

Université Pierre et Marie Curie
Sorbonne Université

MEMOIRE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME UNIVERSITAIRE

« ASSURANCE QUALITÉ AU LABORATOIRE DE BIOLOGIE MÉDICALE »

**MISE EN PLACE DU SUIVI MÉTROLOGIQUE
DES PIPETTES (IVAP) AU LABORATOIRE**

LETERRIER Jean-Christian

2013-2014

Note au lecteur

« Les mémoires des stagiaires du Diplôme universitaire »

« Assurance Qualité au laboratoire de biologie médicale » sont des travaux réalisés pendant l'année de formation.

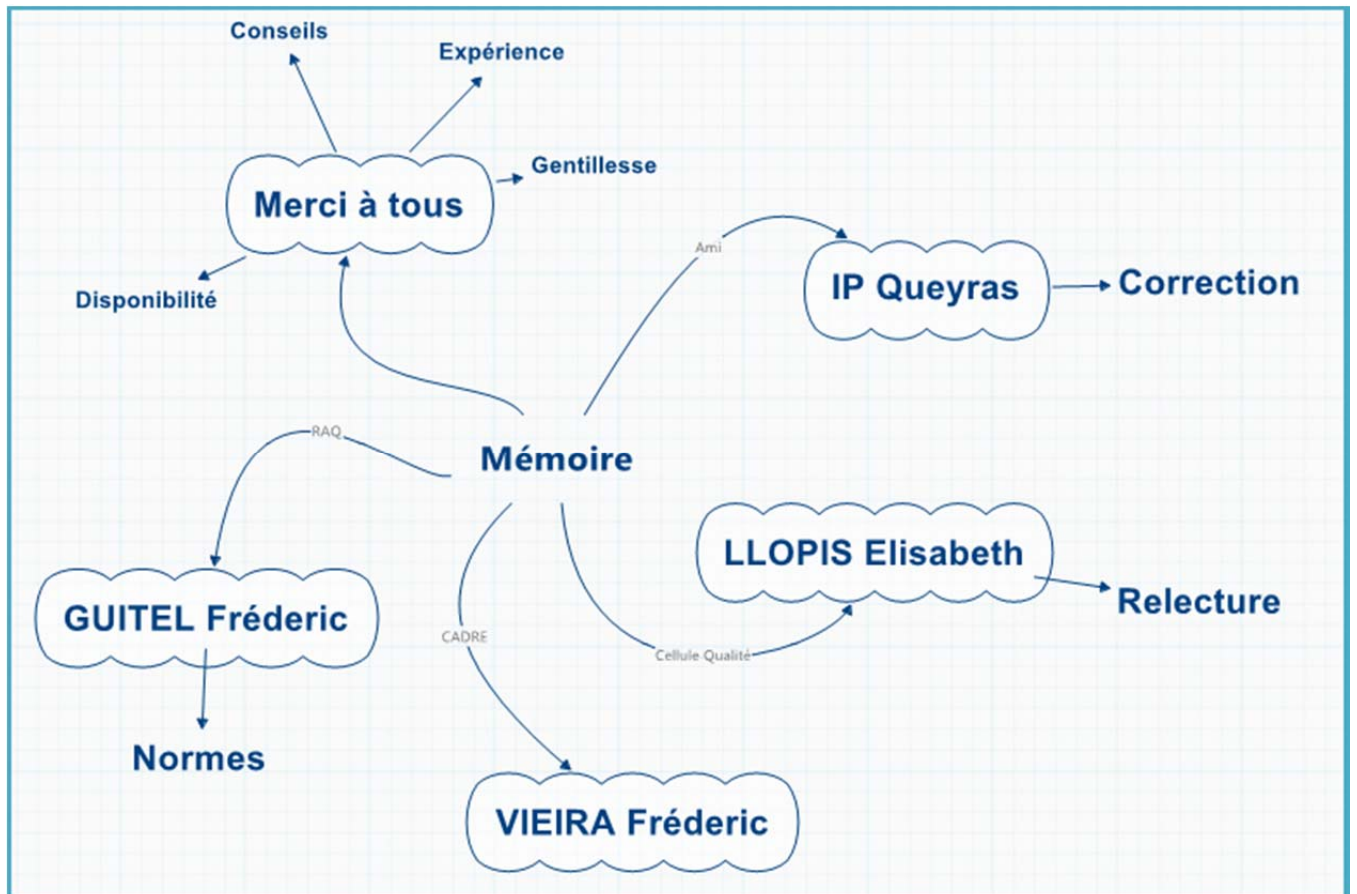
Les opinions exprimées n'engagent que leurs auteurs

Les travaux ne peuvent faire l'objet d'une publication en tout, ou partie, sans l'accord de l'auteur et du responsable du DU concerné ».

Jean-Christian LETERRIER
Technicien de Laboratoire

Hôpitaux Universitaires Paris Centre
Pôle de Biologie Pharmacie Pathologie
Service d' hormonologie
27 rue du Faubourg Saint-Jacques 75014 Paris

MIND MAP DES REMERCIEMENTS



SOMMAIRE

Glossaire-abréviation

I.	Introduction	7
A.	Intérêt et objectif	7
B.	Présentation et Démarche qualité du pôle	8
C.	Présentation et Démarche qualité du service	10
D.	Maîtrise du processus de la métrologie des équipements.....	11
II.	Méthodologie	12
A.	Les outils de la démarche qualité	12
B.	Analyse par le diagramme d' Ishikawa : figure 2	15
1.	Matériels	15
2.	Méthodes	16
3.	Main d'œuvre	17
4.	Matières	18
5.	Milieu.....	19
III.	Résultats.....	19
A.	Rationalisation du parc de pipettes	19
B.	Résultats.....	21
1.	Matériels	21
2.	Méthode	22
3.	Main d'œuvre	25
4.	Matières	27
5.	Milieu.....	28
IV.	Conclusion et perspectives.....	29
V.	Bibliographie	31
VI.	ANNEXES	32

Glossaire

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants sont issus du Vocabulaire international des termes fondamentaux et généraux de métrologie (VIM) dont la référence est NF X07-001 appelé VIM : JCGM 200:2008

<http://www.bipm.org/en/publications/guides/vim.html> : document téléchargeable

gratuitement

Définitions

Mesurage : processus consistant à obtenir expérimentalement une ou plusieurs valeurs que l'on peut raisonnablement attribuer à une grandeur

Métrologie : science des mesurages et ses applications

Mesurande : grandeur que l'on veut mesurer

Résultat de mesure : ensemble de valeurs attribuées à un mesurande, complété par toute autre information pertinente disponible

Valeur mesurée : valeur d'une grandeur représentant un résultat de mesure

Valeur vraie : valeur vraie d'une grandeur, f valeur d'une grandeur compatible avec la définition de la grandeur

Exactitude de mesure : étroitesse de l'accord entre une valeur mesurée et une valeur vraie d'un mesurande

Justesse de mesure : étroitesse de l'accord entre la moyenne d'un nombre infini de valeurs mesurées répétées et une valeur de référence

Fidélité de mesure : étroitesse de l'accord entre les indications ou les valeurs mesurées obtenues par des mesurages répétés du même objet ou d'objets similaires dans des conditions spécifiées

Erreur de mesure : différence entre la valeur mesurée d'une grandeur et une valeur de référence

Erreur systématique : composante de l'erreur de mesure qui, dans des mesurages répétés, demeure constante ou varie de façon prévisible

Biais de mesure : estimation d'une erreur systématique

Erreur aléatoire : composante de l'erreur de mesure qui, dans des mesurages répétés, varie de façon imprévisible

Étalonnage : opération qui, dans des conditions spécifiées, établit en une première étape une relation entre les valeurs et les incertitudes de mesure associées qui sont fournies par des étalons et les indications correspondantes avec les incertitudes associées, puis utilise en une seconde étape cette information pour établir une relation permettant d'obtenir un résultat de mesure à partir d'une indication

Traçabilité métrologique : propriété d'un résultat de mesure selon laquelle ce résultat peut être relié à une référence par l'intermédiaire d'une chaîne ininterrompue et documentée d'étalonnages dont chacun contribue à l'incertitude de mesure

Vérification : fourniture de preuves tangibles qu'une entité donnée satisfait à des exigences spécifiées

EXEMPLE Confirmation que des propriétés relatives aux performances ou des exigences légales sont satisfaites par un système de mesure.

Validation : vérification, où les exigences spécifiées sont adéquates pour un usage déterminé

Correction : compensation d'un effet systématique connu

Instrument de mesure : dispositif utilisé pour faire des mesurages, seul ou associé à un ou plusieurs dispositifs annexes

Système de mesure : ensemble d'un ou plusieurs instruments de mesure et souvent d'autres dispositifs, comprenant si nécessaire réactifs et alimentations, assemblés et adaptés pour fournir des informations destinées à obtenir des valeurs mesurées dans des intervalles spécifiés pour des grandeurs de natures spécifiées

Accréditation : reconnaissance formelle de la compétence d'un laboratoire, d'un organisme d'inspection ou d'un organisme certificateur à réaliser des activités spécifiques bien définies et examinées lors de l'audit d'accréditation. L'accréditation vise à garantir aux clients des organismes accrédités que les prestations réalisées par ceux-ci, sous couvert de leur accréditation, sont dignes de confiance

Equipements critiques : équipement ayant une influence significative sur la qualité, la fiabilité et l'exactitude du résultat final

ABREVIATIONS

AP-HP : Assistance Publique- Hôpitaux de Paris

COFRAC : **CO**mité **FR**ançais d'**AC**créditation

EMT: Ecart Maximum Toléré

IVAP : Instrument Volumétrique A Piston

LBM : Laboratoire de Biologie Médicale

MO : Mode Opérateur

Pôle BMP: pôle de Biologie Médicale et Pathologie

PM : Personnel Médical

PNM : Personnel Non Médical

PRO : Procédure

RAQ : Responsable Assurance Qualité

SGL : Système de Gestion de Laboratoire

I. Introduction

A. Intérêt et objectif

Ce mémoire traite de la métrologie des volumes et plus particulièrement des pipettes ou IVAP. Au sein du laboratoire d'hormonologie, deux techniciens avaient déjà travaillé sur ce thème. J'avais moi-même eu quelques formations sur ce sujet. Nous effectuons depuis quelques mois des contrôles sur les pipettes sans véritable organisation et surtout sans formalisation écrite. D'ailleurs, à la suite d'un audit interne, un écart a été constaté. En effet, selon le critère 5.3 de la norme ISO 15189, les auditeurs ont mentionné que «*la métrologie des micropipettes est réalisée en interne, mais n'est pas formalisée. La fonction métrologie n'est pas maîtrisée*».

Extrait du rapport d'audit :

n° fiche	Critère/référentiel (n° référence norme)	Constat (description de l'écart)	Critique O/N	Causes analyse	Action d'amélioration envisagée	Date de mise en œuvre et suivi
7	5.3	-La métrologie des micropipettes est réalisée en interne mais n'est pas formalisée -La fonction métrologie n'est pas maîtrisée -Le suivi des matériels, des réactifs et des consommables est réalisé mais non formalisé	N	En début de démarche qualité, beaucoup de procédures, modes opératoires ne sont en effet pas encore formalisés	Mise en place d'un groupe de travail « métrologie/Instruments » Formalisation pour les micropipettes et température pilotée par JC. LETERRIER Mise en place de fiches signalétiques, modes opératoires et procédures	6 mois

Le but de ce mémoire est d'appréhender les causes de cet écart afin de les analyser et d'apporter des solutions réalistes et réalisables.

La structuration de cette activité est donc apparue nécessaire, en s'articulant autour des objectifs suivants :

1. La création d'un groupe de techniciens responsable métrologie
2. L'utilisation des outils qualité
3. La formalisation de tout le processus métrologie (mode opératoire, procédure et signalétiques)
4. Le suivi et le contrôle métrologique pour en assurer la maîtrise
5. Un volet formation et habilitation à réaliser.

L'ensemble doit permettre l'amélioration continue de notre processus métrologique.

Considéré au départ comme une pure exigence de la norme, l'audit a déclenché une réelle envie de faire, enrichie par les apports théoriques dispensés lors du DU. Je devrais pouvoir aborder avec rigueur et méthode, la mise en place de cette nouvelle organisation.

La formation et l'habilitation du personnel permettront de renforcer la cohésion de l'équipe et l'harmonisation des pratiques dans le cadre d'un projet commun.

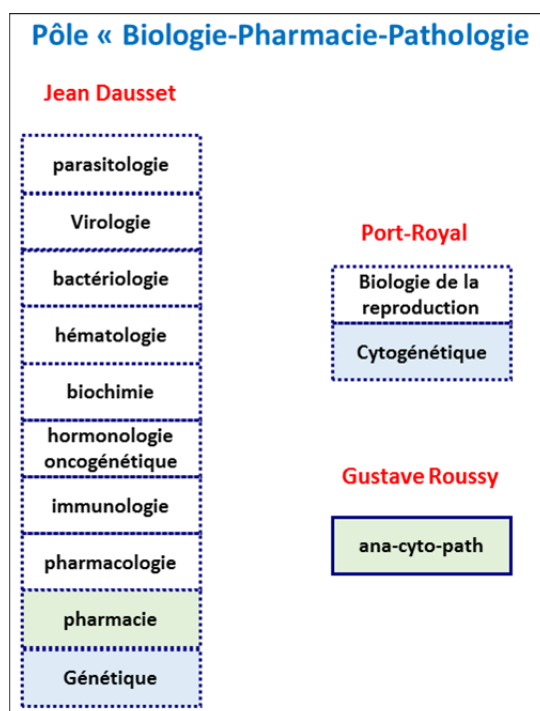
Cette méthodologie prendra forme à l'aide de l'outil qualité KALILAB mis en place fin 2013. L'avantage sera multiple, répondre à l'écart et permettre au laboratoire d'organiser et de suivre les différents thèmes de la qualité comme la gestion documentaire, le suivi et la planification des maintenances, la programmation des tâches, la gestion des non-conformités et les dysfonctionnements recensés ; des plans d'amélioration pourront être mis en place.

B. Présentation et Démarche qualité du pôle

Le Groupe des Hôpitaux Universitaires Paris Centre (GHUPC) est constitué de

- Broca-La Rochefoucauld- la Collégiale
- Cochin
- L'Hôtel Dieu.

Le pôle de biologie pharmacie et pathologie du groupe situé à Cochin est composé de 15 laboratoires répartis sur 3 sites et le bâtiment Jean DAUSSET en regroupe le plus grand nombre.



Il est composé de :

- **Personnel Médical** : 180 ETP
- **Personnel non médical** :
 - 452,16 ETP
 - Dont **Techniciens** : 223,6 ETP

L'activité en quelques chiffres :

- Actes
 - **3.652.285**
- B + BHN
 - **171.622.810**

Au vu de cette structure, il a été important de mettre en place une organisation faisant intervenir différents acteurs, des différentes professions afin d'établir une politique qualité au sein du pôle.

L'Organisation de la qualité au sein du LBM (cf. annexe I)

Au niveau du LBM d' :

- Un responsable de l'Assurance Qualité : Frédéric GUITEL
- Un responsable Biologiste de la Qualité : Catherine LACOMBE
- Un bureau Qualité
 - Réunion tous les mois ou plus si nécessaire
 - regroupe les référents qualité des structures du laboratoire
- Une revue de direction par an ou plus si nécessaire

Au niveau des structures

- Un référent qualité Biologiste
- Un référent qualité Cadre ou technicien
- Des référents spécialisés sur une thématique (KALILAB, métrologie,...)

C. Présentation et Démarche qualité du service

- Avant 2010 le laboratoire d'hormonologie se situait dans le bâtiment ACHARD
- En 2010 le laboratoire a déménagé dans le bâtiment Jean Dausset afin de regrouper ses activités avec l'Hormonologie spécialisée de Saint Vincent de Paul.
- 2011 : un nouveau SGL a été mis en place (GLIMS)
- 2012 : le LBM est entré dans la démarche avec une première portée : sérologie infectieuse de virologie
- 2013 : Le dépôt du dossier de demande d'accréditation au COFRAC est réalisé avec une visite prévue en juin 2014
- 2014 : déploiement du logiciel Qualité (KALILAB) depuis novembre 2013 dans les laboratoires.

