

SG6-03

Recommandations sur la métrologie et la maîtrise de la qualité des équipements critiques

A. Daunizeau
et les membres du sous-groupe « Processus supports »*

Groupe de travail SFBC « Accréditation des laboratoires de biologie médicale »
(coordinateur M. Vaubourdolle)

RÉSUMÉ

La métrologie est l'ensemble des activités qui assurent la maîtrise de la qualité des résultats des mesures. Cet article a pour objet la présentation des principes de base de métrologie appliqués à l'activité d'un laboratoire de biologie médicale (LBM). On envisagera successivement les concepts généraux de métrologie utiles au laboratoire, l'intérêt de la définition d'une fonction métrologique et son domaine d'activité, les applications aux instruments de mesure nécessaires aux examens de biologie médicale, et les spécificités de la documentation associée à cette activité.

MOTS CLÉS : ISO 15189 | accréditation | métrologie | étalonnage | fonction métrologique | raccordement métrologique

ABSTRACT Recommendations on the metrology and the control of the quality of the critical equipments

Metrology resumes activities which allow the management of results measurement quality. In this paper, we present basic principles of metrology applied to the activities of laboratory medicine. We successively treat general concepts useful for laboratory staff, the interest in the definition of a metrological function and its activities field, the applications in measuring instruments necessary for the exams of medical biology, and the specific documentation control needed.

KEY WORDS: ISO 15189 | accreditation | metrology | calibration | metrological function | metrological traceability

* **Liste des membres du SG6 :** Alain Daunizeau (coordinateur), Pierre-Olivier Bazin, Jean-Louis Beaudoux, Éric Chapuzet, Éric Charbonnier, Rémy Couderc, Marie-Laure Curutchet-Burtin, Gérard Desch, Gérard Domas, Bernard Fovet, Frédérique Gerrier, Jean-Claude Ghnassia, Marie-Françoise Odou, Martine Otter, Alain Perard, Pascal Pernet, Alain Suiro, Anton Szymanowicz, Anne Vassault, Michel Vaubourdolle, Élisabeth Vinner, Jean-Pierre Yvert.

Recommandations sur la métrologie et la maîtrise de la qualité des équipements critiques

Objet et domaine d'application



La grande majorité des résultats des examens de biologie médicale est fournie par la mesure du signal produit au cours de l'analyse grâce à un instrument de mesure, suivie de la transformation du signal mesuré en une valeur correspondant à la quantité de l'analyte présent dans l'échantillon. La fiabilité du résultat dépend d'une part des performances de l'instrument de mesure, d'autre part de la relation entre signal et résultat. Il convient donc d'une part d'étalonner les instruments, d'autre part de vérifier la stabilité de leurs performances.

Le laboratoire de biologie médicale (LBM) doit définir et appliquer une procédure d'étalonnage et/ou de vérification dont l'objet est de s'assurer que tout équipement impliqué et utilisé au cours d'un processus d'analyse possède des qualités de justesse telles que le résultat soit une valeur aussi proche que possible de la valeur vraie.

Il importe donc que les opérations d'étalonnage et de vérification soient effectuées, que leurs résultats aient été validés et enregistrés et que les utilisateurs aient accès à ces informations au moment de l'utilisation des équipements.

1 Définitions [1]

- **Métrologie** : science de la mesure (du grec « *metros* » et « *logos* »).
La métrologie recouvre l'ensemble des connaissances qui vont donner la signification de la mesure. Cela permet d'exprimer une grandeur mesurable comme une unité de mesure multipliée par un nombre. La valeur mesurée étant souhaitée être la plus proche possible de la valeur vraie.
- **Appareil de mesure** : dispositif destiné à faire un mesurage, seul ou en conjonction avec d'autres équipements.
- **Mesure matérialisée** : dispositif destiné à reproduire ou à fournir de façon permanente pendant son emploi une ou plusieurs valeurs connues d'une grandeur donnée.
- **Instrument de mesure** : ce terme recouvre les deux définitions précédentes.
- **Mesurage** : ensemble des opérations ayant pour but de déterminer une valeur d'une grandeur.
- **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.
- **Ajustage** : ensemble d'opérations réalisées sur un système de mesure pour qu'il fournisse des indications prescrites correspondant à des valeurs données des grandeurs à mesurer.
- **Étalon** : mesure matérialisée, appareil de mesure ou système de mesure destiné à définir, réaliser, conserver ou reproduire une unité ou plusieurs valeurs connues d'une grandeur pour les transmettre par comparaison à d'autres instruments de mesure.
- **Étalon de référence** : étalon, en général de la plus haute qualité métrologique disponible en un lieu donné, duquel dérivent les mesurages effectués en ce lieu.
- **Étalon primaire** : étalon qui présente les plus hautes qualités métrologiques dans un domaine spécifié.
- **Étalon secondaire** : étalon dont la valeur est fixée par comparaison avec un étalon primaire.
- **Étalon de transfert** : étalon utilisé comme intermédiaire pour comparer entre eux deux étalons, des mesures matérialisées ou des appareils de mesure.
- **Étalon de travail** : étalon qui, habituellement étalonné par comparaison à un étalon de référence, est utilisé couramment pour étalonner ou contrôler des mesures matérialisées ou des appareils de mesure.
- **Raccordement métrologique** : comparaison d'un instrument de mesure à une valeur de référence délivrée par un étalon ou un matériau de référence, ou encore un autre équipement étalonné.
- **Traçabilité** : aptitude à retrouver l'historique, l'utilisation ou la localisation d'un article ou d'une activité ou d'articles ou activités semblables au moyen d'une identification enregistrée.
- **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.
- **Confirmation métrologique** : ensemble d'opérations nécessaires pour assurer qu'un équipement de mesure répond aux exigences correspondant à l'utilisation prévue [2].
- **Vérification** : confirmation par examen et établissement de preuves que les exigences spécifiées ont été satisfaites.
- La **vérification métrologique** consiste à apporter la preuve à partir de mesures (étalonnage) que des exigences spécifiées (les erreurs maximales tolérées) sont satisfaites. Le résultat d'une vérification se traduit par une décision de conformité (suivie d'une remise en service) ou de non-conformité (suivie d'un ajustage, d'une réparation, d'un déclassement ou d'une réforme de l'appareil).

- **Système de management de la mesure** : ensemble d'éléments corrélés ou interactifs nécessaires pour effectuer une confirmation métrologique et un contrôle continu des processus de mesure.

2 Le processus de confirmation métrologique

Un instrument de mesure a pour fonction de fournir la valeur d'une grandeur, avec un écart (exactitude de mesure) le plus faible possible par rapport à la valeur vraie de la grandeur, et par rapport à une échelle de valeurs spécifique de cette grandeur (traçabilité métrologique).

