



Marseille
Medical
Genetics

**PROCEDURE
Azote**



MaSC
Marseille Stem Cell

MASC-PR-Azote
Création : /09/2020
Diffusion : 14/11/2019

Version : 1

Page 1 sur 10

Procédure pour le remplissage des containers d'azote



Marseille
Medical
Genetics

**PROCEDURE
Azote**



MaSC
Marseille Stem Cell

MASC-PR-Azote
Création : /09/2020
Diffusion : 14/11/2019

Version : 1

 <p>Marseille Medical Genetics</p>	<p>PROCEDURE Azote</p>  <p>MaSC Marseille Stem Cell</p>	<p>MASC-PR-Azote Création : /09/2020 Diffusion : 14/11/2019</p> <p>Version : 1</p>
---	---	--

Page 3 sur 10

REVISIONS

Date	Nom	Commentaires

	<p>PROCEDURE Azote</p>  <p>MaSC Marseille Stem Cell</p>	<p>MASC-PR-Azote Création : /09/2020 Diffusion : 14/11/2019</p> <p>Version : 1</p>
---	---	--

1. Sommaire

Procédure pour le remplissage des containers d'azote liquide 1

1. Sommaire 4

2. Informations Générales..... 5

3. Procédure..... 5

 a. Appoint hebdomadaire des containers de cellules 5

 b. Remplissage hebdomadaire du container de 5 L..... 6

 c. Approvisionnement du container de remplissage 6

 d. Fiche de risque 8

 <p>Marseille Medical Genetics</p>	<p style="text-align: center;">PROCEDURE Azote</p>  <p>MaSC Marseille Stem Cell</p>	<p>MASC-PR-Azote Création : /09/2020 Diffusion : 14/11/2019</p> <p>Version : 1</p>
---	---	--

2. Informations Générales

Cette procédure vise à décrire les différentes étapes qui doivent être réalisées pour la bonne conservation des cellules dans l'azote liquide.

- Un appoint hebdomadaire doit être réalisé dans les différents containers de stockage de cellules ;
- Un remplissage hebdomadaire du container de 5 L pour l'utilisation d'azote liquide pour des expériences (le temps que le container de remplissage soit à nouveau plein)
- L'approvisionnement hebdomadaire ou bi-hebdomadaire du container de remplissage

3. Procédure

a/ Chaque semaine, le mardi de préférence, l'appoint doit être fait dans les différents containers de stockage des cellules. Le niveau doit être maintenu au minimum au-dessus de la dernière boîte de cellules (il se peut qu'il faille faire 2 remplissages/semaine, selon l'utilisation qui en aura été faite).

Prévenir une personne que l'on se rend à la pièce azote. Il est préférable de laisser la porte ouverte, et d'ouvrir la fenêtre, même s'il y a un extracteur.

Rq : il se peut, que lors du remplissage, l'alarme se déclenche. Cela est dû au fait que le détecteur est placé juste en dessous du container orange. Si la porte et la fenêtre sont ouvertes, il n'y a pas d'inquiétude à avoir. On peut éteindre l'alarme sonore, en appuyant sur la console de l'alarme à l'extérieur. Il faudra quand même vérifier que le niveau d'oxygène est revenu à 21% avant de fermer la pièce.

S'équiper de gants cryogéniques et de lunettes de protection et ou d'une visière de protection.

- Si le flexible d'alimentation n'est pas branché, il faut juste le visser à la main, sur la sortie (1) du container, repérée par un scotch violet.
- Approcher le container de remplissage des autres containers, en enlevant les freins.
- Déplacer le container avec précaution. Remettre les freins avant de procéder au remplissage.
- Placer la tige dans le container à remplir, et ouvrir la vanne tout doucement pour éviter que cela éclabousse. Une fois que l'azote liquide coule, on peut ouvrir un peu plus la vanne, mais il faut rester à proximité des containers pendant le remplissage, afin de pouvoir intervenir rapidement, s'il y a un problème.

 <p>Marseille Medical Genetics</p>	<p style="text-align: center;">PROCEDURE Azote</p>  <p>MaSC Marseille Stem Cell</p>	<p>MASC-PR-Azote Création : /09/2020 Diffusion : 14/11/2019</p> <p>Version : 1</p>
---	---	--

Page 6 sur 10

- Quand le niveau est atteint, fermer la vanne et placer la tige dans le container suivant et ainsi de suite.

NB : il n'est pas nécessaire de forcer pour fermer la vanne : il faut juste procéder comme si on fermait un robinet. Dans le cas contraire, cela endommage le système et l'utilisateur suivant sera obligé de forcer pour l'ouvrir.

Il ne faut pas attendre trop de temps avant de rouvrir la vanne pour le remplissage du container suivant, sinon cela « grippe », et là il faut attendre que la tige revienne à température ambiante avant de rouvrir la vanne.

b/ Ne pas oublier de remplir le petit container de 5L ; faire attention, car l'azote éclabousse très vite. On peut adapter la hauteur de la tige pour limiter ce phénomène.

- A la fin du remplissage de tous les containers, replacer le container de remplissage au fond de la pièce, sans oublier de remettre les freins.
- Remplir le tableau en précisant la date du remplissage, le container rempli et le nom de la personne.

c/ Généralement, le container doit être descendu le mardi soir devant la porte du garage, et remonté le mercredi dans la journée. Il est rempli le mercredi, dans la matinée, par Cryovit (Linde Gas).

