



# Gestion de la métrologie dans un laboratoire de biologie médicale

Comment adapter la métrologie aux LBM ?

**E**n l'état des textes officiels, les laboratoires de biologie médicale doivent être accrédités à la norme NF EN ISO 15189.

Une norme qui au-delà de l'aspect qualité, met en avant les exigences métrologiques. Ces dernières ont donc emmené les laboratoires de biologie à formaliser leurs besoins. La nécessité d'une métrologie adaptée à chaque laboratoire est devenue un fait incontournable. Car à la clef, il y a l'assurance d'une meilleure qualité et fiabilité des résultats annoncés. Comment procéder pour obtenir une métrologie adaptée à la biologie ? Vous trouverez dans ce dossier des retours d'expériences de divers acteurs du domaine.

## 1 / L'évaluation de la métrologie adaptée au LBM

Parce que les examens de biologie médicale reposent sur des mesures, il est nécessaire de garantir leur fiabilité. La fiabilité des examens repose notamment sur l'étalonnage des équipements susceptibles d'affecter directement ou indirectement la qualité des résultats. Lorsque cela est pertinent et possible, l'étalonnage doit garantir le raccordement de ces équipements au Système International d'unités (SI).

### Contexte normatif et international

Dans le domaine de la biologie médicale, les organismes sont accrédités selon la norme ISO 15189 : 2012 qui spécifie les exigences de compétence et de qualité propres aux laboratoires de biologie médicale (LBM). Elle décrit en particulier les exigences relatives à l'étalonnage des équipements et à la traçabilité métrologique. Une traçabilité dont l'objectif est de garantir la comparabilité des résultats de mesure quel que soit le lieu où les mesures sont effectuées. Ainsi, il est attendu du LBM qu'il dispose d'une procédure documentée pour l'étalonnage de l'équipement susceptible d'affecter directement ou indirectement les résultats d'examens en :

- tenant compte des conditions d'utilisation et des instructions du fabricant ;
- enregistrant la traçabilité métrologique du matériau d'étalonnage et l'étalonnage traçable de l'élément du matériel ;
- vérifiant l'exactitude de mesure requise et le fonctionnement du système de mesure à différents stades ;
- enregistrant l'état et la date d'étalonnage ;
- s'assurant que, si l'étalonnage donne lieu à un certain nombre de facteurs de correction, les facteurs précédents sont correctement mis à jour ;
- 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.

Deux situations particulières sont prévues par la norme. La première concerne les systèmes d'analyses pour lesquels la documentation de la traçabilité de l'étalonnage peut être fournie par le fabricant, par exemple dans la notice d'utilisation des dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* (DM-DIV). Dans ce cas de figure, les systèmes d'analyses sont marqués CE au titre de la directive 98/79/CE abrogée par le règlement européen 2017/746. Une telle documentation est jugée acceptable tant que le système d'analyses du fabricant et les modes d'étalonnage sont utilisés sans modification. La deuxième intervient lorsque l'étalonnage de l'équipement s'avère impossible ou non pertinent. La norme demande alors à ce que d'autres moyens de prouver la fiabilité des résultats soient appliqués, tels que :

- l'utilisation de matériaux de référence certifiés ;
- l'examen ou étalonnage réalisé selon une autre procédure ;
- l'emploi de normes ou de méthodes clairement établies, spécifiées, caractérisées et ayant fait l'objet d'un accord entre les parties concernées ;
- l'utilisation d'étalons consensuels décrits et caractérisés ;
- ou bien encore à la participation à un programme de comparaisons interlaboratoires, en tant que comparaison à une référence commune.

En complément des exigences normatives, et afin de garantir la confiance dans les résultats des laboratoires accrédités, l'*International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC)* est amené à élaborer des politiques et des guides pour aider à l'harmonisation des modalités d'accréditation. La traçabilité des résultats de mesures faisant partie des sujets nécessitant une position harmonisée, ILAC a développé une politique spécifique appelée ILAC P10 : 2013, qui a été reprise dans le document du Cofrac SH REF 02 « *exigences pour l'accréditation selon la norme NF EN ISO 15189* ». Cette politique tient compte du fait que le concept de traçabilité métrologique est encore en développement, notamment dans le domaine médical. En outre, le document SH REF 02 du Cofrac précise les exigences vis-à-vis des LBM. Il est attendu du LBM qu'il identifie si ses équipements employés dans le cadre des processus pré-, per- et post-analytiques sont « critiques », c'est-à-dire susceptibles d'affecter les

## Une reconnaissance internationale

Chaque organisme d'accréditation signataire d'un accord pour une activité reconnaît une même valeur aux certificats émis par les organismes qu'il accrédite et à ceux émis par les organismes accrédités par un autre organisme d'accréditation signataire de l'accord de reconnaissance pour l'activité en question.

Les accords au niveau européen relèvent d'EA (*European co-operation for Accreditation*). Les accords au niveau international pour les activités d'essais, d'étalonnage et d'examen relèvent d'ILAC (*International Laboratory Accreditation Cooperation*). Dans le cadre des accords de reconnaissance d'EA et d'ILAC, le Cofrac, au même titre que l'ensemble des organismes d'accréditation signataires, est régulièrement évalué par ses pairs selon la norme ISO/CEI 17011, complétée des documents spécifiques d'EA et d'ILAC, tels que la politique ILAC P10.

résultats d'examen de biologie médicale. Il identifie les grandeurs mesurées correspondantes (masse, volume, température) ainsi que les exigences métrologiques spécifiées (tolérances et plages d'utilisation) et décide des types de raccordements nécessaires pour assurer la traçabilité des résultats de mesure selon un programme d'étalonnage. Cette stratégie inclut également la périodicité des étalonnages, en fonction d'une analyse bénéfice/risque - définie selon l'utilisation de l'équipement, de sa dérive, du coût, etc. - sachant que des contrôles intermédiaires sont mis en œuvre si besoin.

Si la contribution d'un équipement ne participe pas de façon significative aux résultats de mesures - cette contribution pouvant se voir via un calcul d'incertitude - alors le LBM doit en fournir les preuves et ainsi justifier de l'adaptation de la périodicité d'étalonnage.

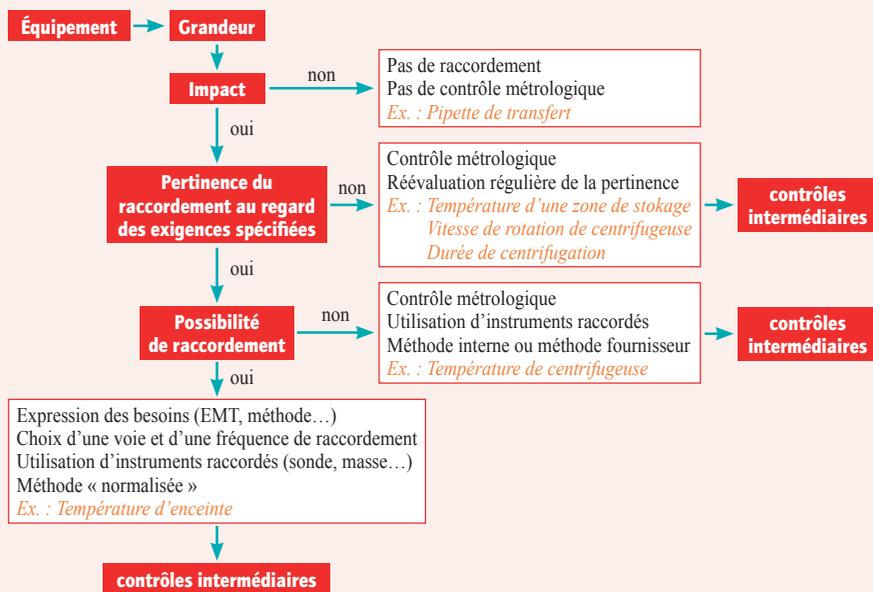
L'exploitation périodique des données métrologiques - issues des confirmations métrologiques, des contrôles métrologiques, des changements intervenant au LBM, etc. - permet une dynamique d'ajustement continu de la stratégie décidée au regard des besoins réels. Elle constitue un vrai point fort qui s'inscrit dans une démarche d'évolution raisonnée de la fonction métrologique. À cet égard, la périodicité d'étalonnage peut être une variable d'ajustement.

