

**THESE  
POUR LE DIPLOME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le 20 juin 2012  
Par Mr Eric Charbonnier**

---

**Démarche qualité et accréditation des Laboratoires de Biologie Médicale.**

**Déploiement de la fonction « métrologie ».**

**Cas du Pôle de Biologie-Pathologie-Génétique du CHRU de Lille.**

---

**Membres du jury :**

**Président :** Monsieur Bernard Gressier,  
Professeur des Universités – Pharmacologie  
Université Lille 2

**Assesseur(s) :** Monsieur Jean Rousseaux  
Professeur des Universités – Biochimie  
Université Lille 2

**Membre(s) extérieur(s) :** Docteur Anne-Sophie Roumier  
Praticien Hospitalier  
Laboratoire de Biologie – CH d'Armentières



## Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE  
CEDEX

☎ 03.20.96.40.40 - 📠 : 03.20.96.43.64



Université Lille 2  
Droit et Santé

### Université Lille 2 – Droit et Santé

Président :	Professeur Christian SERGHERAERT
Vice- présidents :	Madame Stéphanie DAMAREY Professeur Marie-Hélène FOSSE-GOMEZ Professeur Régis MATRAN Professeur Salem KACET Professeur Paul FRIMAT Professeur Xavier VANDENDRIESSCHE Professeur Patrick PELAYO Madame Claire DAVAL Madame Irène LAUTIER Monsieur Larbi AIT-HENNANI Monsieur Rémy PAMART
Secrétaire général :	Monsieur Pierre-Marie ROBERT

### Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Doyen :	Professeur Luc DUBREUIL
Vice-Doyen, 1 <sup>er</sup> assesseur :	Professeur Damien CUNY
Assesseurs :	Mme Nadine ROGER Professeur Philippe CHAVATTE
Chef des services administratifs :	Monsieur André GENY

### Liste des Professeurs des Universités :

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Physique
M.	BAILLEUL	François	Pharmacognosie
M.	BERTHELOT	Pascal	Chimie Thérapeutique 1
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie – Pharmacie clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	Chimie Thérapeutique
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques
Mlle	DELBAERE	Stéphanie	Physique
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie Générale
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie Générale
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie
Mlle	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie Industrielle
M.	GESQUIERE	Jean-Claude	Chimie Organique
M.	GOOSSENS	Jean François	Chimie Analytique
Mme	GRAS	Hélène	Chimie Thérapeutique 3

M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie Cellulaire
M.	LUC	Gerald	Physiologie
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie Générale
Mme	MUHR – TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PAUMELLE-LESTRELIN	Réjane	Biologie Cellulaire
Mme	PERROY – MAILLOLS	Anne Catherine	Droit et déontologie pharmaceutique
Mlle	ROMOND	Marie Bénédicte	Bactériologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie Industrielle
M.	STAELS	Bart	Biologie Cellulaire
M	TARTAR	André	Chimie Organique
M.	VACCHER	Claude	Chimie Analytique
M.	VION	Daniel	Droit et déontologie pharmaceutique

### Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
M	BRUNET	Claude	Pharmacologie
Mme	CAPRON	Monique	Immunologie
M.	DINE	Thierry	Pharmacie clinique
M.	DUBREUIL	Luc	Bactériologie et Virologie Cliniques
M.	DUTHILLEUL	Patrick	Hématologie
M.	GAMOT	André	Chimie Analytique
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie
M.	LHERMITTE	Michel	Toxicologie
M.	LUYCKX	Michel	Pharmacie clinique
M.	ODOU	Pascal	Pharmacie Galénique
M.	DEPREUX	Patrick	Chimie Organique (ICPAL)
M.	BONTE	Jean-Paul	Chimie Analytique et (ICPAL)

### Liste des Maitres de Conférences

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	AGOURIDAS	Laurence	Chimie Générale
Mme	ALIOUAT	Cécile Marie	Parasitologie
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
Mme	BANTUBUNGI	Kadiombo	Biologie cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Pharmacie Galénique
M.	BEGHYN	Terence	Chimie Thérapeutique 3
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie
M.	BERTHET	Jérôme	Physique
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle
M.	BOCHU	Christophe	Physique
M.	BOUTILLON	Christophe	Chimie Organique
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
Mme	CACHERA	Claude	Biochimie
M.	CARATO	Pascal	Chimie Thérapeutique 2
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON	Sandrine	Biologie cellulaire

Mlle	CHABÉ	Magali	Parasitologie
Mlle	CHARTON	Julie	Chimie Organique
M	CHEVALIER	Dany	Toxicologie
M.	COCHELARD	Dominique	Biomathématiques
Mlle	DANEL	Cécile	Chimie Analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie
Mlle	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
Melle	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire
M.	FARCE	Amaury	Chimie Thérapeutique 2
Mlle	FLAMENT	Marie-Pierre	Pharmacotechnie Industrielle
Mlle	FLIPO	Marion	Chimie Organique
Mme	FOULON	Catherine	Chimie Analytique
Melle	GARAT	Anne	Toxicologie
M.	GELEZ	Philippe	Biomathématiques
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GOFFARD	Anne	Virologie
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA	Kpakpaga Nicolas	Pharmacologie
M.	KARROUT	Youness	Pharmacotechnie Industrielle
Mlle	LALLOYER	Fanny	Biochimie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique 1
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie Analytique
Mme	LORIN-LECOEUR	Marie	Chimie Analytique
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre Arthur	Sciences végétales et fongiques
Melle	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle
Mme	NEUT	Christel	Bactériologie
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Pharmacie Galénique
Mme	POMMERY	Nicole	Toxicologie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques
Melle	RIVIERE	Céline	Pharmacognosie
Mme	ROGER	Nadine	Immunologie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
M.	SERGHERAERT	Eric	Droit et déontologie pharmaceutique
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie Industrielle
Mlle	SINGER	Elisabeth	Bactériologie
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
Mme	THUILLIER	Pascale	Hématologie
Mme	VANHOUTTE	Geneviève	Biochimie
Mme	VITSE	Annie	Parasitologie
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique
M.	YOUS	Saïd	Chimie Thérapeutique 1
M.	FURMAN	Christophe	Pharmacobiochimie (ICPAL)
Mme	GOOSSENS	Laurence	Chimie Organique (ICPAL)
M.	MILLET	Régis	Chimie Thérapeutique (ICPAL)

### Liste des Maitres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
M.	DECAUDIN	Bertrand	Pharmacie Clinique
Mme	ODOU	Marie Françoise	Bactériologie

### Professeurs Agrégés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	MAYES	Martine	Anglais
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et déontologie pharmaceutique

### Professeurs Certifiés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mlle	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

### Professeurs Associé - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ABADIE	Eric	Droit et déontologie pharmaceutique

### Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BERTOUX	Elisabeth	Pharmacie Clinique - Biomathématiques
M.	CREN	Yves	Information Médicale - Biomathématiques
M.	FIEVET	Pierre	Information Médicale
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacie Clinique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacie Clinique
M.	WATRELOS	Michel	Droit et déontologie pharmaceutique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques - Pharmacie virtuelle

### AHU

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	LANNOY	Damien	Pharmacie Galénique
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacie Galénique



Université Lille Nord de France  
Pôle de Recherche  
et d'Enseignement Supérieur



**Université Lille 2**  
**Droit et Santé**

## ***Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille***

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX  
Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64  
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

**L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.**

## Remerciements

*A Monsieur le Professeur Bernard GRESSIER, qui me fait l'honneur d'accepter de présider ce jury de thèse et pour m'avoir suivi au cours de ce travail. Soyez assuré de mon plus profond respect.*

*A Monsieur le Professeur Jean ROUSSEAU, premièrement pour accepter de juger ce travail dont il fut indubitablement le déclencheur, et deuxièmement pour m'avoir accordé toute sa confiance lors de mon intégration au Pôle de Biologie Pathologie Génétique. Soyez assuré de ma plus sincère reconnaissance.*

*A Madame le Docteur Anne-Sophie ROUMIER, qui a accepté avec gentillesse de participer à ce jury.*

*A Maryelle pour m'avoir soutenu et encouragé tout au long de ce travail, et pour toutes ces années passées et à venir.*

*A mes deux crapauds pour ce qu'ils m'apportent tous les jours.*

*A mes parents, qui m'ont permis de devenir ce que je suis.*

*A tous mes collègues du Pôle de Biologie Pathologie Génétique, pour notre travail au quotidien.*

## Table des matières

Remerciements .....	6
Introduction.....	11
<b>Partie théorique et bibliographique : Qualité et Métrologie.....</b>	<b>14</b>
<b>A. Démarche Qualité des laboratoires et Accréditation .....</b>	<b>15</b>
I. Généralités, concepts. ....	15
II. Démarche qualité en santé et biologie, le paradoxe. ....	18
III. La norme ISO 15189 : standard en biologie médicale.....	20
IV. Les référentiels de laboratoire et démarches qualité en France [15].....	23
IV.1. Le GBEA, référentiel réglementaire. ....	23
IV.2. Les démarches professionnelles : Bioqualité .....	24
V. Accréditation en France .....	26
IV.1. Définition, cadre. ....	26
IV.2. Les Organismes accréditeurs et les organisations d'accréditeurs.....	26
IV.3. Le processus d'accréditation.....	27
IV.3.1. Demande d'accréditation initiale.....	28
IV.3.2. Surveillance de l'accréditation. ....	29
IV.3.3. La notion de portée d'accréditation.....	30
VI. L'accréditation au-delà de nos frontières.....	32
Conclusion, Les avantages de l'accréditation. ....	34
<b>B. Métrologie .....</b>	<b>35</b>
I. Historique.....	36
I.1 De l'antiquité à la convention du mètre.....	36
I.1.1. Les origines.....	36

I.1.2. La diversité des mesures et les tentatives d'uniformisation .....	36
I.1.3. La définition du mètre et du système décimal .....	37
I.2. Les évolutions, la métrologie moderne et le Système International .....	38
II. Organisation de la métrologie internationale et nationale [42] .....	39
II.1 Les structures internationales.....	39
II.1.1. La Convention du mètre.....	39
II.2.2. Les organisations régionales .....	40
II.2.3. Accord de reconnaissance mutuelle (Mutuel Recognition Arrangement). .....	41
II.2.4. L'Organisation Internationale de Métrologie Légale OIML .....	42
II.3. La Structure Nationale.....	42
III. Concepts et terminologie.....	43
III.1 Terminologie.....	44
III.2. Raccordement, traçabilité métrologique : concepts et définitions, références normatives.....	48
IV. Métrologie en biologie médicale .....	51
IV.1. La Directive 98/79/CE et la norme ISO 17511 [59] .....	53
IV.2. Les dispositions de la norme.....	55
IV.3. Propriétés des matériaux d'étalonnage [64].....	59
IV.3.1. Définition du mesurande.....	59
IV.3.2. Commutativité.....	60
IV.4. Mise en place des réseaux des laboratoires de référence. ....	61
IV.5. Conclusion .....	62
V. Quel rôle pour la fonction métrologie dans un laboratoire de biologie médicale ?.....	62
V.1. Fonction métrologie : définition .....	63
V.2. Exigences applicables.....	63

V.3. Responsabilités et champ d'action.....	64
V.3.1. La gestion du parc matériel .....	65
V.3.2. Validation des méthodes et estimation des incertitudes de mesure. ...	66
V.3.3. Politique métrologie .....	68
Conclusion .....	69
<b>Partie Pratique : Cas du Pôle de Biologie Pathologie Génétique CHRU de Lille</b>	
.....	<b>70</b>
I. Présentation de la structure, historique.....	71
I.1 Organisation .....	71
I.2 Contexte.....	73
II. Etude préliminaire .....	74
II.1 Objectifs .....	74
II.2.1 Identification de l'existant.....	76
II.2.1.a. Locaux.....	76
VI. Mise en œuvre, déploiement.....	85
III.2. Documents techniques et mises en œuvre .....	90
III.2.1. Volume.....	90
III.2.1.a. Etalonnage/vérification des pipettes automatiques .....	90
III.2.1.b. Contrôles intermédiaires.....	95
III.2.2. Température .....	96
III.2.2.a. Etalonnage des sondes.....	96
III.2.2.b. Cartographie des enceintes thermostatées .....	100
III.3. Programme d'étalonnage .....	105
III.4. Autres grandeurs à traiter - projets .....	106
III.4.1. Balance, Masse. ....	107
III.4.2. Temps, Chronomètre .....	108

III.4.3. Centrifugeuse.....	109
III.4.4. Divers, pH-mètre, optique, CO2.....	109
Conclusion.....	111
Glossaire .....	113
Table des figures et tableaux.....	115
Bibliographie.....	117
Annexe 1 : Constat de vérification de pipette .....	128
Annexe 2 : Rapport d'étalonnage de sonde.....	129
Annexe 3 : Rapport de caractérisation d'enceinte .....	131
Annexe 4 : Programme d'étalonnage .....	134

## Introduction

La réforme de la biologie médicale adoptée le 13 janvier 2010 [1, 2] renouvelle profondément l'organisation de la biologie médicale en France, suivant en cela les recommandations et conclusions d'un rapport de l'Inspection Générale des Affaires Sociales paru en avril 2006 [3]. Dans un contexte de progression des dépenses courantes de santé - 223,1 milliards d'euros pour la France en 2009, en progression de 4% [4] - et quand 60 à 70% des décisions médicales sont prises en s'appuyant sur des résultats de tests de diagnostic in vitro [5, 6], il est plus que jamais nécessaire de garantir la qualité des résultats et la fiabilité de ces examens. Les nouveaux textes, l'ordonnance et ses décrets d'application publiés et à venir, procèdent donc à un remaniement complet du Livre II du Code de la Santé Publique, et définissent de nouvelles dispositions principalement sur les conditions d'ouvertures et de fonctionnement d'un laboratoire, et sur l'organisation de la biologie médicale en France. Nous retiendrons particulièrement le renforcement du caractère médical de la profession, par l'introduction d'un droit de substitution du biologiste médical, la requalification des analyses pratiquées en examen de biologie médicale, dont les phases identifiées (pré-analytique, analytique et post-analytique) restent sous la responsabilité entière du biologiste, formant ainsi un tout qui ne peut être fractionné [7]. L'autre aspect, et qui nous concerne encore plus dans le cadre de ce travail, est l'obligation d'accréditation par le Cofrac, sur la base de la norme NF EN ISO 15189, et NF EN ISO 22870 pour la biologie délocalisée [8], afin de prouver la qualité des examens sur les trois phases qui le composent, au plus tard pour le 1<sup>er</sup> novembre 2016, sauf modifications par les propositions de loi en cours.

L'accréditation est la reconnaissance par un organisme tiers de la compétence d'un laboratoire à procéder à un ensemble d'activités dans son domaine de compétence, selon un processus d'évaluation initiale et de suivi. L'évaluation se réalise sur la base d'exigences relatives au management de la qualité et sur la base d'exigences techniques et principalement de maîtrise du processus de mesure dans sa globalité. La fonction métrologie dans le laboratoire intervient à différents niveaux dans la

maîtrise de ce processus et l'obtention de résultats de biologie valides et comparables entre eux, principalement dans la gestion du parc d'instruments de mesure, et la notion de raccordement aux étalons et au système international d'unités, à travers les opérations d'étalonnage ou de vérification. Bien que les laboratoires de biologie réalisent des mesures depuis longtemps, cette notion est relativement récente dans le domaine du diagnostic in vitro, notamment de par la difficulté à obtenir des matériaux de référence internationaux.

Ce travail se structure en deux parties principales. La première, théorique et bibliographique, traite dans un premier temps de la notion de qualité, son origine, les concepts principaux et son application au domaine de la santé et de la biologie médicale en particulier, à travers son référentiel principal et le processus d'accréditation par le Cofrac. Dans un deuxième temps nous abordons les aspects liés à la métrologie, ses origines et son histoire, son organisation, les principaux concepts applicables dans le cadre du laboratoire. Nous traiterons aussi de manière plus spécifiques l'application de la métrologie au domaine de la biologie médicale, les difficultés qui s'y rapportent, et surtout quel est le rôle dévolu à la fonction métrologie dans le laboratoire de biologie médicale, quelles sont ses responsabilités et son champ d'action.

La deuxième partie est avant tout pratique, et relève d'un projet personnel au sein du pôle de Biologie – Pathologie – Génétique du centre hospitalier régional et universitaire de Lille. Ce pôle regroupe, en une même structure, toutes les activités de laboratoire du CHRU et a initié une démarche d'accréditation, à la fois pour répondre aux exigences définies par l'ordonnance du 13 janvier 2010, mais aussi et surtout dans un premier temps pour continuer à réaliser les analyses de plomb sanguin dans le cadre de la surveillance des travailleurs exposés [9] et la recherche de légionnelles dans les eaux propres [10]. Dans cette optique, il était nécessaire d'évaluer les possibilités, sur le plan organisationnel et économique, de déployer en interne une structure « métrologie », de définir quelles étaient les grandeurs (au sens métrologique du terme) à traiter et les équipements de mesure à gérer. La deuxième phase a consisté en la mise en œuvre des orientations définies, la définition des responsabilités et des procédures techniques, et leurs applications pratiques pour les besoins les plus couramment exprimés dans les secteurs techniques concernés par

la démarche d'accréditation. Ces procédures techniques sont les opérations d'étalonnage ou de vérification des matériels tels que les pipettes automatiques, les enceintes thermostatées et les sondes de température. La troisième phase consistera à déployer l'existant sur les autres secteurs du pôle et d'identifier et de traiter les autres grandeurs et matériels utilisés.

# **Partie théorique et bibliographique : Qualité et Métrologie**

# A. Démarche Qualité des laboratoires et Accréditation

## I. Généralités, concepts.

Les définitions récentes de la qualité (normes ISO 9000 de 1994 ou 2000) mettent en avant des notions d'aptitude d'un produit ou d'un service à satisfaire à des besoins exprimés ou implicites ou des exigences spécifiées. Initialement ces aspects relevaient d'une relation directe entre le fabricant ou plus exactement l'artisan et son client, où l'on définissait le prix de vente en fonction du travail réalisé, dans une notion de **qualité** artisanale dite « **au naturel** ». Actuellement, ces définitions résultent d'une évolution du concept de qualité dont on peut situer les origines au début du vingtième siècle avec l'essor de l'ère industrielle et les débuts de la normalisation, l'année 1906 voyant la création de la Commission électrotechnique internationale (CEI).

La production de masse, et ses corollaires que sont la segmentation et l'automatisation des tâches, la taylorisation, entraînent une structuration plus importante des activités d'inspection et de contrôle. On associe alors la notion de **qualité** à celle de **conformité du produit**, reflétée notamment par l'identification et le tri des produits conformes ou non conformes (contrôle sur le produit fini), et sa conséquence l'identification des défauts et la mise au rebut. Les coûts du contrôle, mais aussi les coûts de production, sont d'autant plus élevés que la mise au rebut est importante.

Les années 1920 voient se développer les statistiques et leur utilisation dans la maîtrise des procédés de production. On étudie les variations des caractéristiques du produit au cours des séries de production de manière à les maintenir dans les tolérances établies. Ce contrôle statistique des procédés a été mis au point par Shewart dans le département qualité de Bells Telephone Laboratories. Les objectifs sont de déterminer si les causes des variations sont identifiables ou aléatoires et non maîtrisables, et dans ce cas le processus est hors de contrôle, et sinon d'anticiper les tendances et de régler les défauts pour limiter les rebuts. La qualité est associée au contrôle mais dans le sens anglais du terme, de maîtrise. C'est au cours de cette période, d'une trentaine d'année jusqu'au lendemain de la deuxième guerre

mondiale et la phase de reconstruction de l'Europe et du Japon, que vont apparaître les grands noms et les outils qui leurs sont associés que l'on connaît aujourd'hui : on peut citer entre autre J. Juran, W. E. Deming et K. Ishikawa.

Dans les années 1950 et suivantes, les échanges commerciaux s'internationalisent, le Japon devient une puissance économique, fabricant des produits de meilleurs qualité et moins chers. Le facteur humain est pris en compte afin d'impliquer le personnel, de le rendre efficace et de le responsabiliser dans l'activité de l'entreprise. On entre dans une phase de normalisation accrue, et l'objectif est de donner confiance dans la conformité des produits. C'est la période des trente glorieuses, du développement économique et **de l'assurance qualité**. Le développement de la qualité s'accélère et s'oriente davantage vers l'amélioration continue et les réponses aux besoins et aux exigences des clients. La démarche qualité peut devenir un outil participant à la stratégie et à la direction de l'entreprise, avec une vision plus transversale et les séries des normes ISO 9000, apparues en 1987 évoluent pour intégrer l'approche processus. La **qualité** est un outil de **management** qui met en avant les principes suivants :

- l'écoute du client, l'analyse et la prise en compte très en amont de ses besoins ;
- le leadership, forme naturelle d'autorité, marquée par un engagement de la direction ;
- la motivation et l'implication du personnel, qui permet à chacun de se sentir responsable et fier de son travail ;
- l'approche et le management par système processus, qui permet de voir de manière transversale et de décloisonner l'entreprise ;
- l'amélioration continue des produits ou des services rendus, par l'application du modèle PDCA (voir schéma n°1) ;
- le management par les faits ;
- la maîtrise des partenaires/ fournisseurs en s'engageant dans un véritable partenariat gagnant-gagnant.

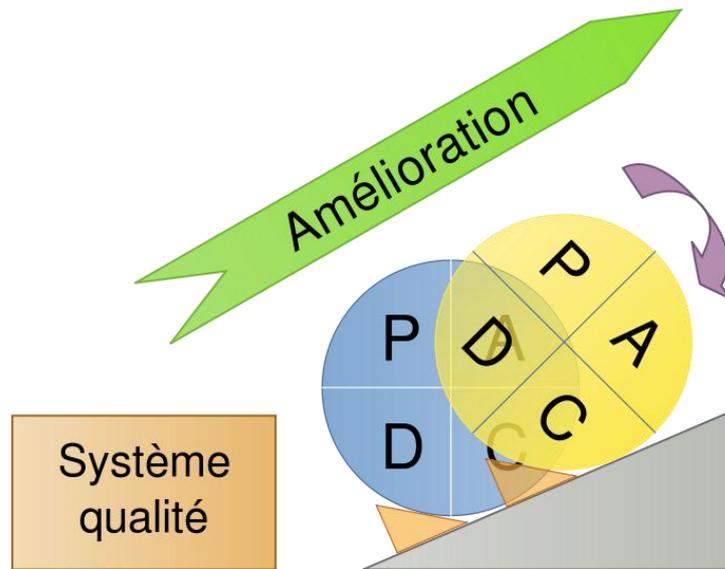


Figure 1 : Modèle du PDCA de Deming

P = Plan : planifier, préparer  
 D = Do : faire, agir développer  
 C = Check : vérifier, contrôler  
 A = Act : Agir, améliorer.

Le cycle du PDA peut s'appliquer à tous les niveaux de l'entreprise et à toutes les étapes du cycle de vie d'un produit.

### Le diagramme d'Ishikawa et les 5M

En complément, il nous apparaît important de présenter ici un outil essentiel utilisé dans les démarches qualité, principalement dans l'analyse des dysfonctionnements et de leurs causes, mais qui appliqué au processus d'analyse permet d'évaluer les sources potentielles de variation d'un résultat et par conséquent dans le cas qui nous concerne identifier les différentes composantes d'incertitude. Ce diagramme « causes –effet » ou en arête de poisson est structuré comme dans le schéma ci-dessous autour des 5 M, qui représentent :

Milieu : les conditions environnementales influencent-elles le déroulement de l'analyse et si oui dans quelle mesure ? (température, air, lumière directe...)

Méthode : représente ici la méthode analytique mise en œuvre.

Matières : dans le cadre de la biologie, l'obtention de l'échantillon, mais aussi les réactifs (qualité, conservation...).

Matériel : matériel utilisé dans le déroulement de l'analyse, maintenance, raccordement métrologique si il y a lieu.

Main d'œuvre : principalement qualification et formation du personnel.

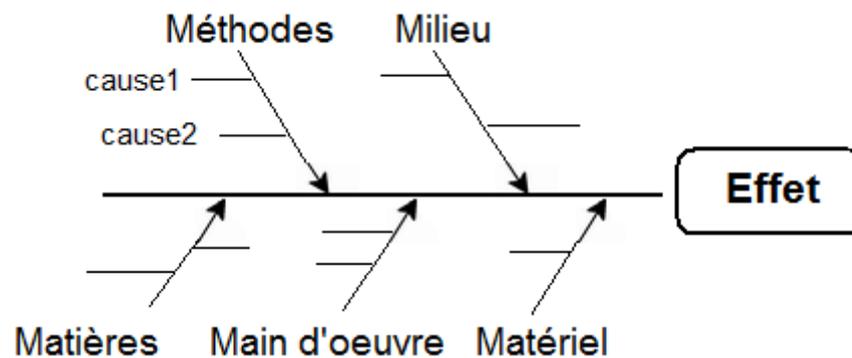


Figure 2 Diagramme d'Ishikawa. Appliqué au processus analytique, l'effet est le résultat d'analyse.

La reconnaissance de l'engagement qualité d'une entreprise est obtenue dans un premier temps par la certification selon la série des normes ISO 9000, et pour celle qui sont engagées dans une démarche d'excellence par le prix Malcolm Baldrige aux Etats-Unis, le prix Deming au Japon, et la reconnaissance EFQM (European Foundation for Quality Management) en Europe.

## **II. Démarche qualité en santé et biologie, le paradoxe.**

Les éléments développés dans les paragraphes précédents indiquent avant tout, que les démarches qualité et les principes de standardisation et d'harmonisation, se sont

appliquées en premier lieu et principalement au monde et aux procédés industriels. C'est d'ailleurs une certaine forme de paradoxe, si, le secteur de la santé occupant dans le monde moderne une place de plus en plus importante, la normalisation et le management de la qualité n'y sont des démarches que relativement récentes, en dehors peut-être de l'industrie pharmaceutique et diagnostique. De même pour les laboratoires de biologie médicale, puisqu'on ne compte au 31 octobre 2011 que 204 entités et sites accrédités (source Cofrac, liste des laboratoires de biologie accrédités), sur un total d'environ 4000 entités. Comparativement, ces aspects sont beaucoup plus anciens dans les laboratoires d'analyses alimentaires et environnementales (analyses d'échantillons d'eaux ou de sols). Les premières recommandations de standardisation émanent historiquement de sociétés savantes, d'organismes professionnels nationaux ou internationaux, tels que l'IFCC, l'ISH, qui ont joué un rôle important dans la validité et la comparabilité des résultats de biologie médicale. Toutefois, on constate une quantité croissante de standards applicables au domaine médical, soit d'application volontaire, soit à caractère obligatoire notamment dans le cadre de l'Union européenne, et aussi une prépondérance plus importante des comités techniques de l'ISO ou du CEN et de leurs travaux [12].

Tableau 1 : Liste des comités techniques médecine/santé relatifs à la biologie, normes publiées et projet en cours.

<b>Code</b>	<b>Sujet</b>	<b>Normes publiées</b>	<b>Programme technique</b>
ISO/TC 194	Évaluation biologique des dispositifs médicaux	29	4
ISO/TC 210	Management de la qualité et aspects généraux correspondants des dispositifs médicaux	17	7
ISO/TC 212	Laboratoires d'analyses de biologie médicale et systèmes de diagnostic in vitro	23	5
ISO/TC 229	Nanotechnologies	16	28

Note : ce tableau ne fait pas mention des comités techniques dissouts et qui ont achevé leurs travaux.

### **III. La norme ISO 15189 : standard en biologie médicale**

En 1995, sollicitée par différentes organisations nationales, l'ISO initie l'élaboration d'un standard international pour les laboratoires médicaux le comité technique, et un groupe de travail sous l'égide du comité technique TC 212. Dans sa structure et son contenu, cette nouvelle norme reçoit clairement, sur les aspects techniques, l'influence de la lignée des standards relatifs aux laboratoires d'étalonnage et d'essai (ISO Guide 25, 3<sup>ème</sup> révision de 1987, et son complément européen la norme EN 45001:1989), et sur les aspects « qualité », l'influence de la première série des normes ISO 9000 publiée en 1994 [13]. Il est à noter d'ailleurs, que parallèlement, la « fusion » de ces référentiels amènera en 1999 la publication d'une nouvelle norme pour les laboratoires d'étalonnage et d'essai, la norme ISO 17025, et que la série des normes ISO 9000 évoluera aussi vers une version 2000, incluant notamment une prépondérance accrue de la notion de management de, voire par la qualité et l'intégration d'une vision plus transversale à travers le management par les processus.

On peut légitimement s'interroger, si le retard dans l'accréditation des laboratoires de biologie médicale, du moins en France, n'est pas en partie lié à l'absence de référentiel spécifique, et à la difficulté de compréhension, d'appropriation et d'application de standards s'appliquant à tout type de mesure, électrique, physique ou autre.

Le processus complet (Figure n°3) amènera à la publication en 2001 de la première version de la norme ISO 15189 et d'une première révision en 2007 [14]. Une seconde révision est en cours dont le projet a été soumis, il y a peu, en France à enquête publique. La norme évolue dans le sens de la série des normes ISO 9000, en intégrant notamment les exigences relatives à la cartographie des processus du laboratoire (processus métier, processus de management, processus supports).

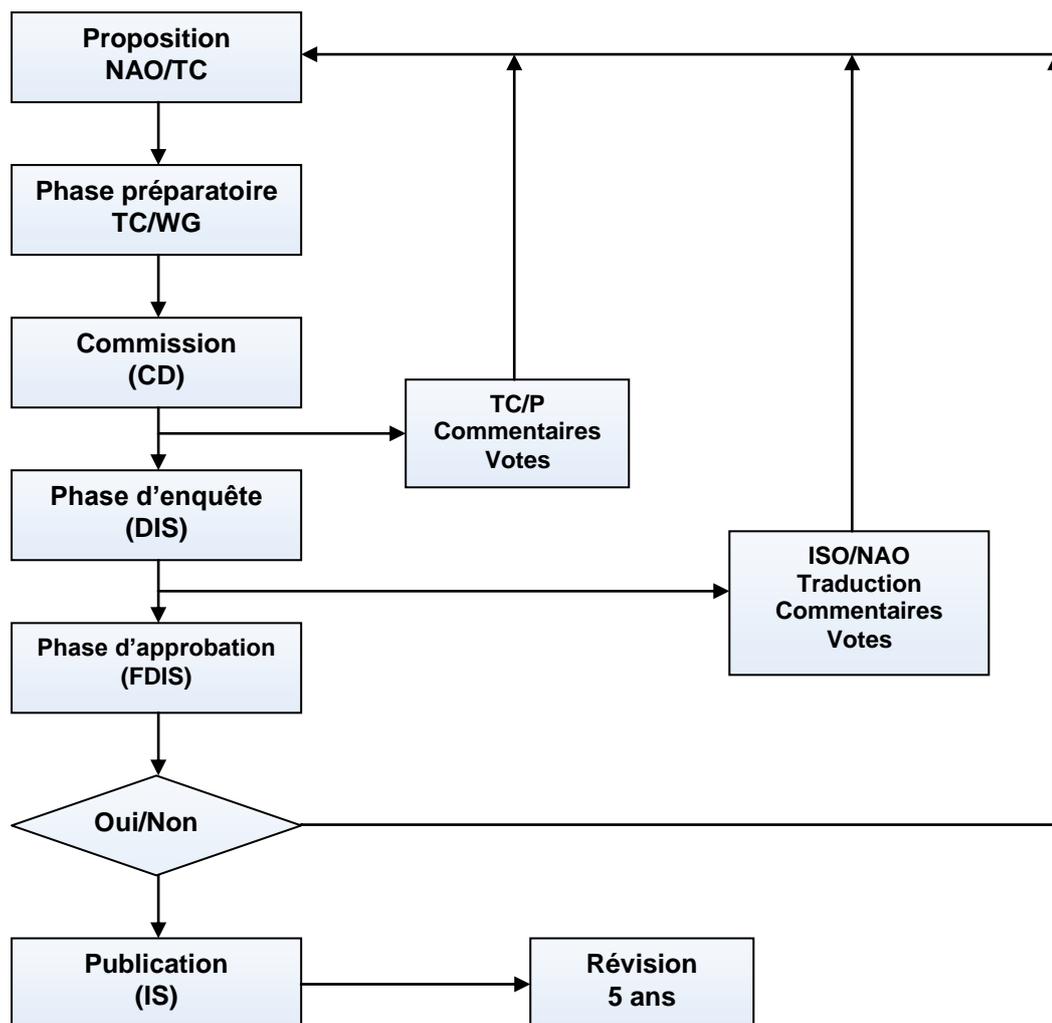


Figure 3 : Schéma de développement des normes  
internationales selon ISO.