- Retirer le flexible de remplissage.
- Pour sortir le container de la pièce, faire attention à la légère pente.
- Pour descendre au garage, utiliser l'ascenseur le plus proche. Placer le container à l'intérieur, en prenant soin de mettre l'affiche « *Interdiction de monter* », bien visible. Envoyer l'ascenseur au -1, et descendre par les escaliers.

NB : Il est interdit de monter dans l'ascenseur avec le container pour des raisons de sécurité.

- Récupérer le container et faire très attention en le manoeuvrant, à cause des pentes et des portes présentes.
- Procéder de même pour le remonter.

Le remplissage des containers de cellules est fait par les « équipes » :

- Le container commun et celui de la plateforme Masc est fait par Claire El Yazidi et/ou par le personnel de la plateforme Masc

 Marseille Medical Genetics	PROCEDURE Azote  MaSC Marseille Stem Cell	MASC-PR-Azote Création : /09/2020 Diffusion : 14/11/2019 Version : 1
--	--	---

Page 7 sur 10

- Les 2 containers de T. Brue sont remplis par Christophe Lisbonis et Mathias Moreno, qui sont aussi chargés de descendre et de remonter le container de remplissage
- Le container de Michel Pucéat est rempli par lui-même.
- Le petit container de 5L pour les manip, est rempli par le personnel de la plateforme Masc, si la demande leur en est faite, ou par les utilisateurs eux-mêmes, après avoir suivi la procédure avec Claire El Yazidi.

Une permanence est assurée pendant les vacances.

Pour toute information complémentaire, ou pour signaler un problème, veuillez-vous adresser à Claire El Yazidi (Plateforme Masc, claire.elyazidi@univ-amu.fr) ou en son absence au personnel de la plateforme.

 <p>Marseille Medical Genetics</p>	<p>PROCEDURE Azote</p>  <p>MaSC Marseille Stem Cell</p>	<p>MASC-PR-Azote Création : /09/2020 Diffusion : 14/11/2019</p> <p>Version : 1</p>
---	---	--

Page **8** sur **10**

d/ Fiche de risque :



Fiche technique Santé & sécurité

Règles de stockage et de manipulation de l'azote liquide

MANIPULATIONS ET DANGERS

→ **L'azote liquide** est un liquide incolore, inodore et inerte bouillant à $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. L'évaporation de 1 litre d'azote liquide produit 696 litres d'azote gazeux. À basse température, sa densité est supérieure à celle de l'air (accumulation au sol en milieu confiné).

→ **Les dangers de l'azote liquide sont de nature physico-chimique.**

1) Gelures graves
En cas de contact prolongé (un contact de courte durée crée une caléfaction protégeant momentanément la peau). Le contact avec une pièce refroidie entraîne l'adhésion et peut causer une **gelure profonde** et l'arrachement de la peau.

2) Asphyxie par anoxie
L'évaporation provoque une baisse de la teneur en dioxygène de l'air respiré.

PRÉVENTION

→ **Ne jamais manipuler l'azote liquide sans protection :**

- **des mains : utiliser des cryogants**



- **des yeux : porter un écran facial, protégeant aussi le visage en cas d'éclatement de cryotubes.**



→ **N'utiliser que des matériaux et récipients cryogéniques** résistants à $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Distinguer les tubes prévus pour immersion (pas de vis externe) de ceux destinés au stockage en phase vapeur (pas de vis interne).

→ Toutes les **canalisations** contenant l'azote liquide doivent être **calorifugées**.

→ Les transvasements et remplissages de récipients doivent être réalisés à l'aide de **dispositifs de soutirage**.

.../...



Bureau des conditions de travail
Tél. 01 44 23 67 34

Inserm

Édition octobre 2002



Règles de stockage et de manipulation de l'azote liquide

MANIPULATIONS ET DANGERS

→ La concentration du dioxygène dans l'air du local ne doit jamais tomber en dessous de 18 %.

→ L'accumulation d'azote est évitée par une ventilation générale adaptée et efficace comprenant :
- une ventilation permanente pour les locaux de stockage des récipients cryogéniques et les cryo-congérateurs et,
- une ventilation auxiliaire mise en route lors des opérations de transvasement et de congélation par immersion.



→ Il est vivement recommandé d'installer dans le local un oxymètre de contrôle relié à une alarme sonore extérieure se déclenchant dès que la concentration du dioxygène de l'air atteint 18 %.



→ Un oculus dans la porte du local permet une surveillance de l'extérieur.

→ L'azote liquide ne doit jamais être stocké en chambre froide, l'économie réalisée est illusoire et le risque d'anoxie bien réel !

→ L'azote liquide ne doit jamais être stocké en récipient étanche.

→ La formation d'un bouchon de glace sur l'orifice des containers doit être évité.

→ L'azote liquide ne doit pas être transporté dans un véhicule non adapté.

CONDUITES À TENIR

→ En cas de projection sur la peau : réchauffer progressivement les zones atteintes sous un courant d'eau tiède (40 °C au maximum)

→ En cas de projection dans l'œil : Laver immédiatement sous un courant d'eau tiède (40 °C au maximum) pendant 15 minutes au moins. Consulter un ophtalmologiste.

→ En cas d'asphyxie :
- Amener immédiatement la victime en atmosphère normale en se protégeant soi-même avec un appareil respiratoire.



- Alerter les pompiers.
- Alerter le secouriste de l'unité.
- Selon les cas, administrer de l'oxygène au respirateur ou commencer la respiration artificielle.

→ Noter tout incident dans le registre Hygiène et Sécurité de l'unité.

→ Prévenir sans délai l'ingénieur Hygiène et Sécurité et le médecin de prévention du secteur.