Engagement du service dans la Qualité :

La mise en place a été effectuée progressivement :

- La formation d'un technicien référent au DU qualité
- La création de la cellule qualité dans le courant de l'année 2012
- La participation aux Programmes d'évaluation externe Qualité
- La mise en place et le suivi d'indicateurs :
 - délai de rendu des examens urgents : T4 libre ; cortisol de base.
 - taux de non-conformités pré-analytiques
- La formation du personnel à l'application Qualité KALILAB

Etant le référent qualité du service, j'anime sous la responsabilité du RAQ, le Groupe Qualité du laboratoire constitué de :

- Biologistes
- Référents des domaines :
 - pré analytique (secrétariat, agent administratif, technicien de laboratoire),
 - analytique (un référent par unité fonctionnelle),
 - référent informatique

Ce groupe de travail est en lien avec la cellule Qualité du LBM. En effet, les procédures transversales sont adaptées à l'organisation et aux contraintes du laboratoire.

La mise en place du management de la qualité est sous la responsabilité du chef de service.

Le laboratoire, ainsi inscrit dans une démarche Assurance Qualité depuis plusieurs mois, développe un management de la qualité en respect avec la norme NF EN ISO 15189. Cette démarche, qui engage le laboratoire dans un processus d'amélioration continue des services rendus au patient, implique l'ensemble du personnel du laboratoire.

L'acquisition du progiciel « KALILAB », dont je suis l'administrateur de la structure, permettra la structuration de la gestion documentaire. Les grands processus : pré analytique, analytique, post analytique sont ainsi déclinés, mais également tous les processus support.

D. Maîtrise du processus de la métrologie des équipements

Selon la norme (NF_EN_ISO_15189, 2012); (COFRAC_SH_REF02_V4, 2012) et (sh_gta01, 2011) les laboratoires accrédités ou candidats doivent :

1. Enregistrer leurs matériels

(NF_EN_ISO_15189, 2012, p. 25)

Des enregistrements **doivent être conservés** pour chaque élément du matériel(...)

*chaque élément du matériel doit être étiqueté, marqué ou identifié d'une façon univoque.

2. Définir ses équipements critiques c'est-à-dire les équipements ayant une influence sur la qualité des résultats. (COFRAC_SH_REF02_V4, 2012, p. 27)

3. Identifier les grandeurs mesurées et les exigences métrologiques associées aux équipements critiques. Pour notre sujet, la grandeur considérée est le volume.

4. Réaliser une confirmation métrologique de ces équipements qui se réalise par

5.3.1.4 Étalonnage des équipements et traçabilité métrologique

Le **laboratoire doit disposer d'une procédure documentée pour l'étalonnage** de l'équipement susceptible d'affecter directement ou indirectement les résultats d'examens:

a) en tenant compte des conditions d'utilisation et des instructions du fabricant;

b) en **enregistrant la traçabilité métrologique** du matériau d'étalonnage et l'étalonnage traçable de l'élément du matériel;

c) en vérifiant l'exactitude de mesure requise et le fonctionnement du système de mesure à différents stades;

d) en **enregistrant l'état et la date d'étalonnage**;

e) en s'assurant que, si l'étalonnage donne lieu à un certain nombre de facteurs de, les facteurs d'étalonnage précédents sont correctement mis à jour;

f) en prévoyant des sauvegardes afin d'éviter les réglages ou les falsifications susceptibles d'invalider les

résultats d'analyse.

La traçabilité métrologique doit porter sur un matériau ou une procédure de référence jusqu'à un matériau de référence de qualité supérieure

- L'étalonnage est une étape technique qui consiste à comparer la mesure de l'instrument à un étalon afin de déterminer un écart entre la mesure de l'instrument et les étalons : c'est le raccordement métrologique
- Vérification (NF EN ISO 9000) : Confirmation par des preuves tangibles que les exigences spécifiées ont été satisfaites.

Pour effectuer ses contrôles métrologiques, un LBM peut

- Faire appel à un prestataire externe
- Ou réaliser sa métrologie en interne

Depuis de nombreuses années, le LBM de COCHIN applique une politique d'externalisation de la métrologie des équipements critiques.

II. Méthodologie

A. *Les outils de la démarche qualité*

« La mise en œuvre d'une méthode d'amélioration de la qualité s'appuie sur des outils. Une bonne connaissance de leur apport et de leur utilisation est nécessaire pour mener à bien un projet et une démarche d'amélioration de la qualité » (LAMOURI_THOMAS, technique de l'ingénieur, 1999)

Parmi les outils qualité nous avons choisi certains d'entre eux qui permettent :

- de traiter, à partir de données quantifiées, des problèmes existant dans l'entreprise, et ont pour objectif d'éviter leur réapparition future.
- D'autres outils relèvent du curatif, car ils permettent de traiter les problèmes existant à partir de faits
- les « autres » relèvent, eux, de la prévention.

Cinq étapes sont nécessaires pour utiliser les outils qualité choisis **Figure 1**

1. Recenser, recueillir des données

Cette étape permet de rassembler tous les informations nécessaires pour traiter un problème ou un sujet

2. Identifier, analyser un problème, le comprendre

Le but de cette étape est de déterminer les facteurs générant un problème, de réfléchir au circuit dans sa globalité et d'adopter une réflexion sur les pratiques.

3. Chercher des solutions,

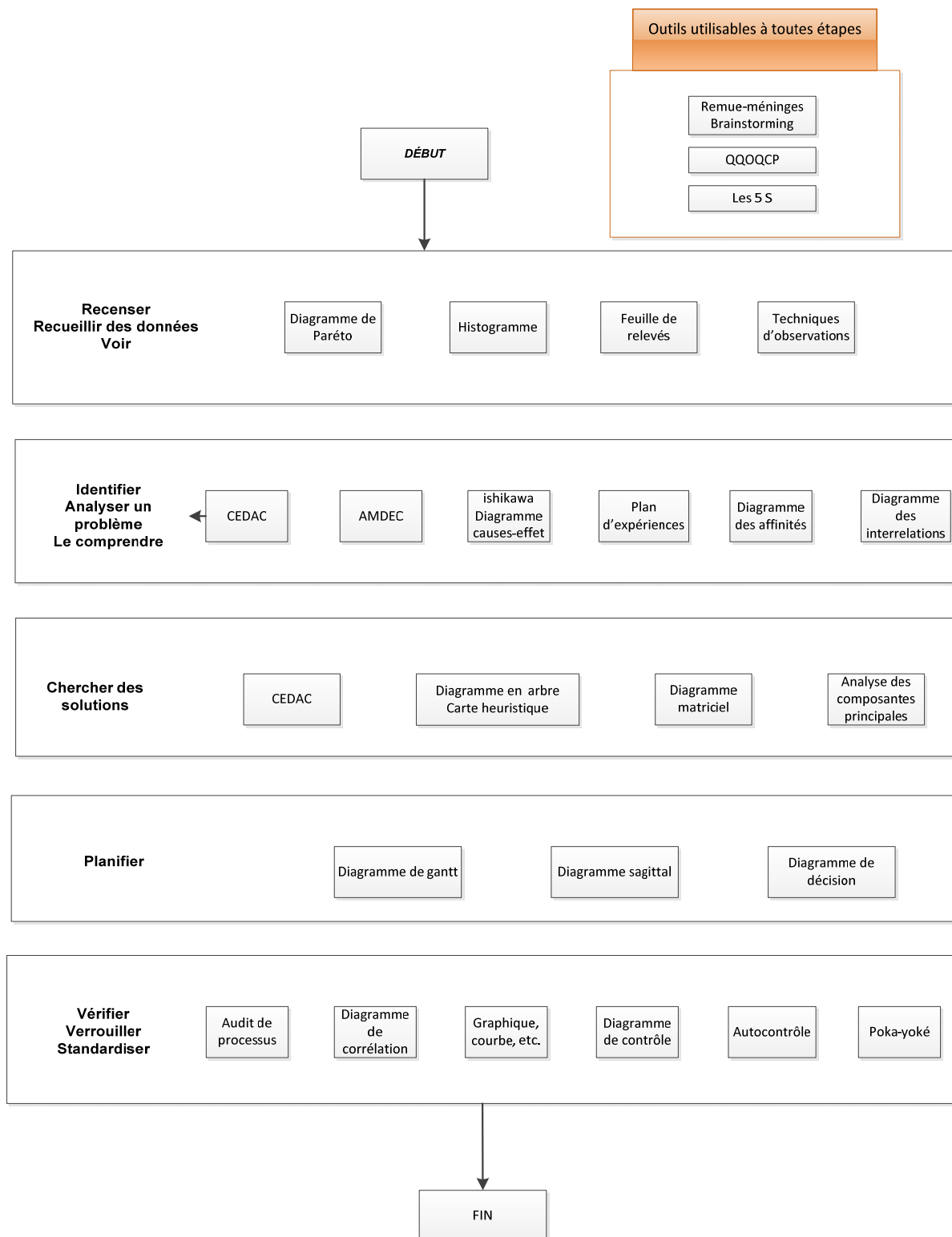
Lors de cette étape, nous allons rechercher des solutions réalistes et réalisables selon nos contraintes de structure, humaines et financières.

4. Planifier

Il s'agit du plan d'action que nous allons mettre en œuvre afin de réduire les incidences

5. Vérifier, standardiser

Cette étape permet de vérifier l'efficacité du plan d'action et d'apporter des modifications nécessaires le cas échéant.



AMDEC : Analyse des Modes deDéfaillances, de leurs Effets et de leur Criticité

CEDAC : Causes and Effect Diagram with the Addition of Cards

QQQQCP : Qui ? Quoi ? Où ? Quand ? Comment ? Pourquoi ?

Synoptique des outils qualité

Figure 1 (LAMOURI_THOMAS, 1999)

B. Analyse par le diagramme d'Ishikawa : figure 2

Nous avons retenu cet outil pour avoir une vision globale des facteurs intervenants dans notre processus et des tâches devant être mises en place pour la réalisation du projet.

Éléments principaux identifiés pour le processus métrologie des micropipettes

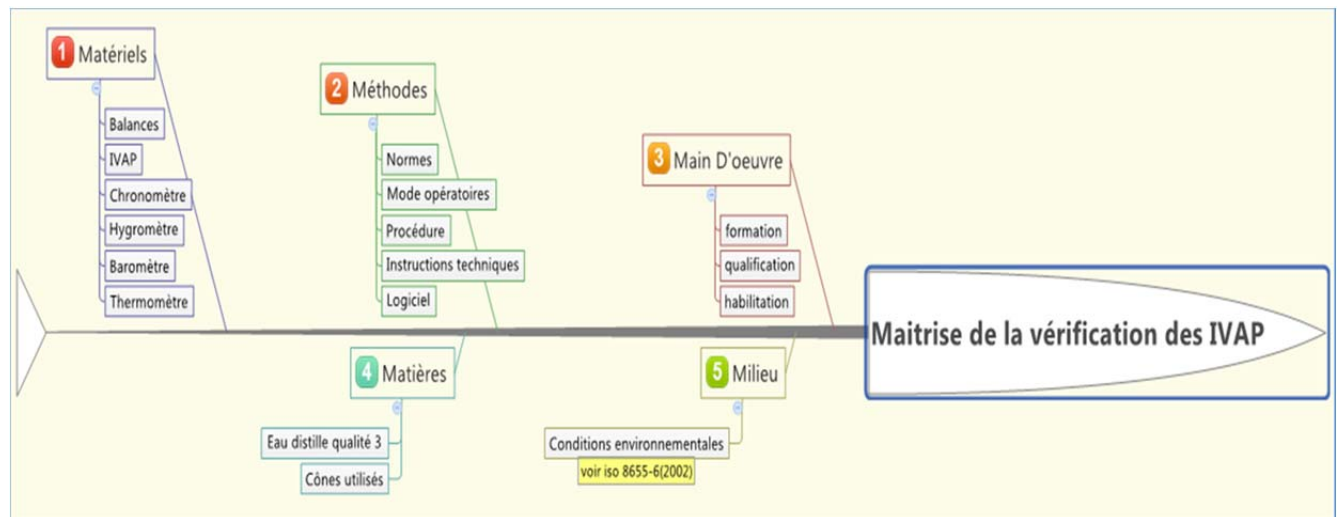


Figure 2

1. Matériels

Différents matériels sont nécessaires à la réalisation de ces contrôles.

a) La balance

Selon (NF_EN_ISO_8655_6, 2003, p. 2)

« L'utilisation d'une balance pour l'étalonnage des pipettes suppose un entretien et une vérification périodique comme un raccordement aux étalons nationaux. En fonction des volumes sélectionnés, la balance doit avoir une erreur ou un écart inférieur ou égal aux valeurs présentées dans le tableau suivant » :

Volume sélectionné de l'appareil soumis à l'essai	Résolution mg	Répétabilité mg	Incertitude type de mesure mg
10µl < V < 100 µl	0.01	0.02	0.02
100µl < V < 1000 µl	0.1	0.2	0.2
1 ml < V < 10 ml	0.1	0.2	0.2

(COFRAC_SH_REF02_V4, 2012, p. 27)

Le **raccordement de ces équipements critiques** de mesure (balances, pipettes, thermomètres, étalons...) au Système international d'unités (SI) est assuré, selon le cas, **lorsqu'il est pertinent et possible**

b) Chronomètre

Le chronomètre doit avoir une incertitude type de 1 seconde au maximum

c) Thermomètre

Le thermomètre, gradué au moins par 0,1°C, mesure la température au début et à la fin de l'étalonnage. Ce thermomètre est certifié avec une incertitude de 0,2°C au maximum.

d) Hygromètre

L'hygromètre doit avoir une incertitude type de 10%

e) Baromètre

Pour contrôler la pression atmosphérique, le technicien dispose d'un baromètre avec une incertitude de 0.5 kPa au maximum.

f) Les micropipettes

Elles sont utilisées selon les recommandations du constructeur.

2. Méthodes

Les méthodes utilisées pour réaliser les étalonnages ou vérifications métrologiques sont de deux types

- Soit, ce sont des méthodes normalisées
- Soit, ce sont des méthodes spécifiques ou des adaptations de méthodes ; dans ce cas, le laboratoire doit réaliser une validation de méthodes

5.4.2 Sélection des méthodes

Le laboratoire doit utiliser des méthodes d'essai et/ou d'étalonnage, y compris des méthodes d'échantillonnage, qui répondent aux besoins du client et qui conviennent aux essais et/ou étalonnages qu'il effectue, de préférence les méthodes publiées comme normes internationales, régionales ou nationales. Le laboratoire doit assurer qu'il utilise la dernière édition de la norme, sauf si cela n'est pas approprié ou possible. S'il y a lieu, des précisions doivent être apportées à la norme pour en assurer une application cohérente.

Pour la réalisation de la vérification métrologique des IVAP, des méthodes normalisées seront utilisées et décrites dans des procédures, modes opératoires, instructions

techniques et les constats de vérification seront enregistrés dans le système documentaire qualité du laboratoire

Exemple de normes utilisées pour les différents documents

- Norme NF EN ISO 8655 6 (2003). Appareils volumétriques à piston - Partie 6 : méthodes gravimétriques pour la détermination de l'erreur de mesure.
- Norme NF EN ISO 8655 1 (2003). Appareils volumétriques à piston - Partie 1 : définitions, exigences générales et recommandations pour l'utilisateur.
- Norme NF EN ISO 8655 2 (2003). Appareils volumétriques à piston - Partie 2 : pipettes à piston.

3. Main d'œuvre

a) Formation et habilitation

D'après la norme (NF_EN_ISO_15189, 2012) toutes les personnes impliquées dans des tâches spécifiques (dans notre cas, gestion et contrôle métrologiques des équipements critiques) doivent avoir été formées et avoir démontré leur aptitude.

Ces formations et habilitations doivent être tracées.

5.1.2 Qualifications du personnel (NF_EN_ISO_15189, 2012, p. 19)

La direction du laboratoire doit documenter les qualifications du personnel pour chaque poste. Les qualifications doivent refléter la formation et l'expérience appropriées, ainsi que les compétences démontrées nécessaires et appropriées pour les tâches réalisées.

Une procédure de formation et d'habilitation du personnel technique en métrologie devra être écrite et appliquée ainsi qu'une grille d'habilitation nominative pour tous les contrôles métrologiques réalisés en interne.

