AZOTE LIQUIDE MÉDICAL

Air Liquide HEALTHCARE CE 0459 FR

Date de mise à jour : **04/2023**

Réf. : 201596

Notice azote liquide médical pour la cryoconservation de cellules et tissus humains.

Pour éviter tout incident, lire attentivement la notice avant utilisation et respecter impérativement les consignes d'utilisation

Fabricant :
Air Liquide Santé France S.A.
6, rue Cognacq-Jay - 75007 PARIS - FRANCE

1 - QU'EST-CE QUE L'AZOTE LIQUIDE MÉDICAL, gaz liquéfié pour cryoconservation ?

L'azote liquide médical pour cryoconservation est un dispositif médical de classe IIa en vertu en vertu de la règle 2 du Réglement (UE) 2017/745 du parlement européen du 5 avril 2017.
L'azote liquide médical pour cryoconservation est utilisé dans les pratiques de cryocongélation et de cryoconservation de cellules et de tissus humains. Il est disponible conditionné dans des récipients cryogéniques clos transportables de 630 L (récipient mis à disposition du client) ou directement soutiré de ces récipients et transféré dans les cuves ou stockages fixes des établissements de santé. Il est également disponible en vrac et livré à partir de camions-citernes dédiés pour remplir les stockages fixes des établissements de santé.
Lisez attentivement l'intégralité de cette notice avant d'utiliser ce produit Dispositif Médical (DM). Elle contient des informations importantes sur son utilisation.

2 - INFORMATIONS NÉCESSAIRES AVANT D'UTILISER L'AZOTE LIQUIDE MÉDICAL, gaz liquéfié pour cryoconservation :

Usage prévu

L'azote liquide médical est utilisé pour la cryo-congélation et la cryoconservation de cellules et tissus humains. En pratique, le professionnel de santé place l'échantillon à conserver, préférablement avec un cryoprotecteur, dans un contenant adapté et hermétiquement fermé afin de le congeler et le conserver de manière adéquate.

Indications d'utilisation

L'azote liquide médical fabriqué par ALSF est indiqué pour la cryo-congélation et la cryoconservation à -196°C, sans aucun contact direct, des cellules, tissus et échantillons humains suivants en vue de leur réintroduction ou non dans l'organisme :

- le sperme,
- les tissus ovariens et testiculaires,
- les ovocytes,
- les embryons de 1, 2, 4 ou 8 cellules lors de leur congélation,
- les hépatocytes,
- les tissus ou cellules adipeux et les cellules souches adipeuses,
- le sang dont les cellules spéciales pour les transfusions (globules rouges, plaquettes, plasma et cryoprécipité, granulocytes, gamma globuline, albumine), les cellules souches du sang et le sang de cordon ombilical (progéniteurs endothéliaux circulants PEC), cellules progénitrices sanguines issues du cordon ombilical,
- les échantillons de tissus comme les tumeurs et les coupes histologiques dans le cadre d'études ou de diagnostics anatomopathologiques,
- les cellules souches dérivées de la moelle osseuse (cellules souches hématopoïétiques ou mésenchymales),
- les cellules souches des tissus dentaires,
- la fraction vasculaire stromale issue du tissu adipeux,
- les cellules stromales multipotentes de placenta,
- les greffons de peau, cellules de la peau, tissus muqueux labiaux, membranes amniotiques, tendons, ligaments, cartilages, ménisques, dents, matrices dentinaires et volets crâniens prélevés en salle d'opération sur donneurs vivants en état de mort encéphalique (EME), donneurs décédés après un arrêt cardio-circulatoire (DDAC) ou donneurs de tissus seuls (DTS),
- les îlots de Langerhans (îlots pancréatiques),
- les substituts artificiels au cartilage naturel,
- les nerfs décellularisés,
- les doigts amputés,
- les artères, veines et valves cardiaques,
- l'acide ribonucléique (ARN),
- les cellules encapsulées dans une matrice d'alginate.

Afin d'éviter tout contact direct entre les échantillons ou prélèvements humains et l'azote liquide médical, ceux-ci doivent être placés dans des récipients hermétiques adaptés, selon le choix du médecin biologiste, et correctement fermés. Les pratiques de cryo-congélation sont multiples et seul le médecin biologiste peut juger des méthodes de congélation et de décongélation les plus adaptées à ses équipements et ses échantillons ou prélèvements humains. De même, seul le médecin biologiste peut juger de la durée de conservation la plus adaptée à ses échantillons ou prélèvements humains. Il est fortement conseillé de se référer à la durée maximale d'utilisation du contenant choisi pour l'échantillon à conserver ainsi qu'aux procédures de stockage validées par l'établissement de conservation.
L'azote liquide médical fabriqué par Air Liquide Santé France est indiqué dans la congélation lente et la vitrification fermée. Il est recommandé d'utiliser un cryoprotecteur (DMSO, glycérol, propylène-glycol, etc.) dans les deux cas.

