

Congélateurs à ultra-basse température, Transition de -80°C à -70°C : Gain, risques, sécurité des échantillons

Mivegec 1point5

Introduction

La consommation des congélateurs à ultra-basse température (ULT) représente un coût financier et environnemental élevé. En effet, un appareil moyen consomme l'équivalent d'un foyer de 4 personnes, soit environ 20 kWh/jour (Legett 2014), ce qui coûte 1000 euros/an HT en France sur la base d'un tarif professionnel de 0,1464 euro/kWh. De plus, on sait que la consommation réelle est supérieure à celle communiquée par les fabricants (Legett 2014) et qu'elle augmente de façon très significative après quelques années de fonctionnement (Gumapas 2013).

Jusque dans les années 80, les appareils ULT étaient réglés sur une consigne de -60°C. La consigne a changé, en raison des progrès réalisés sur les performances techniques des compresseurs, sans preuve de l'utilité de descendre en température en ce qui concerne la qualité de la conservation des échantillons. L'impact environnemental a donc considérablement augmenté sans bénéfice démontré.

Aujourd'hui, et depuis plus de dix ans, de nombreux laboratoires ont décidé de régler la consigne de leurs congélateurs ULT à -70°C au lieu de -80°C (International Laboratory Freezer Challenge).

L'unité possède 10 appareils selon le portail des ressources, mais cette base de données n'est pas tout à fait à jour et plusieurs appareils ne sont pas référencés (dont 4 à Païre). Cela représente une consommation annuelle théorique de 102,3 MWh, soit 5,8 t CO₂e (selon l'ADEME, 1 kWh a un impact carbone de 0,0571 kg CO₂e en France), et probablement largement davantage en pratique.

Dans le rapport ci-dessous, nous avons réalisé une synthèse non exhaustive des données disponibles sur le sujet, en terme de bénéfice environnemental attendu après la transition de -80°C à -70°C, et en terme de qualité de conservation des échantillons. Enfin, nous avons recueilli les recommandations de ces différents laboratoires en matière de bonne gestion des appareils de froid.

1- Consommation d'énergie

Le gain espéré en terme de consommation d'énergie suite à la transition de -80°C à -70°C est très conséquent. En effet, le rendement des compresseurs diminue avec la température et les derniers degrés sont plus difficiles à atteindre. Ainsi, les laboratoires ayant effectué des comparaisons entre ces deux consignes rapportent des baisses de consommation de 15 à 50% (Farley 2015, Beresini 2016, Report of the University of Copenhagen 2018, Faugeroux 2016). Certains laboratoires sont allés plus loin en repassant à la consigne initiale de -60°C ; ces

laboratoires ont observé une baisse de consommation de 42 à 48% par rapport une consigne à -80°C (Faugeroux 2016, Farley 2015).

L'ensemble de ces différentes études recouvre une diversité d'appareils, volumes, modèles et fabricants disponibles sur le marché.

En 2022, nous avons réalisé une étude de consommation sur le congélateur de secours du Vectopôle. Il s'agit d'un Haier DW-96L578S, d'une capacité de 400 boîtes, avec 4 portes intérieures. L'appareil ne contenait pas d'échantillons et des boîtes de polystyrène ont été placées à l'intérieur pour apporter de l'inertie aux variations de température. Sa consigne a été réglée à -70°C. Après stabilisation (minimum 24h), des mesures de consommation ont été réalisées avec un wattmètre de façon quotidienne, sur 7 jours, avec une ouverture de porte quotidienne pendant 1 minute pour simuler une utilisation de l'appareil. Puis la consigne a été passée à -80°C et des mesures similaires ont été réalisées. La figure 1 montre la consommation mesurée dans ces 2 conditions.