Ces documents devront être intégrés au système documentaire qualité du laboratoire.

b) Responsabilités

Les responsabilités de l'ensemble du personnel affecté à la métrologie devront être définies et documentées

5.1.3 Définitions de fonctions (NF_EN_ISO_15189, 2012, p. 19)

Le laboratoire doit disposer de fiches de fonction qui décrivent les responsabilités, les autorités et les tâches de l'ensemble du personnel.

4. Matières

a) Cônes

L'utilisation systématique du consommable d'origine est préconisée pour respecter l'homogénéité du système. Les pipettes automatiques sont conçues et calibrées en usine avec des cônes d'origine.

L'utilisation de cônes différents de ceux du constructeur peut être validée par comparaison des résultats avec des cônes d'origine. Dix cônes au moins sont nécessaires dans ce cas.

7.6 Cônes pour pipettes (NF_EN_ISO_8655_6, 2003)

Les erreurs maximales tolérées **s'appliquent toujours à l'ensemble du système constitué par la pipette à piston et le cône**. Lors de l'utilisation de cônes qui ne sont pas fournis par le fournisseur de la pipette, la déclaration du fournisseur ou le certificat de conformité ne s'applique pas. En pareil cas, l'évaluation des erreurs maximales tolérées **doit être effectuée en utilisant les autres cônes à l'aide de la méthode d'essai spécifiée** dans l'ISO 8655-6.

Avant d'effectuer l'évaluation de conformité de la pipette à piston avec les autres cônes, il faut s'assurer que la pipette à piston équipée des cônes d'origine est conforme aux exigences métrologiques spécifiées dans la présente partie de l'ISO 8655.

b) Récipient pour liquide

Il doit pouvoir contenir tout le liquide susceptible d'être utilisé pour les séries complètes d'essais.

c) Piège à évaporation

Pour les volumes inférieurs à 50 µl, les erreurs dues à l'évaporation au cours du cycle de pesée doivent être prises en compte. En dehors de la conception du récipient de pesée, la durée du cycle est importante. Pour que l'erreur d'évaporation soit aussi minime que possible lors des tests de volumes inférieurs à 50 µl, les éléments suivants peuvent être pris en considération : disposer un piège à humidité sur le plateau de la balance ou distribuer l'eau dans un tube capillaire. Comme cette méthode ne correspond pas à l'utilisation normale de la pipette, il convient que l'utilisateur s'assure qu'une corrélation existe. Sans tenir compte de ces éléments, une compensation mathématique de l'erreur due à l'évaporation au cours de la série de mesures peut être appliquée.

5. Milieu

a) **Le laboratoire**

6.2 **Laboratoire d'essais** (NF_EN_ISO_8655_6, 2003, p. 3)

L'essai doit être réalisé dans un laboratoire exempt de courants d'air avec un environnement stable. Le laboratoire d'essais doit avoir une humidité relative supérieure à 50 % et une température constante (+ 0,5 °C) entre 15 °C et 30 °C. Avant l'essai, l'appareil à vérifier ainsi que l'eau d'essai doivent avoir séjourné dans le laboratoire pendant une durée suffisante, d'au moins 2 h, afin de parvenir à un équilibre avec les conditions du laboratoire.

b) **Facteur Z**

En fonction de la température du liquide d'essai et de la pression barométrique de l'air, un Facteur combiné Z ($\mu\text{l}\cdot\text{mg}^{-1}$) doit être utilisé pour la correction de poussée de l'air sec et la conversion de la masse en volume en fonction de la température et de la pression d'air.

c) **Température**

L'influence de la température sur la qualité du pipetage est conséquente. Toutes les pipettes à déplacement d'air sont sensibles aux variations de température entre l'échantillon et les conditions ambiantes. Plus la différence entre pipette, cône et produit à pipeter est réduite, plus les résultats seront exacts. Pour obtenir des résultats exacts, pipette, cônes et liquide doivent être à la même température. La plupart des pipettes sont conçues pour fonctionner dans les conditions ambiantes de la salle de travail.

d) **Expérience de l'opérateur**

Des différences très nettes existent lors de la comparaison de résultats fournis par les opérateurs novices et ceux qui sont expérimentés. Les pipettes mécaniques exigent plus de soin et de spécification que les électroniques pour donner des résultats comparables. Particulièrement pour le pipetage de petits volumes, l'expérience et une bonne pratique sont essentielles pour obtenir des résultats répétables avec des pipettes mécaniques alors que des pipettes électroniques fournissent des résultats indépendamment de l'expérience de l'utilisateur. C'est d'autant plus important quand on considère la charge de travail ou l'emploi d'un nouveau personnel ou un technicien non formé.

III. Résultats

A. ***Rationalisation du parc de pipettes***

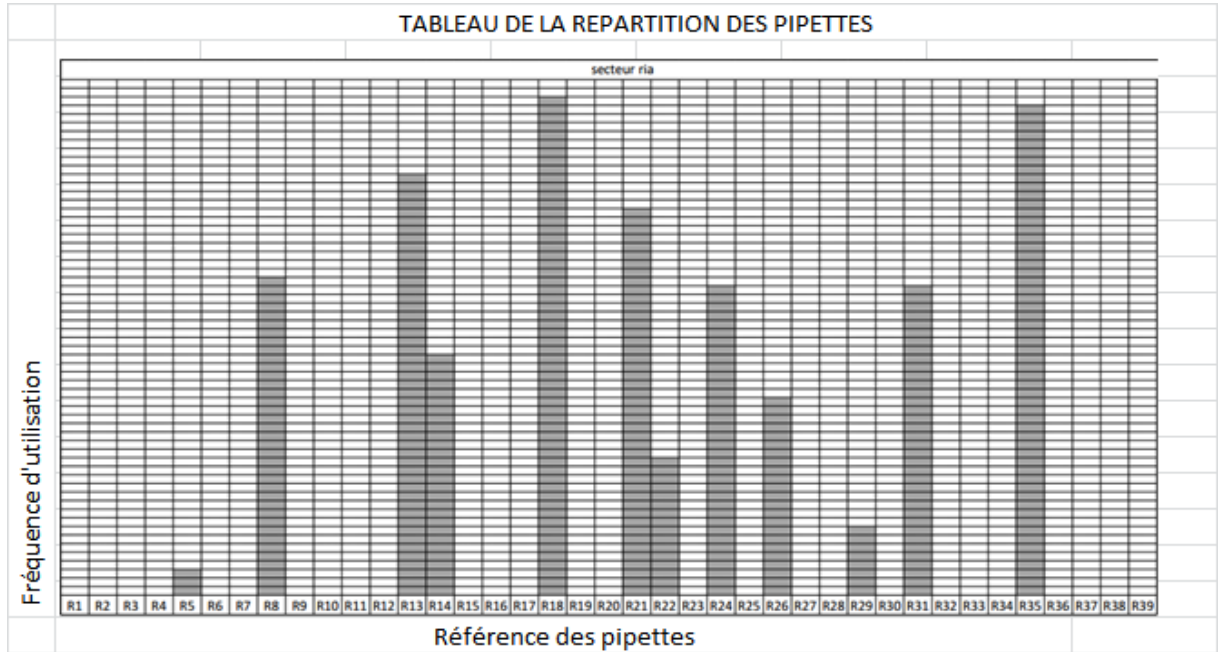
Le but de cette étape est de réduire le nombre important de micropipettes du laboratoire.

Pour débiter, nous avons décidé de nous occuper exclusivement du secteur RIA. En effet, ce secteur de technique manuelle présente un grand nombre de pipettes toutes étant critiques, de multiples utilisateurs, avec une fréquence de distribution importante. Pour réaliser cette action, nous avons procédé en plusieurs étapes

- Recensement du matériel : un fichier Excel a servi pour recenser le matériel. Les items retenus sont les suivants :

Réf Fournisseurs	Reference interne	Volume Pipette	Lieu d'utilisation	Fournisseurs
------------------	-------------------	----------------	--------------------	--------------

- Evaluation de la fréquence d'utilisation : Un formulaire indiquant le matériel utilisé a permis d'établir la fréquence d'utilisation des pipettes. Les techniciens en poste cochaient dans le formulaire la pipette utilisée. Ci-dessous un exemple de répartition de la fréquence d'utilisation des pipettes pour le secteur RIA sur une période de deux mois.



L'étude sur une période de deux mois a permis de prendre en compte toutes les analyses effectuées en RIA. De plus, cela a concerné 6 techniciens de laboratoire permettant ainsi d'éliminer le biais de l'utilisateur dépendant. En effet, certains techniciens pourraient utiliser certaines pipettes par habitude créant un biais dans la fréquence d'utilisation.

Ce tableau montre que certaines pipettes ne sont pas utilisées, elles ne sont donc plus utilisées, mises en réserve.

- Volumes distribués dans le secteur considéré : Pour les techniques manuelles, plusieurs volumes fixes sont distribués. Il s'agit de trouver la redondance des

volumes distribués. Nous nous sommes servis du fichier EXCEL de recensement des pipettes.

Exemple de résultat pour un échantillon de pipettes dans le secteur RIA

R5	25µL	R12	20µL	R1	100µL
R15	25µL	R18	20µL	R10	100µL
R2	50µL	R28	2/20µL	R27	100µL
R25	50µL	R32	20 µL	R7	100µL
R31	50 µL	R37	20 µL	R11	1000µL
R34	50 µL	R39	20 µL	R16	1000µL
R9	50µL	R41	5000 µL	RIA3	1000µl
RIA1	50µl				

L'analyse de ce tableau montre de nombreux doublons de volumes. En tenant compte de la fréquence d'utilisation et des doublons, nous avons pu éliminer certaines pipettes. Néanmoins, nous avons gardé 2 pipettes distribuant le même volume, ce qui présente plusieurs avantages, lors de l'étalonnage COFRAC : une pipette peut être immobilisée sans impacter sur le travail dans ce secteur. De plus, il y aura un avantage économique.

Les pipettes mobilisées dans ce secteur ont été enregistrées dans notre logiciel qualité comme le préconise la norme dans le chapitre « Enregistrement du matériel » (ISO 15189, 2012, p. 5.3.1.7) :

« Des enregistrements doivent être conservés pour chaque élément du matériel(...) »

Conclusion : dans ce secteur, il y avait au départ 35 micropipettes, il n'en reste plus que 20 et 4 ont été conservées comme matériels de rechange en cas de problème.

B. Résultats

1. Matériels

Les exigences générales sur le matériel sont connues et bien définies par la norme

a) Balance

La balance utilisée au laboratoire convient aux exigences attendues.

<i>Données techniques des balances AT</i>	
<i>Modèle</i>	<i>AT261 Delta Range</i>
<i>Résolution</i>	<i>0,01 mg</i>
<i>Plage de pesée</i>	<i>62g</i>
<i>Plage de tarage (soustractive)</i>	<i>0... 205g</i>

Reproductibilité (s) 0...50 g	0,05 mg
Reproductibilité (s) 50...100 g	0,07 mg
Reproductibilité (s) 100...200 g	0,09 mg
Reproductibilité (s) 200...400 g	0,15 mg
Linéarité	
Linéarité rapportée à 5 g	(+/-)0,1 mg

b) Chronomètre

Nous utilisons les modèles standards du laboratoire.

c) Thermomètre

Nous utilisons un thermomètre standard dont nous ne connaissons pas les spécifications.

L'utilisation d'un thermomètre raccordé constituera un axe d'amélioration.

Le thermomètre est en attente de commande.

d) Hygromètre

Actuellement, nous n'avons pas d'hygromètre. Cependant comme le précise la norme :

N.B. l'humidité relative n'est pas nécessaire pour l'évaluation dans la mesure ou les facteurs de correction Z s'appliquent à des humidités relatives comprises entre 20 % et 90 %. (NF_EN_ISO_8655_6, 2003, p. 4).

e) Baromètre

Lors des relevés des pressions atmosphériques, nous nous connectons à internet sur le site Météo France pour avoir le relevé de la station Montsouris proche de l'hôpital.

2. Méthode

a) Formalisation documentaire

Les procédures, modes opératoires, Instructions techniques, sont rédigés.

- Procédure générale d'utilisation des IVAP (PC-HOR-METRO-001-01)
- Contrôle gravimétrique pour les IVAP (PC-HOR-IT-001-01)
- Enregistrement des IVAP (PC-HOR-IT-002-01)

(cf. annexe II)

b) Edition du constat de vérification :

Le constat de vérification édité par le laboratoire est basé sur la norme NF X07-011 qui précise le contexte d'application d'une vérification d'un moyen de mesure et le contenu du document qui s'y rattache.

Ce constat doit être rattaché à une procédure générale où sont consignés :

- Le domaine d'application

- Les méthodes de mesure employées
- Les moyens de vérification, leur traçabilité, leurs intervalles de vérification ou étalonnage
- Les conditions de mesure
- Les informations techniques devant figurer sur le constat de vérification.

Le résultat d'une vérification permet de constater la conformité ou non du moyen de mesure, ce qui doit faire l'objet d'un enregistrement.

Cet enregistrement peut être consigné dans un constat de vérification.

La conservation de ces constats sert à démontrer la traçabilité, les exploiter afin d'ajuster les intervalles de vérification ainsi que pour la consultation par l'auditeur.

A partir de ce document le correspondant métrologique, décide de la mise en service, de l'ajustage, de la réparation, du déclassement ou de la réforme du moyen de mesure.

L'élaboration du constat de vérification doit comporter au moins :

- L'intitulé du constat de vérification,
- L'identification de l'entité chargée de la vérification,
- Le titre du document,
- La date de vérification,
- L'identification du moyen de mesure vérifié,
- Le nombre de pages du document,
- les mentions :

« Ce document ne peut pas être utilisé en lieu et place d'un certificat d'étalonnage »

« Ce document est réalisé suivant les recommandations du fascicule de documentation X07-011 »

- La référence de la procédure utilisée
- Le jugement : l'entité chargée de la vérification porte un jugement compte tenu des limites d'erreurs tolérées et des conditions d'acceptation.

c) Validation du constat de vérification

L'édition du constat de vérification sera établie à partir du tableur EXCEL. (cf. annexe 3)

L'utilisation du tableur devra alors répondre à un certain nombre d'exigences.

En effet, la norme iso 15189 considère maintenant l'informatique (matériel et logiciels) comme un équipement de mesure.

5.10.3 Gestion du système d'information (NF_EN_ISO_15189, 2012)p39

Le ou les systèmes utilisés pour la collecte, le traitement, l'enregistrement, le compte rendu, le stockage ou la récupération des données et informations doivent être

a) validés par le fournisseur et vérifiés en termes de fonctionnement par le laboratoire avant application

(LAB_GTA_09, 2008, p. 3)

Les exigences du référentiel se rapportent notamment pour les moyens : à la réception, l'identification, la **vérification, la validation** et pour les données à l'intégrité, la confidentialité, l'archivage ainsi que l'authenticité des documents.

La validation du tableur sera effectuée en comparaison avec un certificat d'étalonnage référent METTLER TOLEDO.

Pour éviter la corruption de données, le tableur est protégé sur toutes les cellules où un calcul est effectué (calcul du Z), concernant les calculs d'erreur systématiques et erreurs aléatoires, les données ne sont pas accessibles à l'opérateur, la saisie se faisant dans une boîte de dialogue (voir ci-dessous).

Résultat pour l'édition du constat :

	Constat tableur		Constat mettler toledo	
	50 µl	100 µl	50 µl	100 µl
erreur systématique %	0,26	0,26	0,26	0,26
erreur aléatoire %	0,29	0,29	0,29	0,29

La comparaison de ces données montre que les pourcentages des erreurs systématiques et aléatoires du tableur Excel sont identiques aux valeurs de références démontrant ainsi la fiabilité du tableur. L'édition des constats de vérification du laboratoire via le tableur est donc possible.

Résultat pour le calcul Z

vérification du calcul de Z			
Température en °C	Pression en Kpa	tableur	tableau
			Mettler Toledo
15	90	1,0019	1,0019
20	95	1,0028	1,0028
23	100	1,0034	1,0035
26	101,3	1,0042	1,0043
30	105	1,0054	1,0054

Pour l'ensemble des données sur le facteur Z (cf. annexe IV)

3. Main d'œuvre

a) **FORMATION**

Externe

Deux techniciens ont assisté à une formation délivrée par la société BIOHIT (société prestataire de service accréditée COFRAC) sur une période de deux jours. La formation portait sur la bonne utilisation des micropipettes et sur la méthode gravimétrique selon la norme iso NF ISO 8655_6. Cette formation a été organisée par le cadre de notre service en partenariat avec la société BIOHIT.

