

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

(21) **N° 81 00397**

(54) Hotte pour la manipulation de milieux biologiques, tels que des cultures cellulaires.

(51) Classification internationale (int. Cl. ³). C 12 M 1/12; B 01 L 1/04 // C 12 N 5/00.

(22) Date de dépôt 12 janvier 1981.

(33) (32) (31) Priorité revendiquée :

(41) Date de la mise à la disposition du
public de la demande B.O.P.I. — « Listes » n° 28 du 15-7-1982.

(71) Déposant : INSTITUT PASTEUR, établissement déclaré d'utilité publique, résidant en France.

(72) Invention de : Herbert Marcovich.

(73) Titulaire : *Idem* (71)

(74) Mandataire : Cabinet Harlé et Léchopiez,
21, rue de La Rochefoucauld, 75009 Paris.

La présente invention concerne un appareil utile au travail en atmosphère stérile, comme c'est le cas en biologie. Elle a trait, plus particulièrement, à une hotte pour la manipulation de milieux biologiques, tels que des cultures cellulaires.

Il est bien connu dans le domaine de la biologie et de la microbiologie d'effectuer diverses manipulations dans des hottes où l'on désire travailler en atmosphère stérile.

De nombreuses hottes sont actuellement disponibles sur le marché mais elles présentent toutes de nombreux inconvénients.

En général, les hottes les plus fréquemment utilisées sont des hottes pourvues de filtres dits stérilisants. Le principe de telles hottes réside dans une aspiration de l'air à l'aide d'un moyen tel qu'un ventilateur et dans un rejet de l'air après son passage sur un filtre.

Cependant, un inconvénient majeur de ces hottes munies de dispositifs à filtres réside en ce que les filtres ne sont pas capables d'arrêter les virus. En effet, ils peuvent retenir les particules d'une dimension comprise dans la gamme supérieure et allant jusqu'à $0,2\mu\text{m}$ mais sont inefficaces pour des organismes tels que les virus, dont les dimensions sont sensiblement inférieures.

Un autre inconvénient des filtres est qu'ils se colmatent progressivement. Certains constructeurs conseillent, à cause de ce colmatage qui réduit le débit de l'air circulant, d'augmenter la puissance de la ventilation au moyen d'un dispositif prévu à cet effet. Cela risque d'entraîner des particules retenues lors du fonctionnement à un régime inférieur.

Enfin, ces filtres doivent périodiquement être changés lorsque le colmatage devient trop important. Cette opération est onéreuse, et le cas échéant non exempte de dangers pour l'opérateur si les manipulations dans la hotte avaient concerné un matériel présentant des risques.

Il existe donc un besoin pour une hotte remédiant à de tels inconvénients.

On a installé à demeure dans l'enceinte de certaines hottes des montages à rayons ultraviolets, mais leur disposition laisse nécessairement des zones d'ombre dans la hotte, qui échappent au rayonnement, ce qui rend la stérilisation insuffisante et incertaine.

L'effet germicide des sources de rayons ultraviolets est connu depuis fort longtemps et a déjà été utilisé pour assainir et stériliser des locaux.

Ainsi, le brevet FR 1.604.451 décrit un appareil pour assainir et stériliser des locaux comprenant une gaine dans laquelle circule l'air du local. Dans cette gaine sont montés un tube UV à cathode froide émettant à 2537 Å et un tube UV à cathode chaude émettant à la fois à 2537 Å et 1850 Å en produisant de l'ozone. Selon les enseignements de ce brevet, lorsque le local est vide, les deux tubes émettent en même temps pour procurer une stérilisation poussée mais lorsque le local est occupé, un seul tube peut être mis en service.

Une telle réalisation trouve une application particulière dans la stérilisation de salles d'opération.

Cependant, les problèmes rencontrés en salles d'opération sont bien différents de ceux d'une enceinte spécifique à espace délimité pour la mise en oeuvre de diverses manipulations et de divers essais, impliquant l'utilisation de matières biologiques très vulnérables à l'infection exogène ou dangereuses.

Il est impérieux que l'enceinte soit auto-stérilisante sans rejet à un moment précis tandis que dans les salles d'opération un tel problème ne se pose pas.

Dans les salles d'opération, le seul problème posé est celui de la stérilité du local proprement dit. La salle d'opération doit être exempte de germes pathogènes et l'air rejeté peut être traité en un endroit extérieur approprié, par exemple par des filtres, ce qui n'est pas gênant et il n'a pas à être recyclé en circuit fermé.