Population de patients et utilisateurs de l'azote liquide médical

Il n'y a pas de population de patients cible pour l'utilisation de l'azote liquide médical en cryoconservation de cellules et tissus humains. Les pratiques de cryocongélation et de cryoconservation sont adaptées à la préservation d'échantillons humains ou de prélèvements biologiques humains (cellules, tissus mous et solides, liquides corporels, sang, organes, etc.) à très basse température.
Les utilisateurs de l'azote liquide médical dans le cadre de la cryoconservation de cellules et tissus humains sont les médecins, les biologistes, les techniciens de laboratoire, les préposés aux gaz médicaux de l'établissement médical, les commerciaux ALSF (Conseillers Service Hospitalier CSH), etc. Les pratiques d'usage concernent notamment les banques de tissus humains (Etablissement Français du Sang, CECOS, centres de FIV/PMA, laboratoires de biologie...).

Performances techniques

L'azote liquide médical pour cryoconservation permet la conservation des cellules et tissus humains à -196°C.

Bénéfice clinique

Le bénéfice clinique associé à l'utilisation d'azote liquide médical en cryoconservation est de permettre l'utilisation de cellules, tissus et échantillons humains en vue de leur réintroduction dans l'organisme d'un patient ou d'activités de recherche scientifique, tout en sachant que leurs capacités fonctionnelles aient pu être affectées par l'âge, des conditions médicales particulières (syndromes génétiques) ou des traitements médicaux. La cryoconservation permet ainsi de rendre disponibles ces échantillons plus longtemps et à tout moment lorsqu'un besoin patient émerge.

Prendre des précautions particulières avec L'AZOTE LIQUIDE MEDICAL à destination de la cryoconservation de cellules et tissus humains :

Mises en garde

Ce produit n'est pas stérile. Respecter les règles d'hygiène d'usage.
Le tissu à préserver ne doit pas être en contact direct avec l'azote liquide, il doit être placé dans un contenant fermé hermétiquement. Il est recommandé d'utiliser un cryoprotecteur.
Dans le cas de la cryoconservation en vapeur d'azote, le tissu doit également être placé dans un contenant fermé hermétiquement (canister, paillettes, poches, etc.).
Vérifier très régulièrement le niveau d'azote liquide dans le récipient de cryoconservation et, le cas échéant, dans le stockage fixe sur la dalle source pour éviter tout risque de perte des échantillons par évaporation d'azote liquide.

Précautions d'emploi

Avant toute utilisation ou intervention, s'assurer que le produit est bien de l'azote Dispositif Médical (marqué CE).
Ce produit est réservé strictement à un usage médical.

Instructions pour l'utilisation, la manipulation

Pour éviter tout incident, respecter impérativement les consignes suivantes :
Le personnel utilisateur doit connaître les recommandations de sécurité dans la manipulation des gaz liquides cryogéniques.
Transfert : la basse température de l'azote liquide (-196°C) peut provoquer des brûlures de la peau. Durant toute l'opération de transfert d'une capacité à une autre et pour toute manipulation, l'utilisation de **visière ou lunettes de sécurité**, de **gants cryogéniques**, de **chaussures de sécurité** est obligatoire, ainsi que le port de **vêtements couvrants** (manches longues, pantalon) protégeant toute partie du corps des éventuelles projections. Le port d'un oxygénomètre est recommandé afin de contrôler efficacement tout risque de sous-oxygénation.

Le matériel doit être en bon état et utilisé selon les préconisations du fabricant.
Un récipient d'azote liquide doit être arrimé en usage.
Ne pas introduire d'eau ni toute autre substance dans le récipient.