Le document SH REF 02 précise également le cas particulier d'une intervention sur un équipement modifiant l'exactitude de la mesure, comme une opération de maintenance, de nettoyage, de réparation éventuelle ou même d'échange de matériel. Dans ce cas, le LBM met en œuvre une procédure pour connaître le statut métrologique de l'équipement avant cette modification, par exemple par la réalisation d'un contrôle métrologique, et apprécie sa dérive éventuelle depuis le dernier raccordement métrologique.

## L'évaluation de la fonction métrologie

Lors des évaluations d'accréditation, les évaluateurs apprécient l'efficacité de la fonction métrologie mise en place par le LBM, afin de garantir la qualité et la fiabilité des résultats d'examen. Elle s'attache à évaluer la cohérence et la pertinence de la stratégie décidée par le LBM dans le cadre du pilotage de sa fonction métrologie, au regard de son domaine de spécialisation. Cette stratégie vise à adapter la métrologie au plus près des besoins du LBM.

## Gestion de la métrologie dans un laboratoire de biologie médicale

La démarche attendue de la part du LBM :  
exemple de méthodologie pour définir sa stratégie

© Cofrac

Les principales voies de raccordement et items  
sur lesquels l'équipe d'évaluation porte son attention

Raccordement en externe suivant une prestation accréditée	Raccordement en interne au LBM	Raccordement par un service interne à l'ES
Choix et évaluation du fournisseur par le LBM Besoins définis (EMT, plage d'utilisation, méthode, lieu de prestation...) et communiqués au prestataire Réalisation de la prestation Rapport portant le logotype d'un accréditeuseur signataire des accords de reconnaissance d'Ea ou d'ILAC	Compétence technique : formation, habilitation, maintien de compétences Moyens matériels : instrument de raccordement au SI, conditions environnementales, logiciels... Moyens logistiques : normes/procédures/modes opératoires/enregistrements... Besoins définis (EMT, plage d'utilisation, méthode...) Réalisation de l'étalonnage Rapport émis par le LBM	Compétence technique : formation, habilitation, maintien de compétences Moyens matériels : instrument de raccordement au SI, conditions environnementales, logiciels... Moyens logistiques : normes/procédures/modes opératoires/enregistrements... Système de management de la qualité fondé sur la norme ISO/CEI 17025 Besoins définis par le LBM (EMT, plage d'utilisation, méthode, lieu de prestation...) et communiqués au service Réalisation de la prestation Rapport émis par le service
Exploitation du rapport ✓ Confirmation métrologique et déclaration d'aptitude		

© Cofrac

La « métrologie » est par conséquent bien plus large qu'une simple opération technique de raccordement et repose sur un ensemble d'éléments examinés par l'équipe d'évaluation :

- Le LBM dispose-t-il de compétences adaptées et prouvées, par exemple par des formations et des qualifications reconnues au LBM par une habilitation ?
- Comment le LBM a-t-il décidé de la stratégie métrologique à mettre en œuvre et quels sont les éléments qui fondent cette stratégie ?
- Les moyens matériels permettant de mettre en œuvre les décisions du LBM sont-ils disponibles ?
- Les choix du LBM sont-ils formalisés et pérennisés en termes de méthodes (procédures, modes opératoires, ) et la traçabilité dans le temps de l'application de ces choix au travers d'enregistrements est elle effective ?

L'évaluation de la fonction métrologie dans le LBM est réalisée de façon complémentaire par l'évaluateur qualitatif et le ou les évaluateurs techniques. L'évaluateur technique oriente son investigation sur la pertinence de la stratégie au regard des besoins dans le domaine technique évalué tandis que l'évaluateur qualitatif se focalise davantage sur la mise en œuvre de cette stratégie.

L'opération d'étalonnage et de vérification de l'adéquation de l'équipement aux exigences métrologiques spécifiées constitue la « confirmation métrologique ». Même si force est de constater que les démarches métrologiques mises en œuvre par les LBM sont de plus en plus abouties et adaptées aux examens de biologie médicale, la définition de l'impact d'une grandeur et de la pertinence du raccordement reste un exercice difficile qui doit être objectivé à travers un raisonnement scientifique étayé : recommandations de sociétés savantes, de l'état de l'art, appliquées aux pratiques du laboratoire.

## Retour d'expérience : l'évaluation de la métrologie en LBM vue par les évaluateurs

Olivier ERNY et David BAILLOUX, respectivement biologiste médical évaluateur technique et évaluateur qualitatif, nous font partager leur retour d'expérience. Ils détaillent leur démarche d'évaluation de la métrologie en LBM.

L'appréciation des besoins  
métrologiques du LBM» Comment recenser les grandeurs  
du LBM ?

À partir de la liste des équipements du LBM, l'évaluateur technique repère, parmi les grandeurs qui caractérisent les équipements utilisés dans son champ d'évaluation, celles susceptibles d'avoir un impact sur les résultats d'examens.

Selon les LBM, il peut s'agir d'équipements en lien avec :

- le stockage des échantillons et des réactifs (enceinte à température ambiante, réfrigérée ou congelée, ...) ;
- la phase de préparation des échantillons (centrifugeuses, etc.) ;
- tout ou partie de la phase analytique (pipettes, étuves, ...).

À titre d'exemple, en bactériologie, l'étuve fait l'objet d'une attention particulière compte-tenu de l'impact de la température d'incubation sur la qualité des résultats.

### » Comment évaluer la justification de l'impact des grandeurs ?

L'impact est généralement établi à partir de sources diverses, telles que :

- les recommandations des fournisseurs, par exemple sur les modalités de reconstitution d'un réactif, la température ou la durée d'incubation ;
- l'état de l'art, à savoir les données scientifiques sur la stabilité d'un mesurande type ACTH en biochimie, le facteur V en hémostase ou le gonocoque en bactériologie notamment ;
- les spécificités organisationnelles du LBM, dont les dispositions en matière de stockage intermédiaire des spécimens sur des sites ou de leur stockage post analytique en vue d'un redosage ;
- les recommandations des sociétés savantes comme GFHT, SFM, etc.

L'absence d'impact est également basée sur des critères objectifs tels que la conservation des échantillons dans un réfrigérateur à des fins autres qu'un redosage (identitovigilance par exemple) ou l'usage de pipettes de transfert pour lesquels la précision volumétrique n'a pas d'importance.

