à l'intérieur de l'espace interne fermé, une couche nutritive (**36**) comprenant une composition d'un milieu de culture microbiologique, la couche nutritive (**32**) étant en contact avec le moyen de filtration (**32**), en ce que le port d'entrée (**40**) du dispositif de contrôle microbiologique

20 comporte un obturateur (**46**), et en ce que, dans une configuration de mise à disposition du dispositif de contrôle microbiologique (**10**) avant utilisation :

    - l'obturateur (**46**) du port d'entrée (**40**) est dans un état fermé pour fermer le port d'entrée (**40**) et l'espace interne fermé (**12**) de manière étanche à l'air ;

25 - la pression gazeuse absolue à l'intérieur de l'espace interne fermé (**12**), ramenée à une température de 25°C, est strictement inférieure à la pression atmosphérique standard de 1bar à 25°C, de manière que le dispositif est apte à créer une aspiration au travers du port d'entrée lors d'une première ouverture de l'obturateur (**46**).

**2** - Dispositif de contrôle microbiologique selon la revendication **1**, caractérisé en ce que, dans la configuration de mise à disposition du dispositif de contrôle microbiologique (**10**) avant utilisation, l'espace interne fermé (**12**) est isolé de toute source externe d'aspiration.

5       **3** - Dispositif de contrôle microbiologique selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que, dans la configuration de mise à disposition du dispositif (**10**) avant utilisation, le milieu de culture microbiologique de la couche nutritive (**36**) est déshydraté.

10       **4** - Dispositif de contrôle microbiologique selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le dispositif de contrôle microbiologique (**10**) comporte un support (**48**) pour le moyen de filtration (**32**) et la couche nutritive (**36**).

15       **5** - Dispositif de contrôle microbiologique selon la revendication **4**, caractérisé en ce que la couche nutritive (**36**) est serrée localement entre le moyen de filtration (**32**) et le support (**48**) pour le moyen de filtration (**32**).

**6** - Dispositif de contrôle microbiologique selon l'une quelconque des revendications **4** ou **5**, caractérisé en ce que le support (**48**) pour le moyen de filtration (**32**) comprend des cloisons de support (**50**) agencées dans le second compartiment (**12b**).

20       **7** - Dispositif de contrôle microbiologique selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'un matériau absorbant l'eau est agencé dans le second compartiment (**12b**).

25       **8** - Dispositif de contrôle microbiologique selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que l'obturateur (**46**) du port d'entrée (**40**) comporte une vanne.

30       **9** - Dispositif de contrôle microbiologique selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que l'enceinte du dispositif de contrôle microbiologique comporte au moins un corps principal (**14**) qui délimite au moins en partie le second compartiment (**12b**), et comporte un couvercle (**16**) qui délimite au moins en partie le premier compartiment (**12a**), le corps principal et le couvercle étant formés de pièces

distinctes assemblées l'une à l'autre pour former le dispositif de contrôle microbiologique.

**10** - Dispositif de contrôle microbiologique selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que l'enceinte du dispositif de contrôle microbiologique comporte au moins une partie transparente.

**11** - Dispositif de contrôle microbiologique selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le port d'entrée (**40**) comporte un répartiteur (**46**) comportant plusieurs passages distincts pour le liquide à analyser.

**12** - Dispositif de contrôle microbiologique selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que, dans la configuration de mise à disposition du dispositif de contrôle microbiologique (**10**) avant utilisation, la pression gazeuse absolue à l'intérieur de l'espace interne fermé (**12**) est telle qu'elle permet l'entrée d'un volume prédéterminé de l'échantillon à analyser sans évacuation de fluide depuis l'espace interne lors de l'entrée de l'entrée d'un volume prédéterminé de l'échantillon à analyser.

**13** - Dispositif de contrôle microbiologique selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que, dans la configuration de mise à disposition du dispositif de contrôle microbiologique (**10**) avant utilisation, la pression gazeuse absolue à l'intérieur de l'espace interne fermé (**12**) est strictement inférieure à la pression atmosphérique standard multipliée par le rapport du volume libre final dans l'espace interne, après l'entrée d'un volume prédéterminé de l'échantillon à analyser, divisé par le volume total de l'espace interne.