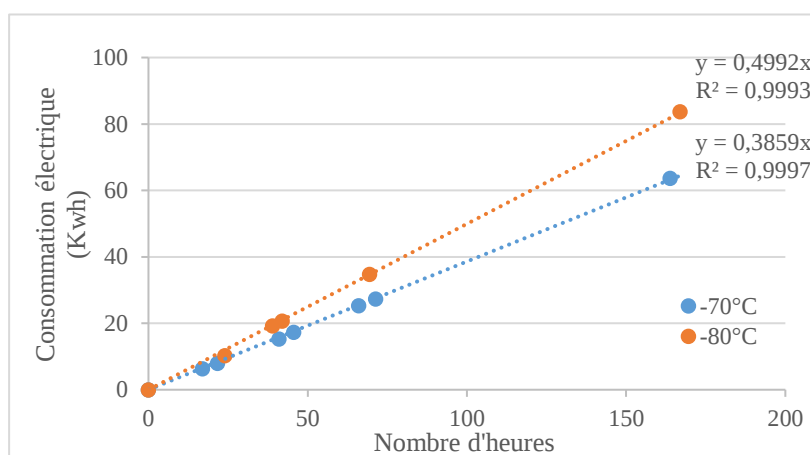


Figure 1. Consommation électrique d'un congélateur ULT Freezer (DW-86L578S) Haier® à -70°C et -80°C. Mesures réalisées à Mivegec.

Sur cet exemple, la consommation annuelle attendue est donc de 4376 kWh avec une consigne à -80°C, et 3384 kWh à -70°C, soit une surconsommation de 29,4% à -80°C par rapport à -70°C, comparable aux données rapportées. L'économie espérée serait de 993 kWh chaque année. A noter que cet appareil est récent et entièrement déglacé (puisque'il a été redémarré juste avant cette expérience), ce qui n'est pas le cas des autres appareils de Mivegec ; sa consommation annuelle reste très inférieure à la consommation moyenne mesurée par Legett et al (2014). Sur la base d'une consommation moyenne de 20 kWh par jour, l'économie attendue suite à la transition vers -70°C serait de 1,3 t CO₂e sur les 14 appareils de Mivegec.

Par ailleurs, comme détaillé ci-dessous, des études se sont intéressées aux mesures de température comparatives entre des appareils réglés sur -70°C et -80°C et réalisées dans différentes conditions normales ou anormales de fonctionnement.

Effet des ouvertures de portes à -70°C/-80°C

Des tests d'ouverture de porte répétées de 15 à 60 secondes suivis de mesures de température à différents endroits des congélateurs ont montré que la variation de température moyenne était de

3°C sur l'étagère supérieure à -70°C contre 8,1°C à -80°C. La température la plus haute relevée était de -62°C pour une consigne de -70°C et -71,5°C pour une consigne de -80°C (Farley 2015). Ces données rassurent sur l'impact des ouvertures de portes après transition à -70°C.

Effet d'une coupure d'électricité

L'impact d'une coupure d'électricité, comme celui des autres facteurs du reste, doit être jugé en fonction de la température critique au-delà de laquelle on souhaite que nos échantillons ne soient pas exposés. D'après Farley 2015, après une coupure, le temps mis pour atteindre -50°C est plus court d'1h30 pour un congélateur -70°C par rapport à un -80°C, sur l'étagère la plus basse (soit celle qui se réchauffe le plus vite dans leur étude). La différence de délai reste la même pour atteindre -20°C (Table 1).

Table 1. Temps moyen mis par un congélateur pour atteindre -50°C puis -20°C après une coupure d'électricité, avec une consigne initiale de -80°C ou -70°C (d'après Farley 2015).

	Délai avant d'atteindre -50°C	Délai avant d'atteindre -20°C
Consigne -80°C	4h50	16h25
Consigne -70°C	3h25	14h50

D'après une autre étude (Faugeroux 2016), réalisée sur 3 modèles de congélateurs différents, la remontée à -50°C après une coupure prend 9h environ avec une consigne initiale de -80°C, 7h avec une consigne initiale de -70°C.

Concernant les appareils de Mivegec, à ce jour nous ne possédons les données du fabricant que pour le Cryocube F570h, qui annonce, en cas de coupure, un délai de 4h pour monter de -80°C à -70°C, puis 8h supplémentaires pour atteindre -50°C (Eppendorf ULT Freezer performance data sheet 2015).

L'inertie varie probablement énormément entre appareils et pour un même appareil, en fonction de la qualité de l'isolant, mais aussi de l'âge de l'appareil, de l'entretien des joints, du niveau de remplissage du congélateur, de la température ambiante de la pièce et de son évolution après la coupure d'électricité (donc après l'arrêt de la climatisation). Les données ci-dessus rassurent cependant sur la modification du temps de réaction dont on dispose en cas de panne ou du délai d'attente possible après une coupure : quel que soit le modèle, le délai laissé semble peu altéré avec une consigne à -70°C.

Racks et circulation d'air

Le fait d'utiliser des racks permet de protéger les échantillons en limitant les variations de température ; en cas de coupure d'électricité, ils permettent de gagner 1 à 4 h sur la remontée en température à l'intérieur des échantillons, par rapport à la température mesurée sur les étagères (Farley 2015).