Il est prévu une formation complémentaire « Bases de la métrologie » pour ces deux techniciens le 11 septembre prochain. Cette formation est effectuée « in situ » par le LNE (Laboratoire national de métrologie d'essais).

En effet, le RAQ a organisé pour tous les « correspondants métrologie » cette formation.

Ces deux techniciens ont été nommés « correspondants métrologie » l'un est titulaire, l'autre suppléant.

Une autre possibilité de suivre l'E-learning du LNE, proposée autour de 2 thématiques :

- Les fondamentaux d'un processus de mesure
- Les outils de la mesure

Interne

Les deux techniciens ayant la fonction « correspondant métrologie » ont obtenu leurs habilitations par le biais de la formation BIOHIT, ils transmettent par tutorat à d'autres techniciens la réalisation des constats de vérification. Pour faciliter l'apprentissage, nous avons rédigé un guide de « bonnes techniques de pipetages ». (cf.annexe n° V).

b) QUALIFICATION / HABILITATION

La participation aux formations et la pratique régulière des constats de vérification définissent les critères d'habilitation pour la pratique des vérifications métrologiques au laboratoire. L'habilitation et le maintien des compétences sont enregistrés dans KALILAB, le logiciel qualité du laboratoire.

Pour être habilité à la réalisation des constats de vérification, il faut

- Avoir connaissance du guide formation BIOHIT,
- Avoir effectué 6 constats de vérification à différents volumes,
- avoir attesté en lecture des documents nécessaires (procédure et instruction technique),
- Ne pas être absent plus de 12 mois.

Bilan des habilitations :

Depuis janvier 2014, trois techniciens ont été habilités. Ils réalisent régulièrement le suivi métrologique des micropipettes du laboratoire.

Exemple du rendu dans le logiciel qualité :

Pour la qualification intitulée :

constat de vérification des ivap

Résumé des technicien(ne)s habilités : (critère nominatif)

FEMENIA CHRISTOPHE						
	Date de ré-évaluation	Titre	Auto éval	Validation	Evaluation	
	09-03-2016	constat de vérification des ivap				

GAILLARD CATHERINE						
	Date de ré-évaluation	Titre	Auto éval	Validation	Evaluation	
	08-03-2016	constat de vérification des ivap				

LETERRIER Jean-christian						
	Date de ré-évaluation	Titre	Auto éval	Validation	Evaluation	
	08-03-2016	constat de vérification des ivap				

Résumé des technicien(ne)s habilités : (critère qualification)

constat de vérification des ivap	<u>Habilité(s)</u> : CHRISTOPHE FEMENIA (09-09-2014), CATHERINE GAILLARD (08-09-2014), Jean-christian LETERRIER (08-09-2014)
	<u>Non habilité(s)</u> :

Perspectives :

Il faudra par la suite étendre le nombre de techniciens impliqués dans ce processus, le nombre reste à définir. Le volontariat restant souhaitable.

4. Matières

a) Cônes

Les pointes sont un composant du système aussi important que la pipette. Si leur qualité est médiocre ou leur adaptation imprécise, le risque est d'obtenir des résultats non satisfaisants, même avec la meilleure pipette. Il faut veiller à utiliser le plus régulièrement possible les mêmes pointes compatibles avec les pipettes (préconisées par le fournisseur).

b) Récipient pour liquide / Piège à évaporation

Ne disposant pas de piège à évaporation, nous avons effectué une série d'expérimentations pour éviter au maximum l'évaporation lors du mesurage des petits volumes (inférieure à 50 µl).

(NF_EN_ISO_8655_6, 2003, p. 2)

Il est recommandé, en particulier pour les essais d'appareil de plus petits volumes, d'utiliser un récipient de pesée ayant soit un rapport hauteur / diamètre d'au moins 3 :1 (...)

(NF_EN ISO 8655_6, 2003, p. 6)

7.2.8...(...), *calculer la perte par évaporation selon les instructions du fournisseur*

Selon (METTLER_TOLEDO, 2014, p. 48)

« Si, malgré les précautions de manipulation et l'utilisation du piège à évaporation, l'évaporation n'est pas négligeable, il est possible de la mesurer pour l'intégrer aux calculs. Ces pertes sont mesurées en effectuant les étapes de pesées comme pour une pesée d'échantillon, mais sans faire aucun ajout dans le récipient de pesée. Le volume d'eau contenue dans le récipient de pesée correspond à environ 5 fois le volume à vérifier. Il s'agit de simuler la distribution du liquide d'essais, mais la distribution de l'échantillon est faite dans le récipient. Répéter ces étapes au moins 4 fois pour calculer une valeur moyenne de perte par évaporation ».

Nous avons comparé 4 dispositifs et effectué les cycles de pesée suivants :

Pour simuler les cycles de pesées, nous avons, toutes les 1 minute et pendant trois minutes

enregistré la masse .La différence de masse totale est enregistrée et donne une idée du taux d'évaporation global.

Résultat : le dispositif 4 (figure 3), un tube à hémolyse rehaussé d'une micro cupule est tout à fait adapté à l'usage.

volume testé 20 µl							
dispositif 1				dispositif 2			
Temps	Différence	µl	perte µl / min	Temps	Différence	µl	perte µl / min
09:20:05		19,3		08:54:14		19,77	
09:21:07	00:01:02	17,7	1,6	08:55:19	00:01:05	19,6	0,17
09:22:06	00:00:59	16,38	1,32	08:56:19	00:01:00	19,44	0,16
09:23:07	00:01:01	14,65	1,73	08:57:18	00:00:59	19,3	0,14
temps total	0:03:02	perte totale sur 3 min	4,65	temps total	0:03:04	perte totale sur 3 min	0,47
% perte			24,09%	% perte			2,38%

dispositif 3				dispositif 4			
Temps	Différence	µl	perte µl / min	Temps	Différence	µl	perte µl / min
10:59:53		19,72		11:19:20		20,11	
11:00:56	00:01:03	19,6	0,12	11:20:25	00:01:05	20,09	0,02
11:01:57	00:01:01	19,49	0,11	11:21:24	00:00:59	20,06	0,03
11:02:55	00:00:58	19,38	0,11	11:22:25	00:01:01	19,98	0,08
temps total	0:03:02	perte totale sur 3 min	0,34	temps total	0:03:05	perte totale sur 3 min	0,13
% perte			1,72%	% perte			0,65%



Figure 3 : dispositif 4

5. Milieu

a) Le laboratoire et la température

Le laboratoire a une température fixée dans les plages d'utilisation (15-30°C). Nos locaux bénéficient d'une climatisation par air pulsé. En revanche, si la température y est plus ou moins constante, nous n'avons aucune preuve qu'elle soit stable à +/- 0.5 °C.

b) L'opérateur (erreur possible) analyse des erreurs humaines

Cette cause d'incertitude n'est ni maîtrisable et ni quantifiable puisqu'elle peut provenir :

- d'une méconnaissance des méthodes
- des erreurs de manipulation
- des erreurs de calcul, etc.

La seule possibilité d'intervention sur ces points consiste à prendre des mesures préventives. Pour cela, il est fortement recommandé de mettre en place :

- Une formation et un soutien pour les opérateurs,
- Une procédure d'étalonnage et de vérification détaillée,
- Sur les erreurs de manipulations, selon :

(FDX_07_021, 1999)

5.7.3 Examen critique et physique des valeurs aberrantes

Qu'appelle-t-on, ou comment peut-on définir une valeur aberrante dans une série de mesures ?(...)

Quelle décision prendre concernant une valeur aberrante ?(...)

Si la cause de l'anomalie a été détectée et si celle-ci peut être corrigée, le résultat est corrigé dans la mesure du possible (par exemple, erreur de transcription). Dans le cas contraire, l'essai ou la mesure est refait. (...)

Quelle que soit la raison qui conduit à qualifier d'aberrant un résultat de mesure ou d'essai, la décision de l'accepter ou de le rejeter ne doit être prise qu'en connaissance de cause (après réflexion, analyse, enquête, etc.) par la personne la plus apte à prendre la décision (physicien, métrologue, responsable de l'essai, etc.).

(<http://metgen.pagesperso-orange.fr/metrologiefr16.htm>, 2014)

Elimination de mesures : le critère de CHAUVENET

Toute personne ayant effectué des mesures de répétabilité a forcément été confrontée un jour à une mesure « suspecte ». « Suspecte » parce qu'elle semblait s'éloigner beaucoup trop des autres mesures, ce qui incitait à penser qu'une erreur était survenue lors de la mesure. Il est toutefois délicat d'éliminer une valeur puisque les probabilités nous enseignent que dans le cas d'une loi normale toute valeur est possible. Ainsi le fait de retirer une valeur au motif qu'elle semble trop s'éloigner des autres pourrait alors être perçu comme une forme de malhonnêteté scientifique, une volonté de « trafiquer » des résultats (en particulier pour améliorer l'incertitude). Dans une pareille situation, il faudrait idéalement analyser la mesure effectuée pour déceler une éventuelle erreur ou effectuer un grand nombre de mesures supplémentaires pour la confirmer ou l'infirmier (ce qui justifierait alors son retrait). Cela n'est malheureusement pas toujours possible.

Le critère de CHAUVENET (cf. annexe VI) apporte une réponse robuste à ce problème en considérant la probabilité d'obtenir la mesure jugée suspecte. Toutefois, il importe de conserver à l'esprit que la décision finale de conserver ou supprimer une mesure est de la responsabilité de l'opérateur.

Pour prendre en compte cette source d'erreur possible, un fichier a été conçu sur un tableur EXCEL, ce qui permet de vérifier si une valeur doit être éliminée ou non.

IV. Conclusion et perspectives

Conclusion

Le travail de ce mémoire et cette année de formation m'ont permis d'acquérir de nouvelles connaissances et un esprit plus critique sur notre travail. J'ai alors pu le mettre en œuvre ensuite au laboratoire. Je transmets aux personnes avec lesquelles je collabore les notions et les méthodes que j'ai apprises durant cette année de formation.

Au sein de notre service, la mise en place du suivi métrologique des micropipettes est bien installée. Le suivi sur une période de 10 mois ne souffre pour l'instant d'aucun dysfonctionnement. L'organisation semble pérenne. Une évaluation à distance sera nécessaire.

Les instruments évoluent dans le temps et c'est pourquoi il est nécessaire de les ré-étalonner périodiquement. Après plusieurs périodes d'étalonnage, il est possible de

diminuer les coûts en optimisant les intervalles de confirmation métrologiques des équipements de mesure en se basant sur la méthode définie par la norme FD X07-014. Nous avons donc adapté cette norme pour un usage spécifique aux IVAP (cf. annexe 7). Dans un premier temps, fin 2014 nous aurons collecté assez de données pour déterminer une nouvelle évaluation de nos périodicités de vérification.

La maîtrise de ce processus s'est avérée assez simple, car de nombreuses normes balisent le terrain ; il y a peu d'intervenants extérieurs, et les personnes impliquées sont motivées.

Les difficultés rencontrées pour avoir du matériel raccordé restent à lever.

Sur des projets plus ambitieux et de longues haleines, notre service aura de plus grandes difficultés à trouver les ressources humaines nécessaires .La culture qualité n'est pas assez ancrée dans nos pratiques.

Beaucoup de travail reste à faire !

Et pour finir, le constat de vérification (cf. annexe 8)

Perspectives

Dans le cadre de mes fonctions d'administrateur KALILAB et pilote des correspondants métrologie, j'envisage en collaboration avec d'autres services , de mettre en application notre travail :

- Formation du personnel au contrôle gravimétrique (service de biochimie).
- Préparation d'audit métrologie (grandeur volume) avec le service de bactériologie.
- Etendre la méthodologie à d'autres grandeurs (temps, température).

Un comité des équipements a été créé qui fait le lien entre le service bio-médical et le LBM. Ce comité a pour but de se réunir de façon mensuelle pour aborder les problèmes de chaque service et de partager les travaux de chacun.

Par exemple, nous avons mutualisé notre balance avec le service d'immunologie qui est au même étage que notre service et celui-ci a calqué son organisation pour les micropipettes sur la nôtre.

V. Bibliographie

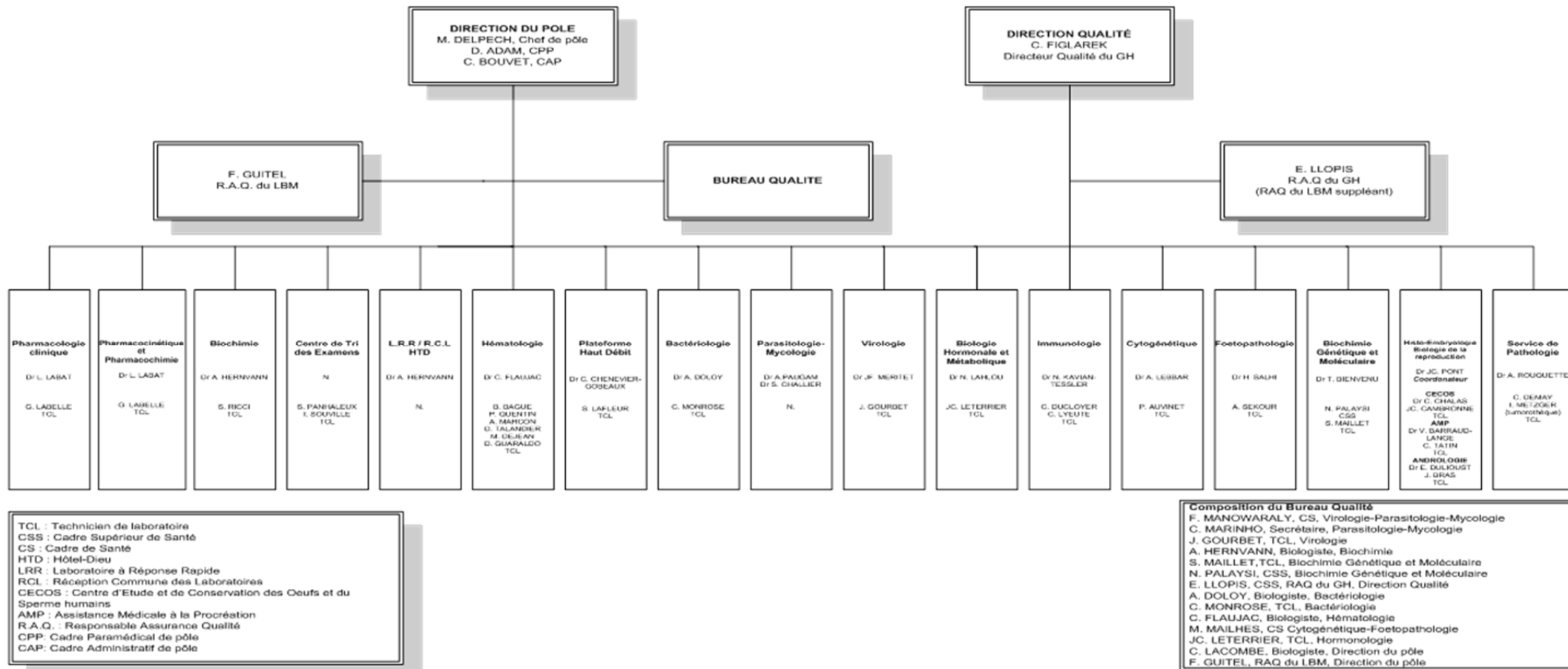
- Norme NF EN ISO15189 (2012). Exigences concernant la qualité et la compétence.
- Recueil des exigences spécifiques pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale. COFRAC SH REF02 V4. (2012).
- Guide technique d'accréditation en biologie médicale, SH GTA 01 (2011) COFRAC
- juste à temps et qualité totale: concept et outils. LAMOURI THOMAS. (1999).
- Norme NF EN ISO 8655 6 (2003). Appareils volumétriques à piston - Partie 6 : méthodes gravimétriques pour la détermination de l'erreur de mesure.
- Norme NF EN ISO 8655 1 (2003). Appareils volumétriques à piston - Partie 1 : définitions, exigences générales et recommandations pour l'utilisateur.
- Norme NF EN ISO 8655 2 (2003). Appareils volumétriques à piston - Partie 2 : pipettes à piston.
- Norme FDX 07 11 Constat de vérification des moyens de mesure (1994)
- Guide technique d'accréditation dématérialisation des données dans les laboratoires, LAB GTA 09. (2008).
- <http://metgen.pagesperso-orange.fr/metrologiefr16.htm>. Elimination de mesures - Le critère de CHAUVENET (2014).
- Norme FD X07 014. (2006). Optimisation des intervalles de confirmation métrologique des équipements de mesure.
- Annales de Biologie Clinique Vol 55, N. 3. (1997). gbea et pipettes

VI. ANNEXES

Sommaire

Annexe I	organigramme qualité du pôle	33
Annexe II	Gestion documentaire	34
Annexe III	validation du constat de vérification	43
Annexe IV	facteur Z	46
Annexe V	Guide des bonnes techniques de pipetage	49
Annexe VI	critère de CHAUVENET	57
Annexe VII	optimisation des intervalles de confirmation métrologique	60
Annexe VIII	constat de vérification du laboratoire	65

Annexe 1 organigramme qualité du pôle



Annexe II Gestion documentaire



Procédure générale d'utilisation des IVAP

Objets et Domaine d'applications

Cette procédure définit les étapes à respecter lors de l'utilisation en routine des micropipettes de l'ensemble du laboratoire, celles-ci sont utilisées suivant les recommandations des fiches techniques dédiées (voir annexes) Elle s'applique à la vérification des micropipettes à piston, monocanal, à volume variable ou fixe et à déplacement d'air (un volume d'air est contenu entre le piston et la surface du liquide contenu dans le cône – pipette de Type A) La méthode utilisée est la méthode gravimétrique par distribution (norme ISO 8655-8).