**14** - Dispositif de contrôle microbiologique selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que, dans la configuration de mise à disposition du dispositif de contrôle microbiologique (**10**) avant utilisation, la pression gazeuse absolue à l'intérieur de l'espace interne fermé (**12**), ramenée à une température de 25°C, est strictement inférieure à 600 millibars absolus, de préférence strictement inférieure à 300 millibars absolus, plus préférentiellement strictement inférieure à 200 millibars absolus.

**15** - Procédé de mise à disposition d'un dispositif de contrôle microbiologique pour contrôler un liquide à analyser susceptible de contenir au moins un micro-organisme, du type comprenant la fourniture d'un dispositif de contrôle microbiologique (**10**) comportant :

- 5       - une enceinte prévue pour délimiter un espace interne fermé (**12**) destiné à recevoir le liquide à analyser ;
- un moyen de filtration microbiologique (**32**) prévu pour être disposé dans l'espace interne fermé et pour séparer, dans l'espace interne fermé, un premier compartiment (**12a**) d'un second
- 10       compartiment (**12b**) de l'espace interne fermé ;
- un port d'entrée (**40**) pour le liquide à analyser, le port d'entrée débouchant dans le premier compartiment (**12a**) de l'espace interne fermé (**12**),

caractérisé en ce que le procédé comprend la fourniture d'une couche

15       nutritive (**32**), prévue pour être reçue à l'intérieur de l'espace interne fermé (**12**) et comprenant une composition d'un milieu de culture microbiologique, la couche nutritive (**36**) étant en contact avec le moyen de filtration (**32**),

et en ce que le procédé comprend, avant tout raccordement du dispositif de

20       contrôle microbiologique (**10**) à un contenant de liquide à analyser, successivement et dans cet ordre :

- une étape de dépressurisation pour abaisser la pression gazeuse absolue à l'intérieur de l'espace interne fermé (**12**), ramenée à une température de 25°C, strictement inférieure à 1 bar ;
- 25       - une étape d'obturation pour fermer l'espace interne fermé (**12**) de manière étanche à l'air.

**16** - Procédé selon la revendication **15**, caractérisé en ce que, l'étape de dépressurisation abaisse la pression gazeuse absolue à l'intérieur de l'espace interne fermé (**12**) à une valeur telle qu'elle permet l'entrée d'un volume

30       prédéterminé de l'échantillon à analyser sans évacuation de fluide depuis l'espace interne lors de l'entrée de l'entrée d'un volume prédéterminé de l'échantillon à analyser.

**17** - Procédé de contrôle microbiologique selon l'une quelconque des revendications **15** ou **16**, caractérisé en ce que l'étape de dépressurisation abaisse la pression gazeuse absolue à l'intérieur de l'espace interne fermé (**12**) à une valeur strictement inférieure à la pression atmosphérique standard multipliée par le rapport du volume libre final dans l'espace interne, après l'entrée d'un volume prédéterminé de l'échantillon à analyser, divisé par le volume total de l'espace interne.

**18** - Procédé de contrôle microbiologique selon l'une quelconque des revendications **15** à **17**, caractérisé en ce que l'étape de dépressurisation abaisse la pression gazeuse absolue à l'intérieur de l'espace interne fermé (**12**), ramenée à une température de 25°C, à une valeur strictement inférieure à 600 millibars absolus, de préférence strictement inférieure à 300 millibars absolus, plus préférentiellement strictement inférieure à 200 millibars absolus.

**19** - Utilisation d'un dispositif de contrôle microbiologique tel que revendiqué par l'une des revendications **1** à **14** dans un procédé de contrôle d'un liquide à analyser susceptible de contenir au moins un micro-organisme.