Conduite de véhicules et utilisation de machines

Un récipient d'azote liquide doit également être arrimé pendant le transport et tout déplacement.
Ne pas transporter un récipient d'azote liquide dans un véhicule non aéré même pour un trajet à priori court. La durée du transport est un paramètre critique, parfois difficile à maîtriser, en raison de la vaporisation naturelle de l'azote et du risque d'anoxie.
Pour le transport, les réservoirs doivent être conformes à la réglementation internationale applicable au transport des matières dangereuses par voie terrestre (ADR), aérienne (IATA) et ferroviaire (RID).
En cas d'utilisation d'un ascenseur :
- si l'ascenseur est équipé d'une ventilation haute et basse et qu'une clé liftier est mise à disposition, une personne est autorisée à monter dans l'ascenseur équipée obligatoirement d'un équipement de protection respiratoire autonome et d'un oxygénomètre,
- si l'ascenseur n'est pas équipé ainsi, aucune personne ne doit se trouver dans l'ascenseur.

Ne pas introduire ou utiliser un récipient contenant de l'azote liquide dans un lieu public ou transport public sans s'être assuré préalablement de la possibilité de pouvoir le faire.

Contre-indications, effets indésirables et complications

- Il n'y a pas de contre-indications à l'utilisation de l'azote liquide médical à destination de la cryoconservation de cellules et tissus humains.
- Dans le cas de la cryoconservation de cellules et tissus humains et dans des conditions normales, les complications ne sont pas directement liées à l'azote liquide médical mais aux activités de cryoconservation. La plupart des complications sont liées à des interventions médicales post-conservation comme des rejets de greffes ou des échecs de transfert embryonnaires.
- L'utilisation du DMSO comme cryoprotecteur peut causer des effets indésirables aux patients chez qui des échantillons cryoconservés ont été réintroduits. Les principaux effets indésirables dans ces situations sont des réactions cutanées et gastro-intestinales.
- La cryoconservation de cellules et tissus humains ne peut garantir une viabilité à 100 % des échantillons conservés.
- Il existe un risque de contamination croisée si leurs contenants ne sont pas fermés hermétiquement.
- En cas d'exposition accidentelle à l'azote liquide, des gelures peuvent apparaître sur les tissus ayant été en contact direct, ainsi que tous les effets indésirables présentés dans le tableau suivant :

Rapidité d'apparition de l'effet indésirable	**Immédiate**	**À moyen terme**	**À long terme**
Description des effets indésirables potentiels	- Douleur vive - Hémorragie locale - Maux de tête - Syncopes vagales	- Surinfections cutanées - Pansements prolongés - Granulomes cicatriciels - Oedèmes locaux	- Dommages nerveux - Rupture tendineuse - Hypopigmentation locale

Le manque de visibilité, l'anoxie, l'hyperventilation, la perte de connaissance puis l'asphyxie peuvent survenir en cas d'évaporation ou d'explosion (suite à surpression) d'azote liquide dans l'atmosphère ambiante.
L'évaporation naturelle de l'azote liquide peut mener au séchage des échantillons humains en cas de non surveillance du niveau résiduel d'azote liquide dans la cuve et dans les stockages amonts.
Lors de l'étape de décongélation certains contenants sont susceptibles de casser, voire d'exploser (par exemple les paillettes et ampoules en verre). Il revient au médecin biologiste de choisir la méthode de décongélation ainsi que les contenants adaptés à ses pratiques.

3 - COMMENT UTILISER L'AZOTE LIQUIDE MEDICAL ?

Mode et/ou voie(s) d'administration

Le professionnel de santé place le tissu ou la cellule humaine, de préférence avec cryoprotecteur, dans un contenant afin de le congeler et de le conserver. Ce contenant doit être adapté au type d'échantillon humain et aux activités de cryoconservation choisies par le médecin biologiste (volume d'azote et stockage en phase liquide ou gazeuse). Le local dédié à la cryoconservation doit être agréé.

Dispositifs se raccordant à l'azote liquide médical pour cryoconservation

L'azote liquide médical pour cryoconservation fabriqué par ALSF ne comporte aucun accessoire. Ci-dessous sont listés, de façon non-exhaustive, les différents équipements pouvant être utilisés en combinaison avec l'azote liquide médical pour cryoconservation :
- Récipient cryogéniques de stockage et de transport (dispositifs médicaux),
- Cryotubes, canisters, paillettes, poches (dispositifs médicaux),
- Systèmes de surveillance (dispositifs médicaux ou non selon les fonctionnalités proposées),
- Cryoprotecteur (aucun statut réglementaire).

4 - QUELLES SONT LES ACTIONS A MENER EN CAS D'INCIDENT ?