- Par exemple, pour un examen de la glycémie sanguine, on souhaite que l'instrument de mesure utilisé fournisse un résultat aussi proche que possible de la glycémie vraie, et que la valeur trouvée, pour être interprétable, corresponde à une concentration en glucose exprimée en mmol/L. Pour satisfaire ce besoin, l'instrument utilisé doit dans un premier temps être étalonné avec un étalon raccordé au système d'unités de concentration et par la suite, au cours de son utilisation, l'instrument doit être régulièrement vérifié pour maîtriser la taille de l'écart entre les glycémies mesurées et les valeurs vraies correspondantes.

La confirmation métrologique, pilier de la maîtrise de la qualité des équipements de mesure, comprend généralement l'étalonnage et la vérification, tout réglage nécessaire ou la réparation et le réétalonnage, la comparaison avec les exigences métrologiques pour l'utilisation prévue de l'équipement de mesure ainsi que tout verrouillage et étiquetage requis, exigences auxquelles doivent répondre les entreprises [2].

Toute mesure comporte une erreur qui peut être approchée par l'incertitude de mesure de l'instrument, c'est-à-dire la taille de l'intervalle autour de la valeur mesurée dans lequel se situe la valeur vraie pour une probabilité donnée.

De plus, un écart peut exister entre la valeur mesurée et la valeur de référence : c'est l'erreur de mesure.

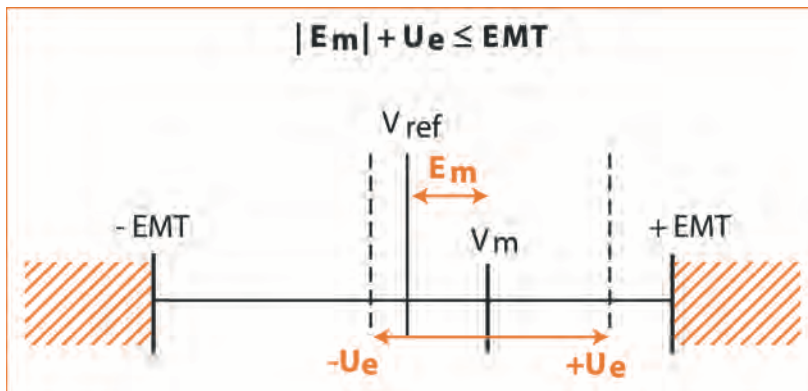
Le but de la confirmation métrologique est de s'assurer que l'erreur totale liée à tout mesurage, représentée par la somme de l'erreur de mesure et de l'incertitude de l'instrument est inférieure à une limite acceptable : l'erreur maximale tolérée [Figure 1].



Erreur maximale tolérée (EMT) : valeur extrême de l'erreur de mesure, par rapport à une valeur de référence connue, qui est tolérée par les spécifications ou règlements pour un mesurage, un instrument de mesure ou un système de mesure donné [1].

L'incertitude de mesure représente l'intervalle autour de la valeur mesurée, dans lequel se situe la valeur vraie pour une probabilité donnée. Cette notion a été décrite en détail dans le volume 1 des recommandations (SG2-06 [3]).

→ FIGURE 1 : MAÎTRISE DE L'ERREUR



V_{ref} : valeur de référence ; V_m : valeur mesurée ; E_m : erreur de mesure ; $|E_m|$: valeur absolue de E_m ; U_e : incertitude de mesure de l'instrument.

L'EMT peut être définie de différentes façons :

- par voie réglementaire : c'est le cas pour la métrologie légale (par ex., pompes à carburant, balances commerciales ou pour utilisation médicale, etc.) ;
- par voie normative : normes d'étalonnage des pipettes [4], des balances [5] par exemple ;
- par le fabricant de l'instrument ;
- par l'utilisateur qui, en fonction de ses propres besoins, est le mieux à même de définir le niveau d'erreur maximale pour chacun de ses équipements.

Pour les enceintes thermiques, le document du COFRAC SH GTA 01 [6] propose de définir l'EMT comme le quart de la tolérance associée au besoin. Des exemples seront montrés plus loin. Ce rapport de 4 pour cet exemple, entre un instrument de mesure et la tolérance surveillée est appelé « capacité » de l'instrument. Elle est variable selon les domaines d'activité.



L'étalonnage permet de connaître la valeur de l'erreur de mesure ; la vérification permet de s'assurer que l'erreur totale est inférieure à l'EMT.

Étalonnage

L'étalonnage d'un instrument permet de connaître son erreur de justesse qui est l'écart entre la valeur lue et la valeur de référence donnée à partir de l'étalon.

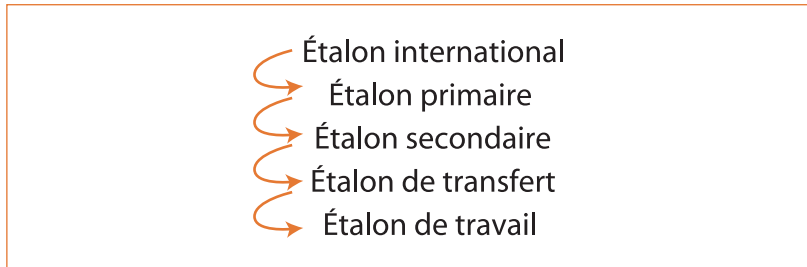
Pour cela, on réalise un étalonnage de l'instrument considéré par comparaison à un instrument étalon ou en comparant les résultats fournis par l'instrument de mesure aux valeurs d'un étalon.

Quelle que soit la référence utilisée pour ces comparaisons (instrument étalon, matériau de référence, solution étalon), elle doit être étalonnée par un organisme certifié relié à la chaîne de métrologie reconnue, et raccordée à un étalon de qualité métrologique

supérieure. Au laboratoire, tout étalon utilisé doit être identifié et raccordé à l'étalon de niveau supérieur lui-même identifié [Figure 2].

Une fois l'instrument étalonné, deux solutions sont possibles.

→ FIGURE 2 : CASCADE DES ÉTALONS



La valeur attribuée à un étalon est obtenue par comparaison à un étalon de niveau supérieur ; de ce fait, l'incertitude sur la valeur d'un étalon croît au fur et à mesure que l'on s'éloigne de l'étalon international.

→ **L'instrument n'est pas ajustable**

On peut alors utiliser cet instrument en tenant compte des écarts constatés pour corriger les résultats des mesures. Les valeurs qu'il indique sont alors corrigées de la valeur de l'erreur de mesure. La correction est égale à l'erreur, mais de signe opposé :

$$\text{Correction} = - \text{Erreur}$$

- Exemple : un thermomètre T indique 20,2 °C alors que le thermomètre étalon indique 20,0 °C. L'erreur de mesure est de + 0,2 °C. La correction correspondante est - 0,2 °C. On utilise ensuite le thermomètre T pour mesurer la température d'une pièce. Il indique 18,5 °C. On applique la correction de - 0,2 °C. La température de la pièce est en réalité de 18,3 °C.