TC : Technical committee  
 WG : Working group  
 NAO :  
 CD : Committee draft  
 DIS : Draft International Standard  
 FDIS : Final Draft International Standard  
 IS : International Standard

Comme mentionné ci-dessus la norme ISO 15189, en fonction de sa genèse, définit à la fois des exigences relatives au management dans sa globalité (organisation, politique et objectifs) et plus particulièrement au management de la qualité (audits,

non-conformités...), mais aussi les exigences relatives aux aspects techniques (locaux, matériel, méthode d'analyse et prélèvement).

Les différents chapitres de la norme sont indiqués ci-dessous :

#### 4- Exigences relatives au management

- 4.1- Organisation et management
- 4.2- Système de management de la qualité
- 4.3- Maîtrise des documents
- 4.4- Revue de contrats
- 4.5- Analyses transmises à des LBM sous-traitants
- 4.6- Services externes et approvisionnement
- 4.7- Prestations de conseils
- 4.8- Traitement des réclamations
- 4.9- Identification et maîtrise des non-conformités
- 4.10- Actions correctives
- 4.11- Actions préventives
- 4.12- Amélioration continue
- 4.13- Enregistrements qualité et enregistrements techniques
- 4.14- Audits internes
- 4.15- Revue de direction

#### 5- Exigences techniques

- 5.1- Personnel
- 5.2- Locaux et conditions environnementales
- 5.3- Matériel de laboratoire de biologie médicale
- 5.4- Procédures pré-analytiques
- 5.5- Procédures analytiques
- 5.6- Assurer la qualité des procédures analytiques
- 5.7- Procédures post-analytiques
- 5.8- Compte-rendu des résultats

Dans le cadre de ce travail, et même si l'on peut être concerné par l'ensemble des dispositions générales ou transversales, nous nous intéresserons particulièrement aux exigences des paragraphes 5.3 « Matériel » et 5.6 « Qualité des procédures analytiques » qui traitent plus spécifiquement des exigences relatives à la fonction métrologie et qui sont approfondies dans la partie métrologie. Il ne nous a pas semblé utile et pertinent d'explicitier chacun des paragraphes et des exigences du référentiel.

## IV. Les référentiels de laboratoire et démarches qualité en France [15]

### IV.1. Le GBEA, référentiel réglementaire.

Depuis sa première version en 1994, le GBEA, Guide de Bonne Exécution des Analyses de biologie médicale [16], définit ce que doivent être, en France, les démarches qualité des laboratoires de biologie médicale. Les évolutions de 1999 et 2002, ont concerné majoritairement les exigences relatives à la biologie moléculaire, l'immuno-hématologie, l'informatique, le transport des échantillons biologiques et le renvoi à la réglementation sur le transport des matières infectieuses, et quelques points relatifs à la métrologie.

Toutefois, le GBEA reste par rapport à la norme NF EN ISO 15189, un référentiel à dominante technique et très orienté métier, comportant des exigences précises, comme les systèmes analytiques devant être présents *a minima* dans un laboratoire, et dont la pertinence au regard des démarches qualité actuelles peut se discuter. Les principes décrits sont avant tout des principes d'assurance qualité, et de conformité d'application vérifiée éventuellement par des inspections de la Direction Régionale des Affaires Sanitaires et Sociales, plutôt que les principes de management de la qualité définis dans les standards internationaux actuels. Sans entrer dans le détail des différences entre les deux référentiels, le GBEA ne mentionne qu'assez peu d'exigences au regard de celles indiquées dans la partie 4 de la norme NF EN ISO 15189, exigences parfois partiellement évoquées ou supposées. Cela concerne de manière générale [17] :

- la notion de « client » au sens de bénéficiaire des prestations du laboratoire, qui reste limitée au patient et au médecin et dans un schéma classique, sans prise en compte des besoins spécifiques (revue de contrat) et évaluation de la prestation rendue (réalisation d'enquête de satisfaction) ;
- absence de planification et de définition de politiques et d'objectifs qualité, et de mise en œuvre et de suivi des indicateurs associés. La démarche d'amélioration continue (PDCA selon Deming) n'apparaît pas de manière explicite. On peut aussi ajouter dans ce même sens l'absence d'exigence

vis-à-vis de la sélection et de l'évaluation des sous-traitants et des fournisseurs ;

- la maîtrise de la documentation est davantage appuyée dans la norme 15189, qui demande aussi un manuel qualité regroupant l'ensemble des dispositions, politiques et procédures applicables au laboratoire ;
- les points tels que réclamations, identification et maîtrise des non-conformités, actions correctives et préventives, audits internes et revue de direction, qui constituent des éléments essentiels dans le management de la qualité sont pas ou peu abordés. La notion de non-conformité ne figure dans le GBEA que vis-à-vis du contrôle national de qualité ;
- la prestation de conseil et les avis et interprétations, qui contribuent fortement à la médicalisation de la profession au sens de l'ordonnance de janvier 2010 ne sont pas abordés.

Les exigences techniques relatives aux paragraphes de la partie 5 de la norme, sont moins discordantes ou alors sur des aspects très ponctuels. Les aspects liés à la métrologie seront traités dans la deuxième partie théorique de ce travail.

#### IV.2. Les démarches professionnelles : Bioqualité

Association à but non lucratif (statut loi 1901), Bioqualité a été créée en janvier 2002 par trois syndicats de biologistes dans le but de promouvoir le développement de la qualité dans les laboratoires de biologie médicale [18]. La démarche programmée initialement dans un souhait de mise en conformité avec le GBEA puis d'obtention de la qualification Bioqualité, que l'on peut qualifier de GBEA plus, a été complétée par une phase d'accompagnement vers l'accréditation. Cette démarche professionnelle a été reconnue puisqu'elle constitue l'une des possibilités de réponses aux dispositions transitoires de l'ordonnance n°2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale. Ces dispositions qui exigent des laboratoires de biologie médicales qu'ils

fassent la preuve de leur entrée dans une démarche d'accréditation sont précisées dans l'arrêté du 14 décembre 2010 [19].

La démarche en trois phases, principalement à base d'outils d'auto-évaluation, de formation, de visites croisées avec un binôme, ou de visites de consultant et de biologiste qualicien, est décrite dans le schéma ci-dessous.

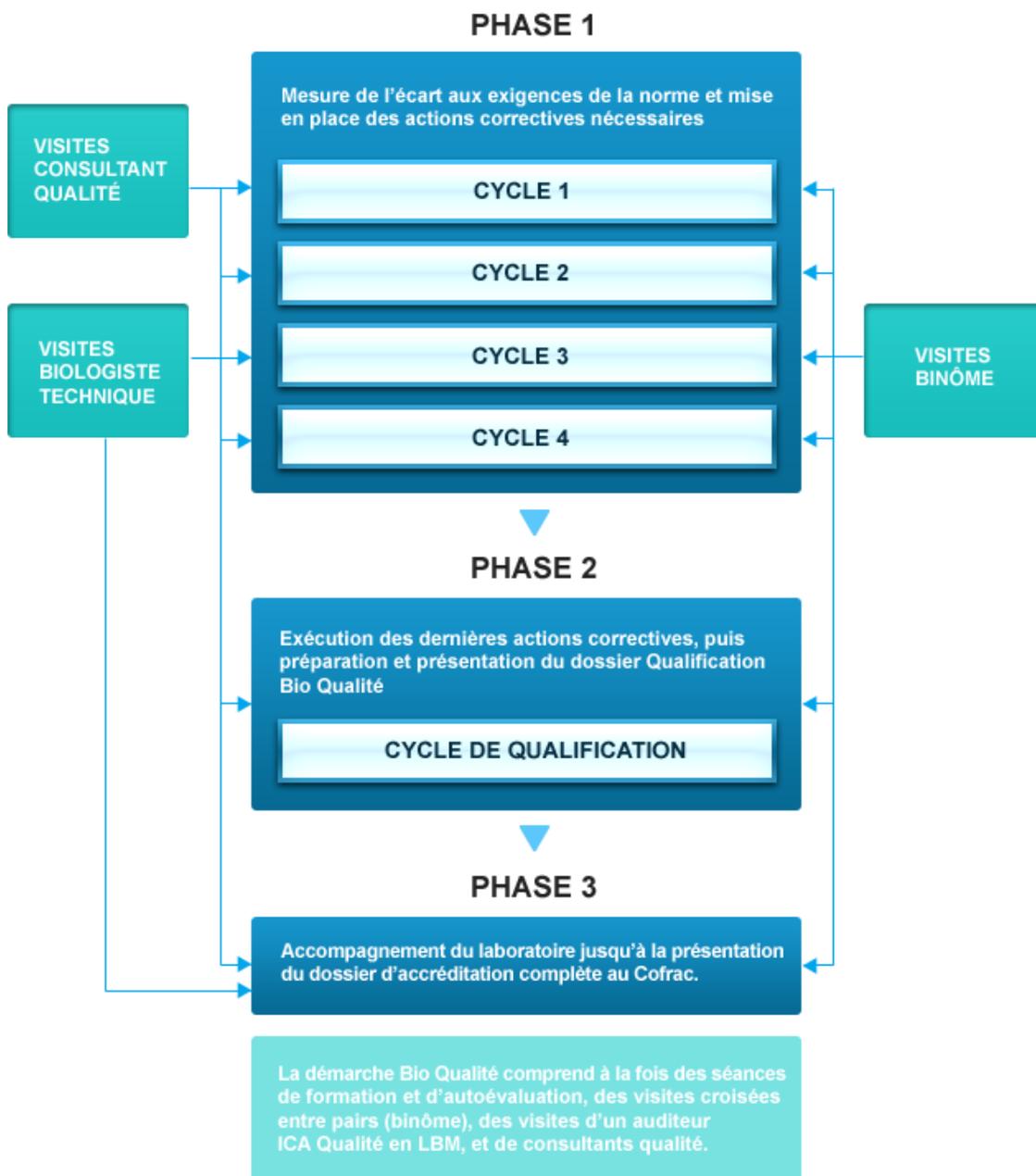


Figure 4 : Représentation de la démarche de qualification  
Bioqualité

## **V. Accréditation en France**

### IV.1. Définition, cadre.

L'accréditation est définie par la norme ISO/CEI 17011 comme une « attestation délivrée par une tierce partie, ayant rapport à un organisme d'évaluation de la conformité, constituant une reconnaissance formelle de la compétence de ce dernier à réaliser des activités spécifiques d'évaluation de la conformité ». Elle se traduit par un contrôle de niveau supérieur s'exerçant sur les organismes (laboratoires, certificateurs ou d'inspection) pour attester de leur compétence dans leurs domaines respectifs.

Si la démarche d'accréditation est par nature volontaire, elle a tendance de plus en plus à être exigée par les pouvoirs publics comme pré-requis à un agrément ou une autorisation de fonctionner. L'ordonnance de janvier 2010 sur la réforme de la biologie médicale, et les textes réglementaires associés, s'inscrit dans cette tendance en substituant, à l'horizon 2016, l'accréditation à l'autorisation administrative d'ouverture et de fonctionnement, dans le principe de subsidiarité décrit par Burnett [13]

### IV.2. Les Organismes accréditeurs et les organisations d'accréditeurs

Le Cofrac - Comité Français d'Accréditation - association de type loi 1901 créée en 1994, est l'unique organisme d'accréditation en France désigné par le décret 2008-1401 du 19 décembre 2008 [20].

Le Conseil d'Administration, réparti en 3 collèges, regroupe les différentes représentations des parties intéressées par l'accréditation :

- Collège A : organismes accrédités ou leurs regroupements ;
- Collège B : structures représentant les clients du collège A ;
- Collège C : représentants de l'Etat, d'association de consommateurs... ;

La structure compte aussi du personnel permanent qui gère les accréditations selon quatre sections : Laboratoires (essais et étalonnage), Inspection, Certifications et Santé Humaine dont dépendent les laboratoires de biologie médicale. Elle est appuyée par environ 1200 évaluateurs qualitatifs et techniques missionnés régulièrement pour des activités d'audits [21].

Les organismes accréditeurs sont regroupés en organisation dont le but est de garantir l'harmonisation des pratiques à travers des guides d'application et d'interprétation, d'organiser des évaluations des pairs servant de base aux accords de reconnaissance multilatéraux (MRA).

On distingue diverses organisations régionales, comme European cooperation for Accreditation – EA pour l'Europe, et deux organisations internationales : International Laboratory Accreditation Cooperation- ILAC pour l'accréditation des laboratoires et International Accreditation Forum – IAF pour les organismes d'inspection et de certification.

### IV.3. Le processus d'accréditation

Comme mentionnée précédemment l'accréditation a pour but de démontrer la pertinence de l'organisation qualité d'un organisme et sa compétence pour un domaine précis. Cette compétence est validée à l'issue d'un processus d'évaluation rigoureux et pour une durée déterminée qui entre autres objectifs, tend à instaurer la confiance dans les prestations réalisées. Cette évaluation se doit donc d'être indépendante, impartiale, transparente et réalisée avec la compétence nécessaire sur le domaine à évaluer.

Nous décrivons ici le processus pour les laboratoires de biologie médicale, en faisant appel aux documents de la section « Santé Humaine » du Cofrac, en partant du principe que le laboratoire dispose d'un système de management de la qualité en place, et qu'il connaît les modalités de sa candidature (document d'information SH INF 20 [22]) les documents de référence normatifs et les exigences spécifiques définies par le Cofrac dans le document SH REF 02 [23]. Il s'agit d'exigences complémentaires à la norme et opposables dans le cadre de l'accréditation. Le

document SH REF 05 [24], règlement d'accréditation, détaille toutes les étapes décrites ci-dessous. Pour note, les informations liées aux frais d'accréditation et aux tarifs annuels de maintien de l'accréditation ne seront pas détaillés. Toutefois il faut prendre en considérations que ces frais, selon la taille du laboratoire et la définition de la portée d'accréditation, peuvent être conséquents, notamment lorsqu'il est fait appel à plusieurs évaluateurs techniques.

#### *IV.3.1. Demande d'accréditation initiale*

Le laboratoire candidat formule auprès du Cofrac une demande écrite qui doit préciser la portée d'accréditation exprimée selon les exigences du document SH REF 08 [25], la notion de portée est précisée au paragraphe § IV.3.3. Cette demande est accompagnée du formulaire de renseignements et techniques SH FORM 05 [26], et du questionnaire d'auto-évaluation SH FORM 03 [27] complété par le laboratoire et qui précise de manière argumentée le positionnement de ce dernier par rapport aux différentes exigences de la norme et des documents associés.

La réception de cette demande marque le début de la phase d'instruction de la candidature par le Cofrac qui a pour objet de vérifier la complétude du dossier, la recevabilité de la demande (compatibilité entre le statut, l'organisation du demandeur et la formulation réalisée), et de procéder à la contractualisation entre les parties.

Consécutivement à cette contractualisation et au règlement des frais d'instruction, le Cofrac entame l'évaluation en deux phases du dossier. Une évaluation de « recevabilité opérationnelle » sur la base des documents transmis par le laboratoire et qui consiste à estimer si le système de management de la qualité du laboratoire prend en considération les exigences de la norme, et s'il est suffisamment opérationnel pour qu'une évaluation sur site puisse juger de son application effective. La validation de cette étape permet de procéder à l'évaluation sur site.

Dans le cas particulier de l'ouverture d'un nouveau laboratoire, le Cofrac complète l'étude de la recevabilité par une visite préliminaire vérifiant certaines dispositions comme la compétence du personnel, les aspects techniques et matériels. En effet,

en vertu des nouvelles dispositions du Code de la Santé Publique, tout nouveau laboratoire de biologie médicale ne peut réaliser des examens de biologie médicale sans une attestation provisoire démontrant qu'il satisfait aux critères d'accréditation (articles L.6221-1 et L.6221-2).

L'évaluation sur site est réalisée, après accord du laboratoire, par une équipe constituée d'un évaluateur qualitatif et d'évaluateurs techniques en nombre suffisant pour couvrir l'ensemble des domaines relevant de la portée d'accréditation. Cet audit consiste à vérifier la conformité aux exigences d'accréditation, l'application des dispositions établies par le laboratoire et à évaluer l'adéquation des moyens mis en œuvre par rapport aux examens réalisés ainsi que la maîtrise de la compétence du personnel. Le rapport de cette évaluation, dont un exemplaire est remis au laboratoire afin qu'il puisse traiter les éventuels écarts et proposer un plan d'action adéquat, sert de support à l'examen pour décision, par la structure permanente et une commission d'évaluation du Cofrac. La décision d'accréditation prise par le Directeur général du Cofrac est délivrée pour une durée de 4 ans renouvelable par période de 5 ans. Elle est transmise au laboratoire de biologie médicale et à la Haute Autorité de Santé (article L. 6221-6 du Code de la Santé Publique).

#### *IV.3.2. Surveillance de l'accréditation.*

A compter de la date d'accréditation initiale, le laboratoire fait l'objet d'un plan de surveillance mettant en œuvre des évaluations sur sites à intervalle régulier (Eval S) sur une période globale de 4 ans, puis à date d'échéance de l'accréditation (DFV) d'un audit de renouvellement. A l'issue de cet audit de renouvellement, le cycle de surveillance est allongé à 5 ans. Ce cycle de surveillance est représenté dans la figure n°5 ci-dessous.

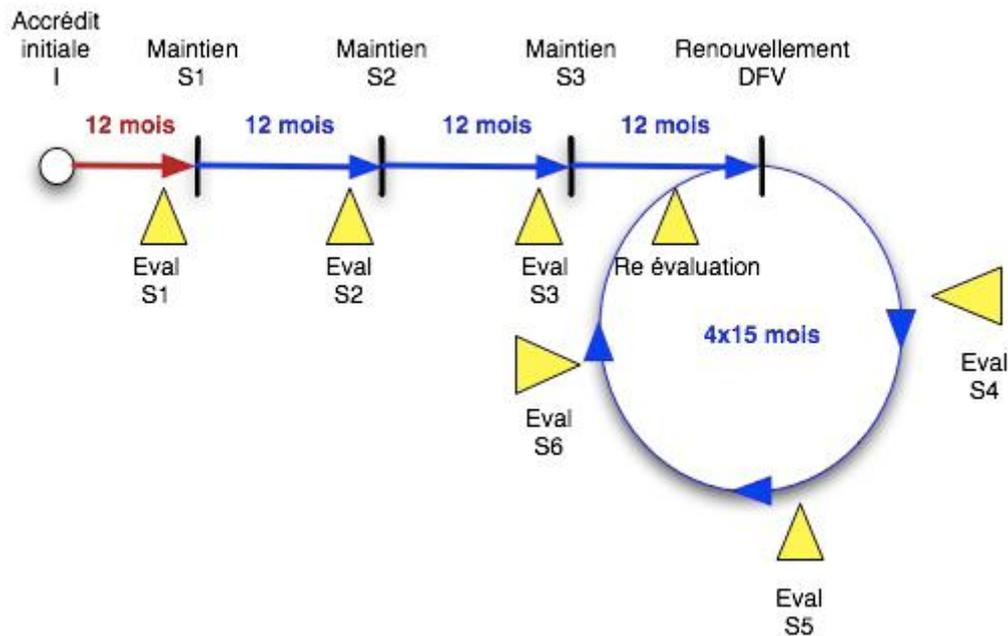


Figure 5 : Représentation du cycle d'accréditation Cofrac

- Maintien S : date cible de maintien de l'accréditation  
 Eval S : évaluation de surveillance intervient dans les 3 mois précédant la visite de surveillance  
 DFV : date de fin de validité de l'accréditation  
 Ré-évaluation : la visite de ré-évaluation intervient dans les 4 mois précédant la DFV

#### *IV.3.3. La notion de portée d'accréditation*

La portée d'accréditation est l'expression des compétences du laboratoire et constitue « un énoncé formel et précis des activités » pour lesquelles le laboratoire est accrédité ou candidat à l'accréditation. Dans le domaine de la biologie médicale, elle s'exprime par sous-domaine et famille, dont la liste est donnée par le document SH INF 50 [28], et sous forme d'un tableau mentionnant la nature de l'échantillon, l'expression de la nature de l'examen/analyse, le principe et la référence de la méthode d'analyse. Un exemple dans le sous-domaine « biochimie », famille Toxicologie (TOXICOBM) est donné dans le tableau ci-dessous.

Nature de l'Echantillon Biologique	Nature de l'Examen/Analyse	Principe de la Méthode	Référence de la méthode	Remarques (Limitations, paramètres critique,s ...)
Sang total	Détermination de la concentration de xénobiotiques : Eléments inorganiques, métaux lourds	Méthode semi automatisée de type quantitatif acidification, dilution Spectrométrie d'émission en plasma induit (ICP) couplé à la spectrométrie de masse (ICP-SM)	Méthodes développées	Pour le plomb : selon SH REF 20
Sérum	Détermination de la concentration de xénobiotiques : Eléments inorganiques, métaux lourds	Méthode semi automatisée de type quantitatif acidification, dilution Spectrométrie d'émission en plasma induit (ICP) couplé à la spectrométrie de masse (ICP-SM)	Méthodes développées	
Urine	Détermination de la concentration de xénobiotiques : Eléments inorganiques, métaux lourds	Méthode semi automatisée de type quantitatif acidification, dilution Spectrométrie d'émission en plasma induit (ICP) couplé à la spectrométrie de masse (ICP-SM)	Méthodes développées	

Tableau 2 : Exemple d'une portée d'accréditation en toxicologie médicale.

Les méthodes, matériels, examens/analyses à réaliser étant en biologie médicale appelés à évoluer régulièrement l'accréditation se fait sous une portée dite flexible. Cela signifie que le laboratoire a la possibilité, dans le cadre de son accréditation, d'inclure dans sa liste des analyses, de nouveaux examens, ou de faire évoluer ou changer ses appareils ou les trousse (réactifs commercialisés) sans une évaluation systématique du Cofrac, du moment où le principe de la méthode reste stable. Par exemple dans le cas du tableau ci-dessus, le laboratoire peut décider de doser

d'autres métaux dans le sang en utilisant la même méthode d'analyse d'ICP Masse. Dans le cadre de ces portées flexibles le Cofrac distingue :

- **la portée flexible standard (A)** : elle couvre généralement des examens réalisés à l'aide d'équipements/réactifs « fournisseur », donc de type DMDIV (dispositifs médicaux de diagnostic in vitro) marqués CE selon la directive 98/79/CE, utilisés selon les indications du fournisseur, sans modification du laboratoire.
- **la portée flexible étendue (B)** : le laboratoire peut en plus des méthodes de type A, réaliser des analyses à partir de méthodes qu'il a adaptées (méthode du fournisseur modifiée ou utilisation d'un kit sur un automate pour lequel il n'est pas prévu) ou qu'il a lui-même développées. Dans ce sens la validation des méthodes est plus approfondie.

L'accréditation par le Cofrac relève donc d'un processus continu d'évaluation et de surveillance de la réponse du système de management de la qualité du laboratoire aux exigences de la norme et du recueil d'exigences spécifiques SH REF 02, afin de démontrer et sa compétence technique, et la prise en considération des besoins de ses clients. Pour aider le laboratoire dans l'interprétation et l'application de ces exigences, la section Santé Humaine du Cofrac a publié un guide technique d'accréditation, SH GTA 01 [29], proposant des éléments de réflexion, des bonnes pratiques et des recommandations, que le laboratoire est libre d'appliquer ou pas. Dans tous les cas il appartient au laboratoire de démontrer et justifier de la pertinence des dispositions de son système qualité.

## **VI. L'accréditation au-delà de nos frontières.**

Les composantes majeures d'un système d'accréditation sont identifiées comme étant le référentiel, l'institution ou l'autorité et les inspecteurs ou évaluateurs. Comme nous l'avons déjà évoqué précédemment, la nécessité d'un référentiel reconnu et applicable internationalement a été traduite par la publication de la norme ISO

15189. Toutefois, si disposer d'une norme commune est un point positif, il est aussi nécessaire que les modalités de vérification de son application, ce qui est le rôle des organismes d'accréditation, soient aussi cohérentes. En Europe, ce rôle est assuré par EA – European cooperation for Accreditation - organisme mandaté par la Communauté Economique Européenne avec pour objectif d'harmoniser les pratiques d'accréditation, tandis qu'au niveau international, ce rôle revient à ILAC – International Laboratory Accreditation Cooperation – qui est un organisme de coopération entre différents organismes nationaux d'accréditation. Les objectifs d'harmonisation se traduisent généralement par des accords de reconnaissance mutuels entre les différents pays qui permettent de faciliter l'acceptation des données analytiques et techniques d'un pays à un autre [13].

En France, l'ordonnance du 10 janvier 2010, fixe désormais les conditions d'ouverture et de fonctionnement des laboratoires de biologie médicale en les conditions à l'accréditation (préalable en cas d'ouverture, partielle et puis totale d'ici novembre 2013 puis novembre 2016). L'ordonnance transfère en quelque sorte au Cofrac, par une accréditation rendue obligatoire, et même si la décision finale, revient à l'Agence Régionale de Santé, l'autorisation d'ouverture d'un laboratoire, qui relevait auparavant des services du Ministère de la Santé et des Affaires Sociales. Ce principe de délégation verticale de pouvoir, définition de la subsidiarité, existe déjà dans d'autres pays. A titre d'exemple, aux Etats-Unis, le Clinical Laboratory Improvement Amendments Act de 1988, rend l'accréditation obligatoire (l'ISO 15189 n'existant encore pas, le référentiel est inclus dans le texte réglementaire). Cette accréditation peut être prononcée tout aussi bien par des agences gouvernementales que par des associations reconnues comme le College of American Pathologists.

Dès les années 1990, de nombreux autres pays s'étaient engagés dans la voie de l'accréditation de leurs laboratoires de biologie médicale, que cette accréditation soit obligatoire ou volontaire. Les référentiels utilisés pouvaient être aussi bien des référentiels adaptés ou spécifiques comme le Standard A4 Quality Management Système utilisé dès les années 1980 par le Clinical Pathology Accreditation au Royaume Uni, que les normes internationales des laboratoires d'essais comme l'EN 45001 puis l'ISO 17025 comme aux Pays-Bas, qui comptaient déjà en 2001 plus de

25% de laboratoires accrédités ou en passe de l'être dont 75% des laboratoires hospitaliers du pays [30]. Ce processus d'accréditation selon l'EN 45001 se retrouvait aussi dans les pays nordiques comme la Suède, dont les laboratoires de l'hôpital de Göteborg et de l'hôpital Karolinska de Stockholm étaient accrédités dès 1992 [31]. Toutefois, il faut reconnaître que la publication d'une norme internationale spécifique aux laboratoires de biologie médicale, a probablement facilité le développement des processus d'accréditation dans le domaine, y compris dans des pays en cours de développement économique comme la Thaïlande [32] ou les pays africains à travers le WHO-AFRO Laboratory Accreditation Program [33].

Les autres variations concernent le processus d'accréditation lui-même et la formation et la qualification des auditeurs et des évaluateurs. Sur ce point, l'EC4 (European Communities Confederation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) a recueilli en 2005 des informations auprès de 19 organismes d'accréditation européens [34]. Sur les 25 pays contactés, certains n'ont pas répondu comme la Grèce qui n'avait pas commencé l'accréditation des laboratoires de biologie, ou comme l'Italie qui n'avait pas identifié d'organisme pour l'accréditation spécifique dans ce domaine. Des informations recueillies, il ressort que majoritairement les évaluateurs disposent d'une expérience importante et d'un niveau de formation médicale ou scientifique relativement élevé. Il est à noter d'ailleurs que dans les pays disposant d'une longue tradition d'accréditation en biologie médicale (Suède, Royaume-Uni, Pays-Bas), la période de formation spécifique des évaluateurs est plus courte. Les différences les plus importantes se situent dans la présentation des portées d'accréditation (par test ou par service rendu) et dans les fréquences des visites et des évaluations. Il faut remarquer qu'en France, l'évolution des programmes d'accréditation par groupe d'analyses biologiques vers la portée flexible est récente. C'est aussi un des pays où la fréquence des visites d'évaluation et de surveillance est la plus élevée.

### **Conclusion, Les avantages de l'accréditation.**

L'accréditation est souvent présentée comme un excellent moyen d'instaurer la confiance, que ce soit aux autorités, pour leur permettre de s'appuyer sur les compétences de laboratoires d'analyses, ou pour pouvoir répondre aux exigences du

public en matière de santé et de sécurité. Dans le domaine de la biologie médicale on est en droit d'en attendre avant tout une diminution significative des erreurs de laboratoires et une amélioration de la prise en charge des patients ou du moins une réduction des traitements ou interventions inappropriés, et par la même une diminution des coûts des systèmes de santé [35]. Mais au-delà de ces aspects bénéfiques pour la communauté, chaque laboratoire peut trouver des avantages qui lui sont propres :

- maintenir ses compétences techniques, améliorer la qualité de ses résultats, mobiliser et motiver ses équipes autour d'un projet fédérateur [36] ;
- participer à des essais cliniques et développer des collaborations internationales [37] ;
- offrir à ses clients (médecins et patients) la garantie d'une qualité de service, tout en maîtrisant ses coûts sur le long terme ;
- obtenir la reconnaissance de ses pairs [38].

## **B. Métrologie**

La métrologie est souvent définie, de manière étymologique mais restrictive, par « l'étude de la mesure ». La définition du Vocabulaire International de Métrologie, science des mesurages et ses applications, est, elle, plus complète car elle prend aussi en considération tous les aspects annexes, administratifs et techniques. L'objectif de ce chapitre sera donc de définir la métrologie à travers son histoire, son organisation nationale et internationale, ses différents concepts et d'en déterminer les applications en biologie médicale, tant générales que dans le cadre particulier d'un laboratoire à travers la notion de fonction métrologie

## I. Historique

La notion de métrologie n'est pas une notion nouvelle liée au développement de l'ère technologie et scientifique, mais une notion ancienne dont l'intérêt initial est de favoriser l'échange commercial. Le but de ces paragraphes n'est pas de développer l'histoire exhaustive de la métrologie, mais d'en identifier les grandes dates et étapes de développement pour les relier aux objectifs de la métrologie contemporaine.