Intuitivement, on pourrait penser que plus le congélateur est rempli, plus l'inertie sur la température sera importante en cas de coupure d'électricité ou d'ouverture de porte. Cependant, plusieurs études montrent qu'il est intéressant de laisser un peu d'espace vide entre les racks de façon à permettre à l'air de circuler et maintenir une meilleure homogénéité de la température à

différents endroits du congélateur, et une température plus basse globalement (Moore 2004, Faugeroux 2016).

La température de consigne est donc loin d'être le seul critère pour garantir une température intérieure adéquate et une bonne conservation des échantillons.

2- Intégrité des échantillons

Acides nucléiques

L'ADN est une molécule relativement stable à condition d'avoir été extraite dans des conditions propres. Miller et al (2008) illustrent l'exploitabilité de marqueurs nucléiques à partir d'échantillons de plasma stockés à -20°C et -70°C pendant vingt ans, sans comparaison systématique. La conservation d'ADN à -80°C ne présente pas d'avantage par rapport à -20°C, comme illustré par le poster de Wu et al en 2009 qui montre une absence de différence quantitative au bout d'un an entre -20°C et -80°C pour de l'ADN extrait à partir de sang total. A 4°C les problèmes survenant sont des problèmes d'évaporation plutôt que d'intégrité des molécules. *A fortiori*, la conservation à -70°C ne doit pas poser de problème plus qu'à -20°C.

Dans cette même étude, les auteurs ne notent pas de différence de qualité des ARN entre -20°C et -80°C, pour une durée d'un mois (Wu 2009). Roos-van Groningen (2004) rapporte une qualité satisfaisante de l'ARN dans du RNA later pendant 3 mois à 4°C, et une qualité similaire à celle initiale après 56 jours à -70°C pour de l'ARN extrait avec du Trizol à partir de biopsie rénale et stocké en PBS. Des ARN extraits à partir de tissus (foie, rein, poumon, rate, intestin) FFPE conservés pendant 9 ans ne présentent pas de différence ni au niveau du RIN ni en RT qPCR entre -20°C et -80°C (Gorelz 2018).

Protéines, enzymes

La mesure de l'activité l'enzyme sérique paraoxonase-1 montre une perte de 6% au-delà de 6 mois quelles que soient les conditions de stockage, et aucune différence entre les sérums stockés à -70°C et ceux stockés à -190°C pendant un an (Beekhof 2012). Concernant le dosage de HDL cholestérol, il ne présente pas de différence entre les sérums conservés à -70°C ou -196°C, et une perte minime à -20°C au-delà de 6 mois.

Champignons microscopiques

Plus de 6500 souches congelées à -70°C ou en azote liquide n'ont pas présenté de différence de survie (Espinel-Ingroff 2004).

Mes échantillons sont-ils différents de ceux-ci-dessus ?

Les exemples ci-dessus montrent que bien souvent nous ne connaissons pas vraiment les besoins en terme de stockage de nos échantillons, et que nous stockons plus froid que nécessaire pour nous rassurer sans même savoir s'il y a une différence à attendre entre -20°C et -80°C. Nous voulons également être rassurés sur de longues périodes de stockage alors que dans la majorité des projets, les échantillons devraient probablement être exploités rapidement après leur production, quelle que soit la température de stockage.

Certaines données semblent peu abondantes car peu de laboratoires ont réalisé des études systématiques sur des longues durées dans le but de comparer le stockage à -70°C et -80°C, pour différentes raisons : l'immobilisation de matériel à deux températures n'est pas toujours possible

sur de longues périodes ; les résultats sont très dépendants des appareils et conditions spécifiques à chaque laboratoire ; la valorisation de ce type de travail se faisant plutôt sous forme de rapports que d'articles, l'enjeu et l'intérêt personnel à retirer de ce type de travail ne sont peut-être pas suffisants pour susciter l'effort et la mobilisation de ressources sur plusieurs années. Il semble toutefois qu'une étude soit en cours sur un minimum de cinq années à l'Université d'Edinburgh pour déterminer la température idéale de stockage nécessaire pour différents types d'échantillons (de -60°C à -80°C). A venir peut-être...