→ **L'instrument est ajustable**

Il est alors ajusté de façon que l'erreur de mesure devienne égale à zéro. Il indiquera ainsi la valeur même que l'étalon.

Vérification



La vérification métrologique est l'opération qui permet de s'assurer que les erreurs de mesure assorties de leur incertitude sont toutes inférieures aux EMT.

Au laboratoire, l'EMT est définie par le biologiste médical qui se fonde sur des références réglementaires, normatives et scientifiques ou sur sa propre expérience.

L'instrument doit être vérifié aussitôt après chaque opération susceptible de modifier ses caractéristiques de mesure (ajustage, réparation).

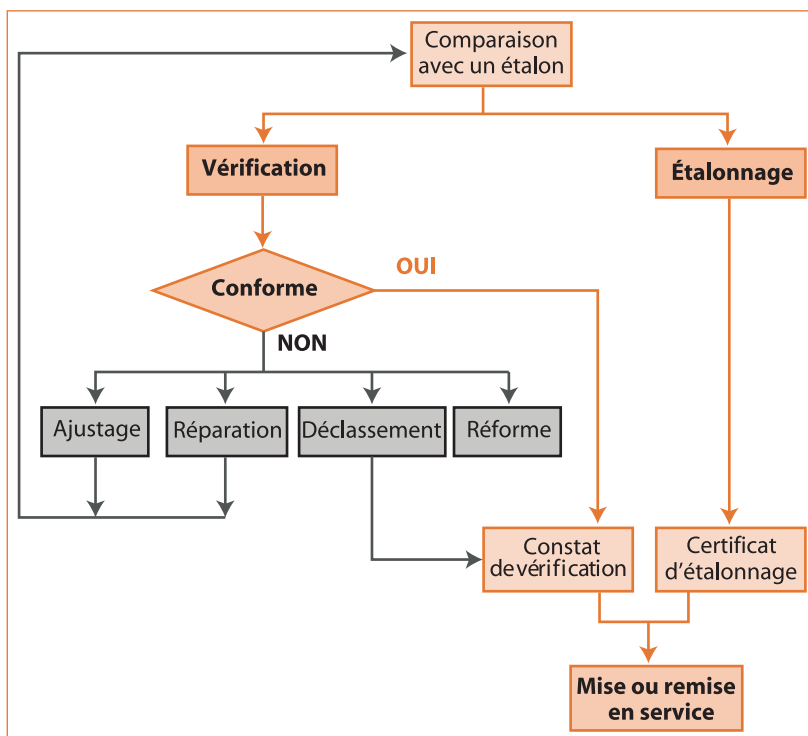
L'instrument est alors à nouveau comparé à la référence et tant que l'erreur totale qu'il génère est inférieure à l'EMT, il peut être utilisé et au besoin réajusté si possible. Si l'erreur observée est supérieure à l'EMT, l'instrument doit être réparé, puis vérifié à nouveau. Si la réparation ne corrige pas le défaut observé, l'instrument doit alors être déclassé, voire réformé.

Par la suite, et compte tenu que les caractéristiques de l'instrument sont susceptibles d'évoluer, il doit être vérifié régulièrement.



Ces opérations d'étalonnage et de vérification de tout instrument de mesure sont nécessaires pour assurer qu'il répond à des exigences attendues. Elles constituent ce que l'on appelle la confirmation métrologique de l'instrument [Figure 3].

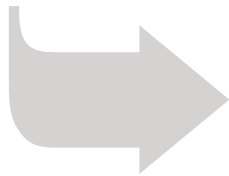
→ FIGURE 3 : PROCESSUS DE CONFIRMATION MÉTROLOGIQUE (D'APRÈS [7])



3 Mise en œuvre de la métrologie au laboratoire

La fonction métrologie

Avant toute utilisation, un instrument de mesure ou un équipement comportant un ou plusieurs instruments de mesure doit faire l'objet d'une confirmation métrologique. Dans un LBM, la maîtrise des résultats de l'ensemble de ces opérations, qu'elles soient effectuées totalement, partiellement ou non au laboratoire, doit être placée sous la responsabilité d'une personne habilitée : le responsable métrologie.



Responsable métrologique : personne qui a la responsabilité administrative et technique de définir et de mettre en œuvre le système de management de la mesure [8].

Cette fonction recouvre l'ensemble des activités permettant de maîtriser la qualité des résultats de mesure depuis l'adéquation aux besoins, l'achat, la conformité, le raccordement, la gestion et le suivi des dispositifs de mesure d'analyse et d'essais jusqu'aux contrôles réalisés pour assurer la conformité des produits.

Les activités de métrologie sont placées sous l'autorité d'une personne à qui incombent la coordination et la responsabilité générale de tous les moyens, opérations et actions relevant de cette fonction. Il lui appartient de définir les principes de gestion de ces moyens (choix, réception, étalonnage, vérification, surveillance) pour concourir à la qualité des résultats des examens, et les dispositions générales qui en découlent.

Cette personne doit avoir fait l'objet d'une qualification et d'une habilitation spécifiques. Pour exercer convenablement sa mission, il est recommandé que le responsable métrologie possède quelques qualités particulières telles que :

- expérience du laboratoire et de ses équipements ;
- bonne connaissance des instruments et des analyses ;
- formations approfondies sur les automates ;
- rigueur et méthode ;
- capacité d'observation et sens critique.

La fonction de responsable métrologie est une fonction clé du système de management de la qualité (SMQ), qui doit être définie dans l'organigramme du laboratoire. Selon la taille de la structure, cette fonction est assurée par le biologiste responsable ou, si possible, par une autre personne désignée par lui et placée sous sa responsabilité.

La direction du laboratoire doit garantir la bonne gestion de la métrologie en précisant les missions du responsable métrologie, en lui fournissant les ressources qui lui sont nécessaires, et en assurant son indépendance et sa protection contre toute pression qui pourrait influencer son jugement ou le résultat de ses travaux.

L'évaluation de la fonction (auto-évaluation, audit) doit être effectuée régulièrement (1 fois par an), et les conclusions évaluées en revue de direction.

Missions du responsable métrologie

Le responsable métrologie a pour mission principale de définir et de mettre en œuvre le système de management de la mesure fondé sur la gestion des équipements, des processus de mesure, des compétences et de la documentation associée [9].

→ Gestion des équipements

- Participer à la définition des objectifs en matière de métrologie, raccordement, fréquence, modalités et programme d'étalonnage.
- Assurer que les équipements correspondent bien aux besoins.
- Organiser la gestion des équipements : qualification des instruments, inventaire, maintenance et bon fonctionnement.
- Évaluer les besoins réels en moyens de mesure et orienter la gestion de ces moyens en fonction des besoins clairement définis et périodiquement actualisés.
- Maîtriser l'aptitude à l'emploi de tous les moyens de mesure utilisés au laboratoire.
- Réaliser une veille technologique afin de proposer les solutions les plus adéquates lors de sa participation à la politique d'investissement en instruments de mesure.

