

Michel Dumontet \*

# Problématique de la maîtrise métrologique des instruments d'analyses automatiques

## RÉSUMÉ

La maîtrise des instruments d'analyses automatiques est indispensable à la qualité des résultats analytiques. Celle-ci passe par l'individualisation de la fonction métrologie, la formation métrologique du personnel, la maîtrise des documents qualité. Il faut également s'assurer des performances analytiques (répétabilité, reproductibilité, justesse...) et de la traçabilité d'étalonnage annoncées par le fabricant selon les exigences de la directive européenne 98-79-CE.

## MOTS-CLÉS

Instruments, fonction métrologie, confirmation métrologique.

## Problems of the metrological control of the automatic instruments of analyses

### SUMMARY

The control of the automatic instruments of analyses is essential with the quality of the analytical results. This one passes by the individualization of the metrological function, metrological training of the personnel, control of the documents quality. It is also necessary to be ensured of the analytical performances (repeatability, reproducibility, accuracy...) and of the traceability of calibration announced by the manufacturer according to requirements of the European directive 98-79 CE.

### KEYWORDS

Instruments, metrological function, metrological confirmation.

## I - Introduction

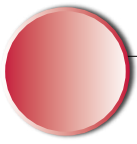
Les instruments d'analyses automatiques occupent une place croissante au sein des laboratoires d'analyses de biologie médicale, et la maîtrise du parc instrumental est devenue un élément essentiel de la qualité des résultats analytiques. Aussi le GBEA (1) consacre-t-il un chapitre entier aux instruments et souligne que : «Le responsable du laboratoire doit s'assurer de la mise en œuvre des moyens métrologiques nécessaires à leur vérification usuelle». La définition du terme «métrologie» présentée dans le point 2.2 du Vocabulaire International des termes fondamentaux et généraux de métrologie (VIM) (2) est enrichie d'une note qui rappelle que : « La métrologie, science de la mesu-

re, embrasse tous les aspects aussi bien théoriques que pratiques se rapportant aux mesurages », le mesurage étant l'action de mesurer et en l'occurrence d'effectuer une analyse quantitative.

De fait, la maîtrise métrologique des instruments passe par cinq composantes :

- la maîtrise de l'organisation et de la gestion de l'ensemble du parc instrumental qui peut être résolue par l'individualisation de la fonction métrologie ;
- une formation métrologique appropriée du personnel ;
- la maîtrise des documents qualité internes relatifs au domaine instrumental ;
- la traçabilité d'étalonnage ;
- la maîtrise des performances analytiques y compris la réactovigilance.

\* Laboratoire Claude Bernard – CH René Dubos - av. de l'Île de France - 95300 Pontoise  
Tél. : 01 30 75 42 50 - Fax : 01 30 75 53 69 - E-Mail : michel.dumontet@ch-pontoise.fr



## II - La fonction métrologie

Le nombre et la complexité des instruments utilisés par le laboratoire sont tels qu'il est souhaitable d'individualiser la fonction métrologie. Celle-ci, selon la norme NF EN ISO 10 012 (3), « ...a la responsabilité administrative et technique de définir et mettre en œuvre le système de management de la mesure. »

Les responsabilités de cette fonction doivent être définies, les ressources nécessaires assurées, son indépendance vis-à-vis des sollicitations diverses préservée. D'après le GBEA, en V.I.c, le responsable assurance qualité s'assure de la maintenance et du bon fonctionnement des instruments, il sera donc le plus souvent désigné par la direction du laboratoire comme responsable de la fonction métrologie : ses qualités, ses multiples tâches, la mise en place de la fonction métrologie, la maîtrise générale des processus de mesure ont été abordés et détaillés par ailleurs (4). La direction du laboratoire peut également désigner des biologistes et/ou techniciens référents, spécialement formés, responsables de tel ou tel instrument.