### I.1 De l'antiquité à la convention du mètre

#### *I.1.1. Les origines*

La fin du néolithique voit les populations se sédentariser dans les régions où le sol est fertile et le climat favorable, et développer l'agriculture. La civilisation agraire s'installe et avec elle une économie basée sur l'échange et le commerce. Se développent alors l'écriture, les notions de comptabilité, la justice, mais aussi une certaine base commune métrologique. Les plus vieux poids (ou masses au sens métrologique actuel) en pierre polie ont été retrouvés en Mésopotamie dans d'anciens temples et palais, ce qui leur confère une haute valeur symbolique, et fondent en quelque sorte la première notion d'étalon, la base d'une confiance dans les échanges. Des tablettes montrent que ce premier savoir métrologique est aussi transmis dans les écoles de Mésopotamie et d'Egypte antique [39].

La légende prétend même, bien que cela fasse l'objet de controverse, qu'Archimède a pu déterminer la composition en or de la couronne du roi de Syracuse par comparaison de volumes et de masses d'or et d'eau, réalisant ainsi, en quelque sorte, une première opération métrologique d'étalonnage et de raccordement [40].

#### *I.1.2. La diversité des mesures et les tentatives d'uniformisation*

Toutefois, depuis la fin de l'Antiquité et le Moyen-Age, et pour ne se situer que dans le périmètre de la France, c'est une multitude de mesures différentes, souvent basée

sur le corps humain qui régissent les transactions. Ces mesures sont souvent modifiées par les seigneurs et marchands dans le but de servir leurs intérêts, et elles peuvent varier non seulement d'une province à l'autre, mais d'une ville à l'autre ou même à l'intérieur d'un même village (Tillet et Abeille, archives parlementaires). Le pays compte donc une grande diversité d'aunes, de pieds, de toises, de boisseaux et de pintes, qui constitue une entrave sérieuse au commerce et au développement économique.

La nécessité de disposer de mesures et de poids homogènes et invariables n'est pas une idée récente et elle a fait l'objet de tentatives déjà du temps des mérovingiens – Childéric III en 744 – et particulièrement à plusieurs reprises par les capitulaires de Charlemagne en 789, 803 et 806 : « *Aequales mensuras et rectas, pondera justa* » (des mesures égales et des poids justes, Archives parlementaires). Toutefois, il faut attendre les prémices de la Révolution et les demandes des trois ordres dans les cahiers de doléance – « Un seul Roi, un seul poids, une seule mesure pour tout le royaume » - pour que la métrologie notamment dans son aspect scientifique, voit le jour [41].

### *1.1.3. La définition du mètre et du système décimal*

C'est en mai 1790 que l'Assemblée Nationale adopte le projet d'unification des unités de mesure en le rapportant à des étalons qui seraient empruntés à des phénomènes naturels et non fondés sur une vanité nationale, ce qui permettrait de le faire adopter par les nations étrangères. Le président américain Jefferson s'y montre très favorable.

En mars 1791, la commission constituée sur proposition du Chevalier de Borda, décide que le mètre sera établi comme étant le 1/10 000 000ème du quart du méridien terrestre passant entre le pôle nord et l'équateur. Elle s'attache aussi à déterminer l'unité de masse en utilisant l'eau distillée plus facile à se procurer et à distiller que le mercure ou l'or. Reste à établir la longueur exacte du méridien, ce qui prendra sept ans à Delambre et Méchain pour en assurer la mesure complète. Entre temps la Convention établit une définition provisoire du mètre, et un premier étalon,

ainsi que la définition de l'unité de masse en 1793, basée sur la masse d'un décimètre cube d'eau distillée à 0°C. La République institue par la loi du 18 germinal an III (7 avril 1795) le système métrique décimal. Ce n'est cependant qu'en décembre 1799 (loi du 19 frimaire an VIII) que ce système est rendu obligatoire en France et légal en 1801 [42].

Malgré des lois multiples, parfois rétrogrades et des applications diverses, le système métrique décimal se développe. Le 20 mai 1875 une assemblée de diplomates de 17 pays signe la « Convention du Mètre » et crée la Conférence Générale des Poids et Mesures et le Bureau International des Poids et Mesures qui siège au pavillon de Breteuil à Sèvres (L'organisation et les missions sont décrites dans les paragraphes suivants).

## I.2. Les évolutions, la métrologie moderne et le Système International

Dans les années qui suivent la Convention du Mètre, outre la diffusion des copies des prototypes internationaux organisée par la CPGM, on retiendra essentiellement les définitions nouvelles grandeurs et les évolutions des définitions des grandeurs existantes associées à une précision grandissante. Pour mémoire, on relève :

- en 1908, les définitions des unités électriques : l'ampère, l'ohm et le volt ;
- en 1948, la définition d'intensité lumineuse, la candela ;
- et plus récemment en 1971 et 1999 les définitions de grandeurs concernant davantage la biologie médicale, la quantité de matière avec la môle, et l'activité enzymatique avec le katal ;
- la dernière définition du mètre en 1983 (la cinquième) avec une précision de l'ordre de  $10^{-11}$  ;
- la dernière définition de la seconde en 1997.

L'un des aspects essentiels de cette évolution est l'adoption par la onzième CPGM, en octobre 1960, du Système International d'unités, dernière version du système métrique. La résolution de la CPGM fixe aussi les noms et préfixes des multiples et sous-multiples ainsi que les unités dérivées des sept unités de base (longueur, masse, temps, courant électrique, température thermodynamique, quantité de matière, intensité lumineuse).

La France rend le Système International (S.I.) légal et obligatoire par le décret 61-501 du 3 mai 1961, modifié par le décret 2009-1234 du 14 octobre 2009, qui harmonise la réglementation française avec les directives européennes et les dernières résolutions de la CGPM [43].

## **II. Organisation de la métrologie internationale et nationale [42]**

### II.1 Les structures internationales

#### *II.1.1. La Convention du mètre*

Comme déjà mentionné plus haut, la Convention du mètre est un traité diplomatique dont l'objectif est la promotion du système métrique, et qui comprend 53 états membres dont 24 pays européens.

Les différents organes de la Convention du mètre sont représentés dans la figure n°6 ci-dessous. On distingue notamment :

- La Conférence Générale des Poids et Mesures (CGPM) constituée des délégués des états membres et se réunissant en général tous les quatre ans. Elle est présidée en séance d'ouverture par le Ministre des Affaires Etrangères de la France. Elle a, entre autres, pour objectifs de décider des mesures d'extension, d'application et d'amélioration du système métrique et de valider les déterminations métrologiques fondamentales et les résolutions scientifiques internationales.
- Le Comité International des Poids et Mesures, composé de dix-huit scientifiques et métrologues élus par la CGPM, se réunit annuellement. Il supervise les travaux du BIPM et propose les recommandations à soumettre à l'approbation de la CGPM. Devant le nombre important de travaux scientifiques développés, lui sont rattachés les Comités Consultatifs, qui étudient, suivent ces travaux et leurs conséquences potentielles en métrologie, et organisent aussi les comparaisons internationales d'étalons de mesure. Ils sont aujourd'hui au nombre de dix.

- Le Bureau International des Poids et Mesures est un laboratoire de métrologie scientifique dont le principal objectif est d'assurer l'uniformité des mesures au niveau international. Ses recherches visent à améliorer la qualité des étalons de référence en collaboration avec les instituts nationaux de métrologie et il organise les comparaisons internationales. Dans ses locaux du « Pavillon de Breteuil » à Sèvres, il conserve le seul étalon matériel de masse.

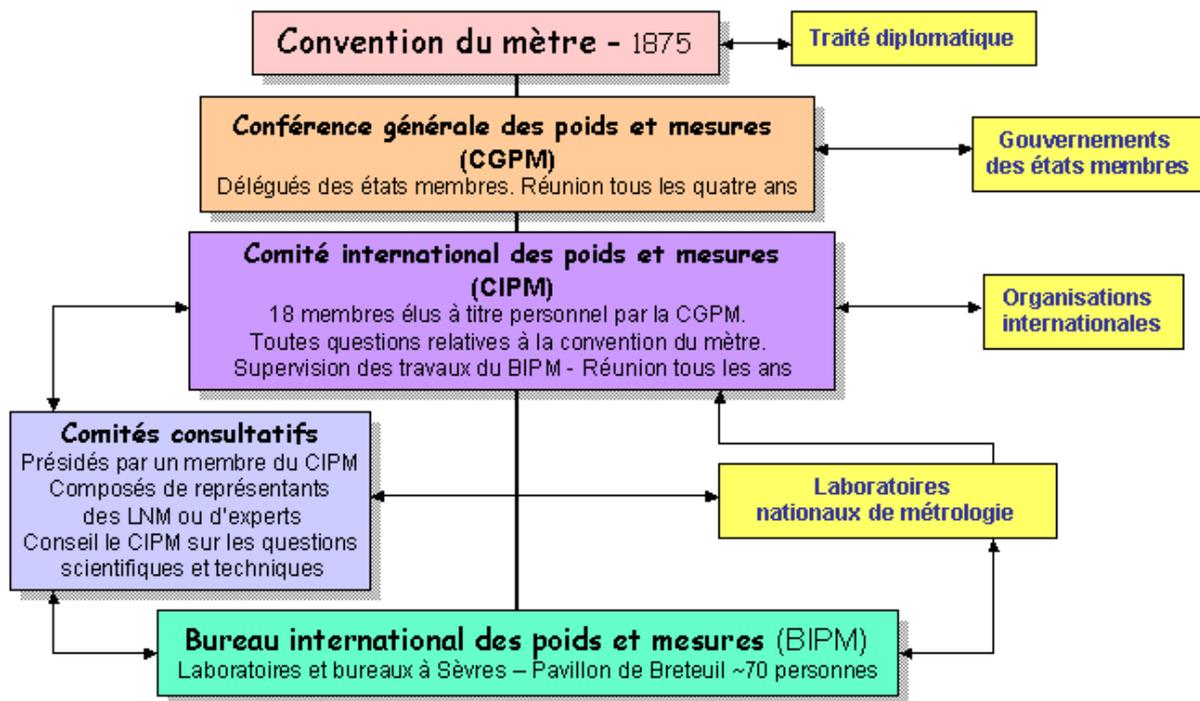


Figure 6 : Schéma représentatif des structures de la Convention du Mètre.

### II.2.2. Les organisations régionales

Les RMOs, organisations régionales de métrologie, créées en raison d'un nombre croissant de pays adhérents à la Convention du mètre, sans en être membres, assurent des échanges plus étroits entre pays d'une même zone géographique, et permettent la mise en œuvre de comparaisons métrologiques en dehors du cadre du CIPM, notamment pour les pays émergents. On en compte actuellement cinq.

- APMP, Asian and Pacific Metrology Programm ;
- SIM, Sistema Interamericano de Metrologia pour le continent américain : se décompose en 5 sous-régions;
- AFRIMETS, Système Intra-africain de Métrologie, en 5 sous-régions
- COOMET, Euro-Asian Cooperation of National Metrology Institutes pour l'Europe de l'est et Cuba.
- Euramet, European Association of National Metrology Institutes : concerne plus de 30 pays européens et ainsi que la Commission des Communautés Européennes.

Nous concernant plus particulièrement, EURAMET est une association à but non lucratif, et dont l'objectif est le développement de la coopération entre les instituts nationaux de métrologie – en France le LNE – y compris en instaurant des programmes communs de recherche en métrologie.

Il existe d'autres associations ou organisations internationales développant des projets de coopérations ou de recherche en métrologie pratique ou fondamentale. On citera pour mémoire :

- iMERA, implementing the Metrology European Research Area,
- IMEKO, International Metrology Confederation,
- Eurachem, pour la traçabilité des mesures en chimie analytique,
- Vermi, pour la caractérisation des radionucléides.

### *II.2.3. Accord de reconnaissance mutuelle (Mutuel Recognition Arrangement).*

Le MRA est un accord rédigé par le CIPM et validé en 1999 par les directeurs des instituts nationaux de métrologie. Cet accord institue une reconnaissance mutuelle des étalons nationaux et des certificats d'étalonnage émis par les laboratoires nationaux, en se fondant sur des comparaisons inter-laboratoires des étalons et sur la mise en place de système qualité appropriés. C'est une base technique importante, préambule à d'autres accords inter-gouvernementaux dans le commerce ou la réglementation.

#### *II.2.4. L'Organisation Internationale de Métrologie Légale OIML*

L'OIML créée en 1955 coordonne au niveau international les règlements techniques et administratifs sur les mesures et instruments de mesure. Elle est reconnue par l'Organisation Mondiale du commerce en tant que structure de normalisation, l'objectif étant d'harmoniser et de faciliter non seulement le commerce des instruments de mesure, mais aussi toutes les opérations commerciales impliquant des mesures.

#### II.3. La Structure Nationale

Créé en 1901 au sein du Conservatoire National des Arts et Métiers, le LNE a pour vocation de répondre aux besoins de mesures et d'essais de l'industrie. La loi Scrivener du 10 janvier 1978 sur la protection et l'information des consommateurs, lui confère le statut d'établissement public à caractère industriel et commercial et élargit ses missions à la certification de produits, ainsi que ses domaines d'intervention [44]. Par décret du 25 janvier 2005, il s'est vu confié la responsabilité globale de la métrologie française, en remplacement du Bureau National de Métrologie, et en fédérant notamment les 4 laboratoires nationaux ci-dessous :

- Le Centre de Métrologie Scientifique et Industrielle du Laboratoire national de métrologie et d'essais, le LNE, est en charge des domaines tels que l'électricité - magnétisme, la métrologie dimensionnelle, la masse et les grandeurs apparentées, les rayonnements optiques, la métrologie chimique, la température et les grandeurs thermiques. Notamment, il assure la conservation et l'étude de la stabilité du prototype national du kilogramme, la réalisation et le transfert de l'unité de longueur par application de la mise en pratique de la définition du mètre.
- L'Institut National de Métrologie au Conservatoire National des Arts et Métiers, le LNE-INM/CNAM, intervient pour les domaines en métrologie tels que les longueurs, la masse, les rayonnements optiques et la température.
- Le Laboratoire National Henri Becquerel au Commissariat à l'Energie Atomique, le LNE-LNHB/CEA, est chargé de la définition et de la conservation

des étalons nationaux en dosimétrie et radioactivité et du transfert vers les utilisateurs.

- Le laboratoire des Systèmes de Référence Temps - Espace à Observatoire de Paris, le LNE-SYRTE/OP, est chargé de la réalisation et de l'amélioration des étalons nationaux dans le domaine du temps et des fréquences.

Le LNE est l'homologue des instituts nationaux tels que le PTB en Allemagne ou le NIST américain, représente la France et participe à ce titre aux programmes et travaux des instances européennes et internationales décrites plus haut.

### **III. Concepts et terminologie**

Chaque science, chaque discipline, chaque métier disposent de son vocabulaire spécifique qui permet aux différents intervenants de communiquer entre eux mais aussi de transmettre des informations à l'extérieur de la discipline ou du métier concerné.

La métrologie a aussi son propre vocabulaire indispensable pour une communication efficace entre les spécialistes de cette discipline, avec une traduction entre les deux langues majeures de la discipline afin d'éviter toute incompréhension [45]. Ce vocabulaire est défini dans un document référencé JCGM : 2008 édité par le BIPM sous le titre « *Vocabulaire international de métrologie. Concepts fondamentaux et généraux et termes associés* » et communément appelé VIM [46]. Une version papier de cette troisième édition du VIM a été publiée par l'ISO sous la référence ISO/CEI Guide 99:2007.

D'autre part l'Afnor a publié un fascicule de documentation, le FD X 07-008, qui cartographie l'ensemble des normes et documents relatifs à la métrologie en France, et facilite la compréhension et la relation de ces documents entre eux [47]. Un document plus généraliste, plus pédagogique, et destiné aux laboratoires de biologie médicale a fait aussi l'objet d'une publication par un groupe de travail de la Société Française de Biologie Clinique, SFBC [48].

### III.1 Terminologie

Les définitions ci-dessous sont extraites du VIM. Elles sont éventuellement assorties de commentaires, afin de mieux appréhender les principes et concepts généraux, ainsi que les aspects plus pratiques, qui seront exposés ultérieurement. C'est un choix restreint, mais qui nous semble le plus pertinent dans le cadre de ce travail.

**Grandeur** : *propriété d'un phénomène, d'un corps ou d'une substance, que l'on peut exprimer quantitativement sous forme d'un nombre et d'une référence.*

Le système international comporte les sept grandeurs fondamentales et leurs unités correspondantes :

- la longueur, dont l'unité est le mètre, symbole *m*.
- la masse, dont l'unité est le kilogramme, symbole *kg*.
- le temps, dont l'unité est la seconde, symbole *s*.
- le courant électrique, dont l'unité est l'ampère, symbole *A*.
- la température, dont l'unité est le k degré kelvin, symbole *K*.
- la quantité de matière, dont l'unité est la mole, symbole *mol*.
- l'intensité lumineuse, dont l'unité est la candela, symbole *cd*.

Les définitions des unités fondamentales du SI utilisent des phénomènes physiques reproductibles à l'exception du kilogramme qui est défini par rapport à un objet matériel et donc susceptible de s'altérer.

Les autres grandeurs et unités sont exprimées à partir de ces grandeurs fondamentales et sont appelées grandeurs et unités dérivées.

**Mesurande** : *grandeur que l'on veut mesurer.*

En chimie et en biologie, on utilise régulièrement les expressions « substance à analyser » ou « analyte » à la place de « mesurande », bien que cet usage soit « métrologiquement » erroné, puisque ces termes ne désignent pas des grandeurs.

**Mesurage** : *(mesure) processus consistant à obtenir expérimentalement une ou plusieurs valeurs que l'on peut raisonnablement attribuer à une grandeur.*

Un mesurage suppose une description de la grandeur, une procédure de mesure et un système de mesure étalonné.

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

Les systèmes de mesure d'un laboratoire de biologie peuvent être extrêmement variés, du plus simple comme une balance pour réaliser une pesée, aux plus complexes comme des automates, ou des ensembles de chromatographie liquide haute performance, comprenant les injecteurs, pompe, colonne, détecteur et les phases mobiles adaptées.

**Etalonnage** : 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

La définition de l'étalonnage a évolué entre les deux dernières versions du VIM. En complément de la définition classique de comparaison avec un étalon selon une méthode spécifiée et la détermination des incertitudes associées (première étape), elle comprend désormais la notion de fonction d'étalonnage (deuxième étape) qui établit la relation directe ou indirecte entre le signal donné par un instrument de mesure et la valeur de la grandeur mesurée. En laboratoire, cette fonction est couramment appelée « courbe d'étalonnage ».

Un étalonnage permet de définir un écart d'étalonnage, différence pour la grandeur mesurée entre la moyenne des valeurs données par l'étalon et celles données par l'instrument à étalonner, affecté d'une incertitude d'étalonnage. L'utilisation de cet écart pour diminuer ou augmenter les valeurs données par l'instrument étalonné s'appelle la correction d'étalonnage. Il est recommandé d'appliquer la correction d'étalonnage.

Tout étalonnage fait l'objet d'un rapport ou certificat d'étalonnage comportant des informations, rubriques et mentions obligatoires selon le format décrit dans le FD X 07-012 « Métrologie dans l'entreprise – Certificat d'étalonnage des moyens de mesures » [49].

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

Sur le plan métrologique, la vérification utilise les dispositions techniques d'un étalonnage, mais en exploite les résultats afin de proposer un jugement de conformité en fonction de règles ou d'exigences préétablies. Par exemple, la vérification des pipettes automatiques par méthode gravimétrique permet de déterminer leur conformité par rapport aux exigences d'erreur systématique et d'erreur aléatoire définies dans la norme ISO 8655.

Toute vérification fait l'objet d'un constat de vérification comportant des informations, rubriques et mentions obligatoires selon le format décrit dans le FD X 07-011 « Métrologie dans l'entreprise – Constat de vérification des moyens de mesures. » [49]

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

En biologie médicale, le terme concerne principalement la validation des méthodes d'analyses, qui sert à déterminer si les performances analytiques d'un système de mesure permettent d'atteindre des objectifs définis par des sociétés savantes ou associations professionnelles (IFCC,...), ou pour des besoins cliniques précis. Pour un instrument de mesure seul, on parle aussi de qualification.

Afin de valider l'usage d'un instrument de mesure pour une utilisation donnée, on utilise la règle du quart définie dans le SH GTA 01 du Cofrac « Guide technique d'accréditation en biologie médicale ». Cette règle définit que, après correction d'étalonnage, l'incertitude d'étalonnage d'un instrument donné doit être inférieure au quart de la tolérance spécifiée. Par exemple, pour une sonde destinée à surveiller la température d'une enceinte réfrigérée à  $5^{\circ}\text{C} \pm 3$  (conservation de réactifs ou

d'échantillons biologiques), l'incertitude d'étalonnage figurant sur le rapport d'étalonnage doit être inférieure ou égale 0,75°C.

***Incertitude de mesure*** : paramètre non négatif qui caractérise la dispersion des valeurs attribuées à un mesurande, à partir des informations utilisées.

L'incertitude de mesure comprend des composantes provenant d'effets systématiques, telles que les composantes associées aux corrections et aux valeurs assignées des étalons, ainsi que l'incertitude définitionnelle. L'incertitude élargie correspond en fait à l'intervalle de confiance à 95% (distribution de probabilité selon la loi normale) dans lequel on peut trouver autour de la valeur mesurée, la valeur supposée vraie du mesurande [51]. Parfois, on ne corrige pas des effets systématiques estimés, mais on insère plutôt des composantes associées de l'incertitude. Les modalités de définition des différents types d'incertitudes sont déclinées dans le GUM - Guide to the expression of uncertainty in measurement, JCGM 100:2008, qui recommande une modélisation des différentes composantes de l'incertitude de mesure d'un résultat et identifie deux types d'évaluation de ces composantes, l'évaluation de type A à partir de la distribution statistique des valeurs, et l'évaluation de type B obtenue à partir de connaissances disponibles telles les données d'utilisation des instruments ou les données d'étalonnage [52].

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

La justesse de mesure n'est pas une grandeur et ne peut donc pas s'exprimer numériquement.

***Erreur de justesse*** : estimation d'une erreur systématique

L'erreur de justesse est généralement appréciée par le biais de mesure.

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

Constitue une estimation de la fidélité (voir ci-dessous).

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

La fidélité sert à définir la répétabilité de mesure, la fidélité intermédiaire de mesure, que l'on appelle improprement reproductibilité intra-laboratoire, et la reproductibilité de mesure, souvent dénommée tout aussi improprement reproductibilité inter-laboratoire. La répétabilité est obtenue en répétant les mesures dans un temps court sans faire varier les conditions de réalisation (même opérateur, même lot de réactif...). Pour la fidélité intermédiaire on fait varier la composante temps, l'opérateur, les lots de réactifs sur un même appareil et dans le même laboratoire tandis que ces deux aspects varient aussi dans la détermination de la reproductibilité.

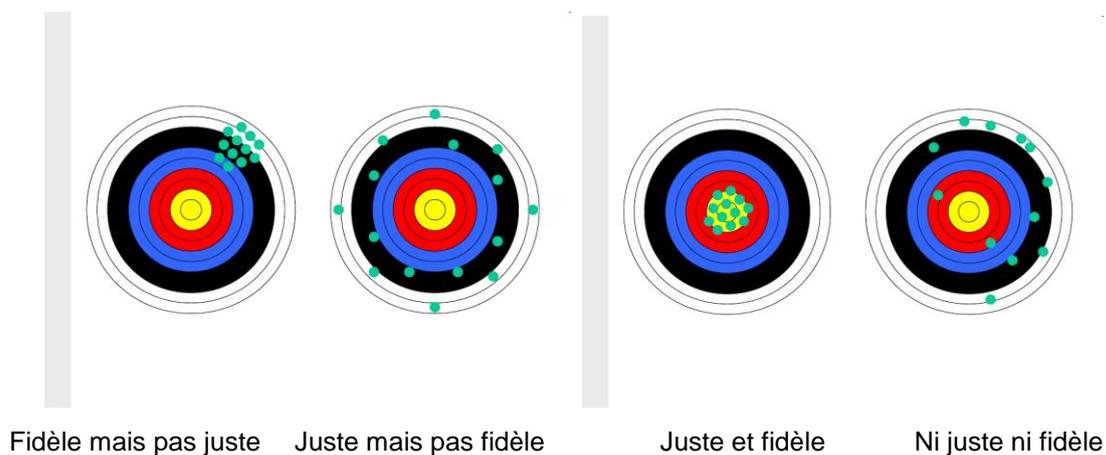


Figure 7 : Représentation schématique de la justesse et de la fidélité d'un instrument de mesure

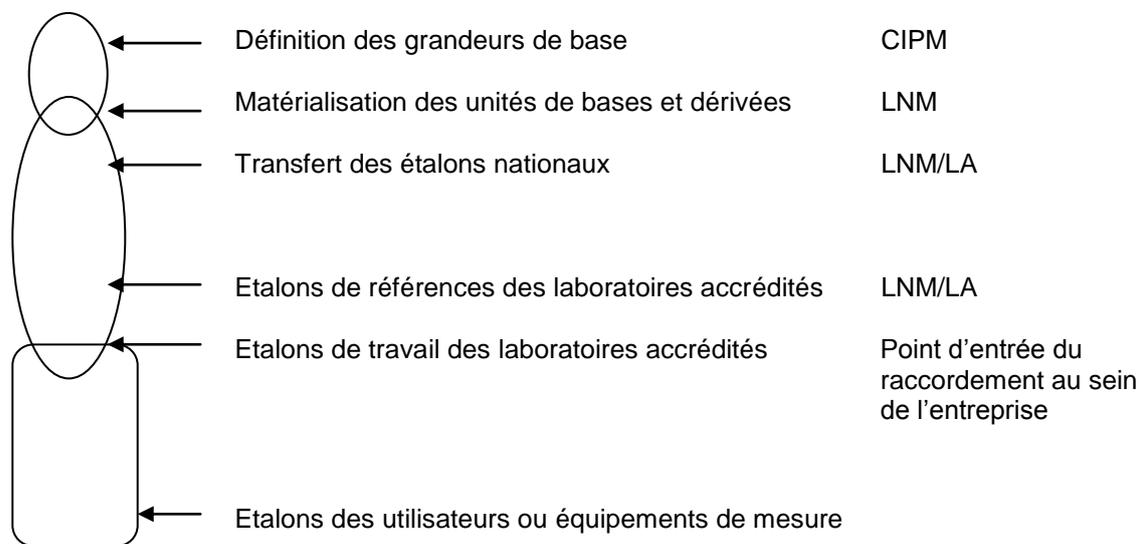
**Traçabilité métrologique** : propriété d'un résultat de mesure selon laquelle ce résultat peut être relié à une référence par l'intermédiaire d'une chaîne ininterrompue et documentée d'étalonnages dont chacun contribue à l'incertitude de mesure

Cet aspect est développé davantage dans le paragraphe suivant.

### III.2. Raccordement, traçabilité métrologique : concepts et définitions, références normatives.

En dehors des définitions mentionnées ci-dessus, il nous apparaît important de développer davantage la notion de chaîne de raccordement concourant à la traçabilité métrologique.

Comme mentionné précédemment, la métrologie est nécessaire notamment dans la maîtrise des processus de fabrication ou les opérations de contrôle et d'essai. Il est impératif de garantir des mesures fiables, harmonisées et comparables à l'incertitude près, quelles que soient leurs origines [53]. Ces mesures doivent être traçables aux étalons internationaux. Cette traçabilité s'organise entre raccordement externe faisant intervenir les organismes de métrologie décrits aux paragraphes II.1 et II.3, et raccordement interne à l'entreprise ou au laboratoire. Le fascicule de documentation de l'AFNOR FD X 07-015 [54], décrit les principes de cette succession de comparaisons ininterrompues que l'on appelle chaîne de raccordement aux étalons ou chaîne d'étalonnage, représentée dans les deux schémas suivants.



CIPM : Comité International des Poids et Mesures

LNM : Laboratoire National de Métrologie

LA : Laboratoires accrédités (Cofrac ou signataires d'accords de reconnaissance)

Figure 8 : Chaîne de raccordement externe à l'entreprise.

La notion d'étalon apparaissant dans ce schéma couvre aussi la notion de matériaux de référence plus couramment utilisés en biologie médicale et qui sera développée dans les paragraphes suivants.

Cette chaîne de raccordement doit aussi exister au sein de l'entreprise (ou du laboratoire), et selon la taille de la structure, les grandeurs utilisées, la nature et le nombre des équipements et les performances métrologiques à atteindre, peut se présenter de différentes manières représentées dans la figure suivante.

Dans son choix de raccordement, l'entreprise doit prendre en compte la dégradation des incertitudes, induite par l'accumulation des incertitudes associées à chaque étape de comparaison, en fonction des performances recherchées et des erreurs acceptables (EMT).

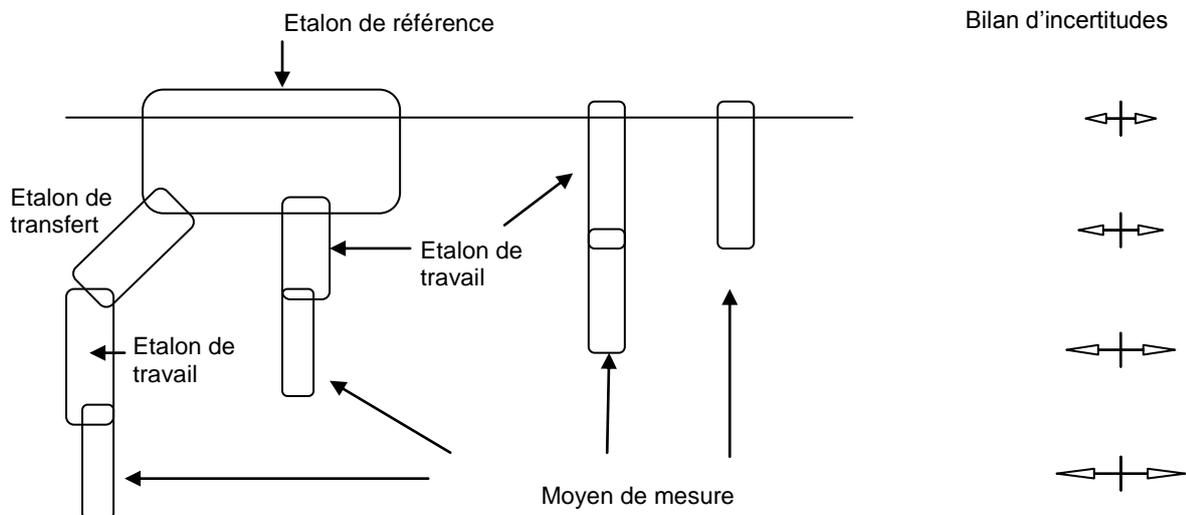


Figure 9 : Schéma de raccordement interne dans l'entreprise et du bilan d'incertitudes associé à chaque niveau

La définition du choix de raccordement interne ou externe des moyens de mesures, de la fréquence, des incertitudes recherchées constitue la politique métrologie et le

programme d'étalonnage de l'entreprise ou du laboratoire tel qu'exigés par les normes NF EN ISO/CEI 17025 ou NF EN ISO 15189 dans le cadre de la démarche d'accréditation.