En fait, seul un degré satisfaisant de stérilité doit être assuré.

5 A l'opposé, dans les hottes pour la manipulation de systèmes biologiques tels que des cultures cellulaires, les analyses spécifiques impliquées nécessitent de modifier les conditions de fonctionnement de la hotte.

10 La hotte doit pouvoir procurer un fonctionnement en régime fermé dans lequel l'air stérilisé est réinjecté et mélangé au volume de départ. Elle doit aussi pouvoir travailler en régime ouvert c'est-à-dire, en surpression ou en dépression, conditions selon lesquelles on admet de l'air en amont du conduit germicide ou on en rejette en aval de ce tube. Ainsi, les conditions de fonctionnement dépendent des besoins des utilisateurs.

15 La présente invention a donc pour objet une hotte qui pallie les inconvénients précités et permet, tout en étant de réalisation simple, de remplir différentes fonctions, ce qui n'était pas réalisable à ce degré dans les hottes antérieures de ce genre.

20 Conformément à la présente invention, la hotte, dépourvue de filtres, destinée à délimiter un espace stérile dans lequel même les virus sont détruits, comprend une enceinte sensiblement parallélépipédique, délimitée de manière connue en soi par des parois en matériau transparent, ^{ou non} un ensemble
25 de circulation de l'air interne comportant une première rampe d'aspiration munie d'au moins un orifice d'admission, un moyen d'entraînement et une prise d'air extérieur assurant à volonté une surpression à l'intérieur de l'enceinte et une deuxième rampe de refoulement munie d'au moins une sortie
30 d'air pour un travail en dépression de la hotte, au moins un conduit germicide à rayons ultraviolets ^{ionisants} et/ou infrarouges monté en dérivation par rapport au volume de travail à l'intérieur ou à l'extérieur de l'enceinte, l'air de l'enceinte étant aspiré en continu, purifié dans ledit conduit et passant
35 alors dans la rampe de refoulement pour être évacué soit à l'extérieur de la hotte après avoir été stérilisé, par l'intermédiaire de la sortie d'air de la rampe de refoulement, soit vers l'enceinte, auquel cas la prise d'air extérieur de la ram-

pe d'aspiration se trouve en position ouverte ou fermée selon les conditions requises, tandis qu'il est prévu un dispositif en soi connu, sous forme d'une porte à positions réglables pour la fermeture ou l'ouverture de ladite enceinte.

5 La friction de l'air sur une matière plastique, telle que "Plexiglas" ou polycarbonate, crée des charges électrostatiques qui conduisent au piégeage sur ces matières des particules de toutes dimensions, en particulier les spores et les bactéries contenues dans l'air circulant. Ce piégeage
10 électrostatique est accru par la mise en place d'éléments en matière plastique dans le conduit situé de préférence en aval du dispositif germicide. On peut également envisager la mise en place d'un dispositif générateur d'électricité statique en un endroit quelconque de la hotte.

15 On insistera ci-après sur quelques caractéristiques avantageuses de la hotte selon l'invention.

a) elle ne comporte pas de filtres

b) la stérilisation de l'air de l'enceinte s'effectue dans un conduit placé en dérivation soit à l'intérieur soit
20 à l'extérieur de ladite enceinte et soumis à un rayonnement germicide (rayons ultraviolets, rayons ionisants et/ou infrarouges).

c) il s'agit d'un appareil à plusieurs régimes de fonctionnement à savoir : à cycle interne sans échange exté-
25 rieur correspondant à un cycle de protection du contenu à l'intérieur et à cycle externe avec rejet après stérilisation de l'air interne et avec la possibilité d'admettre de l'air extérieur pour amener une condition de surpression, ce qui est très utile en particulier si le ou les produits trai-
30 tés sont particulièrement dangereux. Une autostérilisation de l'enceinte est ainsi obtenue très rapidement. Les deux cycles correspondant à ces deux régimes de fonctionnement sont expliqués ci-après.

En fait, il convient de distinguer tant un régi-
35 me de fonctionnement fermé qu'un régime de fonctionnement ouvert.