Responsabilités

Correspondant métrologie
Personnel de la structure (technicien, biologiste)

Documents de références

Norme NF EN ISO 15189

SH REF 02

Norme NF EN ISO 8655-1 Définitions, exigences générales et recommandation pour l'utilisateur

Norme NF EN ISO 8655-2 pipettes à piston.

Norme NF EN ISO 8655-8 Méthodes gravimétriques pour la détermination de l'erreur de mesure

Définitions

Volume nominal : Volume indiqué sur l'instrument pour lequel une performance de justesse et de reproductibilité a été spécifiée par le fabricant.

Erreur systématique (justesse): Différence entre le volume distribué et le volume nominal ou volume sélectionné.

Erreur aléatoire (répétabilité): Dispersion des volumes autour de la moyenne des volumes distribués.

EMT (erreurs maximales tolérées): valeurs extrêmes d'une erreur tolérées par les spécifications, règlements, etc. pour un instrument de mesure donné.

Étalonnage : Ensemble des opérations établissant dans des conditions spécifiées la relation entre les valeurs de la grandeur indiquée par un appareil de mesure et les valeurs correspondantes de la grandeur réalisée par des étalons



Vérification : confirmation par examens et établissement des preuves que les exigences spécifiées ont été satisfaites. La vérification applique une notion de jugement aboutissant à une décision de conformité du dispositif de mesure.

Confirmation : au laboratoire, il s'agit de contre signer à la réception les certificats d'étalonnage et de juger de leurs conformités

Descriptif

Moyens

Locaux

L'ensemble du laboratoire pour l'utilisation des pipettes et une pièce dédiée lors de la vérification métrologique

Personnel

Se référer au logigramme 1 pour les différents intervenants

Matériels

Pipettes

Balance

Hygromètre, thermomètre, baromètre

Gestion

Achats

Le correspondant métrologie de la structure, collige les besoins en matériel auprès du personnel et transmet aux cadres qui en cas d'acceptation fait une demande d'achat (via SAP)

Réception

À la réception d'une micropipette, celle-ci est répertoriée, confirmée par le correspondant métrologique

Qualification

Voir fiche habilitation

Fiche de vie

Le suivi du cycle de vie d'une micropipette est entièrement géré par le logiciel KALILAB (enregistrement, étalonnage et vérification, toutes traces d'enregistrements, non-conformité)

Stockage

Les pipettes sont sectorisées et ne doivent pas être déplacées

Une tâche est créée dans KALILAB, il s'agit de vérifier l'inventaire.



Étalonnage et vérification

Choix entre étalonnage et vérification

- Les micropipettes critiques sont envoyées pour étalonnage tous les ans dans une société prestataire de service accréditée COFRAC (qui varie en fonction des marchés AP-HP).
- La vérification est faite en interne par les correspondants métrologie

Périodicité

Fréquence recommandée pour les micropipettes utilisées dans le secteur RIA et ÉLISA

2 mois

Fréquence recommandée pour les micropipettes utilisées dans les secteurs AUTOMATES (utilisation moins fréquente)

4 mois

La fréquence de révision sera revue un an après la mise en application de cette procédure (en adéquation avec la norme FD X 07-14 « *optimisation des périodicités des étalonnages* »)

Acceptation des résultats (définitions des spécifications)

Ils ont été définis selon

[Annales de Biologie Clinique, Volume 55, Numéro 3, 252-3, Mai - Juin 1997, Culture-qualité](#)

Extrait : « montre que la majorité des erreurs d'exactitude sont inférieures à 2 % (43 pipettes sur 47) et des coefficients de variations inférieurs à 1,5 % (42 pipettes sur 47). Ces limites ont été retenues comme acceptables pour les pipettes utilisées. »

L'étude effectuée au laboratoire confirme l'article avec des valeurs à 2% pour erreurs systématiques et 1 % pour erreurs aléatoires

Décision après vérification

Voir logigramme 2

Non-conformité

Voir instruction technique

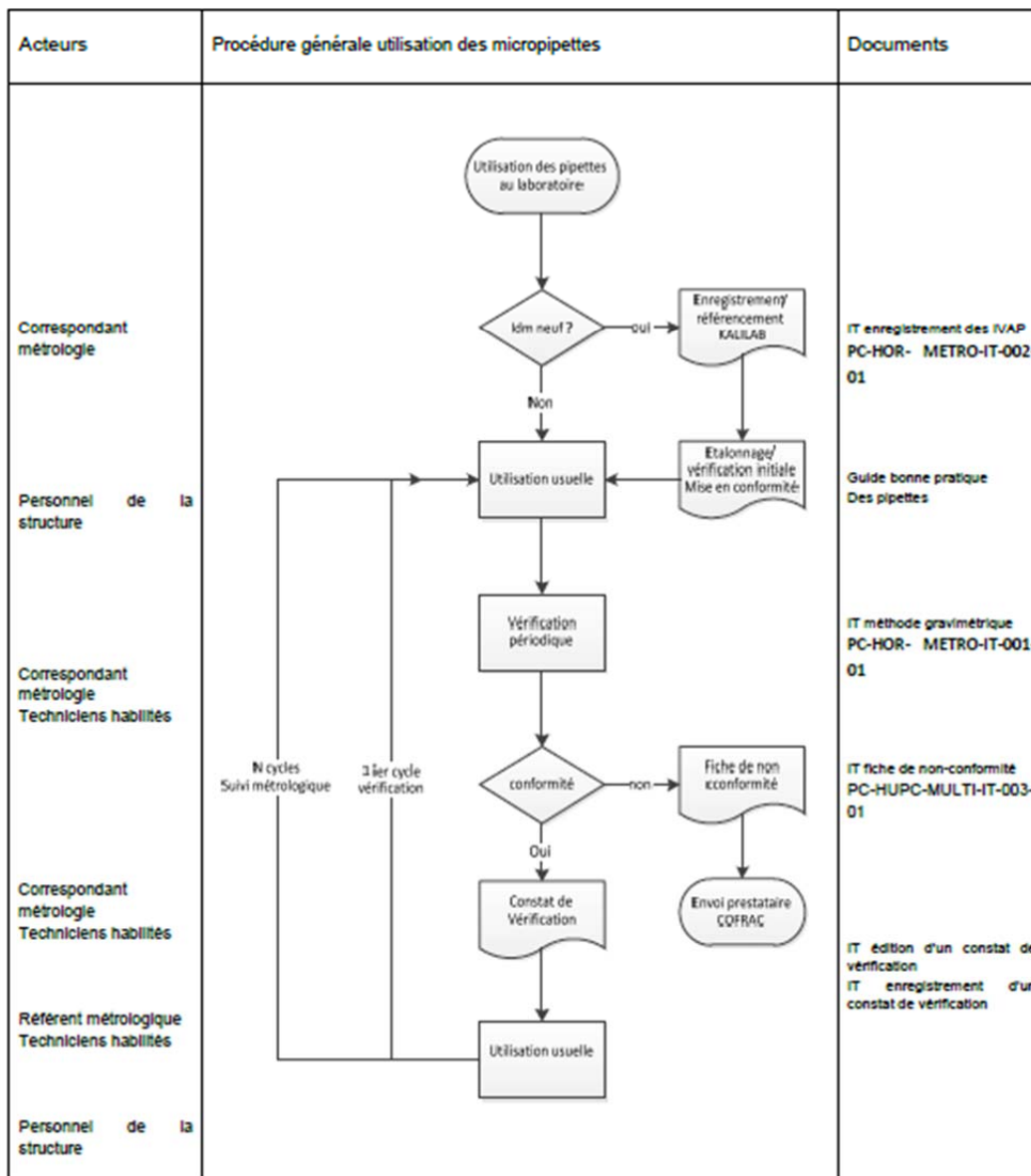
PC-HUPC- MULTI-IT-003-01 -AJOUT D'UNE NON-CONFORMITÉ



Traçabilité

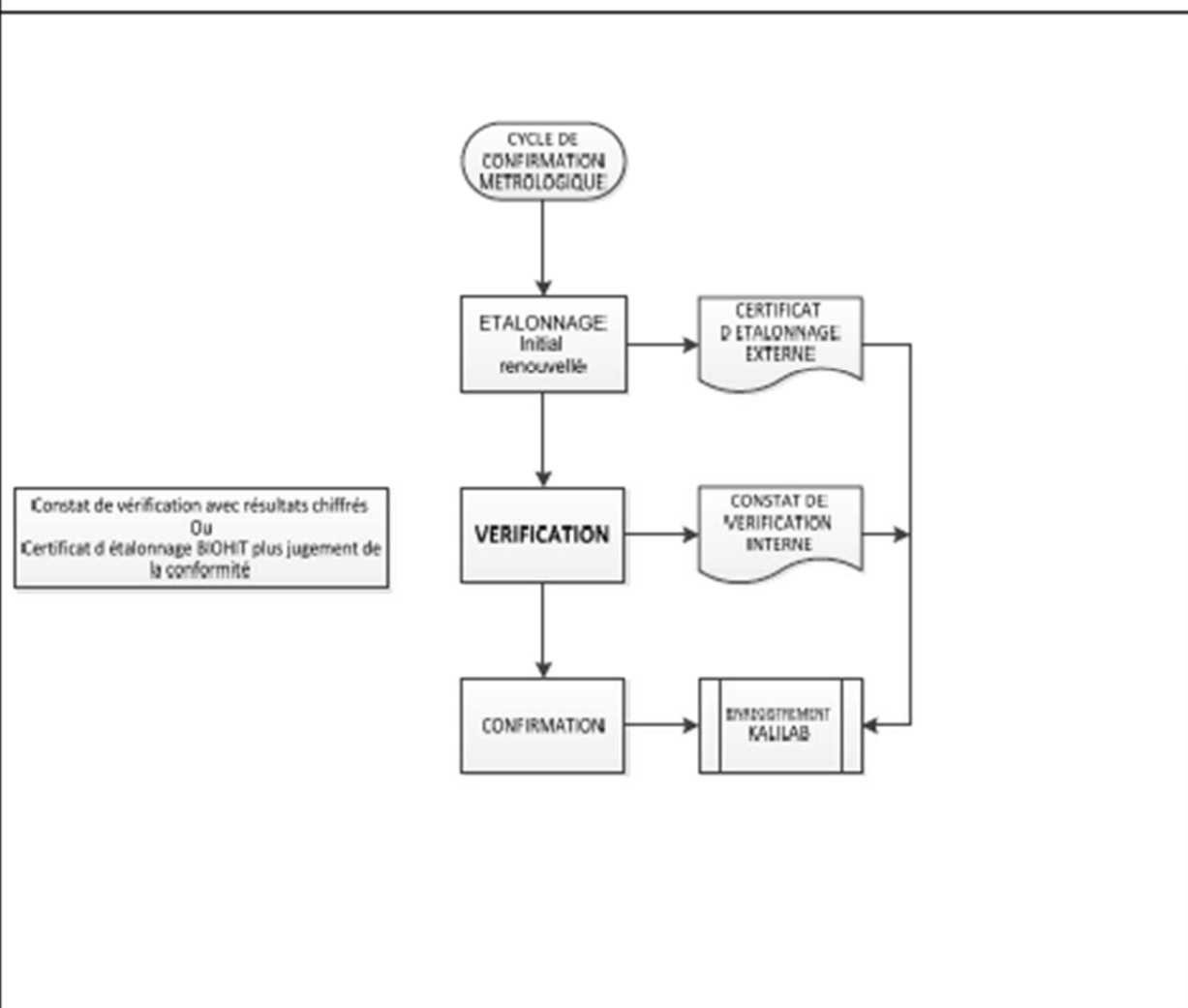
L'ensemble du processus est entièrement géré dans KALILAB à l'exception des enregistrements de la balance qui sont collés dans un cahier (localisé dans la pièce dédiée au contrôle des micropipettes)

Logigramme1





Cycle de confirmation métrologique



Logigramme 2

<p>CCH-HORMONOLOGIE Hôpital COCHIN 27 rue du faubourg Saint-Jacques Bâtiment Jean Dausset 75679 cede PARIS</p>	<p align="center">Enregistrement DES IVAP</p>	<p>Ref : PC-HOR- METRO-IT-002- 01 Version : 01 Applicable le : 07-01-2014</p> 
--	--	---

Destinataires : Responsable Métrologie, Biologistes, Techniciens

RÉCEPTION DES ÉQUIPEMENTS NEUFS

Le correspondant métrologique ou « paramètreur KALILAB » Vérifie l'existence d'un certificat d'étalonnage mentionnant la traçabilité aux étalons nationaux.

IDENTIFICATION

Le correspondant métrologique identifie l'instrument :

par un code d'abréviation désignant le lieu d'utilisation propre à l'instrument

par un numéro chronologique s'il y a plusieurs instruments de même type

- R pour RIA
- I pour IMMULITE
- C pour CENTAUR
- E pour ELISA
- L pour liaison
- P pour pièce extraction
- D pour IDS

ENREGISTREMENT

Le correspondant métrologique répertorie les différents instruments :

En ouvrant une fiche de vie si nécessaire dans kalilab

MISE EN SERVICE

Le correspondant métrologique, d'après le type d'appareil :

- assure la mise en service.
- consigne la date (fiche de vie kalilab).
- classe les documents fournis ainsi que le certificat initial d'étalonnage.
- scanne le certificat initial d'étalonnage et l'associe à la fiche de vie kalilab
- Appose une étiquette d'identification sur le matériel, qui sera la numérotation interne propre au service

VÉRIFICATION, ÉTALONNAGE ET INTERVENTION D'URGENCE

Pour chaque instrument contrôlé, le responsable Métrologie :

- réceptionne le certificat de contrôle ou d'étalonnage.
- décide de la conduite à tenir en cas de vérification non conforme (réparation, ajustage, déclassement).
- Dans ce cas, il ouvre une Non-Conformité avec analyse de l'impact éventuel sur le résultat.
- met à jour la fiche de vie.
- classe les documents



Contrôle gravimétrique pour les IVAP

Relever et noter en début de cycle

- la température du liquide d'essai
- la pression barométrique
- la température de la pièce

Mettre dans le fond du récipient de pesée, du liquide d'essai provenant du réservoir d'eau, à une profondeur d'au moins 3 mm

Préparer la pipette à piston et le cycle d'essai comme suit:

Installer le cône sélectionné sur la pipette à piston. Pipeter et vider **cinq fois** le liquide d'essai afin d'atteindre un équilibre d'humidité dans le volume mort (ISO 8655-1:2002, 3.1.8)

Cycle A

- Remplacer le cône jetable de la pipette à piston.
- Remplir la pipette à piston avec le liquide d'essai, en immergeant l'orifice de distribution du cône de 2 mm à 3 mm sous la surface de l'eau.
- S'il est commandé manuellement, relever doucement le bouton de commande, et retirer la pipette de manière verticale et avec soin de la surface de l'eau.
- Mettre en contact l'orifice de distribution du cône et la paroi latérale du récipient contenant le liquide d'essai.
- Vider l'eau afin d'humidifier préalablement le cône et remplir à nouveau la pipette à piston.