Les évaluateurs examinent comment le LBM recense ses exigences et les tient à jour. Au regard des dispositions et de leur application, ils concluent sur l'efficacité de la maîtrise des bases documentaires sur lesquelles le LBM fonde ses exigences métrologiques.

### » Comment évaluer le choix des plages d'utilisation et des tolérances ?

Les évaluateurs s'enquèrent de la manière dont le LBM s'assure du recueil, de l'appropriation et de la revue efficace des données afin de définir ses besoins.

Un exemple en bactériologie : le QUAMIC indique une température de  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  pour la température des étuves sèches destinées à l'incubation des géloses dans le cadre des ECBU.

## L'appréciation de la façon dont le LBM démontre que les besoins sont satisfaits

L'équipe d'évaluation entreprend une investigation adaptée et ouverte afin de comprendre la démarche qui a mené le LBM à une stratégie spécifique de gestion métrologique. Le contexte d'utilisation de

l'équipement est une donnée importante à prendre en compte dans l'évaluation.

Si l'on reprend l'exemple de l'étuve utilisée pour l'incubation des géloses (cf. exigences ci-dessus), la maîtrise de la température se traduit par la démonstration que les variations de températures sont suffisamment négligeables pour ne pas avoir d'impact sur l'incubation. La date de mise en service de l'étuve, son entretien, le volume utile par rapport au volume total et l'exploitation des données métrologiques antérieures sont, entre autres, des éléments contextuels à prendre en compte pour déterminer si la stratégie est appropriée.

### » Comment évaluer la pertinence du raccordement au SI ?

Le LBM peut s'appuyer sur les différentes normes explicitant les modes opératoires et les performances attendues pour effectuer les raccordements.

Toutefois, l'application par défaut de ces normes ne répond pas toujours à la spécificité de l'activité des LBM. Les critères de performance peuvent notamment être trop stricts par rapport aux besoins liés à l'utilisation de l'équipement. Si le LBM choisit de ne pas suivre ces critères normatifs, l'évaluateur technique examine la justification des critères retenus par rapport aux besoins. C'est le cas en particulier du LBM qui, pour le raccordement de ses pipettes, s'appuie sur des recommandations du fournisseur pour démontrer que les performances normatives sont inadaptées et trop contraignantes.

Dans le cas de notre étuve, pour assurer le raccordement de la température sur l'ensemble du volume utile, il est reconnu qu'une cartographie adaptée est nécessaire. Le LBM peut se référer à la norme FD X 15-140 qui constitue une pratique reconnue. S'il s'en éloigne, il justifie alors que sa pratique est plus appropriée.

### » Comment évaluer les modalités du raccordement ?

Plusieurs situations peuvent se présenter (cf. schéma sur les principales voies de raccordement) :

- Si le LBM fait appel à un prestataire accrédité, ce fournisseur est réputé compétent. Le périmètre de son accréditation fait l'objet d'une attention particulière dans le cadre de l'évaluation des fournisseurs du LBM (prestations accréditées sur site ou pas, types de raccordements réalisés sous accréditation, ).
- Si les prestations sont réalisées au sein du LBM, les compétences du personnel qui intervient dans le processus de métrologie, les locaux, les modes opératoires et les équipements sont examinées par l'équipe d'évaluation.
- Si le LBM fait appel à un service interne à l'organisation, l'évaluation porte sur ces mêmes items, mais également sur les relations entre le LBM et ce service, qui peuvent être matérialisées sous la forme d'une convention. Les limites de responsabilités de chaque entité sont souvent les points sensibles à l'origine de situations à risques.

### L'accréditation et le Cofrac

Organisme à but non lucratif créée en 1994, le Comité français d'accréditation – Cofrac – est l'instance nationale d'accréditation mandatée par les pouvoirs publics. Il accrédite des organismes dans tous les domaines.

Démarche volontaire ou réglementaire, l'accréditation consiste à évaluer et reconnaître la compétence technique ainsi que l'impartialité des organismes, au regard d'exigences spécifiées.

Grâce à l'expertise de plus de 175 collaborateurs et d'un réseau de plus de 1 600 évaluateurs et experts techniques, le Cofrac poursuit son développement et renforce en permanence ses équipes pour assurer un meilleur service à ses clients.

Le Cofrac est signataire d'accords multilatéraux, faisant bénéficier l'accréditation française d'une reconnaissance dans plus de 80 pays.

## Gestion de la métrologie dans un laboratoire de biologie médicale

## » Comment évaluer la fréquence de raccordement ?

Là encore, il n'y a pas d'idée préconçue : dans le cas de notre étuve, un LBM qui prévoit de réaliser systématiquement une cartographie tous les 5 ans ne répond pas automatiquement à l'exigence.

Le rythme est dicté par le besoin de chaque LBM et tient compte :

- de l'activité, un raccordement tous les ans pouvant être justifié car ce rythme correspond à un nombre déterminé d'examens ;
- de l'absence de dérive objectivée par des relevés de températures réguliers ;
- d'événements particuliers prévus (maintenances) ou imprévus (dérèglages).

## » Comment évaluer la maîtrise de la dérive ?

Le contrôle de l'absence de dérive relève du même principe que la fidélité intermédiaire réalisée avec les contrôles internes de qualité dans le cadre d'une analyse quantitative de biologie médicale.

Le contrôle de température est-il fait en un ou plusieurs points dans l'étuve ? Comment la/les position(s) a/ont-elle(s) été choisie(s) et pourquoi ? Chaque situation est singulière. Elle prend en compte notamment le compte rendu de la cartographie ou encore le contenu de l'étuve.

À titre d'exemple, un contrôle réalisé en 2 points augmente la sensibilité de détection d'une dérive. Mais ce surcoût n'est pas forcément justifié dans une étuve neuve dont la cartographie est réalisée fréquemment.

En l'absence de référence établie, l'évaluation peut s'appuyer sur la démarche d'évaluation des risques entreprise par le LBM. Avec quel instrument est réalisé le contrôle de température ? Une sonde raccordée, un thermomètre mini-maxi, etc. L'instrument de mesure est adapté lorsque le rapport entre l'ordre de grandeur de la mesure et l'amplitude à mesurer est pertinent et que son exactitude est vérifiée.

**Exemples de maîtrise de la dérive : un instrument de mesure adapté**

**Exemple 1 :** Dans l'étuve, le LBM utilise une sonde raccordée selon un protocole reconnu. Le biais est de 0,1°C, l'incertitude de mesure élargie  $\pm 0,04^\circ\text{C}$ .

Dans ce cas, il peut justifier qu'il néglige la prise en compte de l'incertitude dans son interprétation des limites de contrôle car la tolérance de 4°C ( $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ ) est 100 fois supérieure à l'exactitude du thermomètre (l'approximation ne peut pas avoir d'impact dans ce cas). Attention, cet exemple n'est valide que si le laboratoire applique le biais de son enceinte.

**Exemple 2 :** Dans la même étuve, le LBM utilise une sonde, dont le biais est de 0,3°C et l'incertitude de mesure élargie est estimée à  $\pm 1,3^\circ\text{C}$ , soit un tiers de la tolérance de cette enceinte ( $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ ).