→ Gestion des processus de mesure

- Assurer la gestion des moyens de mesure : analyse des besoins, choix, mise en service et suivi.
- Activer le processus de confirmation métrologique et en surveiller le fonctionnement.
- Assurer la mise en œuvre des conclusions.

→ Gestion des compétences

- Répartir les activités entre les divers participants.
- Préciser les attributions confiées et la compétence nécessaire.
- Vérifier que chaque participant est conscient de l'étendue et des limites de sa sphère de responsabilité.
- Prévoir et valider les formations adaptées.
- Tenir à jour les qualifications, formations et expérience.
- Participer à la formation du personnel utilisateur des instruments de mesure.

→ Gestion de la documentation

- Valider et gérer la documentation spécifique.
- Assurer l'exploitation des données des certificats d'étalonnage et de vérification.

4 Organisation de la métrologie

Raccordement métrologique et traçabilité

Le but de la métrologie au laboratoire est de conditionner les équipements de mesure de façon que les résultats d'analyse qu'ils produisent soient comparables d'un LBM à l'autre et qu'ils puissent être interprétés par les cliniciens qui les comparent à des valeurs de référence.

→ Comparabilité des résultats

La comparabilité des résultats d'un LBM à l'autre est assurée par l'étalonnage des instruments par rapport à une même référence (raccordement métrologique).



Raccordement métrologique : comparaison d'un instrument de mesure à une valeur de référence délivrée par un étalon ou un matériau de référence, ou encore un autre équipement étalonné.

Les matériaux d'étalonnage doivent autant que possible être raccordés à un étalon du système international (certificat de raccordement).

Lorsque le raccordement n'est pas possible ou pas pertinent, le LBM doit assurer la justesse de ses résultats soit en utilisant des matériaux de référence consensuels et décrits, soit en se comparant à une référence commune déterminée lors d'un programme de comparaisons inter-laboratoires (CIL).

Le raccordement au système international d'unités (SI) ou à une autre référence (constante naturelle, référence reconnue), réalisé par l'étalonnage des instruments, doit être assuré à chaque fois que cela est pertinent et possible [10, 11] :

- *possible* : une chaîne ininterrompue d'étalons existe depuis le LBM jusqu'à un étalon national ou international ;
- *pertinent* : le coût du raccordement est réaliste par rapport à l'intérêt clinique de l'examen.

S'il existe des matériaux permettant le raccordement métrologique, alors ils doivent être utilisés. Lorsque le raccordement n'est pas possible, le laboratoire doit néanmoins prouver la fiabilité de ses résultats [12]. Il pourra alors :

- utiliser des matériaux de référence certifiés ;
- participer à des évaluations externes de la qualité (EEQ) fondées sur des CIL.

→ Interprétation des résultats

L'interprétation des résultats est assurée par l'établissement d'une échelle de valeurs réalisée entre l'étalon utilisé et un système de référence national ou international (traçabilité métrologique).



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.

Pour garantir la qualité des résultats de ses mesures, le LBM doit apporter la preuve (traçabilité métrologique) que ses équipements de mesure sont raccordés à des étalons nationaux ou internationaux.

La traçabilité métrologique doit porter sur un matériau ou une procédure de référence jusqu'à un matériau de référence de qualité supérieure. Elle peut être fournie par un fabricant de système d'analyses, acceptable tant que le laboratoire utilise sans modification le système d'analyses et les procédures d'étalonnage.

Concrètement, cela signifie que le LBM doit être en mesure d'indiquer pour tout résultat de toute analyse quel(s) matériau(x) a (ont) été utilisé(s) pour l'obtention de ce résultat.

Réalisation de l'étalonnage

L'étalonnage peut être réalisé de plusieurs façons [10], qui peuvent toutes être utilisées et se compléter l'une l'autre selon le type d'instrument à étalonner :

- par le LBM en interne, s'il dispose d'un matériau d'étalonnage raccordé à un étalon du SI, dans la mesure où il existe, et accompagné du certificat de raccordement correspondant. Cette solution est possible pour une balance de précision pour laquelle le LBM dispose de masses étalons répondant à cette condition ou pour étalonner des pipettes d'un volume de distribution suffisant avec une telle balance ;
- par un service de métrologie interne (par ex., service biomédical à l'hôpital). Dans les structures de grande taille (regroupements de LBM, établissements de soins), il peut être justifié de mettre en place un service spécialisé parfois propre au laboratoire, le plus souvent externe au LBM. Un tel service doit avoir mis en place un SMQ conforme à la norme NF EN ISO/CEI 17025 [14] évalué par le COFRAC ;
- par un organisme d'étalonnage accrédité par le COFRAC ou par un organisme équivalent (accord mutuel de reconnaissance) ;
- par un laboratoire national de métrologie.

Dans tous les cas, l'étalonnage doit être prouvé par un document mentionnant les résultats (certificat d'étalonnage ou constat de vérification) et comportant l'identité de l'organisme qui a réalisé l'étalonnage (LBM ou autre) et, le cas échéant, le logotype de l'organisme accréditeur.

Lorsque l'étalonnage est effectué au LBM, il doit l'être dans des locaux adaptés de façon à ne pas compromettre l'exactitude des mesures effectuées. Ces locaux doivent être équipés de dispositifs de surveillance des conditions de température, humidité, pression atmosphérique.

Le métrologue doit disposer également de tous les protocoles d'étalonnage propres à chaque type d'instrument.

→ **Sous-traitance**

Les opérations d'étalonnage peuvent aussi être sous-traitées par un prestataire extérieur. L'intérêt de faire étalonner ses étalons ou ses équipements par un laboratoire accrédité réside dans le fait que les techniques, les moyens, les incertitudes d'étalonnage et la compétence technique du laboratoire accrédité sont validés par une tierce partie (l'organisme accréditeur).

De plus, ces organismes peuvent réaliser des opérations d'ajustage et de réparation. Cette solution ne décharge pas le LBM de sa responsabilité dans la gestion des opérations d'étalonnage. Le responsable métrologue doit en tout cas planifier et organiser la sous-traitance, s'assurer que toutes les opérations prévues sont réalisées, conserver tous les certificats d'étalonnage, constats de vérification et autres documents de preuve, enregistrer toutes les informations relatives à la vie des équipements.

→ **La vérification au laboratoire**

Les principales opérations de vérification peuvent être effectuées au laboratoire. Elles sont indispensables pour assurer le maintien des caractéristiques des différents instruments de mesure et pour apporter les corrections nécessaires en cas de dérive. Elles sont décrites plus loin, pour chaque type d'instrument.

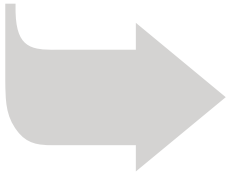
Métrologie des instruments du laboratoire

Les opérations de confirmation métrologique ne s'appliquent qu'aux instruments dits critiques, c'est-à-dire ceux qui ont une incidence significative sur l'exactitude et la fiabilité des résultats [10], dont on aura établi un inventaire complet.