## III - Formation métrologique du personnel

L'expérience quotidienne, les exigences du GBEA et de la norme d'accréditation NF EN ISO 15189 (5), puis la directive 98/79/CE (6) suivie d'une série de normes spécifiques à la biologie médicale (7) ont fait prendre conscience aux biologistes et aux techniciens de l'insuffisance de la formation universitaire dans le domaine de la métrologie.

Il est indispensable que le responsable métrologique de chaque laboratoire bénéficie d'une formation métrologique appropriée et que le laboratoire dispose pour la formation interne de son personnel des référentiels propres aux laboratoires d'analyses de biologie médicale (1, 5) et des documents métrologiques de base présentés dans les documents A (7) et B (4) élaborés par le groupe de travail « Assurance qualité et métrologie » de la SFBC.

Il est également nécessaire qu'un nombre suffisant de techniciens et/ou biologistes bénéficie de formations spécifiques pour la maîtrise des principaux instruments d'analyses automatiques, des pipettes et diluteurs, des températures...

## IV - Maîtrise des documents qualité

Le GBEA et/ou la norme NF EN ISO 15 189 exigent que soient élaborés au sein du laboratoire un certain nombre de documents relatifs à la métrologie qu'ils soient organisationnels (procédure générale de maîtrise des instruments, instructions d'étalonnage, de contrôle, d'utilisation, de maintenance) ou enregistrements destinés à assurer

la traçabilité documentaire (inventaire, dossiers instruments, registres de maintenance, certificats d'étalonnage, relevés des contrôles de qualité et d'actions correctives, etc.) (4).

## V - Exactitude de mesure, traçabilité, valeur vraie

Afin de faciliter l'interprétation des résultats analytiques et le suivi de leur évolution, il est hautement souhaitable qu'il y ait uniformisation des résultats des analyses pratiquées dans le temps dans le même laboratoire ou dans des laboratoires différents : les divers systèmes analytiques doivent assurer l'exactitude (VIM 1993 ; 3.5) des résultats. Pour que ces derniers soient aussi proches que possible de la valeur vraie, il est nécessaire qu'il y ait traçabilité d'étalonnage, c'est-à-dire que les résultats analytiques soient raccordés aux étalons internationaux ou, à défaut, à des matériaux d'étalonnage de niveau supérieur (8) par l'intermédiaire des valeurs assignées aux calibrateurs et d'« une chaîne ininterrompue de comparaisons ayant toutes des incertitudes de mesure déterminées » (VIM : 1993 ; 6.10).

Dans la pratique, la valeur vraie (VIM :1993 ; 1.20) ne pouvant être obtenue que par un mesurage parfait, on parle, pour la valeur attribuée au calibrateur, de valeur conventionnellement vraie (VIM :1993 ; 1.20) aussi appelée valeur de référence ou valeur assignée. Il est indispensable de promouvoir un plus grand nombre de matériaux de référence avec indication de leur valeur assignée et de l'incertitude de mesure associée et de méthodes de référence.

Par ailleurs, afin d'obtenir l'exactitude des résultats, il est également indispensable que le système analytique puisse assurer :

- la justesse afin que l'instrument fournisse des résultats exempts d'erreur systématique ;
- la répétabilité des résultats à l'intérieur d'une même série ;
- la reproductibilité des résultats dans le temps.

## VI - Performances analytiques des instruments

### 1. Justesse d'un instrument (VIM : 1993 ; 5.25)

La justesse est : «L'aptitude d'un instrument.. à donner des indications exemptes d'erreur systématique», c'est-à-dire qu'il y ait étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir des résultats d'une large série d'analyses sur un échantillon ou des échantillons issus d'un même lot, et la valeur de référence acceptée. Celle-ci peut être la valeur obtenue par un laboratoire de référence utilisant une méthode de référence et un étalon

## Problématique de la maîtrise métrologique des instruments d'analyses automatiques

raccordé à l'étalon international (traçabilité d'étalonnage) lorsque cela est possible ou la moyenne des résultats obtenus par un groupe de laboratoires utilisant, lors d'une confrontation inter-laboratoires, la même méthode d'analyse avec le même type d'instrument.