En régime fermé l'air de l'enceinte, après avoir passé dans le conduit germicide, est de nouveau mélangé au volume de départ. En théorie, en supposant une homogénéisation parfaite et instantanée de l'air stérile avec celui de la hotte, la probabilité de survie d'un germe décroît exponentiellement avec la durée de fonctionnement. Dans la pratique, des mesures effectuées comparativement avec des milieux de culture placés dans la hotte et à son extérieur, montrent que la survie des germes normalement présents dans l'atmosphère du laboratoire décroît dans la hotte de l'invention selon un facteur de 10^{-3} par heure.

En régime ouvert, grâce à la réalisation selon la présente invention, il est loisible de mettre l'enceinte en surpression ou en dépression, auquel cas on admet de l'air extérieur en amont ou on ^{en} rejette en aval du conduit germicide. Ainsi, on obtient un état stationnaire qui est la résultante de l'action germicide et de l'apport constant de germes exogènes. Dans la pratique, il n'a pas été possible de déceler dans la hotte selon la présente invention, après 12 heures de fonctionnement, la présence de germes pour des expositions de 24 heures des milieux de culture.

d) la hotte peut comporter des moyens additionnels en soi connus permettant de faire circuler le matériel par l'intermédiaire d'un sas et d'isoler l'enceinte par une paroi à gants

e) le matériau préféré pour les parois de la hotte est un matériau plastique transparent tel que du polycarbonate dont la résistance à la chaleur permet de porter à volonté l'air de la hotte à des températures de l'ordre de 80°C au moyen d'un dispositif de chauffage additionnel thermorégulé, détruisant les germes qui, ayant adhéré aux parois ne sont pas entraînés dans le conduit germicide par la circulation d'air.

f) la prise d'air extérieur est placée en un endroit quelconque sur la rampe d'aspiration et consiste en au moins une ouverture pouvant être fermée par un obturateur

amovible,

g) la sortie d'air dans la rampe de refoulement est placée en un endroit quelconque de celle-ci et consiste en au moins une ouverture pouvant être fermée par un obturateur

5 amovible,

h) un ventilateur pour le brassage de l'air peut être prévu complémentaiement à l'intérieur de l'enceinte.

Divers avantages et caractéristiques de l'invention ressortiront de la description détaillée ci-après

10 faite en regard des dessins annexés sur lesquels :

Fig. 1 est une vue en perspective par l'avant de la hotte selon la présente invention.

Fig. 2 est une vue de dessus de la hotte montrant la rampe d'aspiration, le conduit germicide et la rampe de
15 refoulement.

Fig. 3 est une vue de face de la hotte montrant la porte à positions réglables.

Aux dessins annexés notamment sur la figure 1, la hotte est désignée dans son ensemble par 1. Elle se compose
20 d'une enceinte 2 sensiblement parallélépipédique délimitée par deux parois latérales 3, une paroi postérieure 4 et une paroi apicale 5. La paroi apicale 5 est en communication avec une rampe d'aspiration 6 percée d'orifices 7 où l'air de l'enceinte 2 est acheminé au moyen d'un moteur 8 entraînant une
25 turbine 9 pour être dirigé dans un conduit germicide 10.

L'air purifié traverse alors une rampe de refoulement 11 dans laquelle sont placés des "peignes" en matière plastique 18 pour être refoulé le long de la paroi postérieure 4, comme illustré par la flèche F.

30 La rampe d'aspiration 6 présente une prise d'air extérieur 12 pour fournir, si désiré, une surpression à l'intérieur de la hotte 1. Cette prise d'air 12 peut se trouver en un endroit quelconque sur la rampe d'aspiration 6 et consiste en au moins une ouverture pouvant être fermée par un
35 obturateur amovible (non représenté).

D'une façon analogue, la rampe de refoulement 11

présente une sortie d'air 13 pour permettre un travail en dépression à l'intérieur de l'enceinte 2 de la hotte 1. Cette sortie d'air 13 est placée en un endroit quelconque dans la rampe de refoulement 11 et consiste également en au moins une
5 ouverture pouvant être fermée par un obturateur amovible (non représenté).

La figure 2 montre le cheminement de l'air traversant le conduit germicide. L'air de l'enceinte 2 est aspiré par la rampe 6 au travers des ouvertures 7 et est dirigé
10 au moyen de la turbine 9 dans le conduit germicide 10 placé en dérivation soit à l'intérieur soit à l'extérieur de l'enceinte 2. L'air à purifier est alors soumis à un rayonnement germicide, rayons ultraviolets, ionisants et/ou infrarouges. L'air purifié est ensuite acheminé dans la rampe de refoulement 11 pour re-
15 tourner dans l'enceinte 2 le long de la paroi postérieure 4. Les flèches sur la figure 2 illustrent ledit cheminement.