#### **IV. Métrologie en biologie médicale**

En biologie clinique, les mesurages réalisés – au sens métrologique du terme – en laboratoire sont essentiels à la prise en charge médicale du patient, que ce soit dans le cadre du diagnostic, de la mise en œuvre du traitement ou dans le suivi thérapeutique et médical. Les méthodes analytiques doivent être exactes et spécifiques et des performances analytiques inadaptées ou incorrectes peuvent avoir des conséquences sur le patient, le clinicien ou le système de santé dans sa globalité, et conduire à une interprétation incorrecte des résultats, une erreur de diagnostic, un traitement inapproprié voire dangereux, un coût supplémentaire inutile [55].

Au-delà de ces aspects qui paraissent évidents, les résultats produits par les laboratoires de biologie médicale doivent être comparables entre eux, pour un même analyte et un même échantillon tant au niveau local, national qu'international. D'une part, parce qu'avec une mobilité géographique croissante, les patients doivent disposer d'un même suivi thérapeutique et clinique, sur une même base quel que soit le lieu où ils se trouvent, mais d'autre part parce que les décisions de traitement ou d'intervention sont généralement le fait de consensus internationaux, et que pour être appliqués correctement ils doivent l'être sur la base de résultats homogènes. La littérature nous donne quelques exemples de ces problématiques [56] :

- Couramment le dosage du marqueur PSA (prostatic specific antigen) utilise soit une calibration basée sur un schéma « historique » du premier kit mis sur le marché, soit une préparation de référence de l'OMS (IRP 96/670). Une étude de 2004 montre que 19% des patients participants auraient subi

une biopsie prostatique selon que le résultat était basé sur le premier plutôt que sur le second type de dosage [57].

- Les efforts pour améliorer la comparabilité des résultats de cholestérol ont débuté dès les années 1960 aux Etats-Unis. Ils ont initié le premier programme coopératif de standardisation du cholestérol (Cooperative Cholesterol Standardization Program) qui avait pour but de développer des méthodes et des matériaux de référence pour le dosage du cholestérol. En corrélation avec la conduite d'étude épidémiologiques, ces efforts ont abouti à la construction de programmes nationaux tels que le NCEP (National Cholesterol Education Program) en 1985 et à l'économie de 100 millions de dollars par an de coût de traitement. En parallèle ils ont permis aussi de traiter correctement des patients « faux négatifs » [58].

La nécessité d'une standardisation des résultats à une même référence nationale et internationale reste une évidence quand on considère la pratique quotidienne des laboratoires de biologie médicale. En effet, une revue des systèmes d'évaluation de compétences (Proficiency testing schemes tels que le College of American Pathologists) ou des évaluations externes de la qualité (EEQ obligatoires telles que le Contrôle National de Qualité en France, ou volontaires – ProBioQual, CTCB, Riquas) montre pour certains analytes une variabilité importante des résultats en fonction des méthodes et appareillages utilisés. Même si on peut admettre que parfois les échantillons de ces évaluations provoquent des effets de matrice, ces mêmes variations sont observées avec des échantillons de patients. En 2002, l'Institut des matériaux et mesures de référence (organisme européen, Institut for Reference Materials and Measurements) surveillait via un programme d'évaluation 950 laboratoires sur l'analyse des constituants biochimiques les plus communs du sérum humain. Les variations constatées sur le dosage de la gamma glutamyl transférase (GGT), un des marqueurs hépatiques les plus courants, montraient des biais de - 60% à + 30% sur une activité catalytique de 35 U/L [58].

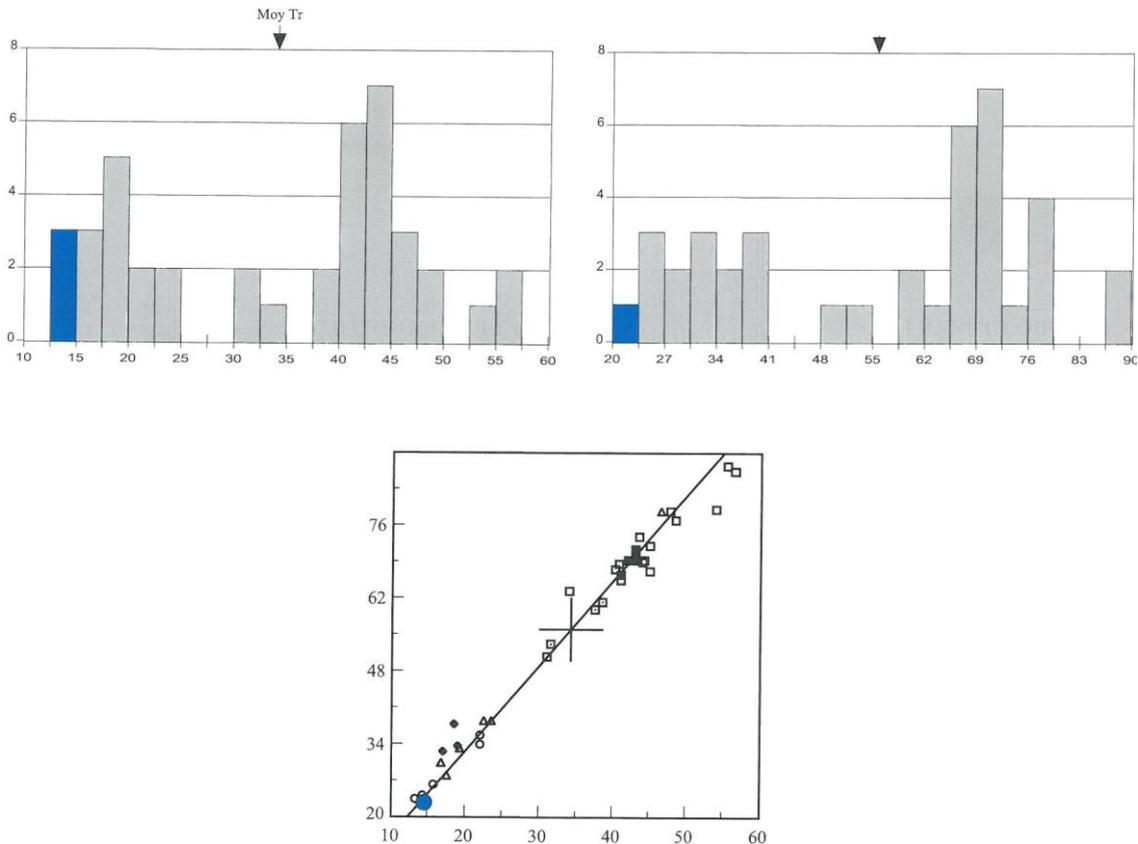


Figure 10 : Exemple d'évaluation externe de la qualité montrant les disparités de résultats pour un même dosage entre différents laboratoires. Cas de la thyroglobuline (année 2005)

Note : la thyroglobuline dispose d'un standard européen CRM 457, mais sur cette évaluation Probioqual tous les laboratoires n'appliquaient pas systématiquement les facteurs de correction.

#### IV.1. La Directive 98/79/CE et la norme ISO 17511 [59]

Si la nécessité de disposer de matériaux de référence internationaux et d'une structure gérant les raccordements apparait comme évidente, ce n'est toutefois qu'à la fin des années 1990 que la démarche se précise et se met en œuvre. La directive européenne 98/79/CE impose aux fabricants de dispositifs médicaux de diagnostic in vitro (DMDIV) le raccordement à des standards internationaux de leurs calibrateurs et de leurs étalons, ou à défaut à des méthodes de références reconnues, en

préalable à l'apposition du marquage CE et à la mise sur le marché européen de leurs produits. Cette réglementation européenne a toutefois un impact international, les Etats-Unis et la Commission européenne validant des accords de reconnaissance et des actions de coopération en métrologie, ainsi que des accords de définition des standards entre le NIST (National Institute of Standards and Technology) et les instituts nationaux de métrologie européens. Dans le même temps le comité technique ISO TC 212 (Working Group 2) travaille au projet de norme internationale ISO 17511 sur la traçabilité métrologique des valeurs attribuées aux agents d'étalonnage et aux matériaux de contrôle qui sera publiée en 2003.

*Note: en raison des dispositions du droit européen et de la transposition dans le droit national, la directive 98/79/CE est devenu effective le 7 décembre 2003.*

Toutefois, et bien que de nombreuses organisations ou instituts nationaux s'occupent de standardisation dans le domaine, la responsabilité globale n'en est pas clairement établie et elle relève plus d'une problématique internationale que nationale. En réponse donc à l'application de la directive 98/79/CE, le Comité International des Poids et Mesures (CIPM), la Fédération Internationale de Chimie Clinique (IFCC) et la Coopération Internationale pour l'Accréditation des Laboratoires (ILAC) créent en 2002, à travers un accord de coopération, un comité commun pour la traçabilité en médecine de laboratoire : Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine [60]. Son comité exécutif supervise les activités de deux groupes de travail (Working group 1 et 2) qui ont pour objectif de fournir une plateforme internationale destinée à promouvoir et à donner des informations sur les étalons ou standards reconnus (liste des matériaux de référence de plus haute qualité métrologique) et sur les mesurages reconnus et acceptés comme équivalents en médecine de laboratoires. Le secrétariat du JCTLM est situé dans les locaux du BIPM au pavillon de Breteuil à Sèvres.

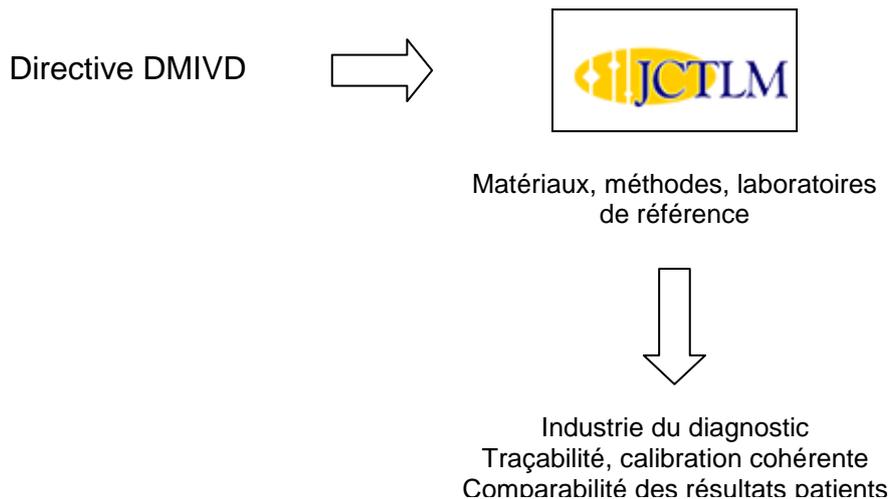


Figure 11 : Liens entre la directive DMIVD et la standardisation des résultats de biologie

#### IV.2. Les dispositions de la norme

La norme ISO 17511 (NF EN ISO 17511 pour sa version française) traite des dispositions permettant de garantir la traçabilité métrologique des valeurs attribuées aux matériaux d'étalonnage et de contrôle destinés à la vérification de la justesse de mesure [61,62]. Il est nécessaire de rappeler que le point final idéal d'une chaîne de traçabilité est la définition de l'unité correspondante dans le Système International d'unités (SI). Toutefois, la traçabilité d'une valeur donnée peut s'arrêter bien avant en fonction de la disponibilité des modes opératoires de mesure et des matériaux de références de niveau supérieur. Dans le domaine médical il n'existe généralement pas de traçabilité au-delà des niveaux d'étalonnage du fabricant.

Les laboratoires de biologie médicale réalisent en routine des mesures d'environ 700 types de grandeurs, sans prendre en compte les analyses de types spécialisées ou en développement. Pour la majeure partie, la traçabilité métrologique ne prend en compte qu'un seul échelon et ce principalement en raison de l'hétérogénéité moléculaire des grandeurs mesurées et des degrés différents de reconnaissance de épitopes dans les méthodes immunologiques par exemple. En fonction donc de la possibilité de traçabilité au SI, la norme identifie cinq possibilités de chaînes de raccordement.

A – Les grandeurs pour lesquelles les résultats de mesure peuvent être raccordés au système international d'unités. Appelés plus couramment analytes de type A, ce sont des produits de composition chimique bien définie, en nombre réduit (environ 60 à 65), appartenant classiquement au domaine de la chimie clinique, et couvrant la plus grande proportion des résultats fournis par les laboratoires de biologie médicale. On y retrouve les électrolytes, les minéraux, des produits du métabolisme (glucose, cholestérol, créatinine...), les hormones stéroïdes et thyroïdiennes, les vitamines. Les résultats de concentration sont donnés en mol/L (unité SI), et l'étalon primaire peut être préparé avec une substance de grande pureté. Il existe aussi une procédure analytique de référence, généralement spectrométrie de masse en dilution isotopique, qui permet aux laboratoires de référence (voir ci-après) de travailler et de décliner le matériau de référence primaire pour assigner une valeur au matériau de référence secondaire (voir schéma n°12).

B – Les grandeurs pour lesquelles les résultats des mesures ne peuvent pas être raccordés au système international d'unités. Pour ces analytes dits de type B la standardisation est en générale plus difficile. Leur composition dans les fluides humains est hétérogène, et les matériaux de référence obtenus constituent plus une solution « moyenne ». L'assignation d'une valeur à un matériau de référence secondaire est souvent problématique. Ce sont souvent des marqueurs importants dans des spécialités médicales telles que l'oncologie ou l'endocrinologie, et par conséquent la réalisation d'un système complet de mesure de référence est extrêmement nécessaire. Pour ces éléments la norme précise les cas suivants :

- 1) il existe un mode opératoire de mesure de référence conventionnel international (appelé communément en biologie, méthode de référence), mais qui n'est pas un mode opératoire de mesure de référence primaire (voir note ci-dessous), et des matériaux d'étalonnage conventionnels internationaux dont les valeurs sont déterminées par la méthode de référence. Le cas le plus représentatif de cette catégorie est celui de l'hémoglobine A1c (HbA1c) : on dispose de matériaux de référence reconnus – IRMM 466/467 (HbA0/HbA1c) – et de méthodes de référence que sont la chromatographie liquide haute performance couplée à la

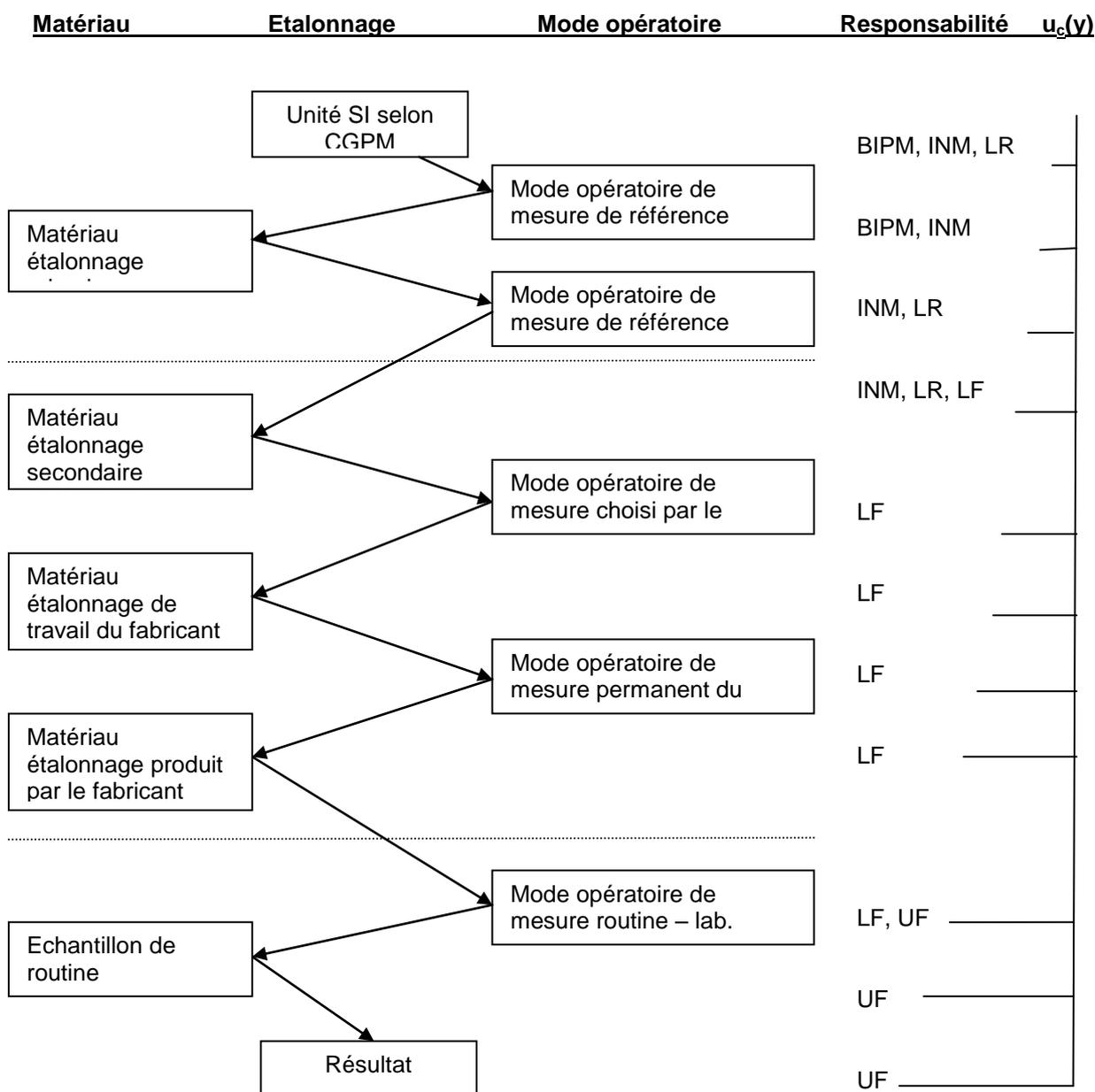
spectrométrie de masse (HPLC-MS) ou l'HPLC couplée à l'électrophorèse capillaire. L'utilisation du matériau de référence et de la méthode permet d'assigner une valeur à un panel de sang humain utilisé comme matériau de référence secondaire pour des méthodes de routine [63].

- 2) il existe un mode opératoire de référence conventionnel international mais aucun matériau d'étalonnage conventionnel. Les matériaux de référence sont ceux du fabricant. Ce sont classiquement les paramètres d'hématologie ou les facteurs d'hémostase. Exemple : le mode opératoire de l'ICSH (International Council for Standardization in Haematology) pour numération des érythrocytes et des leucocytes dans le sang total humain.
- 3) Il existe un ou des matériaux d'étalonnage conventionnels internationaux qui peuvent être utilisés comme des étalons avec un protocole de transfert, mais il n'existe pas de mode opératoire de mesure de référence international. Ce sont des grandeurs qui renvoient à des étalons comme ceux de l'Organisation Mondiale de la Santé, telles que les hormones protéiques et certains anticorps et marqueurs tumoraux.
- 4) Il n'existe ni mode opératoire de référence ni matériau de référence pour l'étalonnage. Les valeurs des étalons sont attribuées par le fabricant par des modes opératoires qu'il a lui-même déterminés. Cet état concerne un grand nombre de paramètres parmi lesquels on retrouve notamment la majeure partie des anticorps et les marqueurs tumoraux, ce qui, comme on a déjà pu l'évoquer, peut poser un problème dans le suivi clinique ou thérapeutique lors d'une mobilité géographique des patients.

*Note : le Comité consultatif pour la quantité de matière, créé en 1994 par le CIPM, a provisoirement identifié les principes de mesure suivants pour les modes opératoires de référence primaire : dilution isotopique-spectrométrie de masse, coulométrie, gravimétrie, titrimétrie, abaissement du point de congélation.*

Les principes de raccordement, d'étalonnage et d'établissement des valeurs des étalons sont décrits dans le schéma ci-dessous. Ce schéma reprend les modalités les plus complètes où il existe donc un raccordement possible au système international d'unités. En fonction des modalités décrites ci-dessus, le nombre d'étapes sera bien entendu réduit. Il définit aussi les responsabilités des différents intervenants possibles en fonction des étapes et la propagation des incertitudes ( $u_c$ )

au long de la chaîne de traçabilité. Ce schéma est aussi à rapprocher des principes de raccordement décrits dans le FD X 07-015 et schématisé dans la figure n°8.



**Figure 12 : Hiérarchie d'étalonnage élargie et traçabilité au SI selon l'ISO 17511.**

**Abréviations :**  
 BIPM Bureau International des Poids et Mesures  
 INM Institut National de Métrologie  
 LR Laboratoire de référence accrédité  
 LF Laboratoire du fabricant  
 UF Laboratoire utilisateur final  
 $u_c(y)$  Incertitude type composée

Note : les traits horizontaux constituent une représentation de l'évolution de l'incertitude type composée au cours de la chaîne de raccordement et ne sont aucunement représentés en fonction d'une échelle.

### IV.3. Propriétés des matériaux d'étalonnage [64]

Les collaborations entre les structures internationales de métrologie et les différents instituts nationaux se sont accentuées ces dernières années afin de pouvoir mettre à disposition des fabricants des matériaux étalons reconnus. Si pour ces matériaux les données d'informations suivantes sont importantes (reconnaissance, autorité émettrice, certificat, origine, mode de production...), deux propriétés sont toutefois tout aussi essentielles, que difficiles à obtenir : la définition précise du mesurande (ou de l'analyte pour utiliser un langage plus biologique) et la commutativité.

#### *IV.3.1. Définition du mesurande*

La définition du mesurande revient à dire de façon simplifiée « que mesure-t-on réellement ? » dans un échantillon de patient. Pour un certain nombre d'analyses, la réponse reste relativement simple, puisque le mesurande correspond à une molécule unique de formule chimique et de structure moléculaire connues (par exemple le cholestérol). On peut donc opérer un raccordement au système international.

En revanche, pour une part importante d'analyses cliniques, les molécules dosées sont des protéines, parfois de structure simple comme l'insuline, mais généralement de structure beaucoup plus importante, complexe et de haut poids moléculaire. Même si le séquençage du génome humain a pu donner des informations sur leur séquence d'acides aminés, de nombreuses réactions biochimiques, glycosylations ou phosphorylations, peuvent en modifier la structure et donner pour une même dénomination une hétérogénéité de produits, sans pouvoir assigner une seule valeur à leur masse moléculaire. La traçabilité au SI n'est pas possible, et la définition réelle du mesurande difficile. On donnera pour exemple les différentes sous-unités de la troponine (T, I et C) ou les marqueurs cardiaques BNP ou NT-proBNP, qui font l'objet de travaux de standardisation par le NIST et l'IFCC.

#### *IV.3.2. Commutativité*

La définition donnée par la norme ISO 17511 est la suivante : « étroitesse de l'accord entre la relation mathématique des résultats obtenus par deux modes opératoires de mesure pour une grandeur définie dans un matériau donné et la relation mathématique obtenue pour cette grandeur dans des échantillons de routine ». De manière plus simple, il s'agit de la propriété d'un matériau de référence, pour un analyte donné, à avoir des caractéristiques analytiques identiques à un échantillon patient et ce quelle que soit la méthode d'analyse utilisée. C'est un aspect essentiel car le fait qu'un matériau soit commutable ou non peut entraîner des variations sur la qualité « clinique » des résultats (interprétation par rapport à des valeurs seuils). Des études différentes, notamment à partir des données des programmes de tests de compétence du College of American Pathologist, ont indiqué que pour 11 analytes définis, jusqu'à 69% des combinaisons matériau/méthode pouvaient montrer des effets liés à la non-commutativité des matériaux utilisés.

Les raisons de cette non-commutativité sont relatives aux modes opératoires de mesures, spécificité et sélectivité notamment des méthodes immunologiques qui selon les anticorps utilisés peuvent reconnaître tel ou tel épitope, à des effets de matrice, interférence des substances endogènes du sérum ou du sang humain avec l'analyte, et sont difficilement prévisibles. La supplémentation en analyte, parfois nécessaire pour ajuster la quantité, peut aussi conduire à un défaut de commutativité par adjonction de micro-impuretés dans le matériau, bien que cela ne soit pas systématique.

La production des matériaux de référence doit donc suivre un protocole strict, robuste et bien maîtrisé. Le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) a décrit dans son document C37-A, un protocole de préparation à partir de d'un pool de sérums congelés (initialement pour le cholestérol). Les matériaux préparés en conformité avec ce protocole ont été jugés supérieurs en termes de commutativité par rapport à des matériaux préparés selon des protocoles classiques moins contraignants [65]

Devant la complexité croissante des examens réalisés, et l'application des techniques de biologie moléculaire, la recherche de matériaux de référence ne s'arrête pas aux méthodes quantitatives, mais concerne aussi les analyses qualitatives et le matériel génétique [66].

#### IV.4. Mise en place des réseaux des laboratoires de référence.

Comme nous avons déjà pu l'aborder, la création et la fabrication de matériaux de référence primaires, si elle est impérative dans la chaîne de traçabilité métrologique, n'en est pas pour autant le seul maillon indispensable. Pour pouvoir se diffuser vers les utilisateurs, le raccordement doit aussi pouvoir s'appuyer sur un réseau de laboratoire suffisant, ce qui représente un challenge important dans le développement de la traçabilité métrologique en biologie médicale. Les instituts nationaux de métrologie sont les premiers constituants de ce réseau qui se développe ensuite via un maillage de laboratoires de référence vers les niveaux plus communs (laboratoires des fabricants ou laboratoires de routine comme indiqué dans la figure n°12).

Les exigences pour figurer en tant que laboratoire de référence sont définies dans le manuel de procédures édité par le groupe de travail WG2 du JCTLM, et peuvent se résumer à trois aspects majeurs [67]:

- maîtriser les aspects techniques du plus haut niveau métrologique. Ce sont des méthodes analytiques à haute technicité et spécificité, nécessitant un équipement complexe que l'on ne retrouve pas dans des laboratoires de routine, telles que la spectrométrie de masse en dilution isotopique ;
- être accrédité en tant que laboratoire réalisant des mesures de référence selon la norme ISO 15195 (Biologie médicale -- Exigences requises à l'égard de laboratoires réalisant des mesures de référence) ;

- participer à des comparaisons inter-laboratoires régulières, dédiées aux laboratoires de référence organisés par les instituts nationaux de métrologie ou des organismes tels que l'IRMM, l'IFCC.

#### IV.5. Conclusion

L'introduction en biologie médicale de d'étalons internationaux ou de matériaux de référence doit permettre la comparaison des résultats quels que soient la méthode utilisée et le laboratoire qui la réalise, afin d'assurer un traitement et un suivi adaptés des patients de plus en plus mobiles géographiquement. Cependant, cette standardisation des mesures doit s'accompagner d'une évaluation des limites analytiques des méthodes en cohérence avec les intervalles des valeurs de référence et des seuils de décisions thérapeutiques [68]. Cette démarche initiée dans le courant des années 1990, se poursuit toujours actuellement en introduisant dans les laboratoires de biologie médicale les concepts fondamentaux et le vocabulaire de la métrologie, et en étendant les projets de standardisation permettant de mieux préciser les composés ou analytes à mesurer [69, 70].

#### **V. Quel rôle pour la fonction métrologie dans un laboratoire de biologie médicale ?**

Les aspects généraux et théoriques, relatifs à la métrologie en général et à la métrologie en biologie médicale en particulier, étant posés, nous allons nous intéresser aux aspects pratiques de la fonction métrologie dans un laboratoire de biologie médicale et notamment :

- Quelles sont les exigences applicables, soit dans le GBEA (guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale) qui pour l'heure n'a pas été abrogé et reste applicable, soit dans la norme NF EN ISO 15189 dans le cadre des nouvelles dispositions relatives à l'accréditation ;

- Comment définir la fonction métrologie, quelles sont ses prérogatives et champs d'action, comment la mettre en œuvre ?

### V.1. Fonction métrologie : définition

Selon la norme NF EN ISO 10012 « Système de management de la mesure – Exigences pour les processus et les équipements de mesure » la fonction métrologie au sein du laboratoire a la responsabilité administrative et technique de définir et de mettre en œuvre le système de management de la mesure [71, 72]. C'est-à-dire qu'elle doit définir les orientations et politiques de raccordement au système international, les procédures de gestion des instruments de mesure et de gestion des processus de mesure, ainsi qu'en assurer l'application et la traçabilité documentaire. C'est une fonction transversale au laboratoire.

### V.2. Exigences applicables

Les laboratoires candidats à l'accréditation doivent respecter les exigences de la norme NF EN ISO 15189 et les textes réglementaires applicables à l'activité, dont notamment le GBEA. Ces textes définissent un certain nombre d'exigence en rapport avec la fonction métrologie comme définie ci-dessus. Ces exigences sont relevées et explicitées, si nécessaire, ci-dessous.

Responsabilité de la direction (GBEA § II.1.1, ISO 15189 § 4.1.5, 4.2.4) : la direction du laboratoire a la responsabilité de définir les fonctions clé du laboratoire (notamment qualité et métrologie au regard du Cofrac), de nommer ces responsables, et suppléants si possible. Ces personnes devront être formées et avoir la compétence et l'autorité nécessaire.

Instrumentation, matériel (GBEA § II.3 et II.4, ISO 15189 § 5.3) : le matériel doit être adéquat, les systèmes analytiques choisis en fonction des performances souhaitées, les résultats conformes aux exigences souhaitées. Le biologiste doit s'assurer du respect des modalités d'installation, de fonctionnement et d'entretien conformément aux recommandations du fournisseur, et de la mise en œuvre des moyens

métrologiques nécessaires. Le GBEA entend plus par moyens métrologiques, les calibrateurs et contrôles destinés à mise la mise en œuvre et à la vérification du processus analytique. La norme est quant à elle, plus explicite sur la notion de programme de surveillance et d'étalonnage des moyens de mesure, l'application des corrections d'étalonnage et sur l'identification de l'appareillage.

Assurer la qualité du processus analytique (GBEA § V.2 et V.3, ISO 15189 § 5.6) :

Cet aspect est traité dans le GBEA uniquement à travers les aspects Evaluation Externe de la Qualité et Contrôle Qualité Interne. On reste dans une vision qui est plus sur la maîtrise des dérives du processus et une comparaison des résultats vis-à-vis d'autres laboratoires que sur la notion de raccordement métrologique à une grandeur ou à des étalons définis. La norme est, elle, orientée de plus vers le raccordement au sens du FX 07-015 - aspect confirmé par les exigences complémentaires du Cofrac figurant dans le SH REF 02 – et vers la détermination des incertitudes de mesure.

V.3. Responsabilités et champ d'action.

