



Bonnes pratiques et métrologie autour des instruments d'analyses : pipette, pH-mètre, balance, centrifugeuse, thermocycleur

Les instruments d'analyses sont utilisés dans de nombreux domaines : industrie chimique, laboratoire d'analyse médicale et vétérinaire, laboratoire des eaux... Les pipettes, les pH-mètres, les balances, les centrifugeuses, et thermocycleurs sont les instruments les plus communs dans ces laboratoires. Il est difficile de gérer tous les instruments en même temps, d'avoir toutes les compétences requises pour chaque instrument. Le 18 Juin 2019, le Collège de Français de Métrologie organisait à Paris une journée technique sur le thème des instruments d'analyse avec un programme défini en collaboration avec Benoit Boudier du LDAR02, qui intégrait un expert de la pH-métrie, des industriels développant différents types d'instruments de mesure, et des cas d'usages industriels.

Après une courte introduction du CFM et de Benoit Boudier pour présenter le programme, c'est **Raphaël Paulin, aujourd'hui consultant indépendant, qui a ouvert la journée sur le thème des pipettes et de leur bonne utilisation, de leur contrôle et de la métrologie associée.**

Il passe tout d'abord en revue les différents types de pipettes (A à piston à déplacement d'air, D1 à déplacement positif avec piston réutilisable et D2 à déplacement positif avec piston/capillaire jetable). Il rappelle que les pipettes à volume variables présentent leurs meilleures performances au volume nominal. Il recommande d'utiliser les cônes de la même marque que celle de la pipette. Il rappelle les bonnes pratiques d'utilisation : pipette tenue verticalement, geste doux et lent, l'extrémité du cône ne devant pas toucher la paroi intérieure du réservoir, en respectant une profondeur d'immersion et un temps d'attente en fin de remplissage adaptés au volume prélevé. Il insiste sur la question importante à se poser pour chaque pipette : doit-elle subir un(e) étalonnage/vérification ? Il s'agit de déterminer la criticité de l'utilisation. Si elle impacte sur le résultat d'analyse, la réponse est positive. Dans le cas contraire, si elle est destinée par exemple à faire du transfert de liquide uniquement, elle n'est pas considérée comme critique et la réponse est négative. Raphaël Paulin présente ensuite les trois méthodes d'étalonnage : gravimétrie (méthode de référence), colorimétrie et titrimétrie. La méthode gravimétrique est détaillée avec en particulier les points d'étalonnage, le nombre de mesures, les EMT, la périodicité, le raccordement (interne ou externe). Un diagramme 5M est présenté permettant d'identifier les causes d'erreur pour ensuite réaliser le bilan d'incertitudes, dont un exemple est présenté. Des références particulières à la norme ISO 8655 sont rappelées.

C'est ensuite **Christophe Delzongle de Sartorius qui présente les balances avec une présentation intitulée : « Balances : Principes – Terminologie – Fonctionnalités – Facteurs influençant la pesée – Guide**

de choix ». Il rappelle les deux types de capteurs de pesée : à jauge de contrainte ou à compensation de force électromagnétique, dits aussi « pots magnétiques ». Les premières étant moins onéreuses et moins fragiles que les secondes qui présentent les meilleures performances en termes de résolution. Il présente ensuite les éléments de terminologie avec la définition des termes étendue de mesure, résolution, échelon de vérification puis les types de pesée (pesée simple étendue, pesée multi-étendue, pesées multi échelons). Un rappel est fait des principales fonctionnalités que l'on retrouve sur les balances, puis une présentation des facteurs influençant la pesée, qui est au cœur des bonnes pratiques. Ainsi, il est recommandé de placer la balance dans un lieu dont la température et l'hygrométrie sont stables, loin de sources de vibrations, à l'abri de la lumière directe du soleil, loin de flux d'air. Lors de la pesée, il faut éviter les chocs, peser au centre du plateau, adapter le contenant à l'échantillon à peser et si possible optimiser l'ergonomie à l'aide d'accessoires. L'effet de l'accélération gravitationnelle est rappelé et donc la recommandation de ne pas déplacer une balance ou, si elle doit être déplacée, de la ré-étalonner dans sa nouvelle position. D'autres effets sont présentés comme l'inclinaison de la balance, la température, les charges électrostatiques, l'absorption d'humidité, les effets de convection. Enfin, des recommandations sont faites quant à l'entretien des balances et finalement un guide de choix est proposé pour trouver la balance adaptée à ses besoins.