L'utilisation de tels équipements ne sera autorisée qu'après qu'ils ont été étalonnés et/ou vérifiés, que les résultats de ces opérations ont été enregistrés et que les conséquences qui en découlent sont appliquées.

Les équipements concernés sont de différents types :

- des analyseurs intégrant dans leur structure des instruments de mesure : analyseurs multiparamétriques, pH-mètres, osmomètres, etc. ;
- instruments simples de mesure de :
 - volumes : pipettes et autres contenants volumétriques, appareils à pistons,
 - masses : balances,
 - températures : thermomètres ;
- des équipements autres dont les performances peuvent avoir un effet sur la qualité des résultats : enceintes thermiques, bains-marie, thermo-cycleurs, centrifugeuses, etc.



Remarque : « **la maîtrise** de la fiabilité des équipements non critiques est assurée par le respect des opérations d'entretien, de maintenance, d'utilisation conformes aux indications des fournisseurs, et de réguliers contrôles de bon fonctionnement décrits dans les documents spécifiques » [6].

→ Instruments de mesure intégrés

Pratiquement tous les analyseurs mono- ou multiparamétriques comportent dans leur structure des instruments de mesure non directement accessibles, comme des systèmes de mesure de volumes d'échantillons, des systèmes de contrôle de température ou encore des appareils de mesures spécifiques, tels que des électrodes, ou tout autre système.

La confirmation métrologique de tels équipements par leur étalonnage doit être effectuée avant et régulièrement au cours de leur utilisation.

L'étalonnage est réalisé à l'aide de solutions étalons fournies par le fabricant et en respectant les protocoles adaptés ; la vérification est assurée par les opérations de contrôle internes, qui permettent d'observer la stabilité des performances des appareils ou l'apparition de dérives, et par les évaluations externes, qui permettent d'évaluer les écarts de justesse. Le LBM s'assure que les solutions étalons utilisées sont raccordées au SI : les notices relatives à ces solutions étalons doivent comporter l'indication de l'étalon utilisé par le fournisseur.

Ces opérations, dont le suivi peut être piloté et vérifié par le responsable métrologue, doivent être réalisées conformément aux protocoles établis et donner lieu à des décisions d'utilisation documentées et à des enregistrements de même nature que pour tout autre instrument critique.

→ Instruments de mesure de volumes

→ Pipettes

Pour les contrôles et les étalons à reconstituer ou pour la mesure précise d'un volume d'échantillon, toujours préférer des pipettes en verre, à deux traits, de classe A, pour lesquelles on se procurera le certificat d'étalonnage auprès du fournisseur.

Il n'y a plus alors qu'à vérifier le bon état de ces pipettes et à respecter les conditions d'utilisation : pas d'ébréchantures, pas de bouchage, traits bien visibles, matériels et liquides à température proche de celle à laquelle la pipette a été étalonnée (en général 20 °C), tenue verticale, lecture tangentielle au bas du ménisque, lavage sans détergent et à froid, stockage à l'abri des chocs, etc.

Ne surtout pas utiliser une pipette à piston de 1 000 µL pour reconstituer un réactif avec 5 mL d'eau distillée par 5 transferts de 1 000 µL, l'erreur de mesure serait égale à 5 fois l'erreur sur 1 mL, et l'incertitude de mesure au moins 2 fois plus élevée que celle associée à un seul transfert !

→ Pipettes à piston

Les balances de précision habituellement disponibles dans les LBM, qui permettent d'atteindre le $1/10^{\text{e}}$ de mg, ne sont pas suffisamment sensibles pour autoriser l'étalonnage correct des pipettes dont la prise de volume est inférieure à 100 μL (la norme ISO 8655 [15] précise que pour des vérifications d'instrument de volume nominal $> 10 \mu\text{L}$, la **résolution** de la balance doit être de 0,01 mg, de 0,1 mg pour des 100 μL). Qu'elles soient à volume fixe ou variable, ces pipettes ne peuvent être étalonnées que par des organismes certifiés. Attention alors à bien s'assurer que leur transport de retour au laboratoire soit effectué dans des conditions qui ne risquent pas d'en perturber les caractéristiques. Pour des volumes de plus de 100 μL , une balance de « précision » (résolution au $1/10^{\text{e}}$ de mg) est utilisable, à condition que cette balance soit elle-même étalonnée et « certifiée », que le laboratoire dispose de masses étalons adaptées à l'étendue des mesures et que le protocole d'étalonnage soit documenté et validé.

Si le LBM souhaite effectuer des vérifications de ses pipettes, il lui est recommandé de se procurer au moins la norme suivante qui indique les conditions de réalisation et les limites de tolérances : NF EN ISO 8655-6 : 2002 « Partie 6 : méthodes gravimétriques pour la détermination de l'erreur de mesure » [15] et « Partie 2 : pipettes à piston » [4]. Le LBM doit alors rédiger un certificat d'étalonnage comportant les mentions réglementaires [20]. Une fois les pipettes étalonnées, leur vérification régulière est indispensable pour s'assurer que l'erreur qu'elles génèrent reste inférieure à l'EMT que s'est fixée le LBM. L'étalonnage et la vérification sont nécessaires à la qualité des résultats, mais pas suffisants : il faut également que les instruments soient manipulés et entretenus de façon à ne pas en modifier les caractéristiques. On peut constater des erreurs parfois beaucoup plus importantes que l'erreur de mesure optimale, notamment lorsque ces instruments présentent des défauts d'étanchéité au niveau du cône ou entre le piston et le corps de la pipette [16].

Tous les appareils volumétriques ayant fait l'objet d'un certificat d'étalonnage doivent être identifiés de façon particulière, pour éviter de les confondre avec des appareils non certifiés tels que des pipettes de transfert qui ne doivent en aucun cas être utilisées pour la reconstitution de matériaux de contrôle ou d'étalonnage ou pour la mesure d'un volume donné d'échantillon.

→ Métrologie des températures

Les appareils concernés peuvent être des enceintes thermiques (réfrigérateurs, chambres froides, congélateurs, étuves), des centrifugeuses réfrigérées, des locaux à température contrôlée, etc.



Une difficulté peut être de décider si tel ou tel équipement est critique ou non. Seuls les matériels critiques doivent faire l'objet d'un raccordement métrologique.

- Par exemple, un congélateur maintenu à -22 ± 3 °C n'est peut-être pas critique si les produits qu'il contient doivent être conservés au-delà de -18 °C ; une étuve utilisée pour sécher des gels d'électrophorèse n'est *a priori* pas critique ; en revanche, une enceinte destinée à stocker des échantillons de contrôle ou des réactifs l'est sans aucun doute, de même qu'une étuve de microbiologie dont on veut que la température soit établie à 37 ± 1 °C.