CCH-HORMONOLOGIE
Hôpital COCHIN 27 rue du
faubourg Saint-Jacques
Bâtiment Jean Dausset
75679 cedex PARIS

Contrôle gravimétrique
pour les IVAP

Ref : PC-HOR- METRO-
IT-001-01

Version : 01

Applicable le : 09-01-2014



Cycle B

Tarer la balance à zéro ($m_0 = 0.0000g$).

Distribuer le contenu de la pipette dans le récipient de pesée, en mettant en contact l'extrémité du cône de la pipette et la paroi interne du récipient juste au-dessus de la surface du liquide avec un angle d'environ 30 à 45° et essuyer l'extrémité du cône sur environ 8 mm à 10 mm le long de la paroi interne du récipient de pesée afin d'enlever toute gouttelette se trouvant au niveau ou autour de l'orifice du cône.

Le cas échéant, utiliser la purge de la pipette à piston afin d'expulser la dernière goutte de liquide avant d'essuyer l'extrémité de distribution du cône le long de la paroi interne du récipient de pesée.

Enregistrer la masse m_1 du récipient de pesée


Répéter le cycle B jusqu'à ce que 10 mesures aient été enregistrées comme une série de masses m_1 à m_{10} .

Remarque : il est recommandé dans la norme de changer de cône à chaque distribution, dans ce cas un rinçage sera effectué à chaque fois.

Ne pas changer le cône pour la distribution des 10 mesures (voir recommandation BIOHIT)

N.B. En cas d'erreur de manipulation, se reporter à l'IT « élimination d'une erreur aberrante »

Annexe III validation du constat de vérification


	Rapport de validation du constat de vérification
Rédaction :	LETERRIER J-Christian 11/01/14

Objectif : ce document est le rapport de validation de notre feuille tableur permettant d'éditer le constat de vérification utilisé au laboratoire

Méthode : Comparaison entre les résultats du constat de vérification METTLER TOLEDO (figure 1) et les résultats du tableur Excel (figure 2).


IDENTIFICATION		DETENTEUR		
Marque :	RAININ	Nom :	Laboratoire Médocs	
Modèle :	Pipet Plus	Service :	Biochimie	
Type :	RL-100	Adresse :	Avenue Paul Doumer	
N° série :	12345678		75016 PARIS	
Gamme de volume :	10 – 100 µl			
Température début des essais :	19,1°C			
Température fin des essais :	20,1°C			
MESURES				
Volumes testés		10 µl	50 µl	100 µl
Pesée n°1	m_1	10,01 mg	50,06 mg	100,11 mg
Pesée n°2	m_2	10,00 mg	50,01 mg	100,02 mg
Pesée n°3	m_3	10,01 mg	50,05 mg	100,10 mg
Pesée n°4	m_4	10,01 mg	50,05 mg	100,09 mg
Pesée n°5	m_5	9,97 mg	49,85 mg	99,70 mg
Pesée n°6	m_6	9,97 mg	49,87 mg	99,73 mg
Pesée n°7	m_7	9,95 mg	49,77 mg	99,53 mg
Pesée n°8	m_8	10,01 mg	50,07 mg	100,14 mg
Pesée n°9	m_9	9,98 mg	49,91 mg	99,81 mg
Pesée n°10	m_{10}	10,05 mg	50,27 mg	100,53 mg
CALCULS				
Masse moyenne		9,998 mg	49,988 mg	99,976 mg
Volume moyen		10,026 µl	50,131 µl	100,262 µl
Erreur systématique (e_s)		0,026 µl	0,131 µl	0,262 µl
Erreur aléatoire (s)		0,26 %	0,26 %	0,26 %
Erreur aléatoire (s)		0,029 µl	0,144 µl	0,289 µl
Coefficient de variation (CV)		0,29 %	0,29 %	0,29 %
Incertitude de mesure U ($k = 2$)		± 0,022 µl	± 0,11 µl	± 0,22 µl
SPECIFICATIONS DU CONSTRUCTEUR				
Erreur systématique (e_s)		± 0,3 µl	± 0,4 µl	± 0,8 µl
		± 3 %	± 0,8 %	± 0,8 %
Erreur aléatoire (s)		± 0,10 µl	± 0,10 µl	± 0,20 µl
Erreur aléatoire CV		± 1 %	± 0,20 %	± 0,20 %
SPECIFICATIONS ISO 8655				
Erreur systématique (e_s)		± 0,8 µl	± 0,8 µl	± 0,8 µl
		± 8 %	± 1,6 %	± 0,8 %
Erreur aléatoire (s)		± 0,3 µl	± 0,3 µl	± 0,3 µl
Erreur aléatoire CV		± 0,3 %	± 0,3 %	± 0,3 %
Pipette CONFORME à la procédure ABC/1234/V2 =>		OUI : <input checked="" type="checkbox"/>	NON : <input type="checkbox"/>	
Nom de l'opérateur :	Andrée CAMUS	Température moyenne :	20,0°C	
Date :	02/09/02	Pression atmosphérique :	1013 hPa	
Balance N° :	MT - Labo 1	Humidité relative :	50%	
Échelon réel :	0,01 mg			

Figure 4

	Rapport de validation du constat de vérification
Rédaction :	LETERRIER J-Christian 11/01/14

Constat de vérification N°	Détenteur	
pipette référence laboratoire	j07	Nom LBM COCHIN
		Service HORMONOLOGIE
		Adresse 27 rue du bourg St JACQUES
mesures		
volume testés	50 µl	100 µl
Pesées n° 1	50,06	100,11
Pesées n° 2	50,01	100,02
Pesées n° 3	50,05	100,1
Pesées n° 4	50,05	100,09
Pesées n° 5	49,85	99,7
Pesées n° 6	49,87	99,73
Pesées n° 7	49,77	99,53
Pesées n° 8	50,07	100,14
Pesées n° 9	49,91	99,81
Pesées n° 10	50,27	100,53
Calculs		
Volume testés	50,00 µl	100,26 µl
Volume moyen	50,13 µl	99,81 µl
Volume minimal	49,91 µl	99,81 µl
Volume maximal	50,41 µl	100,81 µl
Erreurs systématique	0,26 %	0,26 %
Erreur aléatoire	0,29 %	0,29 %
Spécifications du laboratoire		
Erreur Systématique (%) tolérée ±2%	2 %	
Erreur Aléatoire (%) tolérée ±1%	1 %	
Statut de la conformité selon Procédure Réf:	répétitivité ok	répétitivité ok
	justesse ok	justesse ok
	conforme	conforme
Nom de l opérateur	A Durand	
Date	01/02/2014	Pression atmosphérique 100,1 kPa
Balance	Mettler toledo AT261	Humidité relative NA
		Coefficient Z: 1,0028

Figure 2

	Rapport de validation du constat de vérification
Rédaction :	LETERRIER J-Christian 11/01/14


Interprétation de l'étude de comparaison : les résultats obtenus sont identiques.

	tableur		mettler toledo	
	50 µl	100 µl	50 µl	100 µl
erreur systématique %	0,26	0,26	0,26	0,26
erreur aléatoire %	0,29	0,29	0,29	0,29

Conclusion : Au vu des résultats obtenus lors d l'utilisation du tableur et en comparaison avec le certificat de référence, aucune différence n'est noté.

Le tableur sera donc utilisé pour éditer les constats de vérification du laboratoire

Annexe IV facteur Z

	Z, FACTEUR DE CORRECTION POUR L'ETALONNAGE DES PIPETTES
Rédaction :	LETERRIER J-Christian le 18/03/14

Objectif : ce document est le rapport de validation de notre formule de calcul pour l'estimation du facteur de correction Z

Méthodologie : Nous avons calculé différentes valeurs de pression et de température avec le tableur en comparaison avec le tableau METTLER TOLEDO

Généralités : pour vérifier les pipettes on utilise la mesure de la masse du liquide prélevé (gravimétrie). En effet, au laboratoire, c'est la balance l'instrument le plus sensible dont on dispose. Le liquide utilisé est l'eau. Mais il faut ensuite transformer la masse pesée en volume. La masse volumique de l'eau pure désaérée dépend de la température. Par exemple à 22°C elle vaut 0,997768 g.mL⁻¹, à 4°C 1 g/mL. On devrait tenir compte, en particulier pour les faibles volumes, de l'évaporation de l'eau et corriger les volumes déterminés.

Utilisation d'Excel

Formule initiale théorique*

$$\mu_{\text{air}} = \frac{0,02897 \cdot p_{\text{Pa}}}{8,314 \cdot (t^{\circ}\text{C} + 273,15) \cdot 1000} = \frac{0,02897 \cdot p_{\text{kPa}}}{8,314 \cdot (t^{\circ}\text{C} + 273,15)} \text{ (en g/mL)}$$

$$Z = \frac{1}{(-6,12 \cdot 10^{-6} \cdot (t^{\circ}\text{C} - 4)^2 + 0,99981) - \left(\frac{0,02897 \cdot p}{8,314 \cdot (t^{\circ}\text{C} + 273,15) \cdot 1000} \right)} \cdot \left(1 - \frac{0,02897 \cdot p}{8,314 \cdot (t^{\circ}\text{C} + 273,15) \cdot 1000} \right)$$

Formulation Excel pour le calcul en pratique¹

formule	recopiée =1/((-0,00000612*(\$A4-4)^2+0,9998)-(0,02897*BS3/(8,314*(\$A4+273,15)))/1000)
	(Z = 1/(masse volumique de l'eau - masse volumique de l'air)

¹ les formules sont disponibles sur le site <http://www.techmicrobio.eu/>

Z, FACTEUR DE CORRECTION POUR L'ETALONNAGE DES PIPETTES

Rédaction :

LETERRIER J-Christian le 18/03/14

VALEURS TYPIQUES DU FACTEUR Z


Facteur combiné Z ($\mu\text{l}\cdot\text{mg}^{-1}$) pour la correction de poussée de l'air sec et la conversion de la masse en volume en fonction de la température et de la pression d'air.

Température en °C	Pression d'air en hPa						
	800	850	900	950	1000	1013	1050
15.0	1,0017	1,0018	1,0019	1,0019	1,0020	1,0020	1,0020
15.5	1,0018	1,0019	1,0019	1,0020	1,0020	1,0020	1,0021
16.0	1,0019	1,0020	1,0020	1,0021	1,0021	1,0021	1,0022
16.5	1,0020	1,0020	1,0021	1,0021	1,0022	1,0022	1,0022
17.0	1,0021	1,0021	1,0022	1,0022	1,0023	1,0023	1,0023
17.5	1,0022	1,0022	1,0023	1,0023	1,0024	1,0024	1,0024
18.0	1,0022	1,0023	1,0023	1,0024	1,0025	1,0025	1,0025
18.5	1,0023	1,0024	1,0024	1,0025	1,0025	1,0026	1,0026
19.0	1,0024	1,0025	1,0025	1,0026	1,0026	1,0027	1,0027
19.5	1,0025	1,0026	1,0026	1,0027	1,0027	1,0028	1,0028
20.0	1,0026	1,0027	1,0027	1,0028	1,0028	1,0029	1,0029
20.5	1,0027	1,0028	1,0028	1,0029	1,0029	1,0030	1,0030
21.0	1,0028	1,0029	1,0029	1,0030	1,0031	1,0031	1,0031
21.5	1,0030	1,0030	1,0031	1,0031	1,0032	1,0032	1,0032
22.0	1,0031	1,0031	1,0032	1,0032	1,0033	1,0033	1,0033
22.5	1,0032	1,0032	1,0033	1,0033	1,0034	1,0034	1,0034
23.0	1,0033	1,0033	1,0034	1,0034	1,0035	1,0035	1,0036
23.5	1,0034	1,0035	1,0035	1,0036	1,0036	1,0036	1,0037
24.0	1,0035	1,0036	1,0036	1,0037	1,0037	1,0038	1,0038
24.5	1,0037	1,0037	1,0038	1,0038	1,0039	1,0039	1,0039
25.0	1,0038	1,0038	1,0039	1,0039	1,0040	1,0040	1,0040
25.5	1,0039	1,0040	1,0040	1,0041	1,0041	1,0041	1,0042
26.0	1,0040	1,0041	1,0041	1,0042	1,0042	1,0043	1,0043
26.5	1,0042	1,0042	1,0043	1,0043	1,0044	1,0044	1,0044
27.0	1,0043	1,0044	1,0044	1,0045	1,0045	1,0045	1,0046
27.5	1,0045	1,0045	1,0046	1,0046	1,0047	1,0047	1,0047
28.0	1,0046	1,0046	1,0047	1,0047	1,0048	1,0048	1,0048
28.5	1,0047	1,0048	1,0048	1,0049	1,0049	1,0050	1,0050
29.0	1,0049	1,0049	1,0050	1,0050	1,0051	1,0051	1,0051
29.5	1,0050	1,0051	1,0051	1,0052	1,0052	1,0052	1,0053
30.0	1,0052	1,0052	1,0053	1,0053	1,0054	1,0054	1,0054

Table référence de la valeur de Z (= f (température, pression))

Résultat :

vérification du calcul de Z			
Température en °C	Pression en Kpa	tableur	tableau Mettler Tole-
15	90	1,0019	1,0019
20	95	1,0028	1,0028
23	100	1,0034	1,0035
26	101,3	1,0042	1,0043
30	105	1,0054	1,0054

 <p>Hôpitaux Universitaires Paris Centre COCHIN BROCA HÔTEL-DIEU</p>	<p>Z, FACTEUR DE CORRECTION POUR L'ETALONNAGE DES PIPETTES</p>
<p>Rédaction :</p>	<p>LETERRIER J-Christian le 18/03/14</p>

Conclusion : Au vu des résultats obtenus lors d l'utilisation de la formule appliquée dans le tableur et en comparaison avec table de valeur référence de METTLER TOLEDO, aucune différence n'est notée. La formule appliquée dans le tableur est parfaitement fonctionnelle et peut être utilisée sans réserve

Annexe V Guide des bonnes techniques de pipetage

	Guide des bonnes techniques de pipetage
Rédaction :	LETERRIER J-Christian le 15/04/14

Bonnes techniques de pipetage

15/03/14

Rédaction:jchristian.leterrier

Fiche N° 1

Adaption des cônes et uniformité

Conseil n°1 : Constance du pipetage

Maintenez un rythme, une vitesse et une technique constants au moment d'appuyer et de relâcher le piston.

Une aspiration trop rapide peut provoquer des contaminations de l'embout et du piston par des éclaboussures ou des aérosols, ainsi que des pertes de volume de l'échantillon.

Un pipetage constant peut augmenter la précision jusqu' 5%.



Sommaire :

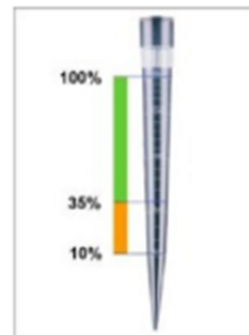
- Une bonne technique de pipetage est indispensable pour obtenir les meilleurs résultats. Ces informations de bonnes pratiques de pipetage vous donnent conseils et astuces pour une performance optimale.

Conseil n°2 : Remplissage des cônes

Bien qu'un cône courant présente une plage de volumes de 10% à 100% du volume nominal (volume maximum du cône), la meilleure précision est obtenue dans une plage de volumes réduits de 35% à 100%.

En pipetant dans ce volume réduit, la technique de l'opérateur a moins d'incidence et les résultats sont améliorés d'environ 1%.

Les meilleurs résultats sont obtenus à 50% du volume nominal.



Bonnes techniques de pipetage

15/03/14

Rédaction:christian.letterier

Fiche N° 2

**Volumètre et Angle d'immersion
 - Bonnes pratique**

Conseil n° 3: Angle d'Immersion Vertical pendant l'Aspiration

Appliquez un angle d'immersion le plus proche possible de la verticale, sinon la hauteur de la colonne de liquide sera inférieure à celle du calibrage et le volume aspiré sera plus grand.