Thomas Philippe de Hex Group parle ensuite des thermocycleurs et présente les bonnes pratiques d'utilisation et leurs contrôles. Il est rappelé tout d'abord qu'un thermocycleur n'est pas à proprement parler un instrument de mesure, mais un instrument de laboratoire qui sert à amplifier un brin d'ADN. Les applications sont nombreuses dans les domaines de la génétique, de la médecine légale, des maladies infectieuses... Le principe de fonctionnement est rappelé ainsi que le rôle majeur joué par la température dans les étapes successives de dénaturation, hybridation, élongation. Les bonnes pratiques reposent sur la pureté de l'ADN utilisé, le respect des paliers de températures cibles et des temps associés à ces paliers. La méthodologie pour réaliser la qualification initiale puis les vérifications périodiques sont présentées. L'accent est mis sur la détermination d'une méthode de référence qui soit adaptée aux besoins et qui sera suivie dans le temps.

Jennifer Pereira de Mettler Toledo présente ensuite les bonnes pratiques d'électrochimie. Elle rappelle que la mesure de pH peut sembler simple mais les sources d'incertitudes sont nombreuses, comme par exemple l'appareil de mesure, l'électrode, l'environnement, l'utilisateur... Comme pour les balances, il est recommandé d'avoir des conditions de température et d'humidité stables et maîtrisées, d'éviter les flux d'air et de disposer d'un espace de travail suffisant. Un point particulier est d'éviter la proximité de champs magnétiques qui affectent les résultats des mesures. La présentation du fonctionnement d'un pH-mètre rappelle

qu'il s'agit d'une mesure de différence de potentiel entre une électrode de mesure et une électrode de référence. Pour une bonne utilisation dans le temps, il est vivement recommandé de réaliser les tâches suivantes quotidiennement : préparation, calibrage (étalonnage + ajustage en termes métrologiques), stockage, nettoyage. Il est rappelé que l'électrode de mesure est un consommable à changer régulièrement. Le calibrage est une opération spécifique utilisant généralement trois solutions de pH différents et visant à déterminer la pente de l'électrode en mV/pH. D'autres méthodes alternatives sont présentées. Le temps de réponse de l'électrode est à prendre en compte pour atteindre la zone de stabilité. Les bonnes conditions de stockage et de nettoyage sont présentées et enfin des recommandations sur la sécurisation des données issues des mesures.

C'est ensuite Stéphane Hubert de Hettich qui présente les centrifugeuses. Il rappelle le principe de la centrifugation et un historique des centrifugeuses. Il rappelle les paramètres principaux qui peuvent être contrôlés : la vitesse de rotation, la durée de centrifugation, la température, le vide. Stéphane Hubert insiste sur le fait qu'une centrifugeuse est un outil permettant la séparation de composés mais ne fournit pas de résultat. Du fait de la nature des centrifugeuses, elles présentent des risques particuliers qui peuvent entraîner des accidents s'ils ne sont pas maîtrisés. Une méthodologie d'analyse des risques est donc proposée. La vérification par contrôles métrologiques doit être réalisée pour les grandeurs physiques température, temps, vitesse, rayon. Mais il n'existe pas aujourd'hui de norme ou de référentiel pour la caractérisation des centrifugeuses de laboratoire. Des travaux sont en cours sur ce sujet.

