



Document de référence de la SCFA sur la cryoconservation dans la reproduction assistée

Document révisé en avril 2021.

Membres du sous-comité de cryoconservation

Robert Casper MD	Trio Fertility Centre, Toronto
Scot Hamilton PhD	Reproductive Care Centre, Mississauga
Clifford Librach MD	Create Fertility Centre, Toronto
Ayub Lulat PhD	Create Fertility Centre, Toronto
Jim Meriano PhD	Trio Fertility Centre, Toronto
David Mortimer PhD	Oozoa Biomedical inc., Vancouver
Simon Phillips PhD	OVO Fertility, Montréal

Introduction

Ce document de référence est lié à la cryoconservation du matériel de procréation assistée, y compris les gamètes, les embryons et les tissus ovariens et testiculaires. Il ne vise pas à remplacer les normes existantes telles que celles publiées par l'Association canadienne de normalisation (CSA) ainsi que les normes et règlements appliqués par Santé Canada et les collèges médicaux provinciaux. Ce document ne couvre pas les sujets connexes tels que l'identification des échantillons cryogéniques ou le contrôle des maladies infectieuses dans la cryogénéisation, qui sont bien décrits ailleurs.

Toutes les cliniques doivent procéder à des évaluations des risques pour toutes les procédures liées à la cryoconservation et à la manipulation des matériaux cryoconservés, afin de minimiser les risques de défaillance. Cependant, il est important de noter que même si les meilleures pratiques sont respectées, la possibilité d'une défaillance catastrophique d'un réservoir d'azote liquide ne peut être totalement évitée.

1,0

Sécurité du personnel

- 1.1 Toute zone contenant des réservoirs de cryoconservation et de l'azote liquide doit être signalée par une affiche appropriée, conformément aux réglementations SIMDUT/GDS.
- 1.2 Tout le personnel travaillant dans une zone contenant de l'azote liquide et/ou manipulant de l'azote liquide et des échantillons cryoconservés qui se trouvent dans l'azote liquide doit être formé de manière adéquate aux dangers associés que l'azote liquide peut présenter.
- 1.3 Personne ne doit travailler seul dans une zone contenant de l'azote liquide.
- 1.4 L'équipement de sécurité approprié, y compris les gants cryogéniques, les lunettes de protection ou les masques pour le visage et les tabliers, doit être fourni et utilisé à tout moment. Les chaussures à bouts ouverts ne doivent pas être portées lors du travail en présence d'azote liquide.



CANADIAN FERTILITY AND ANDROLOGY SOCIETY SOCIÉTÉ CANADIENNE DE FERTILITÉ ET D'ANDROLOGIE

- 1.5 Un capteur de déplétion d'oxygène doit être installé dans toutes les zones où il y a une présence d'azote liquide, à une hauteur maximale de 4 pieds au-dessus du sol. Le capteur d'oxygène doit être calibré en tenant compte de l'altitude de la cryobanque (puisque le po_2 diminue à des altitudes plus élevées) et entretenu par le fabricant ou le fournisseur désigné. Le capteur d'oxygène doit être équipé d'annonceurs sonores et visuels à l'intérieur et à l'extérieur de la pièce.
- 1.6 Dans les espaces contenant des volumes importants de LN₂, un système de ventilation par extraction doit être installé au niveau du sol, car la vapeur d'azote froide est plus lourde que l'air.

2.0 Systèmes d'alarme

- 2.1 Tous les réservoirs de cryoconservation doivent être équipés d'au moins un capteur — soit pour la température ou le niveau d'azote et il est préférable que les capteurs de température et de niveau d'azote soient utilisés simultanément.
- 2.2 Les capteurs de température doivent être placés de telle sorte qu'en cas d'augmentation de la température, l'alarme se déclenche avant que les échantillons ne soient compromis. Par exemple, les capteurs doivent être placés au-dessus du niveau de l'échantillon et réglés pour déclencher une alarme à -160 °C ou plus, ce qui donne le temps de réagir à une alarme.
- 2.3 Les systèmes d'alarme doivent être connectés à un système d'appel externe. Ce système peut inclure la centrale d'alarme ou un système d'appel direct. Le système d'appel ne doit pas utiliser l'une des lignes téléphoniques du central ou de la VOIP et doit être une ligne directe de la compagnie de téléphone pour garantir une capacité d'appel permanente.
- 2.4 Les capteurs d'alarme doivent être vérifiés régulièrement et les conditions d'alarme déclenchées pour s'assurer que le système fonctionne comme prévu.
- 2.5 Les utilisateurs doivent toujours être conscients des instructions du fabricant relatives à l'utilisation des cryoalarmes.
- 2.6 Il est recommandé de prévoir un réservoir de rechange en cas de défaillance d'un réservoir de conservation. En l'absence d'un réservoir de rechange, l'espace disponible dans les autres réservoirs doit être suffisant pour accueillir les échantillons provenant du réservoir défaillant. Un réservoir de rechange doit être vide de spécimens et être entretenu avec de l'azote liquide ; il ne doit cependant pas être plein de LN₂ pour faciliter le transfert rapide des bidons du réservoir défaillant sans qu'il soit nécessaire de vider l'excès de LN₂ du réservoir de rechange.