→ Caractérisation des enceintes thermiques

Avant leur mise en service, et par la suite au moins une fois tous les 5 ans (délai acceptable pour les réfrigérateurs et congélateurs, mais pas pour les étuves), les enceintes thermiques critiques doivent faire l'objet d'une cartographie des températures, en 9 points pour un volume de travail de moins de 2 m³, en 15 points pour des volumes supérieurs et jusque 20 m³, au-delà le nombre de points est à adapter à la taille de l'enceinte [17, 18].

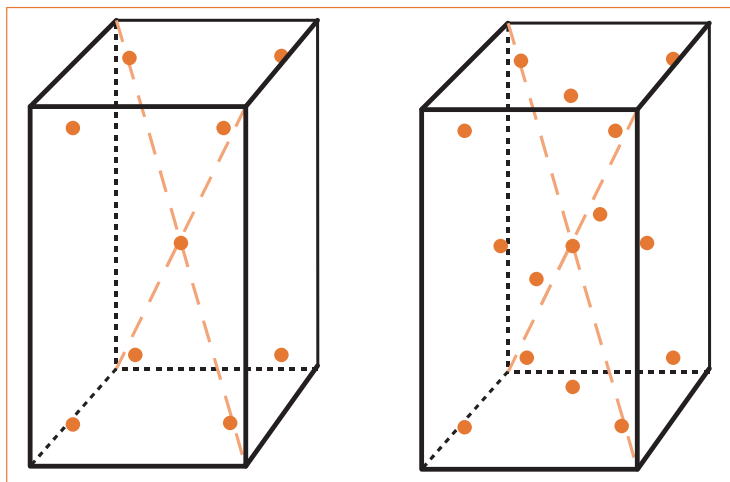
Les mesures doivent être faites simultanément, les sondes étant placées dans l'air, à une certaine distance des parois et des objets, l'enceinte étant si possible normalement chargée [Figure 4]. Elle sera déclarée conforme si les températures relevées sont toutes comprises entre les limites -EMT et +EMT [Figure 5].

Il est recommandé d'acquérir des équipements conçus pour les besoins des LBM et de ne pas se contenter d'appareils à usage domestique dont les caractéristiques sont plus aléatoires et difficiles à maîtriser.

→ Vérification des températures

Les températures doivent être relevées et enregistrées systématiquement au moins une fois par jour, les limites d'alerte doivent être établies pour chaque enceinte, les actions correctives prévues et mises en place sans délai en cas d'alerte. La fréquence de relevé est à adapter en fonction du risque relatif aux produits stockés, conservés ou entreposés dans l'enceinte.

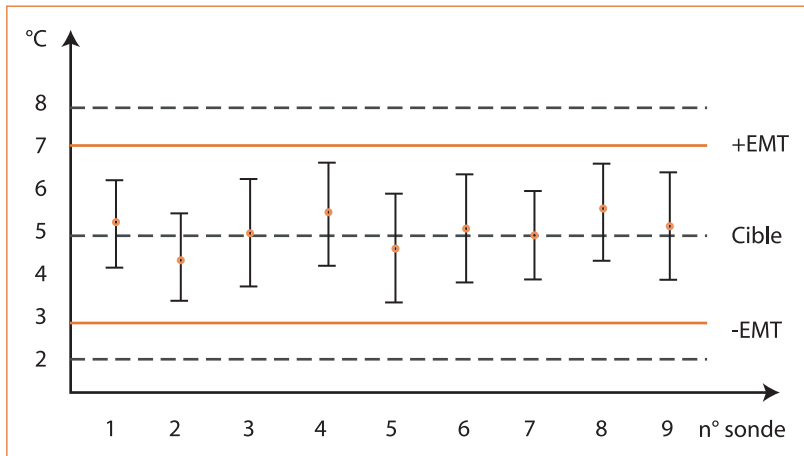
→ FIGURE 4 : POSITIONNEMENT DES SONDES POUR LA CARACTÉRISATION D'UNE ENCEINTE THERMIQUE



Enceinte thermique :

- de moins de 2 m³ (à gauche) : 8 coins + le centre ;
- de plus de 2 m³ (à droite) : 8 coins + le centre + le centre des 6 faces.

→ FIGURE 5 : CARACTÉRISATION D'UNE ENCEINTE THERMIQUE



Relevé des températures : toutes les sondes affichent des températures comprises entre les valeurs -EMT et +EMT définies par le laboratoire (ici entre 3 °C et 7 °C) ; l'enceinte est déclarée conforme et peut être utilisée.

Il est recommandé de disposer d'un système d'enregistrement des températures comportant des sondes installées dans les enceintes et reliées à un enregistreur en continu.

- Les conditions à respecter :
 - étalonner les sondes par comparaison à un thermomètre étalon ;
 - définir les limites d'alerte propres à chaque enceinte, donc à chaque sonde ;
 - vérifier quotidiennement les enregistrements des températures ; cette opération est indispensable surtout si le LBM la confie à du personnel non sous sa responsabilité ou situé sur un site différent (service biomédical par ex.) ;
 - réagir à toute alerte conformément au protocole établi, sans délai ou en respectant un délai maximum fixé en fonction de l'inertie thermique des enceintes ;
 - vérifier les caractéristiques des produits conservés en cas de dépassement de température supérieur à ce délai ;
 - enregistrer les alertes, les actions correctives et les vérifications réalisées.

Attention à bien choisir les thermomètres en fonction des températures qu'ils doivent mesurer (exemple des étuves de microbiologie qui doivent fonctionner à 37 ± 1 °C). Dans ce cas, l'erreur totale doit être inférieure à 1 °C, donc l'incertitude de mesure du thermomètre doit être nettement inférieure à cette valeur ($EMT = 1/4$ de l'erreur totale). Attention aussi au thermomètre étalon utilisé pour étalonner les thermomètres des étuves. Il faut que son incertitude soit très faible, 0,01 °C par exemple.

La qualité d'un thermomètre est moins critique pour un congélateur pour lequel il faut une température d'au moins - 20 °C. Il suffit de connaître l'erreur totale du thermomètre pour pouvoir l'utiliser correctement. Même chose pour les sondes de mesure.

La vérification des thermomètres ou des sondes au laboratoire ne présente pas de difficulté particulière et gagne à ne pas être sous-traitée, à condition que le LBM s'équipe d'un thermomètre étalon lui-même raccordé.

- Température des cuves réactionnelles (automates)

Dans la mesure où l'accès à l'environnement direct des cuves d'un automate est possible, il peut être utile de vérifier si la température réelle correspond bien à celle annoncée. Si l'automate lui-même effectue ces vérifications, s'en assurer. La quasi-totalité des automates peut chauffer les cuves, mais non les refroidir. En cas de température élevée dans le laboratoire, ne pas oublier de vérifier et de nettoyer régulièrement les filtres et les grilles des entrées d'air pour le refroidissement des instruments.