Des universités (UC Boulder, UC Davis) ont fait un choix différent, celui de partager leur expérience en rendant publics les témoignages des équipes ayant opéré la transition de -80°C à -70°C, sous forme de liste précisant le nom des chercheurs et pour chacun d'eux la nature des échantillons possédés (ADN, ARN, anticorps, peptides, bactéries, sérums, drogues, protéines, lysats, stocks de bactéries et levures...) et leur recul en terme de durée de pratique à -70°C (Google Sheet UC). Les équipes ayant le plus de recul ont effectué leur transition en 1995.

3- Laboratoires ayant effectué la transition -70°C

- University of Colorado Boulder, UC Davis
- Stanford university
- University of san Francisco
- Harvard
- University of Michigan
- UC Davis
- Darmouth
- UC Santa Barbara
- UC Boulder
- Astra Zeneca
- Charles River
- Imperial college London
- Et à Montpellier : le Cefe

4- Conclusion et recommandations

Parmi les laboratoires remettant en question leurs pratiques de stockage -80°C, peu semblent faire le choix de revenir à la température initialement utilisée de -60°C plutôt que -70°C, et il semble que cette nouvelle consigne soit choisie de façon arbitraire ou du moins non argumentée. Peut-être est-ce en raison du délai de réaction supplémentaire que la consigne -70°C permet en cas de panne ou de coupure d'électricité.

Compte tenu des témoignages et données présentés ci-dessus, et de la liste de laboratoires ayant déjà effectué la transition à -70°C sans rapporter de problème scientifique lié à l'altération de la qualité d'échantillons de différentes natures (avec autour de vingt ans de recul pour certains), il nous semble que cette transition permettrait sans risque de réduire significativement l'impact environnemental de la conservation de nos échantillons. Outre l'économie attendue (en ces temps où la sobriété énergétique est recommandée pour d'autres raisons), cela devrait apporter également

d'autres avantages, comme l'amélioration de la durée de vie des appareils, la réduction des coûts de maintenance. A noter, la transition de -80°C à -70°C fait partie des critères, parmi d'autres, pour participer au Freezer challenge (International Laboratory Freezer Challenge).

Concernant la bonne conservation des échantillons, la température nous paraît moins importante que d'autres facteurs tels que la qualité initiale de la préparation, la qualité des inventaires réalisés, le tri régulier des échantillons, l'exploitation rapide des échantillons après génération (dans la mesure où peu de projets de l'unité ont vocation à produire des banques biologiques), la bonne gestion des appareils de secours.

Nous terminons avec la liste des points importants liés à une bonne gestion des congélateurs, qui nous ont interpellés à la lecture des données publiées et qu'il nous semble intéressant de garder en mémoire :

- **Utiliser des racks** : une meilleure organisation permet de réduire le temps passé à chercher et donc le temps d'ouverture des portes ; les racks permettent une meilleure préservation température notamment en cas d'ouverture de porte ou de coupure électrique.
- **Ne pas saturer** les congélateurs préserve l'homogénéité de la température.
- **Trier régulièrement** et réaliser / mettre à jour des inventaires permet une économie de place, réduit le temps passé à chercher, permet de conserver dans de meilleures conditions les échantillons qui ont vraiment besoin d'être gardés (Doyle 2013).
- Inciter à définir une **date limite d'utilisation** à apposer sur chaque boîte.
- **Demander l'autorisation de la Direction de l'Unité aux responsables des congélateurs ou à leur gestionnaire de jeter** toute boîte ne portant pas nom + date + équipe, après consultation des utilisateurs.
- **Dégeler les joints de portes et dépoussiérer régulièrement les filtres** (Gumapas 2013; Hopkins et Harrison 2014).
- **Ne plus acheter de nouvel appareil** sauf remplacement de matériel hors service ou obsolète.
- **Choisir des appareils performants** plutôt que bon marché (gain sur la consommation électrique à long terme) (Legett 2014).
- **Régler les congélateurs de secours à -60°C** quand ils sont vides (Hopkins et Harrison 2014). En cas de transfert de matériel à partir d'un congélateur en panne, la température intérieure monte très au-dessus de toutes façons.