Cette situation peut être acceptable dans la mesure où l'incertitude du thermomètre (biais + incertitude de mesure élargie) est prise en compte dans le moyen de surveiller les spécifications.

Par ailleurs, l'utilisation de l'équipement dicte la fréquence d'enregistrement des contrôles. En effet, si une étuve vide (back-up, étuve

d'usage intermittent dans la journée) n'a pas besoin d'être contrôlée en continu, *a contrario* une étuve utilisée en permanence doit être contrôlée selon une fréquence adaptée.

**Exemples de maîtrise de la dérive : la fréquence des contrôles adaptée**

**Exemple 1 :** Un LBM qui utilise un enregistrement uniquement des températures minimales et maximales devra réinitialiser l'enregistrement à chaque fois qu'il ouvre la porte de son étuve.

**Exemple 2 :** Dans le cas d'un LBM qui dispose d'un enregistrement de température discontinu, le délai entre deux prises de mesures doit être en lien avec la durée d'incubation, une fréquence trop faible ne permettant pas de s'assurer de la bonne température pendant une incubation courte.

À l'issue des échanges autour de ces différentes questions, l'équipe d'évaluation peut conclure sur l'efficacité globale de la fonction métrologie dans le LBM. Le retour d'expérience montre qu'une métrologie raisonnée et raisonnable permet de répondre aux besoins des LBM et, en conséquence, aux exigences d'accréditation.

Les évaluateurs s'attachent à comprendre la situation du LBM, à évaluer les risques auxquels celui-ci est exposé et la manière dont il maîtrise ces risques. La démarche adoptée par les LBM doit donc être en cohérence avec leurs besoins. La stratégie mise en œuvre doit être suivie en continu, et au besoin réadaptée/réajustée à la faveur des événements rencontrés par le LBM (nouveaux examens, nouveaux automates, réorganisation touchant les équipements, ...).

Si les laboratoires maîtrisent de mieux en mieux ce volet nécessaire à la maîtrise de leurs équipements, certains font le choix de raccordements très stricts par défaut. Ces choix, outre le fort investissement financier et humain qu'ils impliquent, ne sont pas systématiquement nécessaires, voire sont surdimensionnés, au regard de l'utilisation des dits équipements. Le rôle des sociétés savantes est primordial dans ce cadre. Leurs recommandations, telles que la définition de l'impact sur le résultat ou les tolérances acceptables, facilitent les démarches et les choix des LBM, et participent à leur harmonisation ainsi qu'à celle des évaluateurs.

De façon analogue à ce qui a pu être mis en place en termes de stratégie de passage des contrôles internes, les laboratoires doivent s'interroger sur les risques que comportent leurs pratiques pour les maîtriser au mieux. En s'appuyant sur les compétences et connaissances acquises, ils pourront mettre en place des stratégies de déploiement de cette fonction métrologie cohérentes avec les équipements utilisés et les besoins définis. ■

**RÉFÉRENCES**

- NF EN ISO 15189 « Laboratoires de biologie médicale - Exigences concernant la qualité et la compétence », décembre 2012.
- Document Cofrac SH REF 02 « Exigences pour l'accréditation selon la norme NF EN ISO 15189 », révision 05 juillet 2016.
- Document Cofrac SH GTA 01 « Guide technique d'accréditation en biologie médicale », révision 01, avril 2015.
- Brochure Cofrac « Ce qu'il faut savoir pour choisir sa prestation d'étalonnage », octobre 2017.
- [www.cofrac.fr](http://www.cofrac.fr)

## 2 / Point de vue du Laboratoire national de métrologie et d'essais sur la métrologie dans les LBM

La législation relative à la biologie médicale impose depuis le 16 janvier 2010 que tous les laboratoires de biologie médicale (LBM), publics comme privés, soient accrédités par le COFRAC selon la norme NF EN ISO 15189 d'ici le 31 octobre 2020. Afin de pouvoir obtenir cette accréditation, les LBM doivent maîtriser au mieux les performances de leurs instruments et garantir la fiabilité des analyses médicales qu'ils effectuent. Le Laboratoire national de métrologie et d'essais (LNE) a développé une expertise dans ce domaine et accompagne les LBM dans leur projet ou leur suivi de l'accréditation COFRAC par le biais de conseil ou de formation. Le LNE a également développé des méthodes mises au service des laboratoires de biologie médicale que ce soit pour la caractérisation ou l'étalonnage des équipements ou pour le développement de méthodes ou de matériaux de référence.

### Des équipements de mesure qui ont une influence sur les résultats

**D**ans le cadre de l'accréditation un laboratoire d'analyse médicale (LBM) doit apporter la preuve de la maîtrise de l'ensemble du processus de mesure : ce principe s'étend aux équipements hors analytique pour lesquels le laboratoire doit mettre en œuvre une analyse de ses besoins métrologiques multi-grandeurs.

Aussi, les biologistes doivent démontrer qu'ils maîtrisent les instruments pouvant avoir une influence sur le résultat des analyses. C'est au laboratoire d'évaluer les équipements pour lesquels un suivi métrologique est nécessaire afin d'assurer la validité des résultats.

Le processus analytique va dépendre notamment des conditions de prélèvement des échantillons, de leurs conditions de transport, des conditions de stockage des réactifs, des conditions ambiantes lors des analyses, des équipements d'analyse, etc...

La température est un des paramètres pouvant avoir une influence sur les résultats d'analyse. On retrouve ce paramètre lors du transport des échantillons avec l'utilisation de caisse de transport assurant un maintien des échantillons à une température définie, lors du stockage des réactifs, consommables et spécimens ou encore dans le laboratoire où sont réalisées les analyses.

#### La caractérisation des enceintes thermiques

Lorsqu'une enceinte thermique ou climatique est considérée comme étant un équipement critique, le LBM doit s'assurer que celle-ci est correctement caractérisée et vérifiée afin d'en contrôler sa

conformité aux exigences définies au préalable. La caractérisation pourra être réalisée en interne (dans ce cas le personnel doit être formé et que le matériel utilisé raccordé) ou par un prestataire externe. Dans ce dernier cas, et dans le cadre de l'accréditation suivant le NF X 15-189, le prestataire devra être accrédité.

Une attention particulière doit être portée concernant le volume utile de l'enceinte afin de permettre une bonne circulation de l'air dans l'espace de stockage. En effet, les capteurs de température sont placés à une distance des parois égale au  $1/10^{\circ}$  de chacune des dimensions du volume intérieur (largeur, hauteur, profondeur). Ainsi, le volume de travail d'une enceinte de  $1 \text{ m}^3$  ( $1 \text{ m} \times 1 \text{ m} \times 1 \text{ m}$ ) n'est plus que de  $0,7 \text{ m}^3$ .



Cas typique d'une mauvaise utilisation d'un réfrigérateur

© bluecinema-istock

## Gestion de la métrologie dans un laboratoire de biologie médicale

La caractérisation de l'enceinte doit prendre en compte les EMT (Erreurs Maximales Tolérées soit la plage d'utilisation) définies par le biologiste, les conditions d'utilisation (charge, volume, température d'utilisation notamment). À l'issue de la vérification, le rapport d'essai devra statuer sur la conformité ou non de l'enceinte. Le biologiste aura la charge de valider ou non la mise en service de l'équipement. Pour déclarer une enceinte conforme, il faut qu'en tout point de l'espace de travail, la température moyenne des capteurs associés à leur incertitude élargie soit à l'intérieur des EMT définies.