Au moment de la distribution, le cône devrait former un léger angle avec la paroi du récipient pour assurer l'éjection de la totalité de l'échantillon. Adopter une position verticale peut améliorer le pipetage jusqu'à 2%, notamment avec les pipettes micro-volumes



Sommaire :

- Une bonne technique de pipetage est indispensable pour obtenir les meilleurs résultats. Ces informations de bonnes pratiques de pipetage vous donnent conseils et astuces pour une performance optimale.

Conseil n°4: Réglage Cohérent du Volumètre

Réglez toujours votre volumètre dans la même direction : de préférence du haut vers le bas.

Lorsque vous réglez le volumètre d'un volume haut vers un volume inférieur, ajustez vers le bas jusqu'au volume souhaité. Lorsque vous réglez d'un volume bas vers un volume plus élevé, tournez le volumètre en dépassant le volume souhaité et ajustez en descendant doucement. Ceci évitera l'effet de rebond mécanique.



Un réglage correct du volumètre améliore la précision jusqu'à 0,5%.

Bonnes techniques de pipetage

15/03/14

Rédaction:jchristian.letterier

Fiche N° 3

Immersion du cône et technique de distribution

Conseil n° 5: L'immersion du cône

La profondeur d'immersion du cône est particulièrement importante quand il s'agit de pipettes microvolume. Une immersion trop profonde augmente la pression dans le cône, et peut provoquer l'entrée du liquide dans le cône avant même l'opération de pipetage. De plus, le liquide retenu sur la surface externe du cône peut engendrer des erreurs. Mais si le cône n'est pas assez immergé, l'air risque d'être aspiré, causant des bulles dans l'échantillon et un volume incorrect. Une immersion correcte du cône permet jusqu'à



Taille du cône de la pipette	Profondeur idéale d'immersion
2 & 10 µl	1mm
20 & 100 µl	2-3 mm
200 & 1000 µl	3-6 mm
5000 & 10000 µl	6-10 mm

Sommaire :

- Une bonne technique de pipetage est indispensable pour obtenir les meilleurs résultats. Ces informations de bonnes pratiques de pipetage vous donnent conseils et astuces pour une performance optimale.

Conseil n°6: La technique de distribution

Dans la plupart des applications il est recommandé de distribuer l'échantillon en appliquant le cône contre la paroi du récipient pour éviter l'effet de goutte. Ceci réduit également le risque d'une aspiration accidentelle de liquide après la distribution de l'échantillon. On obtient ainsi jusqu'à 1% d'amélioration des résultats.

On peut aussi distribuer l'échantillon directement à la surface du liquide. Dans ce cas, il est conseillé d'utiliser cône à paroi fine, comme un cône « FinePoint ».



Si l'échantillon est distribué directement dans le liquide, le pipetage « reverse » est recommandé pour éviter la remontée du liquide dans la pipette

Bonnes techniques de pipetage

15/03/14

Rédaction: jchristian.letterrier

Fiche N° 4

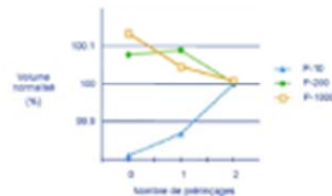
Pré-rinçage et exceptions

Conseil n° 7: Le pré-rinçage des cônes

Il est recommandé de pré-rincer les cônes de pipette deux fois pour équilibrer le film de liquide adhérent à l'intérieur de la pipette. Le «pré-rinçage» présente d'autres avantages : cette opération permet de neutraliser les effets capillaires des pipettes micro-volume ou d'adapter l'air contenu dans la pipette à la température de l'échantillon pour des pipettes macro-volume.

- ◆ Pré-rincez le cône précisément avec le liquide à dispenser
- ◆ Aspirez le liquide avec le cône et réinjectez le dans le récipient ou jetez-le
- ◆ Le pré-rinçage crée des surfaces de contact identiques pour tous les aliquotes

Pour les liquides aqueux deux pré-rinçages augmentent déjà la précision de 0,2% au maximum



Sommaire :

- Une bonne technique de pipetage est indispensable pour obtenir les meilleurs résultats. Ces informations de bonnes pratiques de pipetage vous donnent conseils et astuces pour une performance optimale.

Conseil n°8: Exceptions au pré-rinçage

Tandis que dans la plupart des cas le pré-rinçage augmente la précision, il peut également affecter négativement les résultats quand il s'agit de pipeter des solutions très chaudes ou très froides.

Ces cas exceptionnels, dans lesquels il est préférable d'éviter tout pré-rinçage, sont les suivants :

- ◆ pipetage de solutions très froides (p.ex. un bain de glace)
- ◆ pipetage de solutions chaudes (37°C degrés ou plus)

Pré-rincer des solutions chaudes ou froides peut causer des erreurs pouvant atteindre 5%.

Pour de tels cas, envisagez d'utiliser une goutte à déplacement positif.



Bonnes techniques de pipetage

15/03/14

Rédaction:christian.letterier

Fiche N° 5

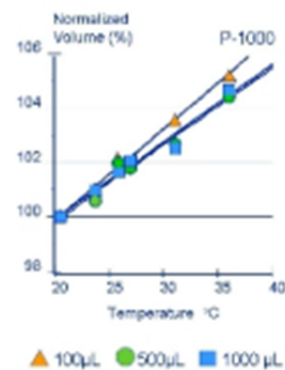
Température stable et stockage des pipettes

Conseil n° 9 : Une température stable

Pipetez à une température ambiante constante, environ 21,5 °C qui correspond à la température de la vérification gravimétrique.

Évitez autant que possible les changements de température brusques et de grande amplitude, car l'air contenu dans la pipette ne peut pas s'adapter rapidement et, en conséquence, modifié le volume de l'échantillon.

Pipeter à une température constante améliore les résultats jusqu'à 5%.



Sommaire :

- Une bonne technique de pipetage est indispensable pour obtenir les meilleurs résultats. Ces informations de bonnes pratiques de pipetage vous donnent conseils et astuces pour une performance optimale.

Conseil n° 10 : Le stockage des pipettes

Évitez de poser vos pipettes dans des tiroirs ou sur la paillasse du laboratoire, vous risquez de rayer l'embout et de nuire à l'étanchéité du cône.

De plus, un résidu de liquide pourrait pénétrer dans l'embout et contaminer la pipette.

En rangeant la pipette en position verticale, vous éviterez des erreurs aux conséquences incalculables et vous préserverez votre outil de travail.



Bonnes techniques de pipetage

15/03/14

Rédaction: jchristian.letterrier

Fiche N° 6

Temps d'immersion et taux d'aspiration

Conseil n° 11 : Temps d'immersion des cônes

Pour l'aspiration de l'échantillon dans le cône, le temps d'immersion est un critère déterminant pour une bonne technique de pipetage.

Après avoir relâché lentement le bouton du piston, attendez un instant avant de retirer le cône de l'échantillon que le volume soit aspiré intégralement dans le cône.

En cas d'échantillons plus importants ou de substances visqueuses, il est conseillé d'attendre plus longtemps car la chambre à air de la pipette prend environ une seconde pour compenser la pression



Sommaire :

- Une bonne technique de pipetage est indispensable pour obtenir les meilleurs résultats. Ces informations de bonnes pratiques de pipetage vous donnent conseils et astuces pour une performance optimale.

Conseil n° 12 : Taux d'aspiration

Le taux d'aspiration d'une pipette peut varier et influencer considérablement la précision des résultats.

C'est pourquoi nous conseillons de relâcher doucement et de façon contrôlée le bouton du piston de la pipette.

La conséquence la plus fréquente d'un relâchement trop rapide du bouton de piston est la pénétration d'aérosols dans l'embout, phénomène susceptible de détériorer des parties de la pipette.

De plus, le fluide peut gicler, ce qui est une conséquence encore plus grave. Si le fluide est corrosif, il peut détériorer l'embout et contaminer les échantillons.



Bonnes techniques de pipetage

15/03/14

Rédaction: christian.letterier

Fiche N° 7



Pipetage inversé

Conseil n° 13 : Pipetage inversé

L'aspiration et la distribution précise et exacte de fluides visqueux et très denses avec la pipette constituait de tout temps un problème pour les scientifiques.

Le mode de pipetage inversé est une excellente solution : pour aspirer l'échantillon, vous appuyez sur le piston jusqu'à la position d'éjection du liquide.

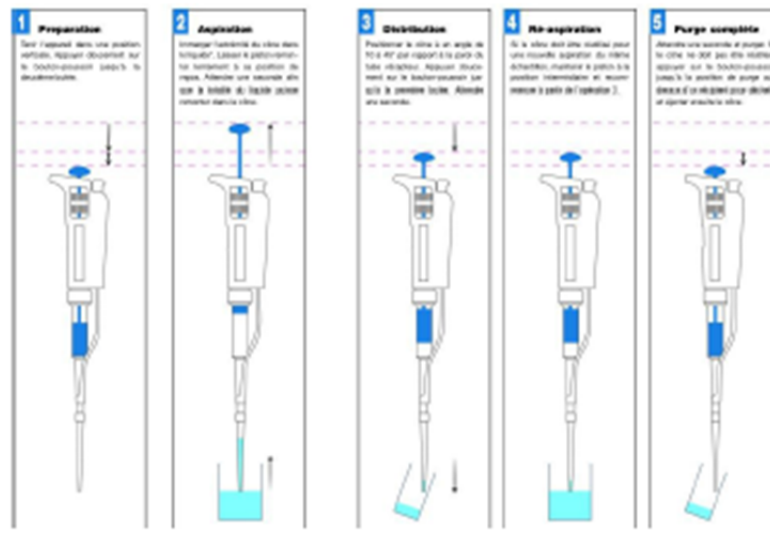
Le volume souhaité additionné d'un excédent de fluide est aspiré dans le cône.

Pour distribuer le fluide, le piston est uniquement appuyé jusqu'à la position de départ. De cette façon, le fluide reste dans le cône lorsque vous distribuer. En cas de liquides biologiques, visqueux ou moussants, le pipetage inversé fournit des résultats encore plus précis.

Sommaire :

- Une bonne technique de pipetage est indispensable pour obtenir les meilleurs résultats. Ces informations de bonnes pratiques de pipetage vous donnent conseils et astuces pour une performance optimale.

Pipetage inversé : méthode



Bonnes techniques de pipetage

15/03/14

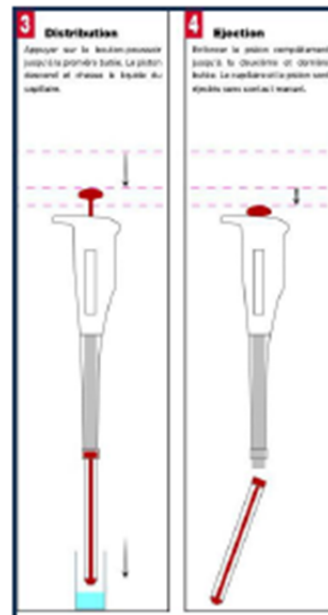
Rédaction:christian.letterier

Fiche N° 8

Pipette à déplacement positif

la pipette Pos-D (modèle METTLER TOLEDO)

- Pipetage facile de liquides délicats :
- la pipette Pos-D est spécialement conçue pour les liquides denses, visqueux ou volatils. Un piston jetable qui se déplace dans un capillaire plastique est en contact direct avec le liquide.
- L'action d'essuyage positif du piston contre la paroi du capillaire garantit la distribution totale des gouttelettes.
- Avec les pistons et capillaires jetables, le déplacement positif permet de supprimer absolument tout risque de contamination croisée par les aérosols, échantillons ou pipettes.
- Les capillaires préassemblés sont faciles d'utilisation et s'adaptent également aux produits Gilson Microman®.



La figure ci-dessus ne représente pas Le modèle METTLER TOLEDO


Sommaire :

- Une bonne technique de pipetage est indispensable pour obtenir les meilleurs résultats. Ces informations de bonnes pratiques de pipetage vous donnent conseils et astuces pour une performance optimale.

Avantages:

- Prise facile. Avec crochet.
- Toucher doux. Conception ergonomique.
- Contrôle du volume. Écran toujours lisible.
- Facile à charger. Capillaires préassemblés en portoirs.

Annexe VI critère de CHAUVENET

	Elimination des valeurs aberrantes
Rédaction :	LETERRIER J-Christian le 18/03/14



Laboratoire d hormonologie

Examen critique et physique des valeurs aberrantes

18/03/14

Références :

[1] "Tables statistiques", Revue de Statistique Appliquée, 1973.

PLATEL F., « Calcul symbolique sur ordinateur - Projet PFS-Algebraic Calculator », MetGen, Dossier divers

<http://metgen.pagesperso-orange.fr/>

Elimination de mesures - Le critère de Chauvenet

Toute personne ayant effectué des mesures de répétabilité a forcément été confrontée un jour à une mesure « suspecte ». « Suspecte » parce qu'elle semblait s'éloigner beaucoup trop des autres mesures, ce qui incitait à penser qu'une erreur était survenue lors de la mesure. Il est toutefois délicat d'éliminer une valeur puisque les probabilités nous enseignent que dans le cas d'une loi normale toute valeur est possible.

Ainsi le fait de retirer une valeur au motif qu'elle semble trop s'éloigner des autres pourrait alors être perçu comme une forme de malhonnêteté scientifique, une volonté de « trafiquer » des résultats (en particulier pour améliorer l'incertitude).

Dans une pareille situation, il faudrait idéalement analyser la mesure effectuée pour déceler une éventuelle erreur ou effectuer un grand nombre de mesures supplémentaires pour la confirmer ou l'infirmer (ce qui justifierait alors son retrait). Cela n'est malheureusement pas toujours possible.

Le critère de CHAUVENET apporte une réponse robuste à ce problème en considérant la probabilité d'obtenir la mesure jugée suspecte. Toutefois, il importe de conserver à l'esprit que la décision finale de conserver ou supprimer une mesure est de la responsabilité de l'opérateur.

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$
$$\sigma_x = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

Elimination des valeurs aberrantes

Rédaction :

LETERRIER J-Christian le 18/03/14

Calculs :

Soit (x_1, \dots, x_n) un ensemble de n mesures et k $(1, \dots, n)$. Supposons que l'on ait un doute sur la mesure x_k .

On commence par calculer la moyenne (\bar{x}) et l'écart type (σ_x) de l'échantillon :

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

$$\sigma_x = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

Ensuite, on calcule le nombre d'écart types (t_k) par lesquels la valeur suspecte s'éloigne de la moyenne

$$t_k = \frac{|x_k - \bar{x}|}{\sigma_x}$$

Tableau des probabilités

*Les valeurs en noirs serviront dans l'application numérique à suivre.