Considérant les informations ci-dessus, la fonction métrologie interviendra, au sein du laboratoire de biologie médicale, sur les aspects suivants [73, 74] :

- la définition des principes de gestion du parc matériel et son suivi ;
- l'établissement de la politique métrologie et notamment les principes de raccordement au SI, et la mise en œuvre des opérations métrologiques ;
- la validation des méthodes analytiques et l'estimation des incertitudes.

Selon la taille et la structure du laboratoire, ces responsabilités pourront être partagées avec le ou les biologistes, et les ingénieurs biomédicaux dans les cas des établissements hospitaliers, notamment dans le cas des automates complexes de laboratoire, dont la métrologie se limite souvent à l'utilisation des calibrateurs et contrôles internes aux réactifs, ou des contrôles externes. Il est en effet difficile, voire impossible, d'intervenir sur les appareils pour effectuer des opérations métrologiques sur chaque grandeur utilisée, cela pouvant même entraîner l'annulation des garanties amenées par le marquage CE. Ces responsabilités, et les interfaces entre les

différents intervenants, devront être bien documentées dans le système qualité notamment dans les définitions de fonction.

### *V.3.1. La gestion du parc matériel*

Les activités du responsable métrologie peuvent concerner toutes les étapes du cycle de vie d'un instrument de mesure afin d'en assurer la maîtrise [75, 76] :

- la définition des besoins et la rédaction des cahiers des charges préalables à l'achat d'un matériel. Il s'agit de déterminer les fonctionnalités et les performances attendues des matériels recherchés de manière à ce qu'ils répondent aux attentes des patients et des cliniciens. La détermination de ces spécifications est essentielle car elles servent de base à l'étape suivante dite de qualification initiale ;
- la qualification permet de s'assurer et de documenter que le matériel réceptionné correspond aux besoins formulés, dans l'environnement du laboratoire (aptitude au besoin). La qualification est à rapprocher de la définition plus spécifique de « confirmation métrologique » donnée par la norme NF EN ISO 10012, qui consiste en un ensemble d'opérations nécessaires pour assurer qu'un équipement de mesure répond aux exigences correspondant à l'utilisation prévue. Classiquement on distingue la qualification d'installation (IQ), qui comprend la réception et l'installation du matériel, les divers raccordements en alimentation électrique, hydrique ou autre, et l'élimination des déchets, la qualification opérationnelle (OQ) qui permet de vérifier que le matériel est en état correct de fonctionnement et que les fonctionnalités générales sont présentes, et enfin la qualification de performances (PQ) par laquelle on s'assure effectivement que le matériel permet d'atteindre, sur le site du laboratoire, le niveau de performances analytiques ou métrologiques requis, et de les maintenir dans le temps. Cet aspect est lié avec le suivi des opérations d'étalonnage et de vérification, ainsi qu'avec la validation des méthodes (voir ci-dessous) ;

- l'identification univoque et l'inventaire requis par la norme NF EN ISO 15189 ne doivent pas relever d'une simple énumération des divers instruments assortis de leurs codifications, mais plutôt d'un véritable recensement par nature, qui facilitera la définition de la politique métrologique et du suivi du parc (utilisation, vérification, renouvellement). Les natures d'instruments peuvent être répertoriées en instruments d'analyse – automates mono ou multiparamétriques -, instruments de mesure – pipettes, balances, thermomètres ou sondes, spectrophotomètres – et instruments intermédiaires ou connexes qui ne participent pas directement à l'obtention d'un résultat de mesure, mais qui ont une influence sur la réalisation de l'analyse – étuves, réfrigérateurs pour la conservation des échantillons, bain-marie - ;
- les dispositions de maintenance définies par le fournisseur doivent être scrupuleusement appliquées et suivies, afin de maintenir l'équipement en parfait état, et de garantir son fonctionnement selon les dispositions du marquage CE. Dans ce cadre-là, il est essentiel de ne réaliser aucune intervention qui ne soit autorisée et validée par le fournisseur, sous peine d'invalidation des garanties apportées ;
- les fiches de vie et le dossier matériel à établir et maintenir sont les supports d'enregistrement et de traçabilité de toutes les opérations métrologiques et de maintenances de l'équipement, le récapitulatif de toutes les interventions ayant eu lieu sur le matériel. Ces documents constituent la plus grande partie de la notion de responsabilité administrative mentionnée dans la définition de la fonction métrologie de la norme NF EN ISO 10012.

### *V.3.2. Validation des méthodes et estimation des incertitudes de mesure.*

Parallèlement à la qualification ou la confirmation métrologique du matériel, la fonction métrologie peut apporter une aide méthodologique dans la validation des méthodes et l'estimation des incertitudes de mesure des analyses de biologie médicale :

- validation des méthodes d'analyses : la validation, ou la vérification dans le cas de l'utilisation d'automate et de réactifs marqués CE dans les conditions prévues par le fournisseur, est souvent indissociable de la qualification ou confirmation métrologique des équipements de mesure. Il s'agit de déterminer les performances de la méthode telles que la répétabilité, la fidélité intermédiaire, la justesse, la limite de linéarité ou de détection, et de les comparer aux performances annoncées du fournisseur ou énoncées par des sociétés savantes ou publications (SFBC, Ricos...) afin de répondre aux besoins des cliniciens. Il est souhaitable que la fonction ou le responsable métrologie du laboratoire veille à la généralisation de cette démarche et à l'application des recommandations du document SH GTA 04 du Cofrac [77]. Il faut toutefois rappeler que les biologistes appliquaient déjà régulièrement des dispositions similaires comme celles décrites dans le protocole VALTEC de la SFBC (Annales de Biologie Clinique, 1986).
- estimation des incertitudes : les laboratoires de biologie doivent déterminer l'incertitude de leurs résultats dans les cas où cela est pertinent et possible. Le document SH GTA 14 du Cofrac [78] définit différentes approches dont certaines peuvent apparaître ardues comme l'approche du GUM (Guide of Uncertainty Measurement) qui nécessite de connaître le modèle de mesure et de modéliser chaque composante de l'incertitude et de la quantifier. Le laboratoire utilisera des démarches plus simples comme la méthode CIQ et EEQ qui utilise les résultats de l'exploitation des données des contrôles internes de la qualité et des évaluations externes qui sont des outils couramment employés. De par ses connaissances spécifiques, le responsable métrologie aura plus un rôle de conseil dans l'approche de ce travail, notamment dans l'évaluation des sources potentielles d'incertitude et de variation des résultats à l'aide d'outils comme les diagrammes d'Ishikawa et les 5 M, dans l'expression et la présentation des résultats d'incertitude, et dans les règles générales de calcul comme la loi de propagation des incertitudes qui veut qu'une incertitude composée  $u$  s'obtient par la racine carrée de la somme quadratique de ses différentes composantes [52].

### V.3.3. Politique métrologie

C'est la responsabilité principale de la fonction métrologie et qui, contrairement aux points vus ci-dessus, n'est peu ou pas partagée, et nécessite une connaissance et une compétence particulière. Aspect qui sera plus particulièrement développé dans la partie pratique de ce travail, elle consiste principalement en :

- définir les modalités de raccordement des équipements de mesure soit interne, soit externe, inventorier et évaluer les besoins en terme de performances métrologiques recherchées – définition des erreurs maximales tolérées EMT et des incertitudes maximales correspondantes – déterminer et optimiser les fréquences et intervalles des opérations métrologiques en fonction de la nature, de la destination et de l'utilisation d'un équipement de mesure. Dans le cas des automates de laboratoire, ces aspects sont définis par le fournisseur et revus plus généralement sous la responsabilité du biologiste ;
- établir le programme d'étalonnage définissant, entre autres, pour chaque équipement de mesure du laboratoire, les éléments décrits ci-dessus, la date de la dernière opération métrologique réalisée, la date limite pour la prochaine, les documents de référence utilisés ;
- rédiger les documents techniques, instructions ou modes opératoires des opérations métrologiques, lorsqu'elles sont réalisées au sein du laboratoire, en fonction des grandeurs gérées, en s'appuyant sur les normes nationales ou internationales, les guides techniques du Cofrac, ou tout autre document émis par un organisme compétent (recommandations OIML par exemple) et en suivre la mise en œuvre et la réalisation effectives.

En complément des aspects techniques et de gestion décrit précédemment le responsable métrologie doit aussi assurer l'information et la sensibilisation de tout le personnel du laboratoire à l'importance du suivi des équipements de mesure et dans

le cas où cela est nécessaire et prévu, planifier et réaliser les formations aux concepts métrologiques et à la pratique des opérations d'étalonnage et de vérification.

## **Conclusion**

Science dont les prémices historiques sont anciennes, mais dont les développements majeurs ne datent que des siècles derniers, la métrologie a, au-delà de ses aspects techniques de maîtrises des processus, méthodes et systèmes de mesure, des objectifs plus généraux. Par l'universalité des étalons et des moyens de comparaison, elle permet de régir les transactions commerciales, d'assurer à différents niveaux la protection des personnes, et par le partage d'une métrique commune de se comprendre d'une collectivité à une autre. Comme discipline scientifique à part entière, elle a sa part d'innovation, de développement des connaissances individuelles et collectives. Lord Kelvin ne disait-il pas « Mesurer c'est savoir » ?

**Partie Pratique : Cas du Pôle de  
Biologie Pathologie Génétique  
CHRU de Lille**

## I. Présentation de la structure, historique

Initialement constitué en Fédération de Biologie Pathologie, puis en pôle afin de mieux répondre aux directives de la loi HPST, le Pôle de Biologie Pathologie Génétique regroupe depuis 2007 au sein d'une même structure l'ensemble des laboratoires autrefois dispersés sur le campus du CHRU du Lille. Ces laboratoires sont désormais rassemblés dans un seul bâtiment de 18000 m<sup>2</sup>, le Centre de Biologie – Pathologie Pierre-Marie Degand (hors immuno-hématologie, génétique et biologie de la reproduction). Il convient aussi d'y rattacher la clinique de génétique « Guy Fontaine » [79].

### I.1 Organisation

Le pôle est constitué de huit instituts et d'une clinique :

- L'Institut de biochimie et de biologie moléculaire qui rassemble le service d'Hormonologie – Métabolisme – Nutrition - Oncologie, le service de Toxicologie – Génopathies et le service Protéines – Biologie prédictive qui comprend entre autres le plateau technique de biochimie automatisée la biochimie d'urgence. Chaque service est subdivisé en unités fonctionnelles (UF) rattachées à une thématique médicale et biologique.
- L'Institut d'Hématologie – Transfusion, structuré en service d'Hématologie cellulaire, service d'Hémostase et hémostase clinique (consultations) et service de transfusion. L'institut assure une prise en charge des patients 24 heures sur 24. Le service d'hémostase est, depuis 2006, Centre National de référence pour la maladie de Willebrand et l'un des 5 sites nationaux de référence de l'hémophilie et déficits rares de la coagulation.
- L'Institut d'Immunologie explore les anomalies du système immunitaire (UF d'Immunologie Humorale) et réalise le typage HLA et le suivi des patients transplantés (UF Transplantation et UF d'Immunologie Cellulaire).
- L'Institut de Microbiologie composé des services de Bactériologie – Hygiène (recherche de bactéries en technique conventionnelle et biologie moléculaire,

suivi des traitements anti-infectieux), de Parasitologie – Mycologie (notamment diagnostic de la toxoplasmose) et le service de Virologie (virologie conventionnelle, diagnostic moléculaire et sérologie). Le service de Bactériologie accueille depuis 2009 le Centre National de Référence *Haemophilus influenzae*.

- L'Institut de Pathologie assure la prise en charge des échantillons d'anatomopathologie du CHRU, mais aussi un rôle de recours régional, notamment dans des spécialités telles que la fœtopathologie et les pathologies tumorales.
- L'Institut de Biologie de la Reproduction est localisé sur le site de l'hôpital Mère – Enfant Jeanne de Flandres et assure toute la partie biologie et spermologie des actes d'assistance médicale à la procréation.
- L'Institut de Génétique réalise les examens de cytogénétique prénatale et de cytogénétique moléculaire (technique de puce à ADN). C'est un secteur à forte contrainte réglementaire disposant des agréments ministériels nécessaires à son fonctionnement.
- L'Institut de Prestations Communes regroupe toutes les activités servant à l'ensemble des secteurs du pôle. On distingue :
  - o des plateaux techniques offrant des moyens matériels et techniques aux différentes équipes et favorisant ainsi l'optimisation des ressources : biologie moléculaire, culture cellulaire (laboratoires de type L2 et L3), immuno-analyse (marquage isotopique) et physico-chimie (spectroscopie de masse).
  - o Des activités supports parmi lesquelles on compte l'unité laverie-stérilisation, le centre de conservation des échantillons (pré et post-analytique), la cellule informatique (paramétrage et relation avec la direction des systèmes d'information de l'hôpital), la réception des échantillons (Réception-Tri-Enregistrement) qu'ils soient internes ou externes au CHRU (il s'agit toutefois de deux filières distinctes, l'acheminement interne étant réalisé par réseau pneumatique). L'UF Qualité – Risques – Evaluation, à laquelle est rattachée la fonction métrologie fait partie de ces activités supports.

Le Pôle de Biologie Pathologie Génétique réalise pour le compte de services de médecine du travail, les analyses de plomb sanguin dans le cadre du suivi biologique des travailleurs, et en interne pour le compte de la Direction du Management des Risques, la recherche de légionnelles dans les eaux sanitaires. En complément des objectifs généraux d'accréditation fixés par l'ordonnance du 13 janvier 2010 et déjà mentionnés, il a donc l'obligation d'accréditer ces activités, selon l'ISO 15189 pour le plomb, selon l'ISO 17025 pour les légionnelles, au 1<sup>er</sup> janvier 2012. Dans le cadre de ces accréditations, il est impératif d'assurer la maîtrise du matériel de mesure, en dehors des automates de laboratoire, et la traçabilité des résultats de mesure aux étalons nationaux en rapport avec les exigences mentionnées dans les référentiels spécifiques à ces analyses (Norme NF T 90-431 et SH REF 20). Au-delà donc de la structuration globale de la fonction métrologie pour l'ensemble du pôle, il est aussi essentiel d'établir et mettre en œuvre les programmes d'étalonnage pour ces deux secteurs.

## I.2. Contexte.

La « mise en place d'un système de métrologie » pour l'ensemble des laboratoires de biologie médicale du CHRU de Lille, avait déjà fait l'objet d'une première étude en 2005 dans le cadre d'un mémoire de Master « Equipements biomédicaux ». Cette étude, réalisée sous le pilotage de la Direction biomédicale, et avant le regroupement des laboratoires au sein du Centre de Biologie Pathologie Génétique, relève plusieurs éléments qui ont encore cours aujourd'hui :

- une méconnaissance de la métrologie au sens large du terme qui a pour conséquence un désintéressement et une implication très limitée du personnel dans le suivi de son parc d'instrument de mesure (hors automate de laboratoire) ;
- une fonction métrologie disparate, éclatée et sans réelle structuration ;
- des moyens métrologiques limités, pas toujours cohérents avec les besoins des utilisateurs.

Il faut cependant noter, qu'en dehors de ces orientations générales et d'applications pratiques, le travail ne propose pas d'inventaire exhaustif des besoins ni de description et d'organisation de la fonction, qui est essentiellement vue en terme de maintenance à travers le regard d'un ingénieur biomédical. Il en résulte essentiellement des propositions d'acquisition de matériel et l'identification, au sein du projet de construction du Centre de Biologie Pathologie Génétique, d'un local métrologie. A l'heure actuelle, ce local existe tel que prévu, à proximité du local de maintenance biomédicale afin de faciliter les éventuelles interactions, sans être au cœur des laboratoires, ce qui aurait pu en faciliter son utilisation et par la même que le personnel technique se sente plus impliqué. De plus, ce positionnement à proximité de zone technique de type atelier, et éloigné des zones de laboratoire, fait, et probablement aussi pour des raisons de coûts, que ce local ne possède pas de dispositifs de maîtrise des conditions environnementales telles que la climatisation, pression atmosphérique, humidité, qui peuvent être essentielles lors des opérations métrologiques. Enfin, les orientations telles que définies, nécessitaient la création d'un poste de métrologue, qui n'a jamais été acté.

Un autre point à prendre en compte dans le cadre de ce projet de déploiement de la fonction métrologie, est la reprise au 1<sup>er</sup> avril 2011, et dans le cadre de l'article L1224-3 du Code du Travail (reprise des activités économiques d'une entité de droit privé par la personne publique), des activités de biologie spécialisée de l'Institut Pasteur de Lille. Outre les activités de biologie médicale à proprement parler, cette reprise d'activité comprend aussi un transfert de matériel notamment métrologique et de compétences dans le domaine, le laboratoire de l'IPL ayant déjà une petite structure métrologique opérationnelle constituée d'un responsable et d'un technicien en charge des opérations métrologiques.

## **II. Etude préliminaire**

### II.1 Objectifs

Si la création d'une unité métrologie au sein du pôle apparaît comme une volonté forte du chef de pôle, il est toutefois nécessaire, notamment au vu des probables

investissements, d'effectuer une première étude afin de déterminer les orientations, la politique et l'organisation « métrologie » à adopter, ainsi que d'avoir une première évaluation des coûts engendrés et des gains attendus. Ces données entrent dans la préparation du budget 2011-2012 et doivent être validées au préalable par la direction du CHRU. Elles seront affinées au fur et à mesure de l'évolution du projet.

Dans son recueil des exigences spécifiques pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale, SH REF 02, le Cofrac définit quatre possibilités pour le raccordement des équipements du laboratoire au système international d'unités :

- l'étalonnage est réalisé par un laboratoire accrédité ou un organisme signataire de l'accord multilatéral de reconnaissance d'EA ou d'ILAC. Les preuves de ce raccordement sont apportées par les certificats d'étalonnage portant le logotype Cofrac ;
- l'étalonnage est réalisé par un laboratoire national de métrologie (LNM) signataire de l'accord MRA. Ce cas de figure est généralement employé par les laboratoires d'étalonnage afin d'obtenir des incertitudes suffisamment fines. Par rapport aux tolérances (EMT) habituellement retrouvées, il est assez peu probable en biologie médicale ;
- l'étalonnage est réalisé en interne par le laboratoire de biologie médicale pour son propre compte, et dans ce cas se seront les aspects techniques qui seront évalués par le Cofrac ;
- l'étalonnage réalisé par un service de métrologie interne appartenant à l'organisme, non intégré au LBM (cas notamment d'un hôpital). Ce service, qui peut être par exemple rattaché au service biomédical, doit disposer d'un système qualité conforme à l'ISO 17025 et fait l'objet d'une évaluation spécifique du Cofrac lors de l'audit du LBM.

Cette dernière possibilité n'est *a priori* pas retenue car elle nécessiterait la création d'une structure autonome disposant d'un système qualité propre et rattaché au système de l'hôpital, ce qui semble difficilement compatible dans un premier temps avec les délais courts d'accréditation des secteurs du CBP.

Par rapport à ces aspects, et en référence aux principes de raccordement interne à l'entreprise, l'objectif de cette étude est de comparer les coûts et les facilités de mises en œuvre d'un raccordement direct via un laboratoire accrédité Cofrac versus la mise en place d'une structure interne au laboratoire. Cette étude se limite, du moins dans un premier temps, aux grandeurs « volume » et « température » les plus couramment utilisées dans le laboratoire et plus particulièrement prises en compte dans les référentiels techniques des secteurs à accréditer. Elle doit permettre, avant toute mise en œuvre effective, de déterminer si la solution interne est économiquement viable face aux investissements nécessaires.

## II.2 Réalisation

### *II.2.1 Identification de l'existant*

#### *II.2.1.a. Locaux*

Résultat déjà évoqué d'un premier projet, le Centre de Biologie Pathologie Génétique dispose dans ses locaux (rez-de-jardin) d'une pièce prévue pour les applications métrologiques. Elle est actuellement équipée de linéaires de paillasse de laboratoire, de l'espace nécessaire pour l'installation d'une table de pesée, de prises électriques et réseau informatique.

En revanche elle ne dispose pas de moyen de climatisation et les systèmes d'occultation des vitrages sont uniquement internes. Même si elle se situe en retrait de la façade du bâtiment, la pièce peut bénéficier d'un ensoleillement important l'après-midi notamment en période estivale. Toutefois des opérations de vérification déjà menées par un prestataire externe, montre une bonne stabilité de la température. Cet aspect devra être suivi dans les premiers temps d'une utilisation régulière, d'autant que pour les opérations de métrologie des températures, l'utilisation d'un bain thermo-régulé s'avérera nécessaire et constituera une source probable de dégagement de chaleur supplémentaire, au même titre que les équipements électroniques présents (ordinateurs...).

D'autre part, la pièce étant située près des locaux techniques, il est nécessaire de vérifier au cours du temps (journée, périodicité hebdomadaire ou mensuelle) l'absence de vibrations.

Il est noté pour rappel les spécifications relatives aux conditions d'essai, de l'ISO 8655-6 Appareils volumétriques à piston : Méthodes gravimétriques pour la détermination de l'erreur de mesure. § 6. Le laboratoire d'essai doit avoir une humidité relative supérieure à 50% et une température constante entre 15°C et 30°C.

#### *II.2.1.b. Matériels*

Dans ce premier item, on entend par matériel principalement les équipements permettant de conduire des opérations métrologiques - étalonnages, vérifications - ou de surveillance, tels que des étalons, des logiciels, à l'opposé du matériel à étalonner ou à vérifier qui figurera dans le paragraphe besoins et propositions. On précise toutefois que les sondes de surveillances ou de cartographie des enceintes climatiques, peuvent figurer dans les deux catégories.

Ce matériel est soit présent dans le centre de Biologie - Pathologie, soit relève du transfert d'activité décrit précédemment. Il est à noter, qu'en l'absence de fonction métrologie clairement identifiée et structurée, les données relatives au matériel sont récupérées auprès de la cellule qualité qui assure une partie de la gestion métrologique.

Les éléments dont on dispose sont donc les suivants :

- deux balances de précision pour la vérification des pipettes par méthode gravimétrique, de marque Sartorius (Genius ME 225 P, et CPA 225). L'une dispose d'un système d'ouverture automatisée. Les deux ont une résolution de 0,01 mg, du moins sur la partie basse de la portée (jusque 60 g) et ne peuvent donc être utilisées que pour des vérifications de volume au-dessus de 10µl. Pour chacune on dispose aussi d'un système adaptable de limitation de l'évaporation ;
- des logiciels pour la vérification ou l'étalonnage des pipettes automatiques associés aux balances (Picaso Sartorius et Proline Soft Biohit) ;
- deux tables de pesée antivibratoires ;
- poids étalons, valeurs nominales de 50 mg à 100g et de classes OIML F1 à M1 (voir note ci-dessous);
- sondes thermiques « Ingen » de type bouton, utilisées pour la surveillance des enceintes thermostatées, et le système logiciel associé. Certaines

sondes ont une résolution de 0,1 degré, d'autres une résolution de 0,5. Dans ce dernier cas, la résolution et l'incertitude type composée qui peut être associée ne sont pas adaptées pour surveiller des tolérances de  $\pm 1^{\circ}\text{C}$  et juste suffisantes pour des EMT de  $\pm 2^{\circ}\text{C}$  ou de  $\pm 3^{\circ}\text{C}$  que l'on retrouve couramment en biologie médicale ;

- sondes thermiques de type thermocouples filaires avec récepteur et associées au logiciel « Temperanet ». Cet outil n'existe plus et n'est plus maintenu en l'état : il nécessite une évolution prévue vers le système « Labguard – Evisense » d'AES-Chemunex avec transmission des données par radio-fréquence. Il est cantonné au secteur d'immunologie HLA ;
- sondes thermiques de type thermocouples « Spy – JiRi » avec émetteur-récepteur par radio-fréquence, logiciel associé. Ce système est principalement utilisé sur les congélateurs  $-80^{\circ}\text{C}$  pour la conservation post-analytique des échantillons. Il est à vocation de surveillance et déclenchement d'alarme ;
- plaque étalon optique Dynex pour la vérification des lecteurs de plaques.

NOTE : la valeur nominale est la valeur théorique du poids. Ceux-ci sont répartis en différentes classes métrologiques définies par l'OIML (R111 et 08) en fonction des tolérances sur leur valeur. Ces classes sont les suivantes (par caractéristiques métrologiques décroissantes) :

- E0, E1 et E2 pour Extra fine
- F1 et F2 pour Fine
- M1, M2 et M3 pour Medium

### *II.2.2. Evaluation des besoins et étude de coût*

Comme cela a déjà été précisé, l'étude préliminaire porte sur les grandeurs volume et température. Les grandeurs utilisées par les automates de laboratoires ne sont pas répertoriées et ne font pas l'objet, en l'état d'un suivi métrologique particulier, dès lors qu'on utilise des contrôles qualité internes et externes adaptés.

#### *II.2.2.a Volume*

La vérification des pipettes automatiques (instruments volumétriques à piston) est envisagée par la méthode gravimétrique (mesure de la masse du volume d'eau distribué – ISO 8655 partie 6) avec acquisition automatisée des données, calcul informatisé des différentes erreurs et des incertitudes, édition des rapports.

Les différentes pipettes automatiques font l'objet d'un suivi annuel sur site par un prestataire non accrédité en deux sessions. Elles sont répertoriées selon les catégories suivantes :

- volume nominal fixe inférieur ou égal à 10 µl (F10 et moins) ;
- volume nominal fixe égal ou supérieur à 20 µl (F20 et plus) ;
- volume nominal variable inférieur ou égal à 20 µl (V20 et moins) ;
- volume nominal variable égal ou supérieur à 20 µl (V20 et plus) ;
- multicanaux 8 ou 12 canaux à volume variable ;

Cette répartition prend en compte les spécifications des balances de précision disponibles (résolution de 0,01 mg) qui ne permettent pas la vérification d'un volume nominal inférieur ou égal à 10 µl (normes NF EN ISO 8655-1 à 8655-6). De plus ces normes précisent que dans le cas des pipettes multicanaux, chaque canal doit être vérifié en étant considéré comme une pipette individuelle et en l'état de fonctionnement normal de l'instrument (tous les canaux prélevant et rejetant le liquide simultanément). Cela nécessite des dispositifs spécifiques adaptables sur les balances et dont l'acquisition n'est pas envisagée.

Les informations sont présentées dans le tableau ci-dessous en précisant le coût moyen d'un étalonnage par un prestataire accrédité Cofrac, hors négociation ou marché d'appel d'offre.

	F10 et moins	F20 et plus	V20 et moins	V20 et plus	8 canaux	12 canaux
<b>Nbre total</b>	74	437	351	875	29	3
<b>Coût unitaire</b>	42,00 €	42,00 €	60,00 €	60,00 €	125,00 €	190,00 €
<b>Coût total</b>	3 108,00 €	18 354,00 €	21 060,00 €	52 500,00 €	3 625,00 €	570,00 €

Tableau 3 : estimation du coût de raccordement externe en fonction des types et volumes nominaux des pipettes

La réalisation en interne des vérifications ou étalonnages des pipettes « **F20 et plus** » et « V20 et plus » permettrait de diminuer le coût de la sous-traitance de 70 854 €, si les opérations étaient confiées à un laboratoire d'étalonnage.

Le coût actuel de la prestation est d'environ 41 000€.

Le pôle dispose en grande partie du matériel nécessaire. Les investissements et coûts « matériel » complémentaires à prévoir sont :

- une sonde température pour la surveillance de la température de la pièce au cours des opérations (ISO 8655, température constante entre 15 et 30°C), coût 60 à 150 € HT selon le type et l'outil informatique utilisé ;
- un capteur « pression atmosphérique » pour permettre la détermination du facteur Z (conversion de la masse en volume de l'eau), coût 500 € ;
- une sonde hygrométrie pour la surveillance de l'humidité relative (ISO 8655), coût 500 € ;
- un étalonnage annuel par un prestataire accrédité de chacune des balances pouvant être utilisées, coût 450 €. Il pourra être utile en sus de prévoir un suivi régulier de ces balances avec des masses de travail sous forme de carte de contrôle, afin de vérifier régulièrement par simple pesée, l'existence ou pas d'une dérive.

Les aménagements complémentaires du local ne seront envisagés, si nécessaire, qu'après l'obtention des premiers enregistrements de température et d'hygrométrie.

On s'orientera alors soit sur l'installation d'une climatisation raccordée à la centrale du bâtiment, soit sur l'utilisation de climatiseur et d'humidificateur mobiles.

En l'état, il apparaît toutefois sans investissement majeur, que la réalisation des vérifications en interne des pipettes permet un gain financier annuel brut de 40 000 à 60 000 €.

#### Personnel : estimation des ressources nécessaires.

En se basant sur les données du tableau n° ci-dessous (récapitulatif du parc pipettes), on estime le temps et le personnel nécessaire à la réalisation d'une vérification interne dans la pièce adaptée.

On rappelle que ne peuvent être traitées que les pipettes fixes de volume nominal supérieur à 20 µl et les pipettes variables de plus de 20 µl. Un ajustement de ces quantités sera probablement nécessaire en fonction des utilisations réelles des pipettes et une vérification métrologique ne sera pas systématiquement justifiée. Les pipettes de volume nominal inférieur à 20 µl et les multicanaux ne peuvent être réalisées sur site en fonction des métrologiques, techniques et des investissements nécessaires.

On retient :

- 437 pipettes fixes monocanal,
- 875 pipettes variables monocanal,
- 10 mesures par volume, soit 10 volumes pour les fixes, 30 pour les variables, pour une vérification annuelle ;
- Cela représente 30620 mesures.

On estime 1 heure de temps pour la réalisation de 60 mesures (2 pipettes variables), en incluant les temps de préparation, d'édition, de rangement.

- $30620 : 60 = 510$  soit environ 510 heures annuelles,

ce qui représente environ 10 heures par semaine de temps de prestation métrologique pour la vérification des pipettes soit  $\frac{1}{4}$  d'équivalent temps plein, à répartir sur plusieurs techniciens. Ceci semble largement acceptable et laisse même une marge pour augmenter la fréquence de vérification selon les besoins.

### *II.2.2.b Température*

Il n'est pas évident de formuler de façon exhaustive les besoins en métrologie des températures pour l'ensemble du pôle de Biologie Pathologie Génétique, car au-delà du matériel présent, certaines exigences peuvent être formulées dans des instructions ou documentations techniques ou dans les programmes ou documents du Cofrac pour les domaines à accréditer. Un état des lieux et un inventaire exhaustif des besoins seront faits pour chaque secteur déposant un dossier d'accréditation.

Toutefois, ces besoins se déclinent principalement en :

- surveillances des températures accessibles, notamment enceintes thermostatées (étuves, réfrigérateurs, congélateurs) et locaux, bain-marie et incubateurs si nécessaire. Il est à noter que les dispositifs de type « thermobouton » actuels ont des caractéristiques techniques et fonctionnelles qui peuvent ne pas être suffisantes ;
- cartographie initiale et régulière (fréquence de 1 an pour les étuves à 2 ou 3 ans pour les réfrigérateurs) des enceintes à surveiller;
- étalonnage des sondes utilisées pour la surveillance et la cartographie, et éventuellement d'autres matériels de mesure, thermomètres, sondes de climatisation et surveillance des locaux, si elles sont accessibles.