En complément de cette vérification, un suivi quotidien de la dérive des enceintes est assuré par un relevé des températures effectué à l'aide d'une sonde indépendante. Cette sonde placée à l'intérieur de l'enceinte doit permettre d'enregistrer les variations de température, justificatif en cas de contrôle, de déclencher les alarmes en cas de dépassement de la plage d'utilisation suite à un dysfonctionnement de l'enceinte ou à des ouvertures de portes trop fréquentes.

Il est rappelé que dans le cadre de la conservation de produits critiques, seuls les enregistrements de la température de l'enceinte dans laquelle sont entreposés ces produits permettront de prouver la conformité de cette conservation. Il est donc nécessaire de s'assurer que la mesure faite par la sonde de suivi soit fiable et qu'elle soit représentative de la température des échantillons conservés.

En tant que laboratoire accrédité par le Cofrac depuis plusieurs années et fort d'une expérience de près de 20 ans dans le domaine de la caractérisation des enceintes thermiques et climatiques, le LNE accompagne les laboratoires dans la mise en place de l'accréditation ainsi que dans la réalisation des prestations.

## La caractérisation des thermocycleurs

Outre les obligations de maîtrise des appareils critiques, le laboratoire d'analyses médicales est confronté à la gestion des coûts, notamment des réactifs. Dans le cas des réactifs utilisés pour la PCR, plus les températures du thermocycleur seront maîtrisées, plus la quantité de réactifs (amorce) sera optimisée. Il est donc nécessaire de caractériser les performances des thermocycleurs en température et en temps. La détermination de ces performances passe par la connaissance des températures effectives générées pour les 3 étapes de la PCR que sont :

- **la dénaturation thermique de l'ADN** qui s'effectue à 95°C ;
- **l'hybridation des amorces** : la température permettant la fixation des amorces sur les monobrins d'ADN est comprise entre 50°C et 65°C ;



Le LNE réalise régulièrement des instrumentalisations sur les thermocycleurs 96 puits, afin de vérifier leur bon fonctionnement.

- **l'extension des amorces** : cette étape s'effectuant à une température proche de 72°C, ainsi que par la détermination de la durée de chaque plateau de température.

La caractérisation métrologique du thermocycleur va consister en la détermination de l'écart de consigne, l'homogénéité thermique de l'appareil par zone ou par cycle, qui permet de garantir que chaque échantillon se trouve à la même température quelle que soit sa position dans l'appareil et ce durant toute la durée des essais et la justesse de la température, puisque des déviations de la température peuvent produire des pertes de rendement de la PCR. Les dépassements transitoires (*overshoot* ou *undershoot*) qui sont dus à l'inertie thermique de l'appareil, vont avoir un impact sur la performance de la PCR. En effet, ils peuvent dégrader, voir inactiver la polymérase si l'amplitude de l'*overshoot* et sa durée sont trop importantes, ce phénomène se répétant plusieurs fois lors de la PCR.

Le LNE réalise cette prestation en se rapprochant le plus possible des conditions d'utilisation à savoir capot fermé, et micro-tubes répartis dans le bloc conformément à l'utilisation. Le nombre et le positionnement des capteurs de température dans les micro-tubes sont définis suivant la préconisation du brevet WO2010/092137 A3 auquel le LNE a contribué. Le référentiel utilisé pour cette prestation est le fascicule de documentation FD V03-112 : Produits alimentaires – Qualification des thermocycleurs et maintien de leur performances – Mise en œuvre des tests et indicateurs de performance de novembre 2013.

Toutefois les enceintes régulées en température et des thermocycleurs ne sont que des exemples d'équipements ayant une influence sur le processus analytique. D'autres équipements peuvent être considérés, comme les centrifugeuses, les balances, les pipettes... ■

# Les matériaux de référence certifiés, pour améliorer la justesse et la comparabilité des examens de biologie médicale

La fiabilité des analyses médicales représente un enjeu majeur de santé publique pour disposer d'un diagnostic fiable et adapter les traitements entrepris. La norme ISO EN 15189 implique l'utilisation de procédures validées ainsi que le raccordement des résultats à un étalon national ou international par le biais d'une chaîne ininterrompue de traçabilité métrologique. Le LNE s'est engagé depuis 10 ans dans le développement des méthodes de référence d'ordre supérieur et d'étalons internationaux pour certains des biomarqueurs les plus utilisés en biologie clinique : glucose, créatinine, cholestérol total, triglycérides, cholestérol-LDL, cholestérol-HDL, urée, acide urique, hémoglobine glyquée HbA1c, etc... Ces méthodes de référence sont d'ores et déjà mise à profit pour :

- assigner des valeurs de référence aux échantillons utilisés dans le cadre d'évaluations externes de qualité pour évaluer la justesse et la comparabilité des méthodes de routine,
- produire des matériaux de référence certifiés afin d'améliorer la justesse et la comparabilité des méthodes de routine.

La dissémination de la traçabilité apportée par les méthodes de référence d'ordre supérieur est principalement réalisée à travers les Matériaux de Référence Certifiés. La directive 2017/476 de l'UE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* exige que les valeurs associées aux matériaux d'étalonnage et de contrôle de la qualité soient traçables aux méthodes de référence et aux matériaux de référence certifiés disponibles. Or, ce raccordement métrologique, bien que nécessaire, est insuffisant : pour ne pas rompre la chaîne de traçabilité métrologique, il faut impérativement que les matériaux d'étalonnage secondaires soient commutables, c'est-à-dire qu'ils miment le comportement d'échantillons de patients sans générer d'effets de matrice. De manière similaire, les échantillons de contrôle qualité ayant pour vocation d'évaluer la justesse des méthodes de routine doivent également présenter un niveau de commutabilité suffisant.

En 2016, le LNE a ainsi été notifié par l'ANSM (Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé) pour produire les échantillons utilisés dans le cadre du contrôle national de qualité obligatoire auquel ont été tenus de participer l'ensemble des 1 100 laboratoires de biologie médicale. Pour la première fois, le contrôle national de qualité des examens de biochimie générale a reposé sur des matériaux de référence certifiés commutables dont les valeurs cibles ont été déterminées au LNE avec des méthodes de références internationalement validées. Jusqu'à présent, les valeurs cibles étaient des valeurs consensuelles correspondant à la moyenne des résultats obtenus par l'ensemble des participants.



© AJ Watt-istock

La validation de certaines procédures de métrologie permet l'obtention de résultats fiables.

Ceci conduit donc potentiellement à des erreurs d'interprétation, en particulier dans le cas où la majorité des laboratoires fournirait un résultat éloigné de la valeur vraie. La détermination des valeurs cibles avec des méthodes de référence, bien que nécessaire, est insuffisante : il est en effet nécessaire de s'assurer que les échantillons de contrôle sont commutables. Jusqu'à présent, les échantillons de contrôle de qualité se présentaient habituellement sous forme de pools de sérum lyophilisés dont la stabilité accrue permet un acheminement à température ambiante à moindre coût par rapport à des échantillons congelés devant être envoyés dans de la carboglace. Or, les travaux réalisés au LNE ont montré que les traitements auxquels sont soumis les échantillons de contrôle (lyophilisation, ajout de conservateurs et/ou de composés exogènes pour atteindre des concentrations caractéristiques de certaines pathologies) engendraient des effets de matrice susceptibles de fausser les dosages et l'interprétation des résultats.