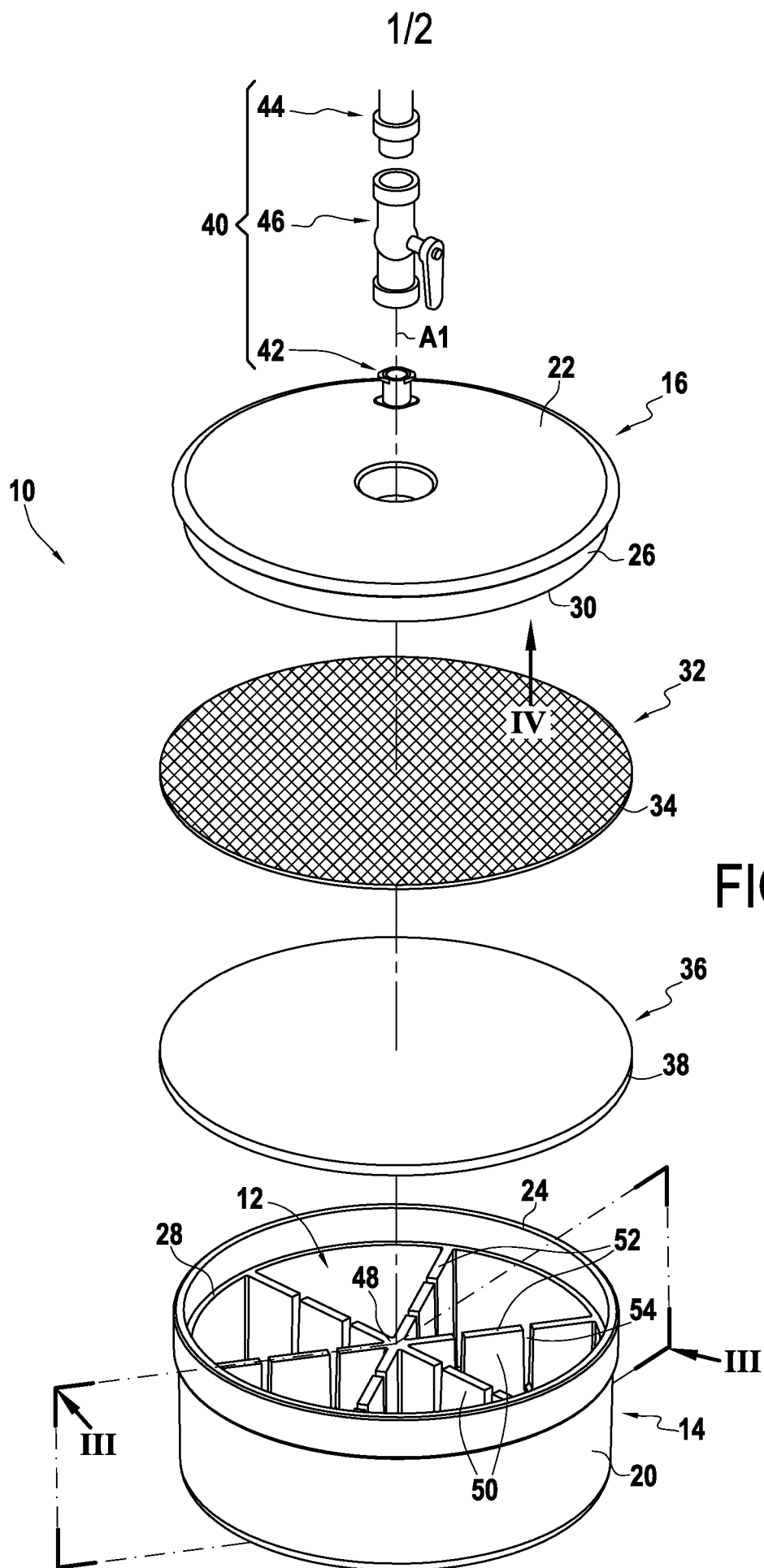
**20** - Utilisation selon la revendication **19**, caractérisée en ce qu'elle comporte les étapes consistant à :

- raccorder un contenant de liquide à analyser au port d'entrée (**40**) ;
- ouvrir l'obturateur (**46**) du port d'entrée (**40**) pour permettre le passage du liquide à analyser du récipient vers l'espace interne fermé (**12**).