→ Mesures des masses

→ Balance de précision

Lorsque le laboratoire dispose d'une balance de précision (généralement sensible au $1/10^e$ de mg), il est recommandé que cette balance soit étalonnée par un organisme certifié, qui peut de plus en assurer un ajustage ou une réparation.

Le LBM peut aussi effectuer cet étalonnage à condition qu'il dispose de masses étalons raccordées, et en respectant les exigences de la norme spécifique [5].

Le LBM doit effectuer la vérification métrologique de la balance en mesurant régulièrement les masses étalons, avant chaque pesée ou régulièrement en fonction des besoins. Ces masses étalons sont des outils de grande précision dont les instructions de stockage et de maniement doivent être documentées et appliqués.

Note : les balances donnant des indications directement exploitables dans un résultat d'analyse relèvent de la métrologie légale (opérateur agréé) [22].

→ Autres mesures (si elles sont critiques)

→ Chronomètres

- Étalonnage sur l'horloge parlante.
- Vérifier la remise à zéro du chronomètre.
- Téléphoner à l'horloge parlante : n° 3699 (numéro court).
- Déclencher le chronomètre au 4^e top d'une heure quelconque mais notée.
- Raccrocher le téléphone.
- Attendre au moins une heure.
- Rappeler l'horloge parlante et arrêter le chronomètre au 4^e top de l'heure suivante.
- Noter l'écart entre le temps officiel et le temps mesuré.
- Cet écart est alors pris en compte pour corriger les mesures de temps au prorata du délai à mesurer : si l'écart est de 3 secondes sur une heure, la correction pour un délai de 15 minutes sera égale à $-3/4$ de seconde.
- Enregistrer ces opérations et les résultats.

→ Centrifugeuses

Le LBM définit les EMT qu'il souhaite pour l'accélération requise (nombre de g), au besoin en consultant les documents fournis par les fabricants de tubes de prélèvement. L'accélération est reliée à la vitesse de rotation du rotor et au rayon de giration par la relation suivante :

$$FCR = (V / 1\,000)^2 \times R \times 1,118$$

Avec FCR : force de centrifugation relative (en nombre de g) ;

V : vitesse de rotation du rotor (en tours/minute) ;

R : rayon de giration (en mm).

- Par exemple, pour un rayon de 100 mm, et à une vitesse de 4 000 t/mn, l'accélération est de 1 800 g [19].

Si la centrifugeuse est considérée comme critique, il faut raccorder la vitesse de rotation et au besoin la température et la mesure du temps aux unités SI. Pour la vitesse, cette opération peut être réalisée en interne si le LBM dispose d'un tachymètre raccordé.

À l'heure actuelle, il n'y a pas d'organisme accrédité pour de telles opérations. Le LBM peut néanmoins les sous-traiter par un prestataire externe auquel il faudra demander le certificat d'étalonnage du tachymètre et des autres instruments qu'il aura utilisés, et vérifier qu'ils sont raccordés.

5 La documentation spécifique

Les opérations d'étalonnage et de vérification doivent donner lieu à la rédaction d'un document d'étalonnage, à des décisions de conformité ou non des instruments. Ces décisions, qui peuvent conduire à l'une des quatre mesures correctives suivantes (ajustage, réparation suivie d'une nouvelle vérification, déclassement donnant lieu à une remise en service, ou réforme), doivent être enregistrées.

Une des missions importantes du responsable métrologie est la maîtrise d'une documentation complète et adaptée aux besoins et aux activités de métrologie, dont il devra s'assurer qu'elle est validée, à jour et respectée chaque fois que de besoin, et dont le but est de confirmer qu'un instrument est adapté à l'utilisation prévue.

Ne pas oublier que tout instrument dûment étalonné et vérifié ne peut conduire à des résultats satisfaisants que s'il est utilisé correctement. Par exemple, lors de l'utilisation de pipettes, un cône mal fixé ou non étanche, un liquide un peu visqueux, un piston non étanche, etc., peuvent conduire à des erreurs bien plus conséquentes que celles liées aux seuls écarts d'étalonnage.

La documentation relative à la métrologie peut comprendre :

- des documents de base ;
- des procédures, protocoles et instructions ;
- des enregistrements.

→ Documents de base

- Textes généraux : norme NF EN ISO 15189 : 2007 [12], ISO 15189 : 2012 [13], SH REF 02 [10], en principe déjà présents dans le système documentaire du LBM.
- Textes plus spécifiques : normes relatives à la métrologie telles que celles citées dans le présent article (voir Références), en particulier la norme NF EN ISO 10012 [2].

→ Procédures, protocoles et instructions

- Procédure de gestion des équipements.
- Procédure de gestion de la métrologie.
- Protocoles d'utilisation des différents appareils et logiciels.
- Procédure d'estimation des incertitudes d'étalonnage (raccordement en interne).
- Protocoles d'étalonnage et de vérification (nature, fréquence, modalités).
- Modes de reconstitution des étalons et des contrôles.
- Protocoles de maintenance et d'entretien.
- Protocoles d'interprétation des étalonnages et des contrôles (limites d'acceptabilité).

→ Enregistrements

On peut distinguer deux types de documents d'enregistrements, ceux relatifs à la gestion des équipements et ceux relatifs au suivi des performances.

Enregistrements relatifs à la gestion des équipements (inventaires, dossier instrument, fiches de vie, etc.)

L'inventaire des équipements a pour but d'en établir une liste complète et classée selon le type de matériel et des besoins métrologiques de chaque instrument [9] : instrument de mesure, instruments d'analyses, instruments intermédiaires, équipements informatiques. Il est intéressant de lister à part les instruments critiques.

Pour chaque instrument, il convient de noter :

- le nom de l'instrument, le type, le numéro de série, le fabricant, le distributeur ;
- le numéro d'identification dans l'inventaire du LBM ;
- les dates d'achat et de mise en service.

Avant sa mise en service, tout équipement doit être identifié par son numéro d'inventaire et étiqueté.

→ Dossier instrument

Pour chaque appareil, un dossier doit être établi qui comprend toutes les informations liées à la gestion de l'équipement, depuis son acquisition jusqu'à sa mise hors service [12], dont :

- les mêmes informations que dans l'inventaire, complétées des coordonnées des fabricants, distributeurs ou personnes assurant le service après-vente ;
- la date et l'état de l'instrument à l'acquisition : neuf, reconditionné ;
- les dates d'installation, de vérification, de mise en service ;
- la localisation de l'appareil ;
- la durée de la garantie, l'existence ou non d'un contrat de maintenance ;
- la liste des analyses réalisées, des consommables nécessaires ;
- la liste des équipements annexes ;
- tous les enregistrements associés.