5- Références

Beekhof PK, Gorshunskaya M, and Jansen E HLM. Long term stability of paraoxonase-1 and high-density lipoprotein in human serum. *Lipids in Health and Disease*, 2012, **11**:53

Beresini J, Delaney P, and Zeng K. Ultra-Low Temperature freezers : opening the door to energy savings in laboratories. The Center for Energy Efficient Laboratories (CEEL), Pacific Gas and Electric Company, 2016:
<https://www.etcc-ca.com/reports/ultra-low-temperature-freezers-opening-door-energy-savings-laboratories>

Doyle A, Gumapas LAM, and Mathew P. ULT Freezer Management User Guide: Everything you wanted to know about running an Ultra Low Temperature (ULT) freezer *efficiently* but were afraid to ask... Store Smart member Team, University of California Davis, 2013:
https://labresource.ucsf.edu/sites/labresource.ucsf.edu/files/ULF%20Freezer%20User%20Guide%203-8-13%20-%20ulf_freezer_user_guide.pdf.pdf

Eppendorf ULT-Freezer Performance Data Sheet. Eppendorf. 2015

Espinel-Ingroff A, Montero D, and Martin-Mazuelos E. Long-term preservation of fungal isolates in commercially prepared cryogenic microbank vials. *Journal of Clinical Microbiology*, 2004, 1257-1259

Farley M, McTeir B, Arnott A, and Evans A. Efficient ULT freezer storage: an investigation of ULT freezer energy and temperature dynamics. University of Edinburgh, 2015:

https://www.ed.ac.uk/sites/default/files/atoms/files/efficient_ult_freezer_storage.pdf

Faugeroux D. Ultra-Low Temperature freezer performance and energy use tests. Office of Sustainability, University of California, 2016:

https://www.mygreenlab.org/uploads/2/1/9/4/21945752/cs_-_sustainability_report_ucal_riverside_-_chill_up_info.pdf

Google sheet UC. Biological Samples Stored Long Term at -70°C or Warmer. University of California Boulder, University of California Davis :

<https://docs.google.com/spreadsheets/d/13UvBeoXAhwSHshSYoUDHwcxWiW7qYLnUb-eLwxJbCYs/pubhtml>

Gorelz D, Viertler C, Pabst D, Dettmann N, and Zatloukal K. Impact of storage conditions on the quality of nucleic acids in paraffin embedded tissues. *PlosOne*, 2018, **13**(9):1-16

Gumapas LAM and Simons G. Factors affecting the performance, energy consumption, and carbon footprint for Ultra Low Temperature freezers: case study at the National Institutes of Health. *World Review of Science, Technology and Sustainable Development*, 2013, **10**(1/2/3):129–141

Hopkins C and Bowers H. Executive report detailing the findings of the Ultra Low Temperature (ULT) freezer survey of the clinical schools. Living Laboratory for Sustainability, 2014:

https://www.environment.admin.cam.ac.uk/files/executive_report_on_ult_freezer_survey.pdf

International Laboratory Freezer Challenge. <https://www.freezerchallenge.org/>

Legett R. Field demonstration of high-efficiency Ultra-Low-Temperature laboratory freezers. Better Building Alliance, Building Technologies Office, Office of Energy efficiency and renewable energy, US Department of Energy, 2014:

https://www.energy.gov/sites/default/files/2014/11/f19/ult_demo_report.pdf

Miller L, Anekella B, Manak M, and Garrett P. Twenty Year Stability Study of HIV, HBV, Antibodies, Antigen and Nucleic Acids in Plasma. Poster given at annual ISBER conference, 2008:

<http://www.seracare.com/Portals/0/Posters/AABB%20POSTER.pdf>

Moore T, Rondo M, Shoemaker J, Brunson L, Gratiano T, and Shea K. Minimizing temperature variations in upright mechanical freezers. Poster given at Boston Biomedica Inc conference, 2004:

https://www.mygreenlab.org/uploads/2/1/9/4/21945752/cs_-_upright_ult_t_variability_bbi_poster.pdf

Report of the University of Copenhagen. Plug load test for ULT freezers: 20-22% lower energy consumption at -70°C compared to -80°C. University of Copenhagen, 2018:

https://www.colorado.edu/center/sites/default/files/attached-files/freezer_test_-70_ucph2.pdf

Roos-van Groningen MC, Eikmans M, Baelde HJ, de Heer E, and Bruijn JA. Improvement of extraction and processing of RNA from renal biopsies. *Kidney International*, 2006, **65**:97-10

Wu J, Cunanan J, Kim L, Kulatunga T, Huang C, and Anekella B. Stability of Genomic DNA at Various Storage Conditions. Poster given at annual ISBER conference, 2009:

http://www.seracare.com/Portals/0/Posters/Stability%20of%20Genomic%20DNA%20at%20Various%20Storage%20Conditions%20ISBER2009_Bharathi.pdf