Olga Leclerc de Trescal propose ensuite un retour d'expérience avec une présentation sur le thème « Métrologie dans un laboratoire de biologie médicale dans le cadre d'une procédure obligatoire d'accréditation selon la norme NF EN ISO 15189 ». En introduction sont rappelées les conclusions du rapport Ballereau de 2008 et l'ordonnance qui a suivi sur la réforme de la biologie médicale visant à passer d'une obligation de moyens à une obligation de résultats et ce, en passant d'un système de normes réglementaires à un système d'accréditation. Cette dernière est ainsi devenue obligatoire pour tous les laboratoires depuis 2016. Un rappel est fait des différents documents rattachés au texte de la norme NF EN ISO 15189:2012, puis un rappel sur la portée de l'accréditation sur les phases pré-analytique, analytique et post-analytique. Les points suivants sont abordés : la notion de criticité d'un appareil et les besoins de raccordement associés, la différence entre métrologie et contrôle qualité. Sur le raccordement, plusieurs options sont possibles, présentant chacune des avantages et des inconvénients. La liste des équipements concernés est rappelée, incluant en plus de ceux présentés dans cette journée, les enceintes thermostatées, les osmoseurs, spectrophotomètres, densitomètres, incubateurs, microscopes...

Un focus particulier est fait sur les enceintes thermostatées, sur les chaînes de température, avec des calculs d'EMT, rappels de la règle du quart et application des corrections d'erreur de justesse pour la déclaration de conformité. Sont aussi présentées les centrifugeuses, les pipettes, thermocycleurs et incubateurs. En conclusion, la métrologie est présentée comme contribuant à la confiance du processus analytique au service du patient.



Cette journée technique s'est terminée par une **présentation d'Aurélien Glomot de Silab sur l'optimisation de la gestion d'un parc d'instruments comportant 1200 instruments, dont des capteurs de température, des pipettes, d'autres matériels de laboratoire et des salles blanches.** Il présente tout d'abord l'optimisation des périodicités d'étalonnages, réalisée en particulier par la méthode OPPERET. Les critères d'évaluation sont présentés avec des pondérations associées : criticité, dérives/réparations, fréquence d'utilisation, nombre d'utilisateurs, quantité... Il présente ensuite pour chaque critère, les notes possibles ou plots qui vont être utilisés pour noter les instruments. Les conclusions montrent que 75% des instruments ont vu leur périodicité d'étalonnage augmenter, une identification plus claire des équipements à risque, et in fine un budget d'étalonnage réduit de plus de 50% sans augmentation des retours pour non-conformité suite à étalonnage.

La deuxième partie de sa présentation met en avant l'importance de la diffusion de la métrologie dans l'entreprise, la nécessité pour le responsable métrologie d'avoir des relais métrologie avec des actions clairement établies pour les équipements dont ils ont la charge : veiller au bon fonctionnement, réaliser l'identification (étiquetage), préparation à l'étalonnage, la création et mise à jour des fiches de vie,... une partie consacrée aux auto-contrôles met en avant leur importance pour permettre de déceler rapidement des dérives. Enfin, il insiste sur l'importance de la formation des opérateurs sur les bases de la métrologie et les bonnes pratiques.

Conclusion

En conclusion, cette journée technique organisée par le Collège Français de Métrologie a permis aux participants issus de laboratoires industriels et de laboratoires de biologie médicale de consolider leurs connaissances efficacement avec des experts de chaque domaine, et de pouvoir partager sur leurs pratiques, leurs interrogations et les problématiques qu'ils rencontrent au quotidien.

Pour aller plus loin :

Guide technique du CFM « Mise en œuvre de la métrologie dans les laboratoires de biologie médicale »

Guide technique du CFM « Guide de métrologie à l'usage des laboratoires de biologie médicale »

Guide technique du CFM « Optimisation des périodicités d'étalonnage : la méthode OPPERET »

Guide technique du CFM « Guide d'étalonnage des spectrophotomètres »

Journée technique du CFM « Agroalimentaire et mesure : conformité, risque, productivité », le 10/10/19

Journée technique du CFM « Etalonnage et vérification : aujourd'hui et demain », le 7/11/19

Plus d'informations :

www.cfmometrologie.com/fr/