Les erreurs de justesse peuvent être dues :

- **en cas d'erreur systématique constante**, aux conditions opératoires de température (hémotase), de pression barométrique (gaz du sang) ou à des problèmes de réactif ou de blanc.
- **en cas d'erreur systématique proportionnelle**, à des problèmes d'étalonnage.

### 2. Répétabilité et reproductibilité des résultats (VIM : 1993 ; 3.6 et 3.7)

L'instrument doit être apte à donner des résultats très voisins lors de la répétition de la même analyse :

- sur le même échantillon, dans les mêmes conditions de mesure, durant une courte période de temps : on parle alors de **répétabilité** des résultats ou de fidélité de l'instrument (VIM : 1993 ; 5.27)
- sur des échantillons issus du même lot, par exemple de matériau de contrôle, dans des conditions de mesure qui varient (opérateurs multiples, changements de lots d'étalon, de réactifs, changements de température ambiante, de pression atmosphérique etc.) : on parle alors de **reproductibilité**.

La répétabilité et la reproductibilité s'expriment quantitativement à l'aide des caractéristiques de dispersion des résultats, l'écart-type ou le coefficient de variation.

Le manque de reproductibilité (erreur aléatoire) peut être dû à la détérioration des réactifs lors du stockage ou de l'emploi, à des différences entre lots de réactifs, à des contaminations, mais souvent des influences instrumentales sont en jeu : maintenances non respectées, système de prélèvement ou de distribution déréglé, mélange réactionnel déficient (bruit de mesure, manque de propreté des cuves de mesure, détérioration de la source du signal : lampe, filtre, trajet optique..).

### 3. Limite de détection, limite de quantification (9, 10)

- La limite de détection est la quantité minimale détectable pour laquelle le signal mesuré peut être distingué avec une probabilité donnée du signal donné par un blanc de réaction. Il est plus particulièrement nécessaire de la vérifier lorsqu'elle est proche du seuil de décision clinique, par exemple pour les dosages de l'hCG, du PSA, etc.

- Il peut être nécessaire de déterminer et de vérifier une seconde limite, au-dessus de la limite de détection, dénommée limite de quantification (ou parfois sensibilité fonctionnelle) et correspondant à la concentration à partir de laquelle le coefficient de variation est inférieur à un seuil fixé en fonction des exigences cliniques, par exemple 10 % pour les troponines, 20 % pour certaines hormones.

## VII - Courbes d'étalonnage en immuno-analyse (10)

En immuno-analyse les réactions sont complexes, l'étendue de mesure peut être importante, sur plusieurs puissances de 10 (alpha-foeto-protéine, HCG, TSH) et l'on a des courbes et non des droites d'étalonnage. Il est alors nécessaire d'utiliser en double cinq à six calibrateurs de concentrations en progression géométrique et de tracer par interpolation la courbe qui passe par les différents points d'étalonnage.

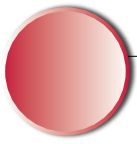
L'automatisation de l'interpolation peut se faire par interpolation linéaire, par équation logistique de Rodbard, par fonction spline... Chacun de ces modèles a des inconvénients et nécessite, avant validation de l'étalonnage, une observation visuelle de la courbe afin de repérer les éventuels points anormaux : le meilleur des modèles mathématiques ne peut transformer une mesure défectueuse en résultat de qualité...

Les courbes d'étalonnage mémorisées en usine ou au laboratoire lors de la première utilisation d'un nouveau lot de réactifs se sont généralisées afin d'éviter les dépenses excessives. Pour tenir compte des variations environnementales et de l'évolution des réactifs dans le temps, ces courbes d'étalonnage doivent être repositionnées dans chaque série analytique à l'aide d'un ou deux calibrateurs passés en double.