Enregistrements relatifs au suivi des performances des équipements

- Tout élément confirmant que les performances du matériel en autorisent l'utilisation : nature et résultats de la confirmation métrologique initiale, résultats des étalonnages et vérifications (certificats d'étalonnage et constats de vérification), résultats des contrôles internes, des évaluations externes et actions correctives éventuelles.
- Traces des diverses opérations de maintenance réalisées et de leur validation, planning des maintenances préventives programmées.
- Trace de tout événement susceptible de modifier les performances de l'équipement (anomalie, dysfonctionnement, dommage, réparation, modification) et des actions correctives éventuelles et de leur évaluation.

La confirmation métrologique n'est considérée achevée qu'à partir du moment où l'aptitude de l'équipement de mesure pour l'utilisation prévue est démontrée et documentée : certificat d'étalonnage, constat de vérification.

→ Certificat d'étalonnage [20]

Il doit contenir :

→ informations de type administratif :

- identification de l'organisme chargé de l'étalonnage,
- identification du LBM demandeur de l'étalonnage,
- titre du document et numéro d'identification,
- nombre de pages du document,
- date de l'étalonnage,
- nom, titre et signature du responsable de la fonction métrologique ;

→ informations sur le protocole d'étalonnage :

- identification de l'instrument (nom, type, constructeur, numéro de série, numéro d'inventaire interne),
- étalon utilisé et son raccordement,
- conditions d'étalonnage,
- méthode d'étalonnage,
- déroulement des opérations ;

→ résultats et incertitudes correspondantes :

- date d'étalonnage,
- conditions ambiantes (température, pression, hygrométrie),
- description de l'instrument étalonné,
- résultats d'étalonnage, comprenant en particulier :
 - les valeurs vraies (fournies par l'instrument-étalon),
 - les valeurs lues (par l'instrument à étalonner),

- les corrections (= valeurs vraies – valeurs lues),
- les incertitudes associées ;

→ **annexes éventuelles.**

→ **Constat de vérification [21]**

- Mêmes informations administratives.
- Informations techniques : tout ou partie en fonction des instruments.
- Résultats des opérations qui découlent de la confrontation à la prescription et qui permettent de prononcer la remise en service.

Exemple pour une pipette de 50 µL

Méthode de mesure

- gravimétrie (selon, la norme NF EN ISO 8655-6 : 2003)
- le volume délivré est calculé sur 10 mesures

Conditions d'étalonnage

- température : 20,3 °C
- pression atmosphérique : 1 005 kPa
- hygrométrie : 63 %

Appareil d'étalonnage : balance xyz n° 123456

Appareil à étalonner : pipette à volume fixe de 50 µL, XYZ n° 654321

Résultats

- indication de la pipette : 50 µL
- volume mesuré : 49,935 µL, d'où $|E| = 0,065 \mu\text{L}$
- incertitude élargie : $U = 0,047 \mu\text{L}$

Conformité

- exigence selon la norme : $EMT = 0,5 \mu\text{L}$
- exigence du LBM : $EMT = 0,2 \mu\text{L}$
- $|E| + U = 0,065 + 0,047 = 0,112 \mu\text{L}$

État de la pipette : conforme

Liens d'intérêts : aucun

● **Références**

1. ISO/CEI GUIDE 99 : 2007 – *Vocabulaire international de métrologie – Concepts fondamentaux et généraux des termes associés (VIM)*. International Organisation for Standardisation (ISO), 2007.
2. NF EN ISO 10012 : 2003 – *Système de management de la mesure – Exigences pour les processus et les équipements de mesure*. Saint-Denis : AFNOR, 2003.
3. Giroud C, Arnaud J, Vassault A. Incertitude de mesure (SG2-06). *Ann Biol Clin* 2010 (Hors série n° 1) : 237-46.

4. ISO 8655-2 : « Partie 2 : pipettes à piston » In : *Appareils volumétriques à piston*. Saint-Denis : AFNOR, 2003.
5. NF EN 45501 : *Aspects métrologiques des instruments de pesage à fonctionnement non automatique*. Saint-Denis : AFNOR, 1993.
6. SH GTA 01 : *Guide technique d'accréditation en biologie médicale*. COFRAC, 2011.
7. NF X 07-016 : *Métrologie – Essais – Métrologie dans l'entreprise : modalités pratiques pour l'établissement des procédures d'étalonnage et de vérification des moyens de mesure*. Saint-Denis : AFNOR, 1993.
8. NF X 07-010 : *Métrologie – La fonction métrologique dans l'entreprise*. AFNOR, 2001.
9. Dumontet M, Vassault A, Fuss-Holen I, et al. Recommandations pour l'installation dans le laboratoire de la fonction métrologie et de la documentation correspondante (Document B). *Ann Biol Clin* 2004 ; 62 (4) : 479-86.
10. SH REF 02 : *Recueil des exigences spécifiques pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale*. COFRAC, 2012.
11. NF EN ISO 17511 : *Dispositifs médicaux de diagnostic in vitro. Mesurage des grandeurs dans des échantillons d'origine biologique. Traçabilité métrologique des valeurs attribuées aux agents d'étalonnage et aux matériaux de contrôle*. Saint-Denis : AFNOR, 2004.
12. NF EN ISO 15189 : 2007 : *Laboratoires d'analyses de biologie médicale – Exigences concernant la qualité et la compétence*. Saint-Denis : AFNOR, 2007.
13. ISO 15189 : 2012 : *Laboratoires d'analyses de biologie médicale – Exigences concernant la qualité et la compétence*. Saint-Denis : AFNOR, 2012.
14. NF EN ISO/CEI 17025 : *Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais*. Saint-Denis : AFNOR, 2005.
15. ISO 8655-6 : « Partie 6 : méthodes gravimétriques pour la détermination de l'erreur de mesure » In : *Appareils volumétriques à piston*. Saint-Denis : AFNOR, 2002.
16. NF EN ISO 4787 : *Verrerie de laboratoire – Instruments volumétriques – Méthodes de vérification de la capacité et d'utilisation*. Saint-Denis : AFNOR, 2009.
17. NF X 15-140 : *Mesure de l'humidité de l'air – Enceintes climatiques et thermostatiques – Caractérisation et vérification*. Saint-Denis : AFNOR, 2002.
18. LAB GTA 24 : *Guide technique d'accréditation pour la caractérisation et la vérification des enceintes thermostatiques et climatiques, des fours et des bains thermostatés*. COFRAC, 2009.
19. http://www.team-w.ch/service/m099_f_mpainto_centrifugation.pdf
20. X 07-012 : *Métrologie – Métrologie dans l'entreprise – Certificat d'étalonnage des moyens de mesures*. Saint-Denis : AFNOR, 1995.
21. X 07-011 : *Métrologie – Essais – Métrologie dans l'entreprise – Constat de vérification des moyens de mesures*. Saint-Denis : AFNOR, 1994.
22. Décret n° 91-330 du 27 mars 1991, relatif aux instruments de pesage à fonctionnement non automatique. *JORF* du 3 avril 1991.