Une atmosphère titrant à moins de 19% d'oxygène devient dangereuse. Une atmosphère saturée en azote présente des **risques de perte de connaissance** puis d'asphyxie. L'azote gazeux provenant de l'évaporation de l'azote liquide a tendance à **s'accumuler dans les points bas** (à basse température, l'azote gazeux est plus lourd que l'air).

En cas de renversement ou de fuite :

1 litre d'azote liquide cryogénique génère à température ambiante (15°C à 1Bar) 690L de gaz.
Évacuer le local, ne pénétrer en aucun cas dans le local avant d'être certain que la teneur en oxygène soit remontée au dessus de 19 %, à moins d'être équipé d'un appareil respiratoire autonome prévu à cet effet.

En cas de malaise :

Ramener rapidement la personne en atmosphère normale, si on est équipé d'un appareil respiratoire autonome prévu à cet effet, commencer immédiatement la respiration artificielle et contacter les service de secours. Si besoin, administrer de l'oxygène avec un insufflateur manuel.

En cas de projection :

- Dans les yeux : laver l'œil abondamment de préférence avec de l'eau stérile ou du sérum physiologique pendant au moins 15 minutes. Consulter un médecin.
- Sur la peau : ne pas frotter. Enlever ou desserrer les vêtements si nécessaire. Dégeler les parties atteintes par un réchauffement modéré ou progressif (à l'eau tiède si possible pendant 15 minutes, sinon en les plaçant contre une autre partie chaude du corps). Consulter un médecin.

Plus le réchauffement à l'eau est précoce plus il sera efficace (essentiellement dans les minutes qui suivent la lésion).

5 - COMMENT CONSERVER L'AZOTE LIQUIDE MEDICAL ?

L'azote liquide s'évaporant naturellement, il est impératif de surveiller régulièrement le niveau d'azote liquide.
La basse température fragilise de nombreux matériaux. Aussi, les matériaux composant les récipients de stockage ou de transfert doivent être des matériaux à usage cryogénique. Il est interdit d'utiliser d'autres récipients ou matériels que ceux préconisés par leur fabricant en vue du stockage ou de l'utilisation de l'azote liquide.
Le matériel doit être en bon état et utilisé selon les préconisations du fabricant (vérification de l'absence de glace au niveau du bouchon ni de condensation sur les parois du récipient).
Avant usage : le transport ou le transfert se réalise à partir d'un réservoir fixe ou mobile, la sécurité en pression est assurée par une soupape tarée.
En usage en cryoconservation, la sécurité est assurée au niveau de la cuve/du récipient par un couvercle d'origine dont on surveillera la non-étanchéité. Il est obligatoire d'utiliser des couvercles d'origine non étanches évitant tout risque de surpression. Une surpression trop importante pourrait entraîner des dommages irréversibles sur les cuves/récipients cryogéniques voire mener jusqu'à leur explosion.
Les zones de stockage ou d'emploi de l'azote doivent posséder une ventilation naturelle ou forcée rejetant à l'air libre afin de maintenir la teneur en oxygène à une valeur supérieure à 19 % et d'éviter tout risque de malaise ou d'anoxie.
Dans le cadre de la cryoconservation, les locaux de stockage devront être aménagés conformément aux réglementations en vigueur. De plus, afin de pouvoir intervenir en cas d'accident, du matériel d'intervention et de secours devra être mis à disposition du personnel qui devra y être formé. Des Équipements de Protection Individuelle (EPI) devront être mis à disposition du personnel en prévention du risque de brûlure cryogénique lors des transferts d'azote liquide et toute manipulation.
Afin d'informer et d'alerter le personnel utilisateur, un panneau signalant les risques doit être installé de manière bien visible à l'entrée des locaux de stockage et d'emploi de l'azote liquide.
Le matériel doit être stocké dans un endroit propre, facilement accessible, ventilé et à l'abri des intempéries et de l'humidité. Il est recommandé que la température de la zone de stockage ou d'utilisation de l'azote liquide se situe entre 10 et 30°C.
Ne pas utiliser après la date de péremption figurant sur l'étiquette.

- Ne laisser ni à la vue ni à la portée des enfants.
- Ne pas fumer à proximité ni approcher de flamme.
- Ne pas graisser.
- Ne pas inhaler ou ingérer.
- Toujours manipuler en se protégeant avec visière/lunettes de sécurité, gants cryogéniques, chaussures de sécurité, vêtements couvrants et oxygénomètre.

Tout incident grave survenu en lien avec l'azote liquide médical à destination de la cryoconservation doit faire l'objet d'une notification à Air Liquide Santé France ainsi qu'à l'ANSM.