**21** - Utilisation selon la revendication **20**, caractérisée en ce qu'elle comporte les étapes ultérieures consistant à :

- refermer l'obturateur (**46**) du port d'entrée (**40**) ;
- déconnecter le contenant de liquide à analyser ;
- faire incuber, dans le dispositif de contrôle microbiologique (**10**), un éventuel micro-organisme contenu initialement dans le liquide à analyser.

**22** - Utilisation selon la revendication **21**, caractérisée en ce qu'elle comporte une étape ultérieure consistant à détecter, dénombrer, identifier et/ou caractériser visuellement un éventuel micro-organisme contenu initialement dans le liquide à analyser par vision au travers d'une portion  
5 transparente de l'enceinte du dispositif de contrôle microbiologique (**10**).



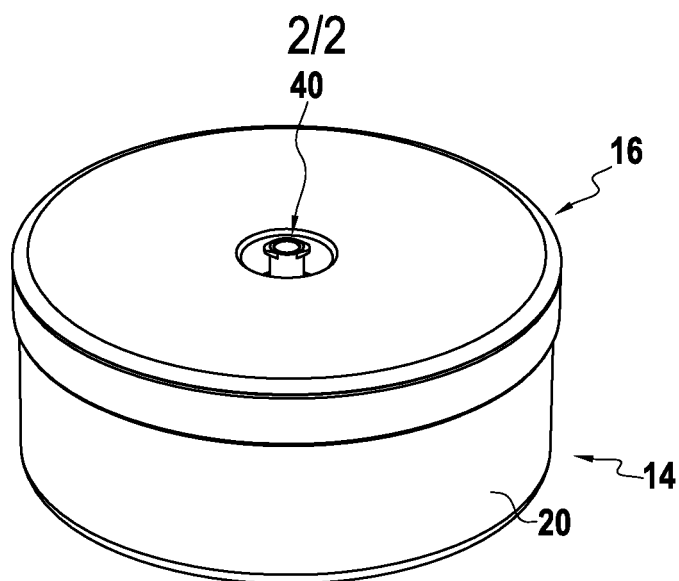


FIG. 2

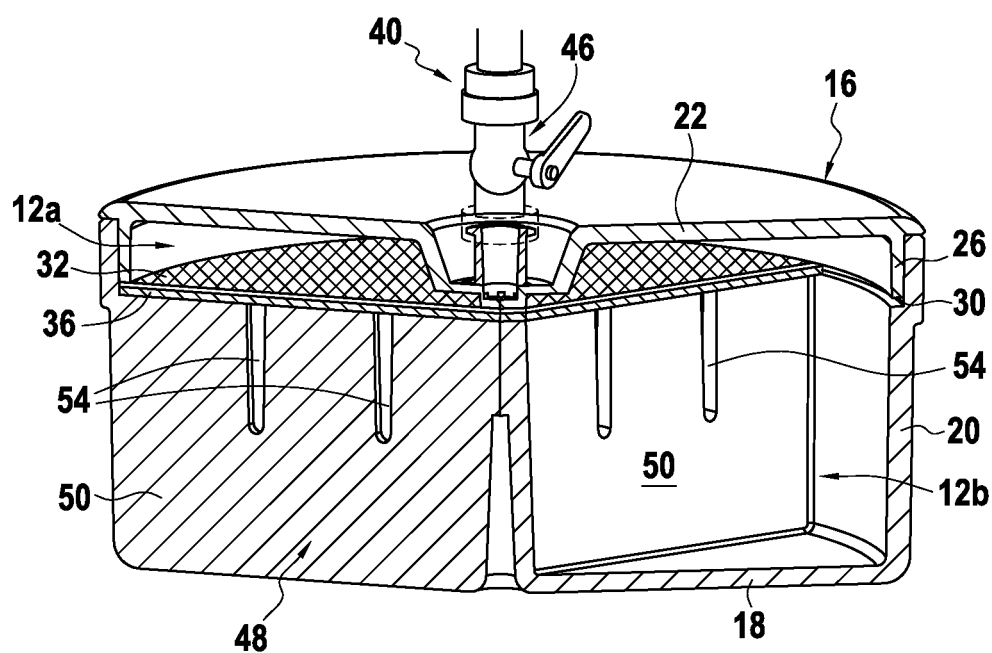


FIG. 3

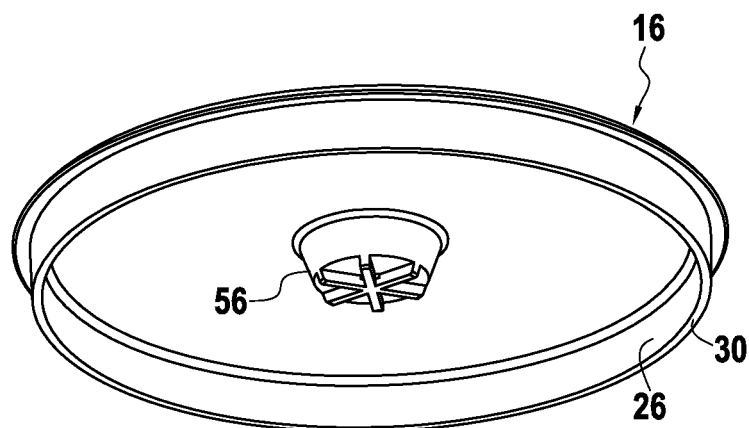


FIG. 4



**RAPPORT DE RECHERCHE  
PRÉLIMINAIRE**

N° d'enregistrement national

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

FA 838606  
FR 1753250

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	US 2014/342447 A1 (AVILES ROBERT C [US] ET AL) 20 novembre 2014 (2014-11-20) * alinéas [0032] - [0034], [0039], [0040], [0042], [0052], [0054], [0059] * * figures 1-4 *	1-22	C12Q1/04 C12Q1/24 B01L3/00
A	FR 1 138 452 A (EDWARD JOSEPH POITRAS [US]) 14 juin 1957 (1957-06-14) * page 1 - page 3 * * figures 1-3 *	1-22	
A	US 2016/348055 A1 (LIU XIAOQING [CN]) 1 décembre 2016 (2016-12-01) * le document en entier *	1-22	
A	GB 2 268 187 A (UNIV HULL [GB]) 5 janvier 1994 (1994-01-05) * le document en entier *	1-22	
A	US 2015/072377 A1 (BROWNE DOUGLAS J [US] ET AL) 12 mars 2015 (2015-03-12) * le document en entier *	1-22	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