3.0 Entretien du Dewar

- 3.1 Les réservoirs de stockage d'azote liquide doivent être remplis au moins une fois par semaine, mais les utilisateurs doivent connaître le temps de rétention statique de leurs réservoirs et établir des délais de remplissage en fonction de ces informations. Un remplissage trop fréquent des réservoirs peut limiter la capacité à surveiller l'utilisation du LN2 de ces réservoirs.
- 3.2 Les Dewars doivent être surveillés pour l'utilisation du LN2 et ces mesures sont utilisées pour créer une carte de contrôle qui peut être utilisée pour identifier la dégradation des performances d'un réservoir. Tout réservoir dont les performances se dégradent doit être retiré du service et remplacé.
- 3.3 Les réservoirs doivent être inspectés régulièrement pour détecter les signes de dommages et les indicateurs potentiels d'une défaillance imminente ; par exemple, la condensation autour du col de l'unité indiquant des problèmes potentiels avec le joint à vide. Tout réservoir présentant de tels signes doit être retiré du service et remplacé.
- 3.4 Les réservoirs doivent être manipulés de manière appropriée afin de minimiser le risque de dommages qui pourraient compromettre leur fonction. Le personnel doit connaître les recommandations du fabricant en matière d'entretien et de manipulation des Dewars.
- 3.5 Les réservoirs qui se remplissent automatiquement doivent être vérifiés régulièrement pour s'assurer que la fonction d'autoremplissage est pleinement opérationnelle et que tout système d'alarme intégré est fonctionnel.
- 3.6 En ce qui concerne la durabilité des réservoirs d'azote liquide, les utilisateurs doivent être en mesure de démontrer la continuité des performances normales d'un réservoir. Un réservoir soigneusement contrôlé qui présente des performances normales devrait pouvoir être utilisé, son âge n'étant qu'un facteur secondaire. Les utilisateurs doivent également être conscients des garanties du fabricant, mais celles-ci n'indiquent pas la durée de vie utile d'un réservoir. L'entretien correct et l'évaluation des performances d'un réservoir sont plus importants que de se fier uniquement à l'âge. Les utilisateurs doivent également être conscients des limitations imposées par les assurances sur l'âge des réservoirs qui peuvent s'appliquer à votre installation.

4.0 Pratiques de conservation

- 4.1 Les spécimens cryoconservés doivent être maintenus sans faille en dessous de -132 °C, le point de transition de l'eau vers la glace. À des températures supérieures, une croissance irréversible des cristaux de glace se produit même dans un matériau aqueux encore congelé (Meryman, 1957).
- 4.2 Les cliniques doivent procéder à une évaluation des risques pour déterminer si un audit régulier des échantillons cryoconservés est approprié. Il existe des risques importants pour l'intégrité du matériel cryoconservé associé à l'audit physique des



CANADIAN FERTILITY AND ANDROLOGY SOCIETY
SOCIÉTÉ CANADIENNE DE FERTILITÉ ET D'ANDROLOGIE

échantillons cryoconservés. Les cliniques peuvent décider de n'auditer leurs réservoirs de conservation que si elles ont la preuve d'une divergence importante entre les registres de la cryobanque et les échantillons entreposés (par exemple, s'il y a plus d'un nombre prédéterminé de divergences dans leurs registres de conservation au cours d'une période donnée).

Références

CAN/CSA-Z900.2.1-17 Tissues for Assisted Reproduction

Meryman HT. Tissue freezing and local cold injury. *Physiol Rev.* 1957 Apr;37(2):233-51.

Mortimer D, Björndahl L, Barratt CLR, Castilla JA, Menkveld R, Kvist U, Alvarez JG, Haugen TB. *A Practical Guide to Basic Laboratory Andrology, 2nd edition.* Cambridge University Press, Cambridge (UK) ; in preparation, expected publication late 2021.