La figure 3 représente le dispositif d'accès à l'enceinte 2. Il comprend une porte 14 à positions réglables, à savoir, une position basse illustrée en traits pointillés et
20 une position haute illustrée en traits mixtes avec toute position intermédiaire désirable. La commande de ladite porte 14 tant dans sa position haute que dans sa position basse est obtenue par l'intermédiaire de poulies 15 fixées sur un axe 16 dont la rotation est imprimée dans un sens ou dans l'autre par
25 un organe de commande 17 de tout type approprié.

Comme on l'a indiqué plus haut, on prévoit selon la présente invention l'incorporation d'un dispositif de chauffage thermorégulé. Ce dispositif n'a pas été représenté sur les dessins et peut être de tout type classique.

30 La présente invention crée donc une hotte offrant diverses possibilités d'utilisation supprimant les problèmes rencontrés avec les dispositifs à filtres, cette hotte permet notamment d'inactiver des acides nucléiques laissés dans son enceinte.

35 L'invention n'est pas limitée aux modes de réalisation décrits et elle englobe les équivalents techniques sans sortir de son cadre.

REVENDEICATIONS

1. Hotte pour la manipulation en atmosphère stérile de milieux biologiques tels que des cultures cellulaires, dépourvue de filtres, destinée à délimiter un
5 espace stérile dans lequel même les virus sont détruits, caractérisée en ce qu'elle comprend une enceinte (2) sensiblement parallélépipédique, délimitée de manière connue en soi par des parois (3,4,5) en matériau transparent^{ou non}, un ensemble de circulation de l'air interne comportant une première rampe d'as-
10 piration (6) munie d'au moins un orifice d'admission (7), un moyen d'entraînement (8) et une prise d'air extérieur (12) assurant à volonté une surpression à l'intérieur de l'enceinte (2) et une deuxième rampe de refoulement (11) munie d'au moins une sortie d'air (13) pour un travail en dépression de la hotte
15 te (1), au moins un conduit germicide (10) à rayons ultraviolets, ionisants et/ou infrarouges monté par rapport au volume de travail à l'intérieur ou à l'extérieur de l'enceinte (2), l'air de l'enceinte (2) étant aspiré en continu, purifié dans ledit conduit (10) et passant alors dans la rampe de refoulement (11) pour être évacué soit à l'extérieur de la hotte (1)
20 après avoir été stérilisé, par l'intermédiaire de la sortie d'air (13) de la rampe de refoulement (11), soit vers l'enceinte (2) auquel cas la prise d'air extérieur (12) de la rampe d'aspiration (6) se trouve en position ouverte ou fermée selon les
25 conditions requises, tandis qu'il est prévu un dispositif (15, 16,17) en soi connu sous forme d'une porte (14) à positions réglables pour la fermeture ou l'ouverture de ladite enceinte (2).