*Métrologiquement, les EMT à gérer sont couramment à  $\pm 3^{\circ}\text{C}$  pour les enceintes en froid positif ou négatif, et à  $\pm 1^{\circ}\text{C}$  pour les étuves. Cela n'exclue pas des spécifications plus contraignantes.*

### Locaux

Les opérations de surveillance et de cartographie se réalisent dans les laboratoires et ne nécessitent pas de local spécifique.

L'étalonnage des sondes ne semble pas nécessiter de dispositions particulières concernant les locaux (Lab GTA 08, Guide technique d'accréditation en température). Le local « métrologie » du rez de chaussée pourra être utilisé. Il

conviendra d'éviter une utilisation conjointe pour la métrologie des volumes (et/ou des masses) en raison d'une augmentation possible de la température, mais toutefois cet aspect sera à vérifier et évaluer afin d'augmenter les possibilités d'intervention.

### Personnel

Les besoins en temps seront plus conséquent mais pour l'instant difficilement estimable pour l'ensemble des prestations :

- surveillance de température des enceintes ou d'incubation: le temps est à intégrer dans le travail courant d'un technicien de laboratoire et se conçoit plus en terme de gestion des alarmes ;
- cartographie : compter 1h à 1h30 pour le placement des sondes et leur retrait, la surveillance initiale des températures pour l'obtention du régime établi et si nécessaire l'ajustement de la température de consigne. Les cartographies se réalisant en régime établi, les enregistrements ont lieu de préférence la nuit ;
- étalonnage : pas de données à ce jour, cela dépendant essentiellement du matériel qui sera disponible.

### **Matériel :**

L'estimation des coûts du matériel est basée sur un principe d'acquisition d'un outil informatisé d'acquisition des températures, type centrale d'acquisition, ou sur un principe d'extension d'un outil existant. Ce deuxième aspect n'est cependant envisageable que dans le cadre de la réglementation sur les marchés publics d'appel d'offre, ce qui pourrait poser des contraintes importantes au regard d'une évolution conséquente du parc existant.

Centrale de surveillance : **1990** € HT pour 5 licences simultanées par exemple. Compter 250 € pour 5 licences supplémentaires.

Sondes: **196** € HT par sondes. Il sera nécessaire de prévoir un achat progressif sur la période complète d'accréditation, en fonction des cartographies réalisées de réfrigérateur et congélateurs et plus particulièrement en fonction de la rationalisation du parc froid à prévoir. Compter 50 sondes la première année (10000 € HT).

Boitiers de raccordement : **490** € HT. Le nombre dépendra de l'étude technique et de la portabilité des ondes à travers la structure.

Module cartographie : **1990** € HT.

Sonde étalon Pt 100 : **1500** € HT, et un étalonnage Cofrac initial et annuel en 4 à 5 points **300** à **350** € HT.

Bain d'étalonnage : **6500** € HT, de type Julabo FK 30 SL (-30/+200°C) homogénéité et stabilité à 0.005°C.

Les possibilités de raccordement aux réseaux informatiques et électriques seront à déterminer ainsi que les matériels informatiques annexes nécessaires (type serveur).

L'estimation globale donne, pour la première année un budget compris entre **25000** et **30000** € HT, pour une prise en charge interne, sachant que en tout état de cause l'acquisition de sondes ou de thermomètres de surveillance est une nécessité. En revanche dans le cas d'une sous-traitance systématique des étalonnages et des cartographies, les coûts à envisager seraient les suivants (prix constatés sur le marché) :

- cartographie initiale de ces enceintes, et cartographie de suivi à fréquence variable selon la nature de l'enceinte. **246** € HT/enceinte (au-delà de 5 enceintes), auquel on ajoute **156** € de frais de dossier et 10% de frais de déplacement ;
- étalonnage annuel des sondes de suivi : **150** € HT par sonde pour un point d'étalonnage.

Les estimations faites uniquement sur le parc froid d'une unité fonctionnelle du pôle, indiquent un coût la première année d'environ 11000 à 12000 € pour un parc d'une

quarantaine d'enceintes. Le parc sur l'ensemble du pôle est beaucoup plus important, quoique incomplètement estimé, et engendrerait des coûts excessifs en métrologie sous-traitée. Un autre aspect de réduction des coûts « métrologie » à envisager de manière plus profonde, sera de rationaliser le parc qui comporte des enceintes parfois obsolètes, de petite taille, et de caractéristiques métrologiques insuffisantes (enceintes ménagères), et d'envisager un remplacement par des enceintes de type professionnel, de plus grande capacité. Ceci doit se faire dans le cadre d'une concertation avec les techniciens, cadres de santé et les praticiens des secteurs concernés, en raison notamment d'un probable impact sur l'organisation et l'ergonomie des postes de travail.

Ces premières données économiques appuient la volonté déjà existante de créer une fonction et une structure « métrologie au sein du pôle de Biologie – Pathologie – Génétique. L'objectif est une mise en place progressive sur le pôle et sur les grandeurs et matériels identifiés, tout en s'appuyant sur des ressources, notamment en personnel, existantes.

## **VI. Mise en œuvre, déploiement**

Les orientations choisies ont été dictées dans un premier temps par le calendrier : il s'agit de travailler prioritairement sur les grandeurs principales utilisées par les premiers secteurs candidats à l'accréditation en raison des obligations réglementaires qui y sont liées et avec le matériel disponible. En l'absence de possibilité interne les opérations d'étalonnage ou de vérification seront sous-traitées.

Le projet se découpe selon les phases suivantes :

- définition de l'organisation, responsabilités ;
- rédaction des documents techniques ;
- mise en œuvre pratique limitée sur trois secteurs ;
- formation, habilitation du personnel ;

- déploiement plus large progressif sur les premières grandeurs gérées ;
- recherche des solutions complémentaires adaptées ;
- intégration des grandeurs complémentaires à gérer.

### III.1. Organisation et personnel

L'objectif n'est pas de mettre en place un service de métrologie indépendant et prestataire interne des laboratoires, mais plutôt une organisation plus matricielle faisant appel aux techniciens de laboratoires en place et souhaitant effectuer des activités complémentaires et différentes. L'absence de possibilité de recrutement des compétences particulières confirme cette option. Il s'agit donc de profiter de la reprise d'activité déjà décrite et de l'intégration de personnel pour identifier ces volontés et dégager le temps technicien nécessaire selon un planning prévisionnel d'intervention.

Cette structure de « référents métrologie » est pilotée par le responsable métrologie, intégré à la cellule qualité.

#### III.1.1. Définition des fonctions et responsabilités

Responsable métrologie : Le Responsable Métrologie a pour mission principale de définir les principes et d'organiser la gestion métrologique du parc d'équipement de mesure (hors automates de laboratoire et appareils complexes et spécifiques à un secteur d'analyses). Il doit assurer, pour les grandeurs gérées, le raccordement aux étalons nationaux, éventuellement en relation avec la Direction Biomédicale pour les équipements la concernant.

Ses activités et responsabilités sont définies comme suit :

- **Responsabilités techniques**
  - Elaborer la politique métrologie du laboratoire et notamment définit les modalités internes ou externes, les fréquences d'étalonnage et/ou de

vérification pour les équipements de mesure et les étalons dans les grandeurs suivantes (et matériels associés) :

- Volume (instruments volumétriques à piston...);
  - Température (cartographie et suivi des enceintes thermostatiques, sondes,...).
  - Masse (balance, masses de travail et masses étalon,).
  - Temps (chronomètre, minuteur).
  - Cette liste est non exhaustive et susceptible d'évolution.
- Gérer, en relation avec les structures institutionnelles, les relations avec les fournisseurs spécifiques (matériel, prestation de services...).
  - Apporter un soutien méthodologique ou technique dans la définition des besoins métrologique, la qualification des équipements de mesure, la validation des méthodes, l'estimation des incertitudes de mesure.
  - Organiser le planning d'activité des référents métrologie, et l'occupation des locaux dédiés.
  - Valider les rapports d'étalonnage et constats de vérification émis en interne, accepter les étalonnages ou vérifications externes.
- ***Responsabilités de communication relative à son domaine de compétence***
- Participer et communiquer au comité de pilotage d'accréditation.
  - Rendre compte en revue de direction de la performance du système de management de la mesure et des besoins d'amélioration.
  - Assurer une communication adaptée dans son domaine auprès du pôle et des clients.
- ***Responsabilités de formation***
- Planifier les formations des référents métrologie, en assurer si nécessaire la réalisation.
  - Gérer les relations avec les organismes de formation, dans son domaine, en relation avec le personnel qualifié de la DRH.

Référent Métrologie : Le Référent Métrologie assure, selon les directives du responsable métrologie, les aspects pratiques et documentaires de la gestion

métrologique des équipements de mesure pour les grandeurs et le matériel dont il a la charge. Le suivi des appareillages non métrologiques, ainsi que les suivis des automates de laboratoire, restent de la responsabilité des techniciens désignés.

- Rédiger et tenir à jour les fiches de vie et les dossiers « matériel » des équipements métrologiques dont il a la responsabilité.
- Assurer et tenir à jour l'inventaire des équipements de mesure de son secteur.
- Conseiller, participer à la détermination des spécifications techniques des équipements de mesure, à la recherche du matériel adéquat et des fournisseurs potentiels.
- Rendre compte au responsable métrologie de tout dysfonctionnement lié aux équipements de mesure.
- Réaliser, selon les plannings ou les fréquences déterminées, et dans le secteur qui leur a été attribué, les opérations de vérification/étalonnage des équipements suivants (liste non exhaustive) :
  - pipettes et autres instruments volumétriques à piston,
  - chronomètres,
  - balances, masses de travail et masses étalons,
  - enregistreurs de température, thermomètres, sondes,
  - enceintes thermostatiques, incubateurs, ...
  - lecteurs optiques....
- Informer et communiquer dans son secteur, les résultats des opérations métrologiques et les décisions prises concernant le matériel.
- Classer/Archiver les documents d'enregistrement découlant de son activité.

Cette organisation implique une gestion rigoureuse des plannings et surtout un respect strict des plages de temps de travail affectées à la métrologie et à l'occupation du local métrologie notamment pour éviter la réalisation concomitante d'opérations pouvant interférer entre elles : par exemple étalonnage de sondes de température à 37°C et vérification de pipettes automatique nécessitant une température stable.

### III.1.2. Formation, qualification et habilitation

Dans le cadre des démarches qualité des laboratoires de biologie, une des exigences de la norme NF EN ISO 15189 est de disposer, pour chacune des activités du laboratoire, du personnel formé et qualifié. La fonction métrologie, est considérée comme une des fonctions majeures d'un laboratoire avec la responsabilité qualité et la responsabilité technique et médicale, notamment de par son influence sur les résultats. Il apparaît alors essentiel de qualifier (démontrer objectivement la compétence d'un individu) et habilitier (autoriser à réaliser les activités pour lesquelles il est qualifié) les référents métrologie.

Note : le responsable métrologie est qualifié sur la base d'une expérience et pratique antérieure.

Le processus de qualification repose sur une formation théorique et des formations plus pratiques sur les matériels et grandeurs à gérer avec tests d'application.

La formation théorique ou plutôt sensibilisation reprend des éléments de la première partie de ce travail :

- Historique, organisation nationale et internationale de la métrologie ;
- Objectifs de la métrologie
- Concepts fondamentaux, terminologie, principe de raccordement ;
- Métrologie en biologie médicale ;
- Aspects théoriques des opérations suivantes :
  - o étalonnage/vérification des pipettes automatiques,
  - o étalonnage des sondes de températures
  - o caractérisation des enceintes climatiques.

Les formations pratiques sont réalisées sur la base des instructions techniques décrites au paragraphe suivant. Les référents métrologie doivent réaliser, sous la surveillance du responsable métrologie ou d'un référent qualifié, les diverses opérations métrologiques et obtenir des résultats similaires à ceux déjà obtenus sur le matériel : par exemple vérifier plusieurs pipettes « valides » et obtenir des résultats

d'erreurs systématiques et aléatoires ne différant pas des résultats obtenus par une personne qualifiée.

Il est à noter que sur certaines opérations, comme la mesure des volumes, le degré d'expertise de l'opérateur est la principale source de variation.

### III.2. Documents techniques et mises en œuvre

La deuxième phase du projet, consiste à rédiger les documents techniques (instructions de travail) de réalisation des opérations métrologiques pour les équipements identifiés comme prioritaires. Ces instructions sont rédigées selon les préconisations des normes nationales et internationales du domaine concerné, et servent de base à la qualification et à l'habilitation des référents métrologie comme explicité précédemment. Leur mise en œuvre est déployée progressivement selon le calendrier d'accréditation.

#### *III.2.1. Volume*

##### *III.2.1.a. Etalonnage/vérification des pipettes automatiques*

Les pipettes automatiques sont ce que l'on appelle des instruments volumétriques à piston. Ce sont des dispositifs destinés à aspirer ou à délivrer des volumes spécifiques de liquides, qui peuvent être mis en service manuellement ou automatiquement et sont commandés par des moyens mécaniques, électromécaniques ou électroniques.

On distingue les pipettes :

- à déplacement positif quand le piston servant à l'aspiration et à la délivrance est en contact direct avec le liquide, ou à déplacement d'air lorsqu'il existe un volume d'air constant entre le piston et le liquide ;
- à volume fixe ou variable ;
- monocanal ou multicanaux (8 ou 12 canaux).

Les caractéristiques techniques et métrologiques des types d'instruments concernés, y compris les diluteurs et répartiteurs, ainsi que les modalités de vérifications sont décrites dans les différentes parties (parties 1 à 7) de la norme ISO 8655.

<b>Volume nominal en <math>\mu\text{l}</math></b>	<b>Erreur maximale systématique tolérée en %</b>	<b>Erreur maximale aléatoire tolérée en %</b>
1	5,0	5,0
5	2,5	1,5
10	1,2	0,8
20	1,0	0,5
50	1,0	0,4
100	0,8	0,3
1000	0,8	0,3

Tableau 4 : Erreurs Maximales Tolérées (EMT) des pipettes automatiques en fonction du volume nominal selon ISO 8655

## **Principe**

La vérification métrologique d'un instrument volumétrique à piston se fait par méthode gravimétrique (pesée du volume distribué) selon les préconisations de la norme NF EN ISO 8655-6, « Appareils volumétriques à piston – Méthodes gravimétriques pour la détermination de l'erreur de mesure ».

En raison des caractéristiques des balances utilisées (résolution de 0,01 mg) seuls les volumes supérieurs à 10  $\mu\text{l}$  peuvent être vérifiés.

## **Définitions**

*Volume nominal* : volume spécifié par le fabricant et utilisé pour l'identification et l'indication de la plage de mesure. Exemple 100  $\mu\text{l}$  pour une pipette à volume fixe F100 ou à volume variable P100 (de 10 à 100  $\mu\text{l}$ ).

*Volume mort* : volume d'air entre la partie inférieure du piston et la surface du liquide.

*Réglage* : ajustage employant uniquement les moyens qui sont à la disposition de

l'utilisateur.

## Matériel

Balance analytique de résolution appropriée selon ISO 8655 (= 0.01 mg) sur table de pesée antivibratoire.

Piège à eau adaptable (limitation des effets de l'évaporation).

Eau de laboratoire ultra pure ou eau pour préparation injectable.



Figure 13 : Dispositif de pesée pour la vérification des pipettes automatiques

## Méthode

### *Préparation*

Les surfaces externes des pipettes soumises à vérification doivent être nettoyées et désinfectées. L'objectif d'une vérification étant de s'assurer que les performances métrologiques sont maintenues au cours de l'utilisation, il est important de signaler qu'une pipette doit être vérifiée avant d'être démontée pour nettoyage interne, si nécessaire, et vérifiée après le nettoyage. En l'absence de cette vérification préalable, il est impossible de déterminer, en cas de perte de performance, si celle-ci est due au nettoyage ou démontage, ou si elle était présente avant le nettoyage et nécessite donc un réexamen de tous les résultats obtenus avec l'instrument

concerné.

La balance doit être mise sous tension et son niveau vérifié. Tous les éléments nécessaires à la vérification (pipette, cônes, eau) doivent être disposés à l'avance dans le local utilisé, afin d'assurer une mise et un équilibre en température.

#### *Volumes à contrôler :*

Les volumes à contrôler sont définis selon les règles suivantes :

- le volume nominal pour une pipette monocanal à volume fixe ;
- pour une pipette monocanal à volume variable : le volume nominal, 50% du volume nominal, 10% du volume nominal ou la limite inférieure de la plage (par exemple les pipettes P100 Gilson ont une plage inférieure à 20µl) ;
- pour une pipette multicanaux : chaque canal doit être vérifié individuellement.

#### *Conditions de réalisation*

L'environnement doit être stable, exempt de courant d'air, l'humidité relative supérieure à 50% et la température constante entre 15 et 30°C (variation maximale de x degré au cours de l'opération).

#### *Réalisation*

Après contrôle du bon fonctionnement mécanique de la pipette et d'un test d'étanchéité (prélever un volume d'eau et vérifier qu'il n'y a pas d'écoulement), le volume mort doit être équilibré en vapeur d'eau en prélevant et rejetant cinq fois le volume sélectionné.

Le cycle d'essai décrit ci-dessous doit être effectué 10 fois de suite pour chaque volume sélectionné.

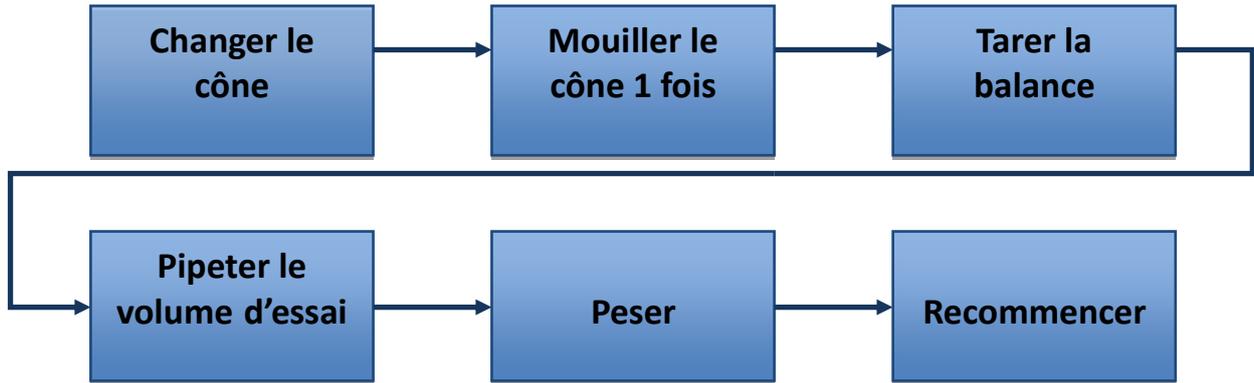


Figure 14 : Méthode gravimétrique. Cycle de mesure

### *Sources de variation*

Pour prélever la pipette doit être tenue droite verticalement.

La pointe doit être placée 2 à 3 mm au-dessous de la surface du liquide.

Il est nécessaire d'attendre avant de sortir la pointe du liquide surtout pour les volumes importants (risque de défaut d'aspiration).

Ces points peuvent entraîner des variations des volumes jusqu'à 2%.

### **Résultats, exploitation, rapports**

Les valeurs des masses relevées doivent être multipliées par un facteur de correction Z pour les transformer en volume :  $V_i = M_i \times Z$ .

Ce facteur est variable selon la température et la pression atmosphérique.

On calcul ensuite les données suivantes

- Erreur systématique :
  - $e_s = V_m - V_s$
  - où  $V_m$  est la moyenne des volumes mesurés et  $V_s$  le volume nominal.
  - Cette erreur systématique est utilisée pour effectuer si nécessaire la correction d'étalonnage.

- Erreur aléatoire :
  - $sr$  = écart type de répétabilité (à  $n-1$ )
- Incertitude
  - $u = |es| + 2sr$

La conformité peut être établie par rapport aux données définies dans la norme NF EN ISO 8655 ou si elles sont trop contraignantes par rapport à des spécifications définies par le laboratoire en fonction de l'étude de son processus analytique. En cas de pipette non conforme, il est possible de réaliser un réglage ou une maintenance, ou à défaut de déclasser la pipette (utiliser comme pipette de transfert) ou mettre au rebus.

La fréquence de vérification est fixée initialement à une fois par an. Elle sera susceptible d'évoluer en fonction des données recueillies pour être ramenée selon les équipements à une fois tous les six mois. Comme pour l'ensemble des équipements de mesure, cette fréquence est susceptible d'évoluer et d'être optimisée en fonction de la fréquence d'utilisation, des contraintes subies par le matériel, du coût intrinsèque de l'étalonnage ou de la vérification et aussi du risque accepté par le laboratoire vis-à-vis du processus de mesure (en cas d'équipement non-conforme, il est nécessaire de réexaminer l'ensemble des résultats obtenus depuis la dernière opération métrologique valide). Toutefois, pour pouvoir faire évoluer cette fréquence, il est nécessaire de disposer d'un nombre de données suffisant sur le comportement de l'équipement [97].

#### *III.2.1.b. Contrôles intermédiaires*

Afin d'anticiper les éventuelles dérives, il est prévu d'effectuer, une fois par mois, un contrôle des prises d'essais des pipettes critiques. Effectuée dans les conditions du laboratoire, cette opération consiste à effectuer 5 prises d'essais, à les peser sur une balance courante, à calculer la moyenne et l'erreur systématique et à la comparer sur une carte de contrôle à celle du dernier étalonnage. En cas de dérive constatée, il est nécessaire de procéder à une vérification complète dans le local métrologie.

### III.2.2. Température

#### III.2.2.a. Etalonnage des sondes

##### Principe

L'étalonnage consiste à comparer, à différentes températures, les chaînes de mesure de température (sondes et enregistreurs) utilisées au laboratoire par rapport à un thermomètre ou sonde étalon (étalonné par un organisme accrédité), dans un milieu de comparaison. Suivant la nature de l'instrument, la température et l'incertitude recherchée, ce milieu et le dispositif de comparaison peuvent être variables.

En raison des tolérances pratiquées habituelles en biologie médicale, les composantes des incertitudes élargies sont prises en compte selon la démarche approchée, définie dans l'annexe C du fascicule FD X 07-028.

##### Matériel

Dispositif et milieu de comparaison adapté à la température et aux sondes/thermomètres à étalonner

Température	Milieu et dispositif de comparaison	
0°C	Glace fondante	
-70 à 0°C	Alcool éthylique	Bain liquide à circulation (bain d'étalonnage ou à défaut bain marie)
2°C à 95°C	Eau	
-60°C à 280°C	Huile silicone	
-40°C à 200°C	Air	Enceinte climatique (notamment pour capteur non immersible)

Tableau 5 : Choix du milieu et dispositif de comparaison  
en fonction de la température

Sonde ou thermomètre étalon d'incertitude adaptée.

Chaîne de mesure ou outil informatique.

## Méthode

*Note :* pour l'ensemble des opérations réalisées, la fréquence maximale de mesure est de 1 mesure par minute.

### Caractérisation du milieu

Le milieu de comparaison doit être caractérisé avant l'étalonnage et vérifié régulièrement (dans le cas de l'utilisation d'un bain d'étalonnage par exemple) selon les spécifications du fabricant ou à défaut selon les règles déterminées par le laboratoire. La caractérisation thermique permet de déterminer la stabilité et l'homogénéité axiale et radiale des bains de comparaison, pour chaque température d'utilisation et d'estimer les incertitudes associées qui seront intégrées dans le calcul de l'incertitude d'étalonnage.

Elle est à faire au centre du dispositif de comparaison, en 4 points et 2 profondeurs d'immersion. On utilise la sonde ou le thermomètre étalon.

On relève au minimum 2 valeurs par point et profondeur d'immersion (après stabilisation) et les valeurs min et max obtenues par position sont notées

	Position 1		Position 2		Position 3		Position 4	
Prof 1	T1min	T1max	T2min	T2max	T3min	T3max	T4min	T4max
Prof 2	T1.2min	T1.2max	T2.2min	T2.2max	T3.2min	T3.2max	T4.2min	T4.2max

### Estimation de l'incertitude liée à la stabilité (méthode simplifiée)

Pour chaque profondeur d'immersion :

- estimer la moyenne de la température en chaque position par  
 $T_{moy} = (T_{min} + T_{max})/2$  ;

- calculer la différence maximale entre la plus faible et la plus forte des moyennes =  $\Delta\text{Max}$ ;
- calculer l'incertitude associée

$$u_{\text{st}}^2 = [\Delta\text{Max}]^2 / 12$$

#### Estimation de l'incertitude liée à l'homogénéité (méthode simplifiée)

- calculer  $T_{\text{max}} - T_{\text{min}}$  pour chaque point
- calcul de l'incertitude associée à l'homogénéité :

$$u_{2h} = \frac{[\text{MAX}(T_{\text{max}} - T_{\text{min}})]^2}{12}$$

#### Réalisation

Les sondes ou les thermomètres à étalonner doivent être positionnés au préalable dans la pièce d'étalonnage.

Note 1 : pour les instruments utilisés, les conditions de température et d'humidité ambiante n'ont pas d'influence sur l'étalonnage (FD X 07-028, Annexe C).

Lancer les mesures des sondes.

Dans l'espace caractérisé du milieu de comparaison, on place la sonde étalon et les sondes à étalonner en immersion complète (maximum 6 sondes dans un cercle de 12 cm de diamètre). Les sondes non immersibles peuvent être protégées.

Laisser un temps suffisant pour obtenir un équilibre thermique et le temps d'obtenir 10 mesures conjointes (étalon-sonde) selon la fréquence définie.

Arrêter les relevés, exploiter les données selon l'outil (logiciel ou feuille de calcul excel).

Note : Dans le cas de l'utilisation du module étalonnage d'un logiciel commercial, du type Evisense ou Vigitemp, par exemple, l'outil établit dans le même temps la fonction d'étalonnage, c'est-à-dire le rapport entre la valeur de l'intensité de courant électrique émise par la sonde étalon, généralement de type Pt100 et la valeur de la température réelle du bain et l'étalonnage à proprement parler de la sonde, c'est-à-dire la comparaison entre les valeurs données par la ou les sonde(s) à étalonner et celles données par l'étalon. Cette opération nécessite une variation des températures du bain d'étalonnage entre des valeurs de température encadrant la ou les températures auxquelles l'étalonnage est demandé. Si le bain d'étalonnage est raccordé à l'outil informatique, ce dernier peut piloter ces variations.

### **Résultats, exploitation, rapports**

Calculer la moyenne des valeurs des mesures établies par la sonde étalon ( $m_{et}$ )

Calculer la moyenne des valeurs des mesures établies par la/les sondes à étalonner ( $m_s$ )

Calculer la correction d'étalonnage :  $c = m_s - m_{et}$

Calculer l'incertitude type composée :

$$u_c = \sqrt{(u_{et}^2 + u_{fi}^2 + u_{res}^2 + u_{st}^2 + u_h^2)}$$

où,

$u_{et}^2$  = incertitude liée à l'étalon =  $k/2$

$u_{fi}^2$  = incertitude liée à la fidélité = écart-type expérimental sur les mesures réalisées

$u_{res}^2$  = incertitude liée à la résolution =  $res/2\sqrt{3}$

$u_{st}^2$  = incertitude liée à la stabilité telle que déterminée précédemment

$u_h^2$  = incertitude liée à l'homogénéité telle que déterminée précédemment

Les composantes de l'incertitude en température peuvent être multiples, toutefois dans le cas qui nous intéresse, seules celles indiquées ci-dessus sont utilisées, premièrement car elles en constituent les plus grandes parties, et que deuxièmement

dans le cas de la biologie médicale et des tolérances utilisées elles sont largement suffisantes.

Calculer l'incertitude élargie :  $U = 2 \times u_c$

Comme pour toute opération métrologique, établir le certificat d'étalonnage, qui peut être intégré à l'outil informatique, et le faire signer par les responsable métrologie. Il est aussi nécessaire de compléter la fiche de vie du matériel.

Les opérations d'étalonnage sont réalisées tous les ans pour les sondes de surveillance à la (aux) température(s) d'utilisation, tous les 2 à 3 ans pour les sondes étalons et en 5 points. Les sondes de réserve sont à étalonner sur 3 points de façon à pouvoir les utiliser sur les températures les plus couramment utilisées au sein du laboratoire.

#### *III.2.2.b. Cartographie des enceintes thermostatées*

On entend par enceinte thermostatée ou climatique, un espace clos où la température, et éventuellement d'autres grandeurs comme l'humidité relative ou le taux de CO<sub>2</sub>, est régulée de manière à la maintenir proche d'une valeur cible. Ces enceintes peuvent servir à la conservation d'échantillons, de réactifs (réfrigérateurs et congélateurs) ou à la réalisation d'examen de biologie (étuve).

#### **Principe - Définitions**

La cartographie d'une enceinte climatique consiste à la caractériser par l'étude de la répartition et de la fluctuation des températures internes et par conséquent de déterminer sa conformité par rapport aux spécifications du constructeur ou aux exigences définies par le laboratoire.

Cette caractérisation est à effectuer à réception du matériel pour les enceintes nouvellement acquises et à chaque modification fonctionnelle de l'enceinte ou de son

environnement. Une vérification à fréquence régulière est à mettre en œuvre selon le type d'enceinte et les dispositions définies dans la politique métrologie du laboratoire. La fréquence est généralement annuelle pour les étuves et équipements assimilés (bains-marie, incubateurs...) et de trois à cinq ans pour les réfrigérateurs et congélateurs.

Les référentiels utilisés sont la norme AFNOR NF X15-140, Mesure de l'humidité de l'air - Enceintes climatiques et thermostatiques - Caractérisation et vérification (généralement plus à destination des fabricants), et le fascicule de documentation FD V 08-601, Enceintes thermostatiques. Caractérisation, vérification et suivi quotidien, plus pratique à destination des utilisateurs.

Les définitions ci-dessous ont été choisies pour la bonne compréhension de la méthode de cartographie.

**Espace de travail** : partie du volume intérieur de l'enceinte dans laquelle les conditions spécifiées sont maintenues.

**Valeur de consigne** : valeur entrée sur le régulateur pour obtenir la condition désirée.

**Ecart de consigne** : différence entre la valeur de consigne et la valeur moyenne de chaque paramètre mesuré dans l'espace de travail.

**Régime établi** : état atteint par l'environnement lorsque les écarts de températures des capteurs situés dans l'espace de travail sont stabilisés.

**Charge d'une enceinte** : ensemble de produits destinés à être incubés ou conservés simultanément dans une enceinte.

**Erreur Maximale Tolérée (EMT)** : valeurs extrêmes d'une erreur tolérées par les spécifications, règlements... pour un instrument de mesurage donné.

## Matériel

On utilise 9 sondes étalonnées, disposant d'une incertitude inférieure au quart de la tolérance à évaluer : exemple inférieure à  $0,75^{\circ}\text{C}$  pour la cartographie d'un frigidaire utilisé à  $5^{\circ} \pm 3$ . Il est préférable d'utiliser un logiciel pour l'acquisition des données et les calculs, mais on peut aussi utiliser des modèles au format Excel pour les calculs

et la réalisation du constat de vérification.