Pour cette raison, les échantillons utilisés dans le contrôle national de qualité de 2016 sont des échantillons congelés, dont la commutabilité a été démontrée nettement supérieure à celle habituellement observée pour des échantillons lyophilisés. Combiné à la détermination des valeurs cibles par des méthodes de référence d'ordre supérieur, cette opération de contrôle permettra d'établir pour la première fois en France un état des lieux représentatif de la fiabilité de certains des examens de biologie médicale les plus prescrits en France (glucose, créatinine, cholestérol total, triglycérides, cholestérol-LDL, cholestérol-HDL). Les résultats devraient être disponibles début 2018. ■

### 3/ Surveillance des enceintes thermostatiques à l'EFS : une analyse des risques

Les conditions de conservation des produits sont cruciales à l'Etablissement Français du Sang, en particulier dans les enceintes thermostatiques. L'EFS est venue présenter au CIM 2017 une étude visant à déterminer si la correction des seuils d'alerte des alarmes liées à des témoins de l'environnement, en fonction de l'étalonnage, permettrait de gagner en efficacité. De manière surprenante, les conclusions excluent cette mesure.



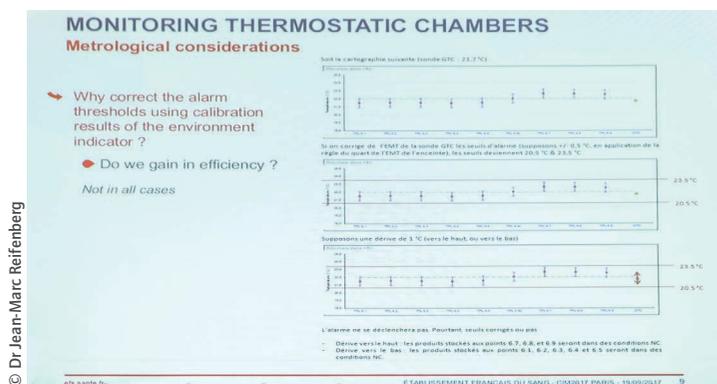
Dr Jean-Marc Reifenberg, responsable de la métrologie à l'EFS

**A** l'Etablissement Français du Sang, la surveillance de la température des enceintes thermostatiques apparaît cruciale, d'où la nécessité de s'interroger sur les processus d'alarmes les concernant. L'EFS est en effet garant de la sécurité transfusionnelle en France. Il collecte des produits sanguins, réalise des analyses de biologie médicale, procède à de l'ingénierie tissulaire et cellulaire et participe à des programmes de recherche. Avec 15 centres régionaux, 132 sites de collectes et 40 000 dons obtenus en collecte mobile, l'Etablissement participe à traiter un million de patients. « Près de 3 millions d'échantillons de sang sont stockés chez nous et notre activité de laboratoire est de 520 millions de B », a rappelé Jean-Marc Reifenberg. L'EFS a internalisé depuis quelques années son activité de métrologie pour les principales grandeurs critiques en transfusion que sont la température et la volumétrie et l'a fait accréditer COFRAC. « En conséquence, nous suivons des standards de bonnes pratiques, notamment la norme ISO 15189 en biologie et la norme ISO 17 025 pour la métrologie », précise JM Reifenberg. La métrologie est organisée par région à l'EFS, avec une coordination nationale. « Nous disposons d'un laboratoire, bientôt deux, accrédité pour la volumétrie, de 3 pour la caractérisation et la vérification des enceintes thermostatiques et de 5 pour l'étalonnage des températures ». Le contexte de l'étude présentée au CIM 2017 relève de la surveillance des enceintes, classées

comme critiques, dont le monitoring est assuré par un témoin unique de l'environnement, chacun étant relié à un système de surveillance par alarme centralisé (Gestion Technique Centralisée).

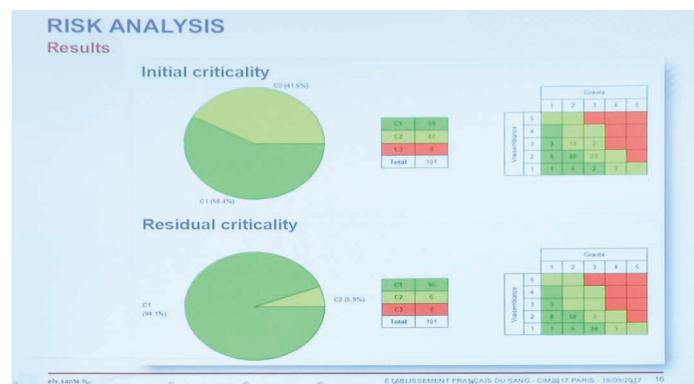
#### Mise en place d'une analyse préliminaire du risque

Des réflexions métrologiques avaient été menées autour de cette surveillance. « Notamment sur la règle du quart, appliquée aux témoins de l'environnement. Puisque dans une enceinte à 4°C, le sang peut en fait se conserver entre 2 et 6°C, l'erreur maximale tolérée sur l'instrument de mesure est de 0,5°C. Pourquoi pas, mais le témoin de l'environnement ne peut à lui seul statuer sur la conformité de l'enceinte, il en faudrait une cartographie complète », pose le métrologue. Faut-il donc corriger les seuils des alarmes GTC en fonction des résultats d'étalonnage des témoins de l'environnement, comme le veut l'usage ? La pertinence de cette stratégie a été analysée. « Le gain d'efficacité n'est pas évident. Selon l'orientation de la dérive, les produits stockés peuvent ne pas se trouver dans une zone conforme ». Pour répondre à cette question, l'EFS a décidé de mener une analyse préliminaire de risques dans un groupe de travail composé de métrologues et de personnels des départements techniques et biomédicaux. Le projet a comporté quatre



© Dr Jean-Marc Reifenberg

La métrologie est organisée par région à l'EFS, avec une coordination nationale. « Nous disposons d'un laboratoire, bientôt deux, accrédité pour la volumétrie, de 3 pour la caractérisation et la vérification des enceintes thermostatiques et de 5 pour l'étalonnage des températures » (Dr Reifenberg)



Faut-il donc corriger les seuils des alarmes GTC en fonction des résultats d'étalonnage des témoins de l'environnement ? La pertinence de cette stratégie a été analysée. « Le gain d'efficacité n'est pas évident. »



Noëlle GUILLON  
Journaliste scientifique

étapes : cartographie des risques, établissement d'une matrice de criticité, étude des différents scénarii (risques initiaux et mesures de réduction du risque) et suivi du risque résiduel.