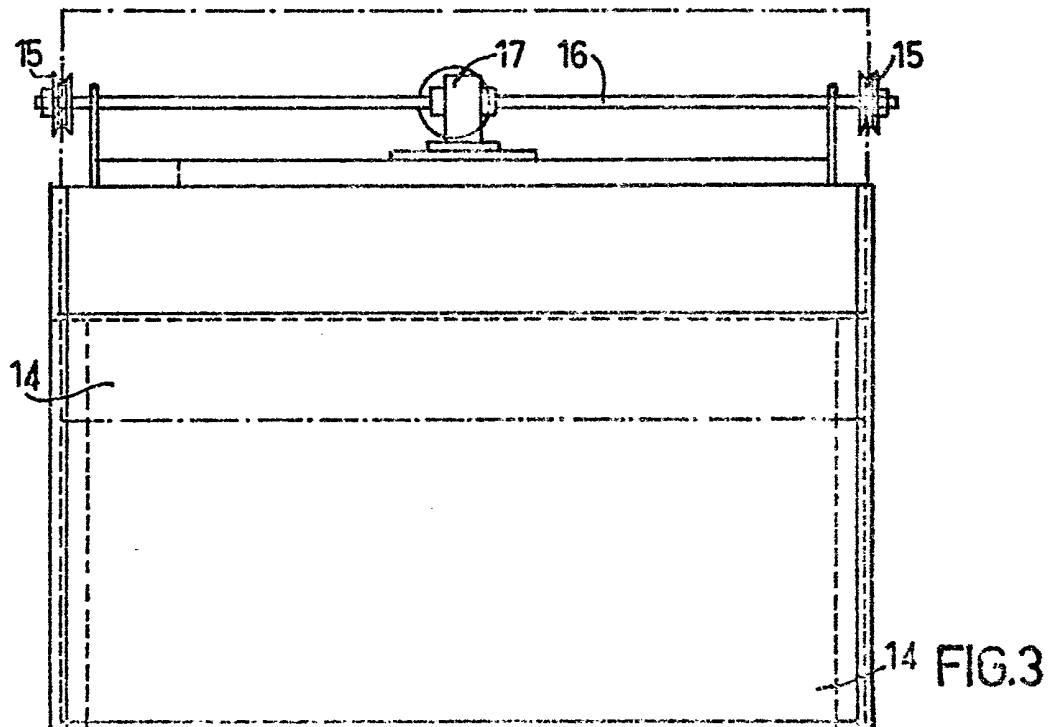
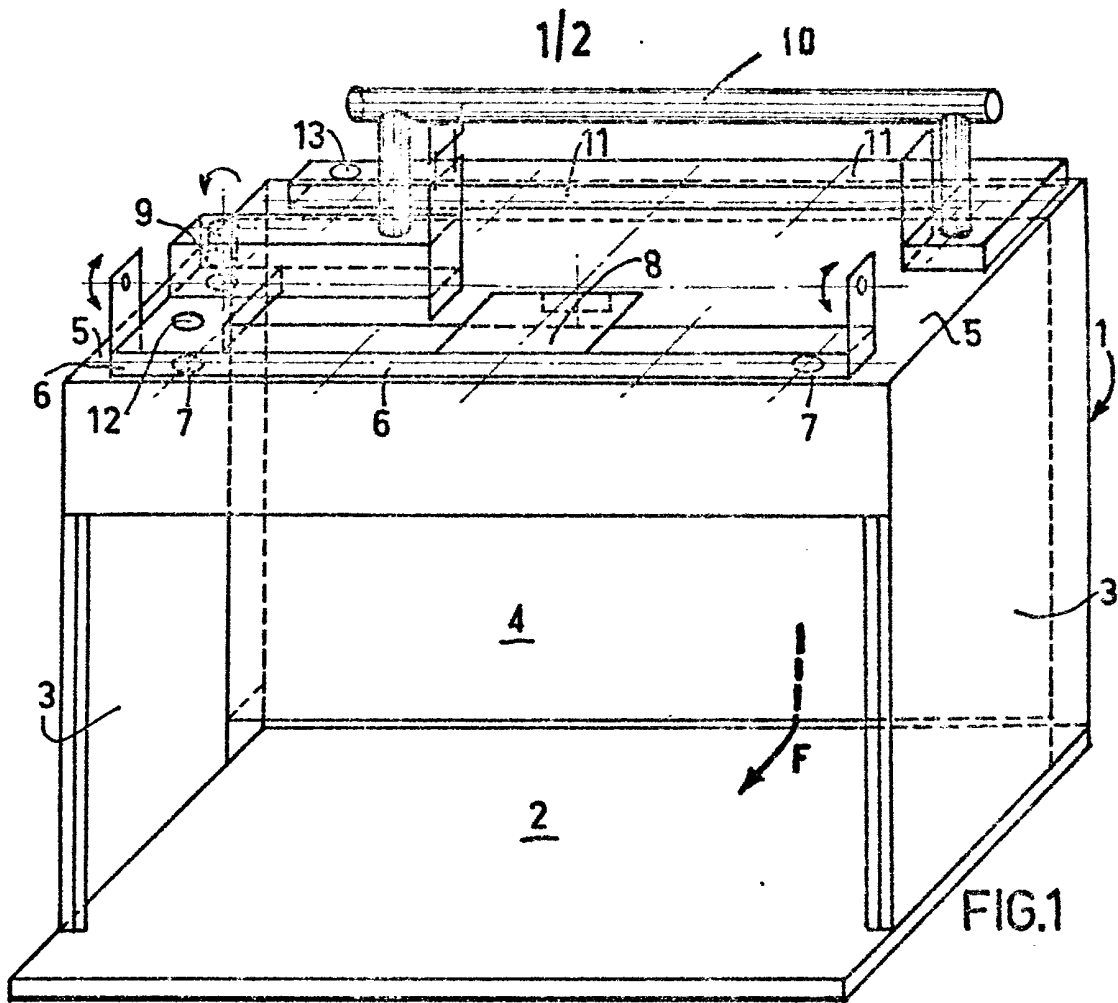
2. Hotte selon la revendication 1, caractérisée en ce que la prise d'air extérieur (12) est disposée
30 en un endroit quelconque sur la rampe d'aspiration (6) et consiste en au moins une ouverture pouvant être fermée par un obturateur amovible.