### Méthode

La caractérisation ou la vérification doit se faire sur une enceinte en fonctionnement, si possible proche des conditions normales d'utilisation. Les capteurs sont à positionner à une distance des parois, égale au 1/10 de chacune des dimensions intérieures de l'enceinte (largeur, hauteur, profondeur) et au minimum à 25 mm.

Pour une enceinte de volume interne inférieur ou égal à  $2 \text{ m}^3$ , la caractérisation est effectuée avec 9 capteurs, situés à chaque angle et au centre de l'espace de travail selon le schéma ci-dessous.

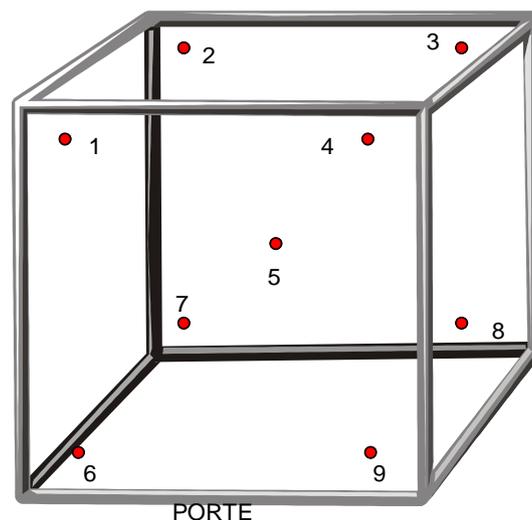


Figure 15 : Positionnement des capteurs  
(Volume intérieur inférieur à  $2 \text{ m}^3$ )

Si le volume est supérieur à  $2 \text{ m}^3$  et inférieure ou égal à  $20 \text{ m}^3$ , la caractérisation se fait alors avec 15 capteurs, 9 capteurs comme défini précédemment, 6 autres au centre des surfaces qui délimitent l'espace de travail. Au-delà de  $20 \text{ m}^3$  le nombre et les positions des capteurs sont à adapter au cas par cas en fonction de la configuration de l'enceinte.

L'enceinte doit être mise en état de fonctionnement, si ce n'est pas le cas, et les indications des capteurs doivent être relevées au maximum toutes les minutes (délai minimal d'une minute entre deux relevés). La valeur de consigne doit être ajustée progressivement de façon à obtenir la condition désirée, en se basant sur les températures affichées ou les indications des graphes.

L'enregistrement des données nécessaires aux calculs doit se faire en régime établi, et se réaliser sur une période suffisamment longue pour apprécier le comportement de l'enceinte (exemple pendant une nuit).

### **Résultats, exploitation, rapports**

Parmi les données récupérées il faut sélectionner une plage de relevés lorsque l'enceinte est en régime établi et calculer les formules ci-dessous. La plage doit contenir au minimum 30 relevés, et s'étaler sur une période minimale de 30 minutes (cette période peut être déterminée graphiquement avec l'observation des courbes de température)

#### **Formules intermédiaires et Définitions**

**Xmj** = Valeur moyenne des températures relevées par un capteur

**Ucj** = incertitude composée d'un capteur de la chaîne de mesure

**Sj** = écart type expérimental pour un capteur donné

**Umj** = incertitude élargie associée à la valeur moyenne des n mesures pour le capteur j

$$Umj = 2 \times \sqrt{(Sj^2 + Ucj^2)}$$

**Xco** = Température de consigne

**Xair** = moyenne de l'ensemble des mesures des n capteurs

**Xsp** = température spécifiée

L'enceinte est jugée conforme lorsque la moyenne des températures de chaque capteur et son incertitude élargie associée appartiennent à l'intervalle des EMT autour de la valeur de température spécifiée (voir la représentation graphique). La cartographie et la décision de conformité doivent être réalisées et appliquées pour chacune des températures auxquelles l'enceinte peut être utilisée

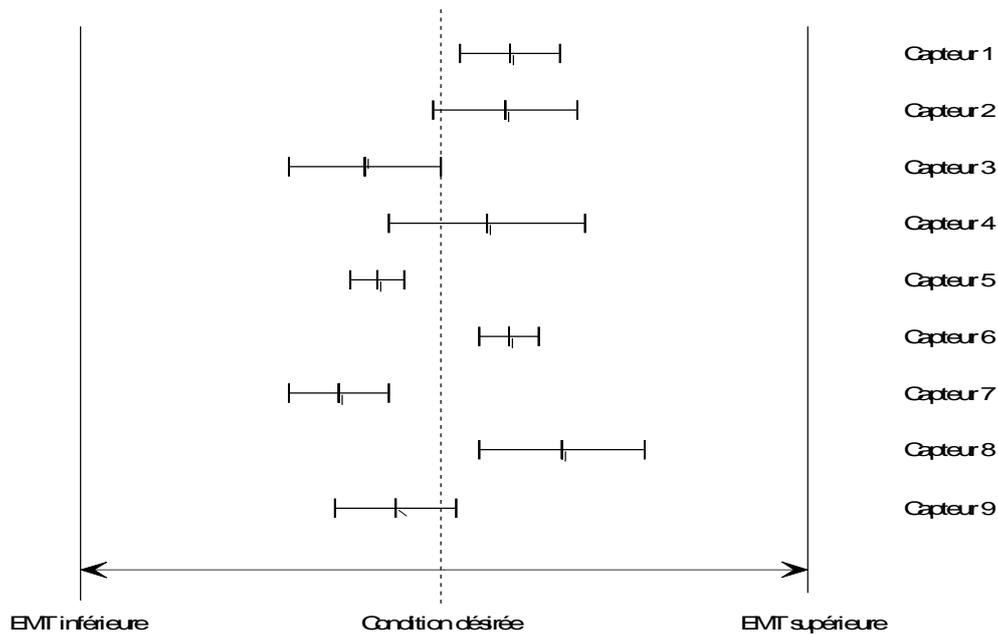


Figure 16 : Représentation graphique des moyennes des capteurs assorties de leur incertitude dans le cas d'une enceinte conforme

En cas d'enceinte non-conforme, il est possible de :

- régler la valeur de la température de consigne et effectuer une nouvelle vérification,
- réduire l'espace de travail, en fonction du/des capteurs ne respectant pas l'EMT.

En cas de persistance

- déclasser l'enceinte,
- mettre au rebut ou éventuellement retourner au fournisseur si cela est prévu au cahier des charges.
- réparer.

Les paramètres supplémentaires suivants peuvent être intéressants à analyser pour définir le comportement de l'enceinte sans toutefois entrer dans le jugement de conformité :

L'homogénéité traduit l'uniformité des températures dans l'espace de travail. C'est la différence maximale entre les moyennes des mesures d'un capteur augmentées de l'incertitude élargie associée :  $H\theta = (X_{mj} + U_{mj})_{\max} - (X_{mj} - U_{mj})_{\min}$

La stabilité est définie par la variation maximale de la température en un point de mesure de l'espace de travail.

L'Ecart de consigne est représenté par la différence entre la valeur de consigne et la température moyenne de l'air dans l'enceinte (moyenne des valeurs de tous les capteurs) :  $X_{co} - X_{air}$ . Elle permet de réaliser un ajustage par un décalage de consigne.

Le temps de récupération de la température est le temps nécessaire pour que l'enceinte retrouve un régime établi (dans les EMT) après une action volontaire telle que ouverture de porte, chargement/déchargement. Le temps d'ouverture de porte doit être d'une minute avec une ouverture totale. Le temps de récupération peut être déterminé graphiquement.

Les étuves sont cartographiées tous les ans, les enceintes froides tous les 3 ans, et pour toutes à chaque modification d'une caractéristique de l'enceinte telle que température de consigne, déplacement conséquent.

### III.3. Programme d'étalonnage

Le responsable métrologie établit pour chaque secteur du laboratoire concerné par la démarche d'accréditation, mais aussi pour les équipements communs, un programme d'étalonnage. Ce document qui est la transposition pour une unité de la politique métrologie déclinée au niveau du pôle, recense pour chaque grandeur et chaque équipement les informations suivantes :

- l'identification de l'équipement, notamment son type et son numéro d'inventaire ou à défaut le numéro de série ;

- l'utilisation de l'équipement et les caractéristiques ou les erreurs maximales tolérées (EMT);
- l'incertitude recherchée inférieure ou égale à  $\frac{1}{4}$  de l'EMT selon les recommandations du SH GTA 01 pour les secteurs utilisant le référentiel ISO 15189, ou inférieure ou égale à  $\frac{1}{3}$  de l'EMT pour les secteurs utilisant l'ISO 17025 (consensus OIML) ;
- les modalités de raccordement, externe par un laboratoire accrédité ou interne et la codification des documents techniques utilisés ;
- la périodicité de raccordement, qui est initialement fixée selon les recommandations générales ou les pratiques habituelles, mais qui est susceptible d'évolue en fonction de la fréquence d'utilisation de l'équipement, des éventuelles dérives observées ou constatées... ;
- la date de la dernière opération métrologique (étalonnage ou vérification) et la date limite de la prochaine opération.

Ce document est bien entendu validé par le responsable métrologie et transmis aux référents métrologie pour application dans leurs secteurs respectifs.

Un exemplaire d'un programme d'étalonnage est donné en annexe 4.

#### III.4. Autres grandeurs à traiter - projets

Les grandeurs et matériels mentionnés ci-dessous n'entrent pas dans les objectifs immédiats à traiter et mettre en œuvre par la fonction métrologie du pôle. Ils font l'objet dans un premier temps, et si nécessaire, d'une sous-traitance auprès d'un laboratoire accrédité, et seront gérés en interne dans un deuxième temps, si cela est possible sur le plan des ressources disponibles (temps technicien, acquisition de matériel).

### III.4.1. Balance, Masse.

La directive européenne 90/384/CEE, complétée par la directive 2009/23/CE [91] et le décret du 27 mars 1991 [92], impose une vérification par un prestataire agréé en métrologie légale pour les balances intervenant pour la détermination de la masse lors des analyses effectuées dans les laboratoires médicaux. Si l'on se réfère à l'ensemble du texte et aux orientations données, sont concernées les balances qui participent directement à l'obtention du résultat à travers une pesée comme par exemple la détermination de l'arsenic dans les cheveux en toxicologie médico-légale.

Pour les autres balances, comme celles servant à la vérification des pipettes ou à la préparation de réactifs, les possibilités seront selon les objectifs recherchés, soit la vérification par un prestataire accrédité, soit une vérification en interne adaptée des dispositions de la norme EN 45501 [93] ou de la recommandation OIML R76. Dans ce cadre-là les principaux essais à effectuer sont les essais de fidélité, de justesse et d'excentration de charge [94].

L'essai de fidélité consiste à vérifier que la balance fournit des résultats concordant entre eux pour une même charge déposée plusieurs fois dans des conditions d'essai similaires. L'essai se réalise avec des poids étalons de valeur nominale égale à la portée maximale et à la demi-portée sur six pesées consécutives. L'erreur de fidélité est l'écart entre le plus grand et le plus petit résultat qui ne peut être supérieur à la valeur absolue de l'EMT pour la charge sur le plateau.

L'essai de justesse permet de vérifier que la balance fournit, pour des poids étalons donnés, des résultats concordant entre la valeur lue et la valeur nominale des poids. Il se réalise en charges croissantes ou décroissantes en utilisant un poids proche de la portée minimale, un poids proche du  $\frac{1}{4}$  de la charge maximale, un poids proche de la demi-portée, un poids proche des  $\frac{3}{4}$  de la charge maximale et un proche de la charge maximale. L'erreur de justesse est la différence entre la valeur lue et la valeur vraie du poids étalon qui ne doit pas être supérieure à l'EMT.

L'essai d'excentration de charge permet de vérifier que les indications données par la balance sont concordantes quel que soit le point d'application d'une même charge

sur le plateau. Il se réalise à une valeur du 1/3 de la portée en positionnant les poids selon le schéma ci-dessous. Comme pour les autres essais, l'écart entre la valeur indiquée et la valeur vraie du poids doit être inférieur à l'EMT.

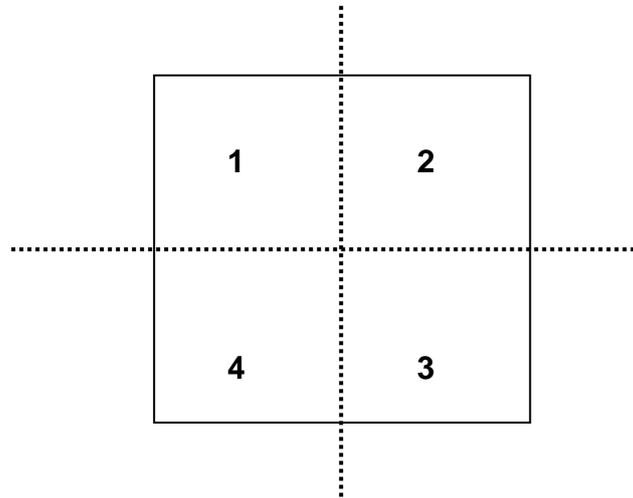


Figure 17 : Position des charges sur un plateau pour un essai d'excentration (plateau carré)

Actuellement réalisée par un prestataire non accrédité, sauf pour les balances servant à la vérification des pipettes, cette opération devrait être reprise à terme en interne.

En fonction de leur nombre et de leur utilisation, il sera possible d'envisager l'étalonnage des masses de travail. L'opération se réalise par ce que l'on appelle une double pesée de Borda, qui consiste à peser dans l'ordre suivant l'étalon, la masse à étalonner par deux fois, puis l'étalon en tarant à chaque fois.

#### *III.4.2. Temps, Chronomètre*

La vérification des chronomètres se fait par rapport à l'horloge parlante qui constitue l'étalon temps en France. Elle peut être consultée par téléphone et par internet. L'objectif sera de comparer les temps mesurés par l'horloge et par le chronomètre pour vérifier qu'il n'y a pas d'écart ou de dérive. Les erreurs maximales tolérées sont

larges, de l'ordre de 30 secondes ou plusieurs minutes, et l'on ne procédera donc pas à l'estimation régulière de l'incertitude de mesure. La composante la plus importante de l'incertitude dans ce domaine est le temps de réaction de l'opérateur au déclenchement et à l'arrêt que l'on peut estimer à 3 ou 4 dixièmes de seconde, ce qui reste négligeable par rapport à l'EMT et n'a donc aucun intérêt.

#### *III.4.3. Centrifugeuse*

Les centrifugeuses sont des équipements couverts par le décret 93-41 du 11 janvier 1993 [95] relevant de l'article R233-11 du code du Travail, et qui définit les prescriptions minimales de sécurité à appliquer pour la protection des travailleurs utilisant ces équipements. Au-delà de ces points spécifiques traités par les techniciens biomédicaux, les exigences des techniques utilisées ou les recommandations des fournisseurs ou des sociétés savantes peuvent induire des vérifications supplémentaires. S'il n'existe pas actuellement de norme décrivant ces vérifications, les pratiques habituelles et à mettre en œuvre sont la vérification de la vitesse de rotation avec un tachymètre, la vérification du temps et des minuteurs incorporés, et la vérification de la température avec une sonde adaptée. Ces différentes grandeurs sont à raccorder, si une exigence métrologique est spécifiée dans le cadre de l'analyse.

#### *III.4.4. Divers, pH-mètre, optique, CO<sub>2</sub>.*

Sur l'ensemble des activités du pôle, nous avons aussi identifié les équipements ou les grandeurs ci-dessous, mais l'identification et l'inventaire des besoins associés, la rédaction des instructions techniques et leurs applications ne seront entrepris que dans un délai plus long, à l'horizon 2013, en cohérence avec la planification d'extension de l'accréditation. On retient :

- les pH-mètres dont l'étalonnage est généralement réalisé à chaque utilisation à l'aide de solution de référence certifiées ou MRC (matériau de référence certifié) ;

- les sondes de mesure du taux de CO<sub>2</sub> dans les étuves de bactériologie, ou de culture cellulaire et que l'on étalonne à l'aide de bouteille de gaz étalon de composition définie et raccordée ;
- les spectrophotomètres ou les lecteurs de plaque en technique ELISA, que l'on raccorde à l'aide de filtres, cuves ou plaques étalon (de type Dynex par exemple) étalonné par un organisme accrédité, comme le LNE.

# Conclusion

Dans la démarche d'accréditation des laboratoires de biologie médicale, imposée par l'ordonnance du 13 janvier 2010, la maîtrise des processus de mesure en constitue l'un des aspects techniques majeurs, que ce soit à travers la validation des méthodes d'analyses, le suivi des performances analytiques à travers les contrôles qualité internes et les évaluations externes de la qualité ou la mise en œuvre des programmes d'étalonnage et de raccordement, afin d'assurer la comparabilité des résultats. Si les deux premiers points sont connus et appliqués couramment par les biologistes, le troisième, qui représente un des fondamentaux de la métrologie, avec l'évaluation des incertitudes, apparaît beaucoup plus difficile à appréhender, car, notamment, relativement récent dans ce domaine.

Le rôle principal d'une fonction métrologie identifiée dans le laboratoire, sera donc essentiellement d'assurer ce principe de raccordement, plus spécifiquement sur les équipements de mesure connexes, c'est-à-dire ceux intervenant directement ou indirectement dans le processus analytique comme des sources potentielles de variation, mais ne donnant pas directement le résultat de mesure. Au-delà des aspects techniques et documentaires à mettre en œuvre, l'un des objectifs de la fonction sera d'apporter une information pertinente, facilement compréhensible et assimilable, notamment par rapport au vocabulaire reconnu des métrologues. L'autre objectif sera surtout de déployer une métrologie adaptée à partir d'un inventaire précis, exhaustif mais surtout réaliste des besoins, afin de maîtriser les coûts qui peuvent rapidement devenir prohibitifs, alors que les tolérances applicables en biologie médicale ne sont pas extrêmement contraignantes.

C'est dans cette optique que la fonction métrologie a été déployée progressivement, en fonction des secteurs candidats à une accréditation, dans le Pôle de Biologie Pathologie Génétique du Centre Hospitalier Régional et Universitaire de Lille. La

politique métrologie définie dans le manuel de management de la qualité du pôle prévoit de réaliser en interne les opérations métrologiques sur les grandeurs et les équipements les plus courants, en s'appuyant sur les moyens techniques et le matériel existants, ainsi que sur les compétences et l'implication du personnel en place. Cette démarche, qui toutefois doit être développée sur une activité plus large, a permis d'identifier la métrologie comme un des points forts du laboratoire lors de son audit Cofrac d'accréditation initiale.

# Glossaire

Glossaire des abréviations les plus couramment utilisées, relevant de la métrologie [96] ou non.

**AFNOR** : Association Française de NORmalisation

**BIPM** : Bureau International des Poids et Mesures

**CAP** : Collège of American Pathologist

**CEI** : Commission Electrotechnique Internationale

**CEN** : Comité Européen de Normalisation

**CGPM** : Conférence Générale des Poids et Mesures

**CIPM** : Comité International des Poids et Mesures

**CIQ** : Contrôle Qualité Interne, ou Contrôle Interne de la Qualité

**COFRAC** : COmité FRançais d'ACcréditation

**CTCB** : Centre Toulousain pour le Contrôle de Qualité en Biologie

**EA** : European coopération for Accreditation

**EEQ** : Evaluation Externe de la Qualité

**EFQM** : European Foundation for Quality Management

**EMT** : Erreur Maximale Tolérée

**EN** : Norme Européenne

**FD** : Fascicule de Documentation

**GBEA** : Guide de Bonne Exécution des Analyses de biologie médicale

**GUM** : Guide for Uncerntainty Measurement

**IFCC** : International Federation of Clinical Chemistry

**ILAC** : International Laboratory Accreditation Cooperation

**IRMM** : Institute for Reference Materials and Measurements

**ISO** : International Standard Organisation

**ISH** : International Society of Haematology

**JCGM** : Joint Committee for Guides in Metrology

**JCTLM** : Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine

**LNE** : Laboratoire National d'Essai

**MRA** : Mutuel Recognition Arrangement

**MRC** : Matériau de Référence Certifié **NF** : Norme Française

**OIML** : Organisation Internationale de Métrologie Légale.

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé (ou World Health Organisation)

**SFBC** : Société Française de Biologie Clinique

**SI** : Système International d'unités

**VIM** : Vocabulaire International de Métrologie

## Table des figures et tableaux

Figure 1 : Modèle du PDCA de Deming.....	17
Figure 2 Diagramme d'Ishikawa. Appliqué au processus analytique, l'effet est le résultat d'analyse.....	18
Figure 3 : Schéma de développement des normes internationales selon ISO. ....	21
Figure 4 : Représentation de la démarche de qualification Bioqualité.....	25
Figure 5 : Représentation du cycle d'accréditation Cofrac .....	30
Figure 6 : Schéma représentatif des structures de la Convention du Mètre.....	40
Figure 7 : Représentation schématique de la justesse et de la fidélité d'un instrument de mesure .....	48
Figure 8 : Chaîne de raccordement externe à l'entreprise. ....	49
Figure 9 : Schéma de raccordement interne dans l'entreprise et du bilan d'incertitudes associé à chaque niveau .....	50
Figure 10 : Exemple d'évaluation externe de la qualité montrant les disparités de résultats pour un même dosage entre différents laboratoires. Cas de la thyroglobuline (année 2005) .....	53
Figure 11 : Liens entre la directive DMDIV et la standardisation des résultats de biologie .....	55
Figure 12 : Hiérarchie d'étalonnage élargie et traçabilité au SI selon l'ISO 17511. ...	58
Figure 13 : Dispositif de pesée pour la vérification des pipettes automatiques.....	92
Figure 14 : Méthode gravimétrique. Cycle de mesure.....	94
Figure 15 : Positionnement des capteurs .....	102
Figure 16 : Représentation graphique des moyennes des capteurs assorties de leur incertitude dans le cas d'une enceinte conforme .....	104
Figure 17 : Position des charges sur un plateau pour un essai d'excentration (plateau carré) .....	108

Tableau 1 : Liste des comités techniques médecine/santé relatifs à la biologie, normes publiées et projet en cours. ....	19
Tableau 2 : Exemple d'une portée d'accréditation en toxicologie médicale. ....	31
Tableau 3 : estimation du coût de raccordement externe.....	80
Tableau 4 : Erreurs Maximales Tolérées (EMT) des pipettes automatiques en fonction du volume nominal selon ISO 8655.....	91
Tableau 5 : Choix du milieu et dispositif de comparaison en fonction de la température .....	96

## Bibliographie

[1] Rapport au Président de la République relatif à l'ordonnance n° 2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale. Ministère de la santé et des sports, Journal Officiel de la République Française du 15 janvier 2010.

[2] Ordonnance n° 2010-49 du 13 janvier 2010, relative à la biologie médicale. Ministère de la santé et des sports, Journal Officiel de la République Française du 15 janvier 2010.

[3] « La biologie médicale en France : bilan et perspectives », Rapport IGAS 2006-045, avril 2006. Présenté par Mesdames le docteur Françoise LALANDE, Isabelle YENI et Christine LACONDE.

[4] Comptes nationaux de la santé en 2009. Publication de la Direction de la Recherche, des Etudes de l'Evaluation et des Statistiques. Ministère du Travail, de l'Emploi et de la Santé

[5] The Value of Diagnostic : Innovation, adoption, and diffusion into health care. 2005. The Lewin Group.

[6] <http://www.sfrl.fr>. Les tests de diagnostic in vitro : un rôle essentiel dans la gestion des soins. Site du Syndicat de l'Industrie du diagnostic *in vitro*. Consultation mars 2011.

[7] Caroline Mascret, La nouvelle réglementation relative à la biologie médicale. Les nouvelles pharmaceutiques. 2010 ; 406 : 101-106.

[8] Arrêté du 5 août 2010 fixant les références des normes d'accréditation applicables aux laboratoires de biologie médicale. Ministère de la santé et des sports, Journal Officiel de la République Française du 1<sup>er</sup> septembre 2010.

[9] Arrêté du 15 décembre 2009 relatif aux contrôles du respect des valeurs limites biologiques fixées à l'article R. 4412-152 du code du travail pour les travailleurs exposés au plomb et à ses composés et aux conditions d'accréditation des laboratoires chargés des analyses. Ministère du travail, des relations sociales, de la famille, de la solidarité et de la ville, Journal Officiel de la République Française du 17 décembre 2009.

[10] Arrêté du 1er février 2010 relatif à la surveillance des légionelles dans les installations de production, de stockage et de distribution d'eau chaude sanitaire. Journal Officiel de la République Française du 9 février 2010.

[11] <http://www.qualiteonline.com>. Historique de la qualité – dossier thématique pour le management de la qualité. Consultation février 2012.

[12] A. Kallner. International standards in laboratory medicine. Clinica Chimica Acta. 2001 ; 307 : 181 – 186.

[13] D. Burnett, C. Blair. Standards for the medical laboratory – harmonization and subsidiarity. Clinica Chimica Acta. 2001 ; 309 : 137 – 145.

[14] AFNOR. NF EN ISO 15189, Laboratoires d'analyses de biologie médicale – Exigences particulières concernant la qualité et la compétence. Août 2007. ICS 03.120.10, 11.100.01.

[15] Rochanak Mirfendereski. La démarche qualité dans les laboratoires d'analyses de biologie médicale privée franciliens. Mémoire de l'Ecole Nationale de Santé Publique.

[16] Guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale. Arrêté du 26 novembre 1999, relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale modifié par arrêté du 26 avril 2002. Journal officiel du 11 décembre 1999, journal officiel du 4 mai 2002.

[17] J. Rogowski, V. Annaix. Norme NF EN ISO 15189 : analyse comparative avec le GBEA et mise en place du nouveau référentiel. Ann. Biol. Clin. 2010 ; 68 (3) : 367-377.

[18] <http://www.bioqualite.fr>. Site de l'association Bioqualité pour la promotion de la démarche qualité dans les laboratoires de biologie médicale. Consultation février 2012.

[19] Arrêté du 14 décembre 2010 définissant les conditions justificatives de l'entrée effective d'un laboratoire de biologie médicale dans une démarche d'accréditation. Journal Officiel de la République Française du 21 janvier 2011.

[20] Décret 2008-1401 du 19 décembre 2008 relatif à l'accréditation et à l'évaluation de conformité pris en application de l'article 137 de la loi 2008-776 du 4 août 2008 de modernisation de l'économie. Journal Officiel de la République Française du 26 décembre 2008.

[21] <http://www.cofrac.fr>, site internet du Comité Français d'Accréditation. Consultation mars 2011 – février 2012.

[22] Cofrac. SH INF 20. Modalités de candidature à l'accréditation par la Section Santé Humaine du Cofrac. Rev 00. Octobre 2010. Disponible sur le site [www.cofrac.fr](http://www.cofrac.fr).

[23] Cofrac. SH REF 02, Recueil des exigences spécifiques pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale. Rév. 00, septembre 2010. Disponible sur le site [www.cofrac.fr](http://www.cofrac.fr).

[24] Cofrac. SH REF 05, Règlement d'accréditation. Rév. 02, juin 2011. Disponible sur le site [www.cofrac.fr](http://www.cofrac.fr).

[25] Cofrac. SH REF 08, Expression et évaluation des portées d'accréditation. Rév 00, Octobre 2010. Disponible sur le site [www.cofrac.fr](http://www.cofrac.fr).

[26] Cofrac. SH FORM 03. Questionnaire d'auto-évaluation - Préparation de l'évaluation sur site selon la norme NF EN ISO 15189. Rév. 01, août 2011. Disponible sur le site [www.cofrac.fr](http://www.cofrac.fr).

[27] Cofrac. SH FORM 05. Règlement d'accréditation. Rév.02, juin 2011. Disponible sur le site [www.cofrac.fr](http://www.cofrac.fr).

[28] Cofrac. SH INF 50, Portées types d'accréditation. Rév 00, Mai 2011. Disponible sur le site [www.cofrac.fr](http://www.cofrac.fr).

[29] Cofrac. SH GTA 01. Guide technique d'accréditation en biologie médicale. Rév. 00, mai 2011. Disponible sur le site [www.cofrac.fr](http://www.cofrac.fr).

[30] S. Slagter, J.G. Loeber. Accreditation of medical laboratories in The Netherlands. *Clinica Chimica Acta*, 309 (2001) 155 – 161.

[31] A. Kallner. Accreditation of medical laboratories. Some reflections from the Nordic Horizon. *Clinica Chimica Acta*. 2001 ; 309 : 163 – 165.

[32] Naiyana Wattanasri, Wannika Manoroma, Somchai Viriyayudhagorn. Laboratory accreditation in Thailand. A systemic approach. *Am J Clin Pathol*. 2010 ; 134 : 534-540.

[33] Guy-Michel Gershy-Damet, Philip Rotz, David Cross et al. The World Health Organisation African Region Laboratory Accreditation Process. Improving the Quality of Laboratory System in the African Region. *Am J Clin Pathol*. 2010 ; 134 : 393 – 400.

[34] Wim Huisman, A. Rita Horvath et al. Accreditation of medical laboratories in the European Union. *Clin Chem Lab Med* 2007; 45(2) 268-275.

[35] Trevor F. Peter, Philip D. Rotz et al. Impact of laboratory accreditation on patient care and the health system. *Am J Clin Pathol*. 2010 ; 134 : 550-555.

[36] G. Yanikkaya – Demirel. ISO 15189 accreditation : Requirements for quality and competence of medical laboratories experience of a laboratory II. Clin. Biochem. 2009 ; 42 : 279 – 283.

[37] S. Okubo, H. Yokota, H. Ikeda, Y. Yatomi. Overview of ISO 15189 and accreditation with it. Abstract traduction. Rinsho Byori. 2010 ; 58 (7) : 676 - 684.

[38] M. Kitagawa. [Merits of acquiring ISO 15189 accreditation]. Abstract traduction. Rinsho Byori. 2010 ; 58 (1) : 73 - 77.

[39] Marie-Ange Cotteret, Métrologie et société, de l'histoire à la prospective. Revue des ingénieurs du Syndicat National des Ingénieurs de l'Industrie et des Mines. Février 2008.

[40] <http://www.ifremer.fr>, Histoire de la métrologie. Consultation mars 2011.

[41] <http://www.metrodiff.org>, site de l'association Métrodiff, promotion de la culture métrologie, diffusion et communication auprès des structures éducatives et culturelles et du grand public. Consultation mars 2011.

[42] <http://www.metrologie-francaise.fr/>; site de partenariat LNE, CEA, CNAM et Observatoire de Paris. Consultation mars 2011.

[43] Thierry Thomasset. Histoire du Système métrique. <http://www.utc.fr/~tthomass/Themes/Unites>. Consultation mars 2011.

[44] <http://www.lne.fr>; Consultation mars 2011.

[45] P. De Bièvre. The 2007 International Vocabulary of Metrology (VIM), JCGM 200:2008 [ISO/IEC Guide 99] : Meeting the need for intercontinentally understood concepts and their associated intercontinentally agreed terms. Clin Biochem. 2009 ; 42(4-5) : 246-248.

[46] JCGM 2008, Vocabulaire international de métrologie — Concepts fondamentaux et généraux et termes associés (VIM). Disponible sur le site du BIPM, <http://www.bipm.org>.

[47] AFNOR. FD X 07-008, Métrologie – Arborescence des normes et travaux sur la métrologie (« carte routière » des normes). Décembre 2008. ICS : 17.020.