## De l'étalonnage des témoins à la correction des seuils d'alarme

La construction de la matrice de criticité a défini trois niveaux de risques : acceptable C1, pour lequel aucune action n'est à envisager, tolérable sous contrôle C2, avec un suivi de gestion du risque nécessaire, et enfin inacceptable C3, situation à refuser. La matrice croise la gravité de l'évènement avec sa vraisemblance, du moins au plus fréquent. Plus un évènement apparaît fréquent et grave, plus il sera classé comme inacceptable. Dans un second temps, chaque risque est évalué initialement, avant mise en place de mesures de réductions du risque et définition d'un risque résiduel. « La réduction du risque peut prendre deux formes : diminuer la gravité, ce qu'on appelle des actions protectives, et diminuer la vraisemblance, avec des actions préventives. Grâce à ces mesures, nous sommes passés de 42 risques classés C2 à 6 seulement, aucun risque n'étant classé en C3 », se félicite JM Riefenberg. Dans les évènements classés C2 se trouvent des scénarii résultant de défauts de procédures d'étalonnages sur site, des scénarii concernant des opérations risquées, comme dans les zones cryogéniques, des scénarii entraînant une augmentation

### RISK ANALYSIS Results

Main categories of C2 criticality scenarios identified :

- ❖ Scenarios resulting from defects of on-site calibration procedures (method, adjustments, uncertainty calculation, results exploitation files, etc.)
- ❖ Scenarios concerning risky operations (cryogenic areas)
- ❖ Scenarios causing an increase in the background noise of the alarms (because of the reduction in the conformity range), with the consequences of potential failure in the chain of alarms
- ❖ Scenarios involving intervention in GTC settings
  - at time of the calibration of the environmental indicator (synchronization of the measurements with those of the standard instrument)
  - at time of correction of the alarm thresholds

© Dr Jean-Marc Reifenberg

Dans un second temps, chaque risque est évalué, avant mise en place de mesures de réductions du risque et définition d'un risque résiduel.

du bruit de fond des alarmes et enfin des scénarii impliquant des interventions sur les paramètres des alarmes. « Trop d'alarmes tuent l'alarme et la pratique de correction n'est pas forcément sécurisée. En conséquence, la correction des seuils d'alarmes en fonction des résultats de l'étalonnage des témoins de l'environnement, dans nos conditions et à l'EFS, ne garantit pas une meilleure efficacité du système d'alarmes. Nous recommandons donc de ne pas le faire, alors que le COFRAC pousse à cette pratique », conclut l'expert qui précise que des discussions avec le COFRAC avaient validé ce résultat, restreint à l'EFS. ■

## OFFREZ À VOS ÉQUIPEMENTS TOUTE L'ATTENTION QU'ILS MÉRITENT TOUT AU LONG DE LEUR VIE !



MAINTENANCE  
PRÉVENTIVE



MAINTENANCE  
CURATIVE



LEVÉE  
D'UNE NON  
CONFORMITÉ  
VIA UNE  
VÉRIFICATION  
OU UN  
ÉTALONNAGE  
COFRAC\*

SERVICE  
PREMIUM  
PERSONNALISÉ  
ET ADAPTÉ  
AU NIVEAU  
D'EXIGENCE



ACCÈS AU  
PORTAIL SMILE  
OUTIL MC2  
DE GESTION  
DE PARC  
MATÉRIEL

11 commerciaux  
et plus de 30  
techniciens répartis  
sur toute la France  
pour répondre à vos  
demandes et vous  
apporter une entière  
satisfaction

VÉRIFICATION  
MÉTROLOGIQUE  
PÉRIODIQUE



ÉTALONNAGE  
COFRAC\*  
PÉRIODIQUE



(QI) - QO - QP  
PÉRIODIQUE

MISE  
EN SERVICE



VÉRIFICATION  
MÉTROLOGIQUE  
INITIALE

OU  
QUALIFICATION  
COFRAC\*  
QI - QO - QP

MC2  
LA MÉTROLOGIE AU LABORATOIRE

GESTIONNAIRE DE  
PARC MATÉRIEL



Siège social :  
2, allée Alan Turing  
CS 40033  
63178 Aubière Cedex  
T. 04 73 28 99 99  
F. 04 73 28 92 43  
www.mc2lab.fr

MC2 PRESTATAIRE INDÉPENDANT DE TOUT FABRICANT, INTERVIENT SUR TOUT TYPE DE MATÉRIEL  
ET TOUTE MARQUE, DANS LA LIMITE DE LA FAISABILITÉ (APRÈS EXPERTISE).

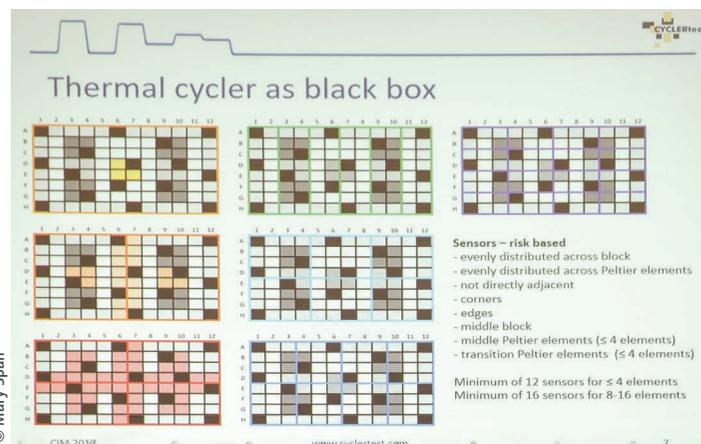


\* Portée disponible sur www.cofrac.fr

## 4/ Vers une méthode universelle d'étalonnage des thermocycleurs

Peu de matrices existent pour l'étalonnage des machines PCR. Selon Mary Span, de Cyclertest BV aux Pays-Bas, qui est intervenue au CIM 2017, des spécifications en fonction du test et non de l'instrument sont parfois plus pertinentes en vue de l'étalonnage dans les laboratoires de biologie moléculaire accrédités.

Les thermocycleurs alternent entre trois paliers de température, grâce à des blocs chauffés par des modules Peltier et à un couvercle chauffant fermé pendant le processus. La précision des paliers de température est fondamentale à leur bon fonctionnement et les normes ISO 15189 et ISO 17025 précisent les exigences quant à leur étalonnage. « Celui-ci doit être traçable dans le système international de mesure (SI), il doit faire apparaître dans le rapport de conformité l'incertitude de mesure et une comparaison doit être établie avec des spécifications pertinentes pour le test considéré », énumère Mary Span, de la société Cyclertest BV. « Or il existe des spécifications du fabricant, donc de l'instrument, et des spécifications fondées sur la méthode, le test ». La zone de spécifications est plus large que la zone d'acceptabilité, puisqu'elle n'est pas encore expurgée des incertitudes de mesures. En ce sens, une déviation de 0,5°C entraîne des résultats PCR incorrects, ce qui, avec un ratio minimal d'incertitude de 3:1 donne une incertitude acceptable inférieure ou égale à 0,15°C.



Mary Span a développé une méthode d'étalonnage de référence des thermocycleurs. Ceux-ci ont été envisagés comme des boîtes noires, analysés par plusieurs senseurs localisés selon un parti pris « basé sur le risque ».