3. Hotte selon l'une des revendications 1 ou 2, caractérisée en ce que la sortie d'air (13) dans la rampe
35 de refoulement (11) est disposée en un endroit quelconque de celle-ci et consiste en au moins une ouverture pouvant être fermée par un obturateur amovible.

4. Hotte selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que le matériau transparent constitutif des parois (3,4,5) est du polycarbonate.

5 5. Hotte selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisée en ce qu'elle comporte un ventilateur pour le brassage de l'air à l'intérieur de l'enceinte (2).

10 6. Hotte selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisée en ce qu'elle comporte un dispositif générateur d'électricité statique.



2/2

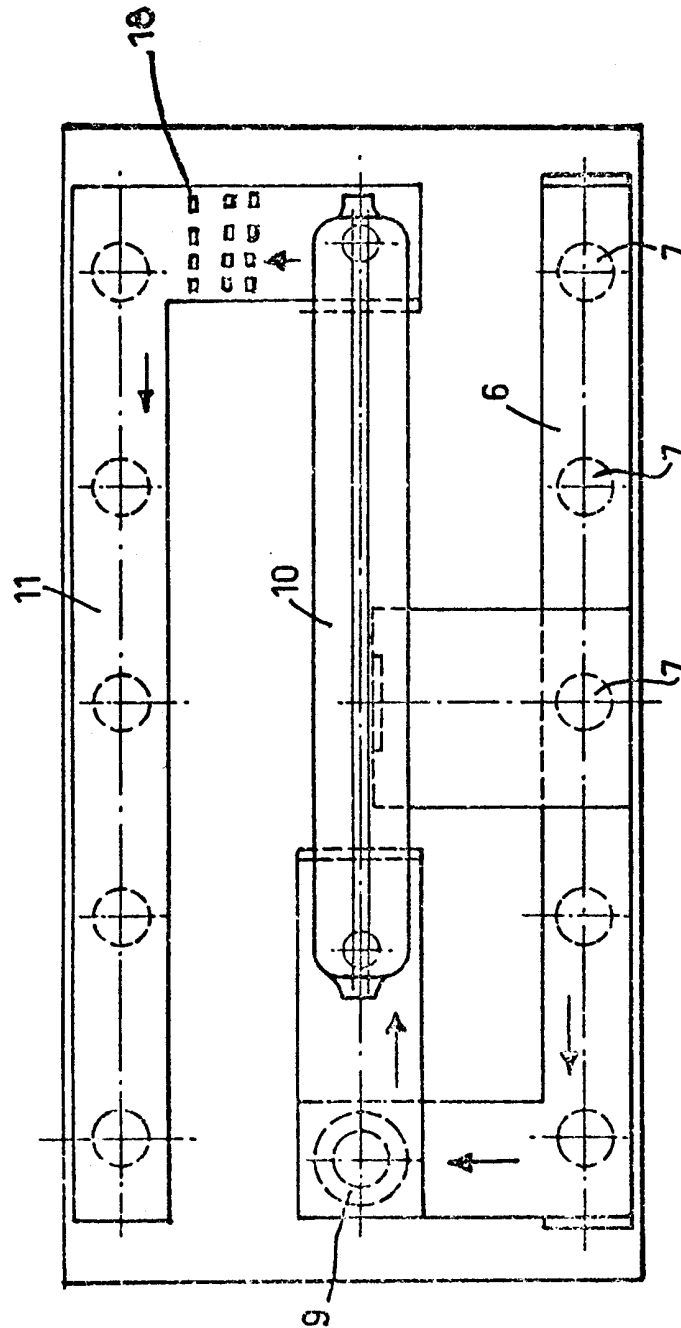


FIG. 2