[48] M. Dumontet, I. Fuss-Ohlen, J-L. Beaudeau et al. Présentation à l'usage des laboratoires d'analyses de biologie médicale, des normes de métrologie (Document A). Ann Biol Clin. 2004 ; 62 : 121-125.

[49] AFNOR. X 07-012, Métrologie – Métrologie dans l'entreprise – Certificat d'étalonnage des moyens de mesures. Novembre 1995.

[50] AFNOR. X 07-011, Métrologie – Essais – Métrologie dans l'entreprise – Constat de vérification des moyens de mesures. Décembre 1994.

[51] JCGM 100:2008. Evaluation des données de mesure – Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure. Septembre 2008. Disponible sur le site [www.bipm.org](http://www.bipm.org).

[52] C. Giroud, M. Dumontet, A. Vassault, F. Braconnier, G. Féraud. Recommandations relatives à l'expression de l'incertitude de mesure des résultats quantitatifs en biologie médicale (Document F). Ann Biol Clin. 2007 ; 65 (2) : 185-200.

[53] European cooperation for Accreditation of Laboratories. Traceability of measuring and test equipment to national standards. EAL-G12, 1995.

[54] AFNOR. FD X 07-015, Métrologie – Raccordement des résultats de mesure au Système International d'unités (SI). Août 2007. ICS : 17.020.

[55] MM. Müller. Implementation of reference systems in laboratory medicine. Clin Chem. 2000 ; 46 : 1907 – 1909.

[56] LM Thienpont, K Van Uytfanghe, D Rodriguez Cabaleiro. Metrological traceability of calibration in the estimation and use of common medical decision-making criteria. Clin Chem Lab Med. 2004 ; 42 : 842 – 850.

[57] D. Armbruster, R. R. Miller. The Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine (JCTLM) : A global approach to promote the standardisation of clinical laboratory test results. Clin. Biochem. Rev. 2007 ; 28 : 105 – 113.

[58] M. Panteghini. Traceability, Reference Systems and results comparability. Clin. Biochem. Rev. 2007 ; 28 : 97 – 104.

[59] J. Bremond, M. Plebani. IVD industry role for quality and accreditation in medical laboratories. Clinica Chimica Acta. 2001; 309 : 167 – 171.

[60] M. Panteghini. Traceability as a unique tool to improve standardization in laboratory medicine. Clin Biochem. 2009 ; 42 : 236 – 240.

[61] AFNOR. 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. Janvier 2004. ICS 11.100.

[62] M. Panteghini, J.C. Forest. Standardization in laboratory medicine : New challenges. Clin. Chim. Acta. 2005 ; 355 : 1 – 12.

[63] W. Garry John, A. Mosca, C. Weykamp, I. Goodall. HbA1c Standardisation : History, Science and Politics. Clin Biochem Rev. 2007 ; 28 : 163-168.

[64] H. W. Vesper, W. G. Miller, G. L. Myers. Reference materials and commutability. Clin. Biochem. Rev. 2007; 28 : 139 – 147.

- [65] D. M. Bunk. Reference materials and reference measurements procedures : an overview from a National Metrology Institute. Clin. Biochem. Rev. 2007 ; 28 : 131 – 137.
- [66] S. D. Barker, S. Bale, J. Booker et al. Developpement and characterization of reference materials for *MTHFR*, *SERPINA1*, *RET*, *BRCA1* and *BRCA2* Genetic Testing. Journal of Molecular Diagnostics, Vol. 11, n°6, Nov. 2009, 553-561.
- [67] L. Siekmann. Requirements for reference (calibration) laboratories in laboratoty medicine. Clin. Biochem. Rev. 2007 ; 28 : 149 – 154
- [68] G. Koumantakis. Traceability of measurement results. Clin. Biochem. Rev. 2008 ; 29 : S61 - S66
- [69] H. W. Vesper, L. Thienpont. Traceability in Laboratory Medicine. Clin Chem. 2009 ; 55 (6) : 1067-1075.
- [70] G. H. White. Metrological traceability in clinical biochemistry. Ann Clin Biochem. 2011 ; 48 (5) : 393-409.
- [71] AFNOR. NF EN ISO 10012, Systèmes de management de la mesure – Exigences pour les processus et les équipements de mesure. Septembre 2003. ICS : 03.120.20, 17.020.
- [72] AFNOR. FD X 07-007, Métrologie – Guide d'application de la norme NF EN ISO 10012 « Systèmes de management de la mesure – Exigences pour les processus et les équipements de mesure – Conception, développement, maîtrise et amélioration des processus de mesure ou d'essai ». 2005.
- [73] M. Dumontet, A. Vassault 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 : 479-486.

[74] Marc Priel. Organisation d'un laboratoire d'étalonnage. Techniques de l'Ingénieur, traité mesures et Contrôle, Document R1215, 1 – 18.

[75] A. Lannoy. Intégration d'un nouvel automate au laboratoire. Option Bio. 2010 ; 444 : 20-21.

[76] Guide de métrologie à l'usage des laboratoires d'analyses de biologie médicale. Collège Français de Métrologie.

[77] Cofrac. SH GTA 04, Guide technique d'accréditation de vérification (portée A) / validation (portée B) des méthodes de biologie médicale. Rév. : 00 – avril 2011. Disponible sur le site [www.cofrac.fr](http://www.cofrac.fr).

[78] Cofrac. SH GTA 14 Guide technique d'accréditation pour l'évaluation des incertitudes de mesure en biologie médicale. Rév. : 00 – octobre 2011. Disponible sur le site [www.cofrac.fr](http://www.cofrac.fr).

[79] <http://biologiepathologie.chru-lille.fr/> Site internet du Pôle de Biologie Pathologie Génétique du CHRU de Lille. Consultation décembre 2011.

[80] Thomas BOURGAULT. Problématique pour la mise en place d'un système de métrologie pour les laboratoires d'analyses de biologie médicale. Thèse professionnelle 2005, Mastère « Equipements biomédicaux », Université de Technologie de Compiègne, Ecole Nationale de la Santé Publique de Rennes

[81] AFNOR. NF EN ISO 8655-2. Appareils volumétriques à piston. Partie 2 : Pipettes à piston. Avril 2003.

[82] AFNOR NF EN ISO 8655-6, « Appareils volumétriques à piston – Méthodes gravimétriques pour la détermination de l'erreur de mesure ». Avril 2003.

[83] Cofrac. LAB GTA 08, Guide technique d'accréditation en température. Rév. : 01 – décembre 2011. Disponible sur le site [www.cofrac.fr](http://www.cofrac.fr).

[84] AFNOR FD X 07-029-1, Procédure d'étalonnage et de vérification des sondes et thermomètres à résistance. Octobre 2002.

[85] AFNOR FD X 07-029-2, Procédure d'étalonnage et de vérification des couples thermoélectriques seuls et des thermomètres à couple thermoélectrique. Octobre 2002.

[86] AFNOR FD X 07-029-3, Procédure d'étalonnage et de vérification des thermomètres à dilatation de liquide. Décembre 2008.

[87] AFNOR FD X 07-028, Procédure d'étalonnage et de vérification des thermomètres, estimation des incertitudes sur les mesures de température. Octobre 2002.

[88] AFNOR NF X15-140. Mesure de l'humidité de l'air - Enceintes climatiques et thermostatiques - Caractérisation et vérification. Octobre 2002.

[89] AFNOR FD V 08-601. Enceintes thermostatiques. Caractérisation, vérification et suivi quotidien. Février 2005.

[90] COFRAC LAB GTA 24. Guide Technique d'Accréditation pour la caractérisation et la vérification des enceintes thermostatiques et climatiques, des fours et des bains thermostatés. Rév. : 00 – mai 2009. Disponible sur le site [www.cofrac.fr](http://www.cofrac.fr).

[91] Directive 2009/23/CE DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL du 23 avril 2009 relative aux instruments de pesage à fonctionnement non automatique. Journal officiel de l'Union européenne du 16 mai 2009.

[92] Décret n° 91-330 du 27 mars 1991, relatif aux instruments de pesage à fonctionnement non automatique. Journal Officiel de la République Française du 3 avril 1991.

[93] AFNOR NF EN 45501. Aspects métrologiques des instruments de pesage à fonctionnement non automatique. Novembre 1993.

[94] Balances. Partie II. Confirmation métrologique d'une balance. D. Louvel et al, STP Pharm. Prat. 2009, 19 (3) : 199 – 228.

[95] Décret n° 93-41 du 11 janvier 1993 relatif aux mesures d'organisation, aux conditions de mise en œuvre et d'utilisation applicables aux équipements de travail et moyens de protection soumis à l'article L. 233-5-1 du code du travail et modifiant ce code. Journal Officiel de la République Française du 13 janvier 1993

[96] G. Férard, C. Giroud, F. Pontet, Glossaire des acronymes d'institutions relevant de la métrologie. Ann Biol Clin. 2009 ; 67(2) : 233 – 238.

[97] AFNOR FD X07-014 Métrologie - Optimisation des intervalles de confirmation métrologique des équipements de mesure. Novembre 2006.

# Annexe 1 : Constat de vérification de pipette

<b>BIOHIT</b>		<b>CONSTAT DE VERIFICATION</b> Pro-Line Soft 3		1V11 Page 1
<b>N° de série :</b> K21138B	<b>N° Document :</b> 1V11 / BDD_Toxicologie			
<b>Référence :</b> Gilson P - 200	<b>Mise en service :</b> 21/10/2011	<b>Date :</b> 21/10/2011		
<b>Modèle :</b> Pipetman - var. 50-200 µl - type A	<b>Nombre de canaux :</b> 1	<b>Heure :</b> 15:44:37		
<b>Constructeur :</b> GILSON	<b>Périodicité :</b> 360 jours			
<b>Demandé par :</b> Toxicologie		Alcool CPG 2		
<b>Volume : 50 µl</b>				
<b>Moyenne :</b> 51,13 µl	<b>Minimum :</b> 50,12 µl	<b>Maximum :</b> 51,82 µl		
<b>Erreur systématique</b> Ev :	1,13 µl	<b>E%</b> 2,25 %	<b>Tolérance E :</b> 1,6 µl	<b>CONFORME</b>
<b>Erreur aléatoire</b> Sv :	0,47 µl	<b>CV%</b> 0,92 %	<b>Tolérance S :</b> 0,6 µl	<b>CONFORME</b>
<b>10 mesures (en mg)</b>				
50,91 50,55 51,38 50,92 49,95 51,24 51,45 51,20 50,84 51,32				
<b>Volume : 100 µl</b>				
<b>Moyenne :</b> 100,44 µl	<b>Minimum :</b> 99,93 µl	<b>Maximum :</b> 100,83 µl		
<b>Erreur systématique</b> Ev :	0,44 µl	<b>E%</b> 0,44 %	<b>Tolérance E :</b> 1,6 µl	<b>CONFORME</b>
<b>Erreur aléatoire</b> Sv :	0,32 µl	<b>CV%</b> 0,32 %	<b>Tolérance S :</b> 0,6 µl	<b>CONFORME</b>
<b>10 mesures (en mg)</b>				
99,59 99,92 100,35 100,37 100,05 100,24 100,26 100,49 99,65 100,01				
<b>Volume : 200 µl</b>				
<b>Moyenne :</b> 199,55 µl	<b>Minimum :</b> 198,89 µl	<b>Maximum :</b> 200,41 µl		
<b>Erreur systématique</b> Ev :	-0,45 µl	<b>E%</b> -0,22 %	<b>Tolérance E :</b> 1,6 µl	<b>CONFORME</b>
<b>Erreur aléatoire</b> Sv :	0,51 µl	<b>CV%</b> 0,25 %	<b>Tolérance S :</b> 0,6 µl	<b>CONFORME</b>
<b>10 mesures (en mg)</b>				
199,73 198,69 198,22 198,77 198,27 199,46 198,82 199,43 198,71 198,77				
<b>Conclusion</b>	<b>CONFORME</b>			
<b>Opérateur :</b> CHARBONNIER Eric		<b>Signature :</b> 		
<b>Identification balance :</b> Sartorius CPA225D en mode manuel		<b>Liquide utilisé :</b> Eau distillée		
<b>Références :</b> masses : méthode gravimétrique :		<b>référentiel :</b>		
<b>Température :</b> 22,9 °C	<b>Pression :</b> 1026 hPa	<b>Hygrométrie :</b> 55 %		
<b>Pointe :</b> Pointes clients	<b>Evaporation :</b> 0 mg	<b>Facteur :</b> 1,0034 µl/mg		
<b>CBP - CHRU</b> Bd du Pr Leclercq 59000 Lille		Qualité - Métrologie		

## Annexe 2 : Rapport d'étalonnage de sonde



Centre Hospitalier Régional  
Universitaire de Lille

### Certificat d'étalonnage

Biologie Pathologie Génétique  
Qualité - Métrologie

n° H-20111109-04

Date de l'étalonnage : 09-nov-11  
Opérateur : E. CHARBONNIER  
Référence documentaire : FI/QRE/012

#### Matériel étalonné

Désignation : Thermo-bouton et logiciel associé

Type	Fournisseur	n° de série	n° interne	Résolution °C
22L 8K -40/+85°C	PROGES PLUS	7B00000011346241	SDC113	0,1

#### Matériel utilisé

Étalon : Thermo-bouton

Type	n° interne	Résolution °C	Incertitude ét.	Correction
22L, 8K -40/+85°C	92000001A8B4741	0,1	0,07	-0,18

Milieu de comparaison :

Type	n° de série	n° interne	Température
Eau, Bain-Marie Julebo SW21	10008275	CHA 086, GMAO 000010033	36°C

Ce certificat comprend 2 pages et 1 pages d'annexes

Sa reproduction n'est autorisée qu'en fac similé intégral

Le responsable métrologie : Eric CHARBONNIER

Date d'émission : 09-nov-11

Signature

**Caractérisation du milieu**

	Position 1		Position 2		Position 3		Position 4		
Prof 1	36,1	36,1	36,1	36,1	36,1	36,1	36,1	36,1	en °C
Prof 2	36,1	36,2	36,1	36,1	36,1	36,1	36,1	36,1	

Estimation de l'incertitude liée à la stabilité

$$u_{st}^2 = 0,0002$$

Estimation de l'incertitude liée à l'homogénéité

$$u_h^2 = 0,0008$$

**Relevé des mesures** en °C

											M	s
Etalon	36,02	36,02	36,02	36,02	36,02	36,02	36,02	36,02	36,02	36,02	36,0	0,0
Sonde	36,2	36,2	36,2	36,2	36,3	36,2	36,2	36,2	36,2	36,2	36,2	0,0

Correction d'étalonnage = -0,18 °C

Incertitude type composée = 0,10 °C

Incertitude élargie = 0,21 °C

**Commentaires**

Plage de mesures 10.00 à 10.09

## Annexe 3 : Rapport de caractérisation d'enceinte

 <b>POLE DE BIOLOGIE PATHOLOGIE GENETIQUE</b>	<b>FICHE ENREGISTREMENT</b>	<b>FE/QRE/040</b>
	Caractérisation des enceintes climatiques Constat de vérification	<b>V : 01</b>
		<b>Date : 29/08/2011</b>

### Matériel vérifié :

Type	Marque	N° interne	N° de série
Etuve BF 240	Binder	GMAO 81632 - CH104	05-90517

### Méthode

Date	Opérateur	Instruction
05/10/2011	E. CHARBONNIER	FIGRE/011

### Matériel utilisé

#### Type :

	Identification	N° de série	Incertitude en ° C
Capteur 1	CARTO A	D50000001D147321	0,17
Capteur 2	CARTO B	CB0000001D12C421	0,17
Capteur 3	CARTO C	210000001D2E6A21	0,17
Capteur 4	CARTO D	2F0000001D25F021	0,17
Capteur 5	CARTO E	A60000001CFE0321	0,17
Capteur 6	CARTO F	920000001A8B4741	0,17
Capteur 7	CARTO G	20000001D5D6A21	0,17
Capteur 8	CARTO H	0F0000001CC80521	0,17
Capteur 9	CARTO I	8C0000001CF58821	0,17

L'incertitude à utiliser est l'incertitude type composée du capteur figurant sur le certificat d'étalonnage interne ou l'incertitude d'étalonnage.

### Spécifications

Température Spécifiée ( $X_{sp}$  en ° C) : 36

Tolérance ( $\pm$  en ° C) : 2

Valeur de consigne ( $X_{co}$  en ° C) : 36

Ce constat comprend 3 pages et 0 pages d'annexes. Sa reproduction n'est autorisée qu'en fac-similé intégral.

Le responsable métrologie : Eric CHARBONNIER

Signature



temps de mesure	Carlo A	Carlo B	Carlo C	Carlo D	Carlo E	Carlo F	Carlo G	Carlo H	Carlo I
22:30:00	35,5	35,5	36	36	35,5	35	35,5	35	34,5
22:31:00	35,5	35,5	36	36	35,5	35	35,5	35	34,5
22:32:00	35,5	35,5	36	36	35,5	35	35,5	35	34,5
22:33:00	35,5	35,5	36	36	35,5	35	35,5	35	34,5
22:34:00	35,5	35,5	36	36	35,5	35	35,5	35	34,5
22:35:00	35,5	35,5	36	36	35,5	35	35,5	35	34,5
22:36:00	35,5	35,5	36	36	35,5	35	35,5	35	34,5
22:37:00	35,5	35,5	36	36	35,5	35	35,5	35	34,5
22:38:00	35,5	35,5	36	36	35,5	35	35,5	35	34,5
22:39:00	35,5	35,5	36	36	35,5	35	35,5	35	34,5
22:40:00	35,5	35,5	36	36	35,5	35	35,5	35	34,5
22:41:00	35,5	35,5	36	36	35,5	35	35,5	35	34,5
22:42:00	35,5	35,5	36	36	35,5	35	35,5	35	34,5
22:43:00	35,5	35,5	36	36	35,5	35	35,5	35	34,5
22:44:00	35,5	35,5	36	36	35,5	35	35,5	35	34,5
22:45:00	35,5	35,5	36	36	35,5	35	35,5	35	34,5
22:46:00	35,5	35,5	36	36	35,5	35	35,5	35	34,5
22:47:00	35,5	35,5	36	36	35,5	35	35,5	35	34,5
22:48:00	35,5	35,5	36	36	35,5	35	35,5	35	34,5
22:49:00	35,5	35,5	36	36	35,5	35	35,5	35	34,5
22:50:00	35,5	35,5	36	36	35,5	35	35,5	35	34,5
22:51:00	35,5	35,5	36	36	35,5	35	35,5	35	34,5
22:52:00	35,5	35,5	36	36	35,5	35	35,5	35	34,5
22:53:00	35,5	35,5	36	36	35,5	35	35,5	35	34,5
22:54:00	35,5	35,5	36	36	35,5	35	35,5	35	34,5
22:55:00	35,5	35,5	36	36	35,5	35	35,5	35	34,5
22:56:00	35,5	35,5	36	36	35,5	35	35,5	35	34,5
22:57:00	35,5	35,5	36	36	35,5	35	35,5	35	34,5
22:58:00	35,5	35,5	36	36	35,5	35	35,5	35	34,5
22:59:00	35,5	35,5	36	36	35,5	35	35,5	35	34,5

$\bar{X}_{mj}$	35,5	35,5	36,0	36,0	35,5	35,0	35,5	35,0	34,5
$S_j$	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
$U_{mj}$	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34
$\bar{X}_{mj}-U_j$	35,16	35,16	35,66	35,66	35,16	34,66	35,16	34,66	34,16
$\bar{X}_{mj}+U_j$	35,84	35,84	36,34	36,34	35,84	35,34	35,84	35,34	34,84

$X_{air}$  35,38 °C

05

### Exploitation

Temps de récupération de la température (graphiquement) : 32 min

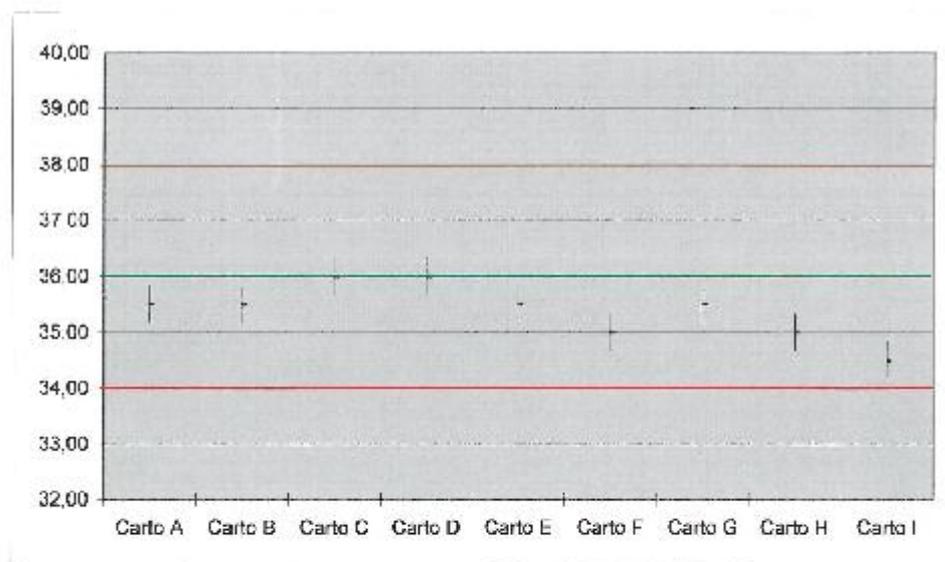
Homogénéité :  $H_0 = 2,2 \text{ } ^\circ\text{C}$

Stabilité :  $SI = 0,5 \text{ } ^\circ\text{C}$

Ecart de consigne :  $E_{00} = 0,61 \text{ } ^\circ\text{C}$

### Récapitulatif

	Carto A	Carto B	Carto C	Carto D	Carto E	Carto F	Carto G	Carto H	Carto I
$\bar{X}_{mj} + U_j$	35,16	35,16	35,66	35,66	35,16	34,66	35,16	34,66	34,16
$\bar{X}_{mj} - U_j$	35,84	35,84	36,34	36,34	35,84	35,34	35,84	35,34	34,84
$\bar{X}_{mj}$	35,5	35,5	36,0	36,0	35,5	35,0	35,5	35,0	34,5



02

# Annexe 4 : Programme d'étalonnage

		<b>FICHE ENREGISTREMENT</b>		FE/QRE/043
<b>POLE DE BIOLOGIE PATHOLOGIE GENETIQUE</b>				
CBP - Institut des Prestations Communes <i>EF QRE Cellule Qualité</i>		<b>Programme d'étalonnage</b>		
		V : 01		
		Date : 15/09/2011		
		Page 1 sur 3		

Ce programme est établi en application des paragraphes NF EN ISO/CEI 17025 et NF EN ISO 15189 ainsi que des documents de référence et d'application correspondants du Cofrac. Il est établi pour une unité technique ou secteur de laboratoire.

**Remarques :**

OM = opération métrologique (étalonnage, vérification, caractérisation)

Caractéristiques mesurées : à présenter sous la forme cible  $\pm$  EMT

Raccordement : préciser interne ou externe et le document technique lié.

Les incertitudes recherchées mentionnent 2 valeurs : la première basée sur la règle du 1/4 de l'EMT adoptée par le SH GTA 01, la seconde basée sur le 1/3 de l'EMT (consensus OIML)

**Secteur : Microbiologie – Hygiène/Légionelles.**

**Grandeur : température**

Equipement : nom et id.	Utilisation/caractéristiques mesurées	Incertitude recherchée	Raccordement	Périodicité	Dernière OM	Date limite Prochaine OM
Thermobouton SDC 104	Surveillance d'étuve 36°C $\pm$ 2	0,5 - 0,67°C	Interne, FI/QRE/012	Annuelle	08/11/2011	08/11/2012
Thermobouton SDF 028	Surveillance réfrigérateur 5°C $\pm$ 3	0,75 - 1°C	Interne, FI/QRE/012	Annuelle	09/11/2011	09/11/2012
Thermobouton SDF 035	Surveillance réfrigérateur 5°C $\pm$ 3	0,75 - 1°C	Interne, FI/QRE/012	Annuelle	09/11/2011	09/11/2012
Sonde SDC AH 045	Surveillance Bain-Marie 50°C $\pm$ 1	0,25 - 0,33°C	Interne, FI/QRE/012	Annuelle	08/11/2011	08/11/2012
Thermobouton SDC 065	Cartographie Bain Marie 50°C $\pm$ 1	0,25 - 0,33°C	Interne, FI/QRE/012	Annuelle	08/11/2011	08/11/2012
Thermobouton SDC 070	Cartographie Bain-Marie 50°C $\pm$ 1	0,25 - 0,33°C	Interne, FI/QRE/012	Annuelle	08/11/2011	08/11/2012
Thermobouton SDC 075	Cartographie Bain-Marie 50°C $\pm$ 1	0,25 - 0,33°C	Interne, FI/QRE/012	Annuelle	08/11/2011	08/11/2012
Thermobouton SDC 077	Cartographie Bain-Marie 50°C $\pm$ 1	0,25 - 0,33°C	Interne, FI/QRE/012	Annuelle	08/11/2011	08/11/2012
Thermobouton SDC 111	Cartographie Bain-Marie 50°C $\pm$ 1	0,25 - 0,33°C	Interne, FI/QRE/012	Annuelle	08/11/2011	08/11/2012

		<b>FICHE ENREGISTREMENT</b>		FIQRE/043
<b>POLE DE BIOLOGIE PATHOLOGIE GENETIQUE</b>				
<b>CBP - Institut des Prestations Communes</b>		<b>Programme d'étalonnage</b>		
<i>C.F. QRE Cellule Qualité</i>				
		V : 01		
		Date : 15/09/2011		
		Page 2 sur 3		

Equipement : nom et id.	Utilisation/caractéristiques mesurées	Incertitude recherchée	Raccordement	Périodicité	Derniers OM	Date limite Prochaine OM
Chaîne de mesure CHY505, SN : 5400301	Etalon interne, -20°C	0,19 - 0,33°C	Externe, laboratoire accrédité	2 ans	15/09/2011	15/09/2013
	Etalon interne, 0°C	-	Externe, laboratoire accrédité	2 ans	15/09/2011	15/09/2013
	Etalon interne 5°C	<0,33°C	Externe, laboratoire accrédité	2 ans	15/09/2011	15/09/2013
	Etalon interne 37°C	0,13 °C	Externe, laboratoire accrédité	2 ans	15/09/2011	15/09/2013
	Etalon interne 100°C	-	Externe, laboratoire accrédité	2 ans	15/09/2011	15/09/2013
Etuvs Binder, CHA 104	Incubation à 38°C ± 2	ND	Interne, FIQRE/011	Annuelle	05/10/2011	05/10/2012
Bain Marie à agitation Julabo SW21, CHA 086	Incubation à 40°C ± 1	ND	Interne, FIQRE/011 adaptée	Annuelle	08/11/2011	08/11/2012
Réfrigérateur Liebherr FRO 029	Conservation 5°C ± 3	ND	Interne, FIQRE/011	2 ans	27/10/2011	27/10/2013
Réfrigérateur Liebherr FRO 035	Conservation 5°C ± 3	ND	Interne, FIQRE/011	2 ans	28/10/2011	28/10/2013

**Grandeur : Volume**

Equipement : nom et id.	Utilisation/caractéristiques mesurées	Incertitude recherchée	Raccordement	Périodicité	Derniers OM	Date limite Prochaine OM
Pipette automatique Gilson, n°C22388D, Id PIP142	Vérification selon ISO9655	ISO 9655-	Externe, laboratoire accrédité	Annuelle	07/11/2011	07/11/2012

	<b>FICHE ENREGISTREMENT</b>		FE/QRE/043
	<b>POLE DE BIOLOGIE PATHOLOGIE GENETIQUE</b>		V : 01
<b>CBP - Institut des Prestations Communes</b> <i>U.F. QRE Cellule Qualité</i>		<b>Programme d'étalement</b>	
		Date : 15/03/2011	
		Page 3 sur 3	

Grandeur : Temps

Equipement : nom et Id.	Utilisation/caractéristiques mesurées	Incertitude recherchée	Raccourciement	Périodicité	Dernière OM	Date limite Prochaine OM
Minuteur MIN 001	Incubation 30 ± 1 min	< 20 sec	Horloge parlante	Mensuelle	Cf fiche vie	Cf fiche vie
Minuteur MIN 001	Contact 5 ± 0.5 min	< 10 sec	Horloge parlante	Mensuelle	Cf fiche vie	Cf fiche vie

Validation :

Responsable métrologie

Référent métrologie du secteur

Université de Lille 2  
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES DE LILLE  
**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**  
Année Universitaire 2011/2012

**Nom : CHARBONNIER**

**Prénom : Eric**

**Titre de la thèse : Démarche qualité et accréditation des Laboratoires de Biologie Médicale. Déploiement de la fonction « métrologie ». Cas du Pôle de Biologie-Pathologie-Génétique du CHRU de Lille**

**Mots-clés : accréditation, biologie médicale, norme NF EN ISO 15189, fonction métrologie, raccordement, étalonnage.**

---

**Résumé :**

Soixante à soixante-dix pour cent des décisions médicales, cliniques, diagnostiques ou thérapeutiques s'appuient sur des résultats d'examen de biologie médicale. Ces résultats doivent donc être fiables et les laboratoires qui les produisent doivent prendre toutes les dispositions pour assurer cette fiabilité. L'accréditation selon la norme NF EN ISO 15189, imposée en France aux laboratoires de biologie médicale par l'ordonnance du 13 janvier 2010, apporte des éléments pour la maîtrise globale de l'activité notamment par la mise en place d'un système de management de la qualité. Celui-ci doit, entre autres, définir les aspects, tant administratifs que techniques, de maîtrise du processus de mesure : c'est le rôle de la fonction métrologie. Ce rôle couvre principalement la validation des méthodes, mais surtout la gestion et la qualification du matériel à travers les opérations d'étalonnage, de vérification et de raccordement au système international d'unités afin d'assurer la comparabilité des résultats obtenus.

La partie pratique de ce travail au Pôle de Biologie Pathologie Génétique du CHRU de Lille, a consisté à identifier et analyser les besoins, puis à mettre en œuvre progressivement toutes les opérations métrologiques nécessaires sur les équipements de mesure, hors les automates de laboratoire qui relèvent de la responsabilité des biologistes. Après une phase d'identification de l'existant et d'analyse des coûts, afin de décider de l'internalisation ou de l'externalisation de tout ou partie de la fonction, le projet de déploiement s'est articulé sur le calendrier d'accréditation du pôle en travaillant prioritairement sur les grandeurs volume et température. Les phases de rédaction des instructions techniques, de formation des référents ont précédé la réalisation des étalonnages des sondes thermiques, des cartographies des enceintes thermostatiques et la vérification des instruments volumétriques à piston. Au-delà de cette première étape, le projet se poursuivra sur le raccordement interne d'autres grandeurs et équipements.

---

**Membres du jury :**

**Président :** Professeur GRESSIER Bernard,

**Assesseur(s) :** Professeur ROUSSEAU Jean

**Membre(s) extérieur(s) :** Docteur ROUMIER Anne-Sophie