Mary Span, membre de la société de calibration Cyclertest BV aux Pays-Bas

### Pas de test standardisé d'étalonnage PCR

Il n'existe pas de méthode d'étalonnage de référence standardisée ISO mais une large variété de méthodes de vérification. Celles développées du point de vue du biologiste moléculaire miment la réaction PCR, ne sont pas traçables dans le système SI, entraînent des incertitudes substantielles de mesure. « En un mot, elles ne sont pas adaptées à la métrologie ! », juge Mary Span. Elle a donc développé une méthode répondant à différents critères. « La traçabilité dans le système SI, une incertitude de mesure inférieure ou égale à 0,15°C, l'adaptabilité à tout type de machines – il en existe plus de 800 modèles –, et à tout format, et qui soit représentative du processus de PCR : dynamique, capable de mesurer la précision, l'uniformité, le taux de chauffage et de refroidissement, entre 37 et 95°C, avec de multiples senseurs pour repérer des spots chauds ou froids à l'intérieur de la machine ». Les thermocycleurs ont été envisagés comme des boîtes noires, analysés par plusieurs senseurs localisés selon un parti pris « basé sur le risque », puisqu'il est impossible de mesurer tous les puits. Ils sont ainsi distribués régulièrement sur les blocs, non directement adjacents, avec un minimum de 12 senseurs pour au maximum 4 modules dans une machine 96 puits ou 16 senseurs pour 8 à 16 modules. « Il s'agit là d'une répartition idéale des senseurs. Quant aux variations de température à suivre pour pouvoir comparer plusieurs machines, le mieux est de chauffer au départ au maximum, puis de passer rapidement aux minimum-maximum et enfin de descendre par plateaux », détaille la spécialiste. L'environnement, température, humidité et ventilation, doit être contrôlé. Une comparaison inter-laboratoires avec des nombres variés de senseurs à des positions différentes a validé une incertitude inférieure à 0,15°C pour la méthode de mesure dans les puits, avec le couvercle fermé, un nombre de 15 senseurs et une disposition régulière. « Nous proposons donc une méthode métrologique qui pourrait s'universaliser, avec une incertitude de mesure correcte et basse, l'absence d'erreurs systématiques et la possibilité d'adaptation à toutes les machines », a conclu Mary Span. ■

Noëlle GUILLON  
Journaliste scientifique

## 7 / Etalonnage des pipettes, une nécessaire validation des nouvelles méthodes

Lors du congrès international de métrologie 2017, Boris Geynet, directeur adjoint du CT2M, le centre technologique méditerranéen de métrologie, a présenté les résultats d'un essai inter-laboratoires d'étalonnage des pipettes. La variabilité inter-opérateur doit être prise en compte afin de ne pas sous-estimer l'incertitude d'étalonnage.



Boris Geynet, directeur adjoint du CT2M, a mis en évidence l'intérêt d'un essai inter-laboratoires dans l'étalonnage des pipettes.

Le centre technologique méditerranéen de métrologie (CT2M), créé en 1993, propose des étalonnages de masse, accrédités COFRAC (ISO 17025), ainsi que des essais inter-laboratoires. « Nous organisons par exemple tous les ans des essais sur l'efficacité des désinfectants chimiques », illustre Boris Geynet. L'étude qu'il est venu présenter au CIM 2017 portait elle sur une comparaison inter-laboratoires d'étalonnage de pipettes. « Une nécessité pour assurer la qualité des résultats depuis l'évolution des documents COFRAC, avec une validation des nouvelles méthodes d'étalonnage, dans le cadre d'exigences de plus en plus grandes et avec une reproductibilité à confirmer ». L'étude a été menée entre mars 2016 et mars 2017 dans 32 laboratoires français d'étalonnage, dont quatre accrédités COFRAC ISO 17025 et une majorité de laboratoires d'essais réalisant eux-mêmes leurs étalonnages et ajustage des pipettes. Elle s'est étalée sur un an car les instruments ont dû circuler de laboratoire en laboratoire. « Les objectifs de cette étude étaient d'assurer la qualité des résultats, d'atteindre les prérequis pour l'accréditation, de vérifier l'application correcte de la méthode d'étalonnage et d'évaluer la reproductibilité des résultats sur la parc de laboratoires français ».

### Des résultats corrects, avec quelques discordances

Les instruments testés, pour couvrir un large domaine de volumes utilisés par les laboratoires d'essais, incluaient une P50 (BIOHIT 10191041), une P200 (EPPENDORF 278993A) et une P1000 (RAININ E1120249T). Justesse et fidélité des pipettes ont été évaluées. La méthode gravimétrique était recommandée, avec 10 pesées, cependant un laboratoire a utilisé la méthode colorimétrique. Pour trois volumes par pipette, l'erreur systématique et la déviation standard ont été déterminées. « Pour l'organisation du circuit, il fallait s'organiser par rapport au risque d'instabilité des instruments. Tous les six laboratoires, les pipettes étaient retournées chez nous à CT2M

afin de vérifier leur stabilité et d'étudier l'éventuelle dérive. Une période d'une semaine maximum avait été allouée par laboratoire et un laboratoire de référence avait étalonné les pipettes au début du circuit, avant un nouvel étalonnage à la fin de celui-ci », a expliqué Boris Geynet. L'essai a été organisé en accord avec la norme ISO 17043 et les résultats exploités selon la norme ISO 13528 pour la partie statistique. Les résultats se sont révélés relativement corrects en ce qui concerne la justesse, avec des répartitions plutôt homogènes, par exemple sur les trois volumes de la P50, avec seulement un laboratoire qui sous-estimait les volumes et un qui les sur-estimait. Les résultats étaient un peu moins homogènes pour la P1000. « Cependant, beaucoup de laboratoires n'ont pas

rendu d'incertitude de l'étalonnage ce qui est pourtant obligatoire, déplore Boris Geynet. Or cette incertitude est très différente d'un laboratoire à l'autre et supérieure à l'erreur maximale tolérée pour certains laboratoires ». En ce qui concerne la déviation standard (SD) pour l'aspect fidélité, elle est assez dispersée entre laboratoires et deux d'entre eux présentent des valeurs au-dessus des limites.

### Une incertitude qui ne tient pas assez compte de l'effet opérateur

L'hypothèse de distribution normale des résultats a été vérifiée par deux tests statistiques sur toutes les séries, avec détermination des valeurs aberrantes. Le Z-score de chaque participant a été calculé à partir de la moyenne robuste des participants et de la déviation standard. « Nous n'avons pas observé de différence significative entre les moyennes robustes et les valeurs de références données par le laboratoire de référence, sauf pour deux laboratoires, apprécie Boris Geynet. Cependant, des biais significatifs sont apparus, même entre laboratoires accrédités, qui présentaient des incertitudes d'étalonnage bien plus basses que les autres laboratoires, que l'on peut interpréter comme étant sous-estimées ». Comment expliquer cela ? Une trop grande résolution de la balance de pesage peut induire des erreurs sur les petits volumes, neuf laboratoires ont pu être victimes d'un biais d'évaporation sur les faibles volumes car ils n'ont pas utilisé de pièges à évaporation, deux ont réalisé moins de 10 pesées et seulement quatre ont pris en compte l'effet opérateur dans le calcul de l'incertitude. « Cela montre bien qu'il est important de respecter les différentes recommandations, ISO 8655-6 et LAB GTA 90 (document COFRAC), sur la résolution de la balance et l'effet opérateur. Là-dessus, les laboratoires accrédités ne se sont pas montrés meilleurs que les autres ! En tout cas l'étude a dans tous les cas permis soit de valider l'étalonnage, soit de donner des pistes d'amélioration », a pu conclure le spécialiste. ■