A	US 2 677 646 A (LOVELL STANLEY P ET AL) 4 mai 1954 (1954-05-04) * le document en entier *	1-22	C12M C12Q B01L
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
8 novembre 2017		Bischoff, Laura	
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 à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure.	
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie		D : cité dans la demande	
A : arrière-plan technologique		L : cité pour d'autres raisons	
O : divulgation non-écrite		.....	
P : document intercalaire		& : membre de la même famille, document correspondant	

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE  
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 1753250 FA 838606**

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 **08-11-2017**

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
US 2014342447	A1	20-11-2014	CA 2854000	A1 16-05-2013
			CN 104185677	A 03-12-2014
			EP 2776550	A2 17-09-2014
			HK 1204649	A1 27-11-2015
			JP 6105613	B2 29-03-2017
			JP 2014532432	A 08-12-2014
			JP 2017123862	A 20-07-2017
			US 2014342447	A1 20-11-2014
			WO 2013070730	A2 16-05-2013
-----				
FR 1138452	A	14-06-1957	AUCUN	
-----				
US 2016348055	A1	01-12-2016	CN 104893975	A 09-09-2015
			EP 3098297	A1 30-11-2016
			HK 1203745	A2 30-10-2015
			HK 1210207	A1 05-05-2017
			US 2016348055	A1 01-12-2016
-----				
GB 2268187	A	05-01-1994	AUCUN	
-----				
US 2015072377	A1	12-03-2015	CA 2870358	A1 24-10-2013
			CN 104364388	A 18-02-2015
			EP 2839021	A1 25-02-2015
			HK 1207121	A1 22-01-2016
			JP 2015514424	A 21-05-2015
			US 2015072377	A1 12-03-2015
			WO 2013158666	A1 24-10-2013
-----				
US 2677646	A	04-05-1954	AUCUN	
-----				