Puis on calcule la probabilité (Pk) d'obtenir la valeur x_k à l'aide du tableau 1

Tableau 1
 Probabilité d'obtenir une valeur entre $\pm t$ écarts types (pour obtenir P_t , on calcule : $P_t = 1 -$ lecture du tableau / 100). Les valeurs du tableau ont été calculées à partir de la référence [1] (voir plus haut)

On calcule enfin le nombre théorique de valeurs (nk) correspondant que l'on devrait avoir dans l'échantillon par la formule :

$$nk = n \times P_k$$

D'après le critère de Chauvenet, x_k peut être éliminée si $nk < 0,5$.

t_k	0	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
0	0	0,8	1,6	2,4	3,2	3,98	4,78	5,58	6,38	7,18
0,1	7,96	8,76	9,56	10,34	11,14	11,92	12,72	13,5	14,28	15,06
0,2	15,86	16,64	17,42	18,2	18,96	19,74	20,52	21,28	22,06	22,82
0,3	23,58	24,34	25,1	25,86	26,62	27,36	28,12	28,86	29,6	30,34
0,4	31,08	31,82	32,56	33,28	34	34,72	35,44	36,16	36,88	37,58
0,5	38,3	39	39,7	40,38	41,08	41,76	42,46	43,14	43,8	44,48
0,6	45,14	45,8	46,48	47,14	47,78	48,44	49,08	49,72	50,34	50,98
0,7	51,6	52,22	52,84	53,46	54,08	54,68	55,28	55,88	56,46	57,04
0,8	57,62	58,2	58,78	59,34	59,9	60,46	61,02	61,56	62,12	62,66
0,9	63,18	63,72	64,24	64,76	65,28	65,78	66,3	66,8	67,3	67,78
1	68,26	68,76	69,22	69,7	70,16	70,62	71,08	71,54	71,98	72,42
1,1	72,86	73,3	73,72	74,16	74,58	74,98	75,4	75,8	76,2	76,6
1,2	76,98	77,38	77,76	78,14	78,5	78,88	79,24	79,6	79,94	80,3
1,3	80,64	80,98	81,32	81,64	81,98	82,3	82,62	82,94	83,24	83,54
1,4	83,84	84,14	84,44	84,72	85,02	85,3	85,58	85,84	86,12	86,38
1,5	86,64	86,9	87,14	87,4	87,64	87,88	88,12	88,36	88,58	88,82
1,6	89,04	89,26	89,48	89,68	89,9	90,1	90,3	90,5	90,7	90,9
1,7	91,08	91,28	91,46	91,64	91,82	91,98	92,16	92,32	92,5	92,66
1,8	92,82	92,98	93,12	93,28	93,56	93,72	93,86	93,98	94,12	
1,9	94,26	94,38	94,52	94,64	94,78	94,88	95	95,12	95,22	95,34
2	95,44	95,58	95,66	95,76	95,86	95,96	96,06	96,16	96,24	96,34
2,1	96,42	96,52	96,6	96,68	96,76	96,84	96,92	97	97,08	97,14
2,2	97,22	97,28	97,36	97,42	97,5	97,56	97,62	97,68	97,74	97,8
2,3	97,86	97,92	97,96	98,02	98,08	98,12	98,18	98,22	98,26	98,32
2,4	98,36	98,4	98,44	98,5	98,54	98,58	98,62	98,64	98,68	98,72
2,5	98,76	98,8	98,82	98,86	98,9	98,92	98,96	98,98	99,02	99,04
2,6	99,06	99,1	99,12	99,14	99,18	99,2	99,22	99,24	99,26	99,28
2,7	99,3	99,32	99,34	99,36	99,38	99,4	99,42	99,44	99,46	99,48
2,8	99,48	99,5	99,52	99,54	99,54	99,56	99,58	99,58	99,6	99,62
2,9	99,62	99,64	99,64	99,66	99,68	99,68	99,7	99,7	99,72	99,72

Tableau 1

Elimination des valeurs aberrantes

Rédaction :

LETERRIER J-Christian le 18/03/14

Application numérique



Ne pas perdre
La main

Supposons que la mesure de la température d'un bain à l'aide d'un thermomètre à dilatation donne les valeurs reproduites dans le tableau 2.

Mesure n° i	Valeur xi
1	35,9 °C
2	36,0 °C
3	36,0 °C
4	36,2 °C
5	36,1 °C
6	35,2 °C

tableau 2.
Mesures de la température du bain thermostatique.

Calculons:



Vigilance
Avoir l'œil

La valeur $x_6 = 35,2$ °C est jugée « suspecte ». Peut-on l'éliminer ?

On commence par calculer la moyenne et l'écart type :

$$\bar{x} = 35,9 \text{ °C}$$

$$s = 0,36 \text{ °C}$$

Puis on calcule : Voir ci contre

$$t_0 = \frac{|x_6 - \bar{x}|}{s} = 1,94$$

ce qui permet de déduire, d'après le tableau 1 : $P_0 = 1 - 94,76 / 100 = 0,0524$.

Application dans Excel

Pour simplifier la mise en œuvre de cette démarche, nous utiliserons le tableur Excel pour faire les calculs .

1	valeur suspecte	35,2
2	nombre de valeurs de la série	6
3	calculs	
	moyenne	35,9
	écart type	0,36
4	calcul T0	
	T0	1,94
5	calculs tables	
	chi2	1,9
	écart type	0,36
	type	20
	colonne	5
	résultat	0,0524
6	calcul probabilité P0	
	P0	0,0524
7	calcul t0	
	t0	1,94

la mesure peut être éliminée

méthode

Zone 1
entrer la valeur suspecte

Zone 2
le nombre de valeurs de la série (3) pour la méthode gravimétrique selon BSI

Zone 3
la valeur de la moyenne et l'écart type
le calcul de T0 s'effectue

Zone 4
calcul automatique

Zone 5
exemple si T0 = 1,94


si on mettra
chi2=1,9
écart type=0,36

à la fin le rapport s'effectue

La mesure peut être éliminée
si la mesure doit être conservée


Remplir les valeurs concernées . (voir copie d'écran)

Annexe VII optimisation des intervalles de confirmation métrologique

 <p>Hôpitaux Universitaires Paris Centre COCHIN BROCA HÔTEL-DIEU</p>	Optimisation des intervalles de confirmation métrologique des équipements de mesure
Rédaction :	KAVIAN Niloufar / LETERRIER J-Christian 14/03/2014

Objectif : ce document est l'adaptation de la norme (FD_X07_014, 2006) qui propose une méthode d'optimisation et de justification des intervalles de confirmation métrologiques des équipements de mesure.

Méthode : pages suivantes

	Optimisation des intervalles de confirmation métrologique des équipements de mesure
Rédaction :	KAVIAN Niloufar / LETERRIER J-Christian 14/03/2014

On suppose qu'on dispose de $m \geq 10$ pipettes P_j (pour $1 \leq j \leq m$) de volume nominal égal à V_{nom} . Comme exemple on peut supposer que V_{nom} est égal à 20ml, mais l'essentiel est d'exprimer les volumes qui interviennent dans la suite dans les mêmes unités.

1 Détermination du volume mesuré pour une pipette

Pour calibrer une pipette, la première étape consiste à obtenir une valeur mesurée V_{mes} de la manière suivante. On fixe un nombre $\ell \geq 5$, par exemple $\ell = 10$ puis :

- 1) Pour $1 \leq k \leq \ell$ fixé, on fait ℓ fois l'opération suivante. On prend un volume V_{nom} d'eau pure à *température constante et dont la densité est connue et constante égale à ρ* .
- 2) On pèse ce volume d'eau V_{nom} avec une balance calibrée et supposée précise, qui donne une masse mesurée de ce volume d'eau égale à $\mu_{\text{mes},k}$.
- 3) Le volume mesuré sera égal à

$$V_{\text{mes},k} := \frac{\mu_{\text{mes},k}}{\rho}.$$

- 4) On calcule la moyenne de ces volumes mesurés en définissant :

$$V_{\text{mes}} := \frac{1}{\ell} \sum_{k=1}^{\ell} V_{\text{mes},k}$$


Dans la suite V_{mes} se réfère à une mesure obtenue de cette manière. On peut aussi, si on souhaite déterminer des intervalles de confiance des mesures, calculer d'autres valeurs telles que le volume mesuré maximal, le volume mesuré minimal, le volume mesuré median. Par exemple

$$V_{\text{mes}}^{\max} := \max_{1 \leq k \leq \ell} V_{\text{mes},k} ; V_{\text{mes}}^{\min} := \min_{1 \leq k \leq \ell} V_{\text{mes},k} ; V_{\text{mes}}^{\text{med}} := \text{mediane} \{V_{\text{mes},1}, \dots, V_{\text{mes},\ell}\}.$$

2 Détermination de la dérive pour une seule pipette

L'étape suivante consiste à déterminer la dérive des mesures dans le temps, c'est-à-dire la vitesse à laquelle V_{mes} se différencie de V_{nom} : on considère une pipette P_j pour un indice j (avec $1 \leq j \leq n$ fixé).

- 1) Sur une durée de temps T (par exemple 12 mois) à intervalle régulier $\tau = T/n$ on détermine V_{mes} , et on notera $V_{\text{mes}}(k)$ la valeur obtenue à la période $k \tau$ (avec $1 \leq k \leq n$).

	Optimisation des intervalles de confirmation métrologique des équipements de mesure
Rédaction :	KAVIAN Niloufar / LETERRIER J-Christian 14/03/2014

2

n). Par exemple on peut prendre $T = 12$ mois et $\tau = 1$ mois, c'est-à-dire $n = 12$: dans ce cas on aura 12 valeurs $V_{\text{mes}}(1), \dots, V_{\text{mes}}(12)$.

- 2) On détermine la droite de régression, par la méthode des moindres carrés, des mesures $V_{\text{mes}}(1), \dots, V_{\text{mes}}(n)$ associées aux temps $\tau, \dots, n\tau$, autrement dit la droite qui approche le mieux le nuage de points

$$(\tau, V_{\text{mes}}(1)), \dots, (n\tau, V_{\text{mes}}(n))$$

dans un plan où l'axe des abscisses représente le temps t et l'axe des ordonnées représente le volume V .

- 3) Cette droite a la formule suivante pour la pipette P_j

$$V = D_j t + V_{0j} \quad (1)$$

où D_j représente la *dérive dans le temps* de la pipette P_j , et t représente le temps (exprimé dans la même unité que T et τ). Dans l'exemple précédent, les volumes étant représentés en milli-litres et le temps étant mesuré en mois, D_j est représenté en ml/mois

On effectue cette détermination pour toutes les pipettes P_j pour $1 \leq j \leq m$. On a ainsi à disposition m valeurs de dérives

$$D_1, \dots, D_m.$$

3 Etude des dérives


Les dérives des pipettes étant déterminées par la méthode décrite au **paragraphe 2**, on réalise un test pour vérifier si la distribution des dérives suit à peu près une loi de distribution normale.

Ensuite, on calcule la moyenne D_{moy} des dérives D_1, \dots, D_m , ainsi que leur écart-type expérimental σ :

$$D_{\text{moy}} := \frac{1}{m} \sum_{j=1}^m D_j \quad \text{et} \quad \sigma := \left(\frac{1}{m} \sum_{j=1}^m (D_j - D_{\text{moy}})^2 \right)^{1/2}.$$

Il s'agit maintenant de fixer un *intervalle de confiance* pour que la dérive réelle d'un échantillon de pipettes soit autour de cette valeur D_{moy} : cet intervalle de confiance s'écrit sous la forme

$$I_{\text{conf}} := [D_{\text{moy}} - \kappa \sigma, D_{\text{moy}} + \kappa \sigma]$$

	Optimisation des intervalles de confirmation métrologique des équipements de mesure
Rédaction :	KAVIAN Niloufar / LETERRIER J-Christian 14/03/2014

3

où le coefficient κ est fixé de manière que la probabilité p pour que la dérive réelle soit dans l'intervalle I_{conf} soit plus ou moins grande. Par exemple si $\kappa = 2$ alors la probabilité $p \geq 0.975$, c'est-à-dire qu'il y a une probabilité de 97.5% pour que la dérive réelle soit dans l'intervalle I_{conf} .

On définit alors une dérive maximale acceptable $D_{\text{max}}^{\text{acc}}$ comme étant la borne de l'intervalle I_{conf} qui a la plus grande valeur absolue : plus précisément

- i) si on sait a priori que les dérives sont négatives et D_{moy} calculé est négatif

$$D_{\text{max}}^{\text{acc}} := D_{\text{moy}} - \kappa \sigma.$$

- ii) Si on sait a priori que les dérives sont négatives mais D_{moy} calculé est positif

$$D_{\text{max}}^{\text{acc}} := -\kappa \sigma$$

- iii) Si on sait a priori que les dérives sont positives et D_{moy} calculé est positif

$$D_{\text{max}}^{\text{acc}} := D_{\text{moy}} + \kappa \sigma$$

- iv) Si on sait a priori que les dérives sont positives mais D_{moy} calculé est négatif

$$D_{\text{max}}^{\text{acc}} := \kappa \sigma$$

- v) Si a priori on ne peut donner aucun signe aux dérives, mais D_{moy} calculé est négatif

$$D_{\text{max}}^{\text{acc}} := D_{\text{moy}} - \kappa \sigma$$

- vi) Si a priori on ne peut donner aucun signe aux dérives, mais D_{moy} calculé est positif


$$D_{\text{max}}^{\text{acc}} := D_{\text{moy}} + \kappa \sigma$$

Maintenant, la périodicité τ_{per} de calibrage recommandée par l'AFNOR peut être déterminée de la manière suivante :

- 1) on suppose connues les valeurs suivantes

- i) V_{nom} le volume nominal indiqué au **paragraphe 1** ;
- ii) la dérive maximale acceptable $D_{\text{max}}^{\text{acc}}$;
- iii) l'erreur d'incertitude d'étalonnage E_{inc} des pipettes ;
- iv) la valeur maximale tolérée $V_{\text{tol}}^{\text{max}}$ et la valeur minimale tolérée $V_{\text{tol}}^{\text{min}}$ pour une pipette.

- 2) Si $D_{\text{max}}^{\text{acc}} > 0$ alors on considère que la périodicité de calibrage est

	Optimisation des intervalles de confirmation métrologique des équipements de mesure
Rédaction :	KAVIAN Niloufar / LETERRIER J-Christian 14/03/2014

4

$$\tau_{\text{per}} := \frac{V_{\text{tol}}^{\text{max}} - V_{\text{nom}} - E_{\text{inc}}}{D_{\text{max}}^{\text{acc}}}.$$

3) Si $D_{\text{max}}^{\text{acc}} < 0$ alors on considère que la périodicité de calibrage est

$$\tau_{\text{per}} := \frac{V_{\text{nom}} - E_{\text{inc}} - V_{\text{tol}}^{\text{min}}}{D_{\text{max}}^{\text{acc}}}.$$

Annexe VIII constat de vérification du laboratoire

date de réalisation 13/09/2014

Constat de vérification N°		Détenteur		
pipette référence laboratoire	j07	Nom	LBM COCHIN	
		Service	HORMONOLOGIE	
		Adresse	27 rue du bourg St JACQUES	
mesures				
volume testés	50 µl	100 µl		
Pesées n° 1	50,06	100,11		
Pesées n° 2	50,01	100,02		
Pesées n° 3	50,05	100,1		
Pesées n° 4	50,05	100,09		
Pesées n° 5	49,85	99,7		
Pesées n° 6	49,87	99,73		
Pesées n° 7	49,77	99,53		
Pesées n° 8	50,07	100,14		
Pesées n° 9	49,91	99,81		
Pesées n° 10	50,27	100,53		
Calculs				
Volume testés	50,00 µl	100,26 µl		
Volume moyen	50,13 µl	99,81 µl		
Volume minimal	49,91 µl	99,81 µl		
Volume maximal	50,41 µl	100,81 µl		
Erreurs systématique	0,26 %	0,26 %		
Erreur aléatoire	0,29 %	0,29 %		
Spécifications du laboratoire				
Erreur Systématique (%) tolérée ±2%	2 %			
Erreur Aléatoire (%) tolérée ±1%	1 %			
Statut de la conformité selon Procédure Réf:PC-HOR- METRO-001-01	répétitivité ok	répétitivité ok		
	justesse ok	justesse ok		
	conforme	conforme		
Nom de l'opérateur	A Durand			
Date	01/02/2014	Pression atmosphérique	100,1 kPa	
Balance	Mettler toledo AT261	Humidité relative		NA
		Coefficient Z:		1,0028

*Ce document ne peut pas être utilisé en lieu et place d'un certificat d'étalonnage
Ce document est réalisé suivant les recommandations du fascicule de documentation x07-011 Page 1 sur 1

Résumé

Tout laboratoire candidat à l'accréditation est soumis à la norme ISO 15189. Cette norme contient de nombreuses exigences, notamment la métrologie en fait partie.

Lors d'un audit interne, notre laboratoire n'a pas pu démontrer la parfaite maîtrise de la grandeur volume plus particulièrement sur le matériel micropipette.

Pour satisfaire aux écarts constatés, mon étude porte sur le processus métrologique où tous les éléments qui participent à la levée des écarts doivent être identifiés.

À ce jour, nous avons mis en place les documents nécessaires, qui assurent la maîtrise de la gestion documentaire : procédure, instruction technique et mode opératoire.

Pour le suivi métrologique, le matériel est enregistré dans une fiche de vie. Y sont associés les certificats d'étalonnage et les constats de vérification du laboratoire. Les correspondants métrologiques ont qualifié trois techniciens à la réalisation de ces constats.

Un axe à améliorer est l'achat de matériel raccordé pour effectuer une métrologie au plus proche de l'exigence attendue.

Pour le futur, il conviendra de programmer un audit pour valider notre travail et plus tard optimiser la périodicité des étalonnages et vérifications.