Le ré-étalonnage en un point nécessite une parfaite stabilité du système analytique et des réactifs, le ré-étalonnage en deux points est préférable, mais ne met à l'abri de déformation de la courbe qu'au voisinage des deux points de ré-étalonnage. Quoiqu'il en soit ces pratiques nécessitent des calibrateurs, spécimens de contrôles et réactifs en parfait état de conservation ; des problèmes apparaissent souvent avec le vieillissement du réactif. Des spécimens de contrôles doivent être inclus dans chaque série en nombre suffisant : deux niveaux ou trois niveaux si l'étendue de mesure est importante. De plus, il est important que l'utilisateur puisse visualiser et éditer les courbes d'étalonnage ainsi que les valeurs des signaux des calibrateurs dont les évolutions peuvent être révélatrices d'anomalies.

## VIII - Maîtrise des instruments d'analyses automatiques et directive 98/79/CE (6)

Si la maîtrise des instruments de mesure (balances, pipettes, thermomètres etc.) est simple et bien codifiée (11, 12), la maîtrise des instruments d'analyses automatiques se révèle complexe en raison de la diversité de leurs composantes : systèmes de prélèvement et de distribution, système de thermostatisation, système de mesure qui, chaque fois que cela est possible, doivent être vérifiés par l'utilisateur ou le service après-vente notamment lors des confirmations métrologiques (voir, IX - Vali-



dation, vérifications et confirmations métrologiques, contrôles de qualité).

Les essais de contamination sont faciles à mettre en œuvre. Pour les vérifications de températures, une sonde thermique étalon peut être utilisée lorsque le compartiment thermostaté est accessible ou, à défaut, on peut recourir à des solutions thermosensibles (9). De même, les solutions de sels d'holmium peuvent être utilisées pour vérifier l'exactitude de diverses longueurs d'onde et des solutions de NADH et de bichromate de potassium permettent de vérifier les absorbances et la stabilité de mesure des spectro-photomètres.

Cependant, le plus souvent, ces systèmes demeurent inaccessibles aux vérifications métrologiques par l'utilisateur et leur maîtrise ne peut être isolée de l'ensemble du système analytique qui comprend l'instrument, la méthode, les réactifs, les matériaux de référence (matériau d'étalonnage ou calibrateur et matériau de contrôle.)

La directive 98/79/CE relative aux Dispositifs Médicaux de Diagnostic In Vitro (DMDIV) dont font partie les systèmes analytiques apporte des avancées certaines en ce domaine :

- Les DMDIV doivent satisfaire à des exigences essentielles, atteindre les performances analytiques annoncées par le fabricant dans la notice d'utilisation, par exemple, sensibilité et spécificité analytiques et diagnostiques, exactitude, répétabilité, reproductibilité, limite de détection.
- La notice d'utilisation doit également comprendre les informations nécessaires à l'utilisateur sur :
  - la traçabilité des valeurs attribuées aux matériaux d'étalonnage et ou de contrôle (voir, V - Exactitude de mesure, traçabilité, valeur vraie) ;
  - la fréquence des opérations d'entretien, d'étalonnage etc ;
  - le contrôle de qualité interne, y compris les méthodes de validation ;
  - les intervalles de référence.
- Une procédure de réacto-vigilance est instituée, l'ordonnance du 1<sup>er</sup> mars 2001 (13) qui transpose la directive précise que : « le fabricant, le distributeur, les professionnels de santé utilisateurs sont tenus de signaler sans délai à l'Afssaps toute défaillance ou altération d'un DMDIV susceptible d'entraîner des effets néfastes pour la santé des personnes. ».

### IX - Validation, vérifications et confirmations métrologiques, contrôles de qualité

Au moment du choix de l'instrument d'analyse il est nécessaire de s'assurer que les méthodes utilisées sur ces instruments ont été correctement validées (14,15,16), que les performances analytiques et la traçabilité métrologique annoncées par le fabricant répondent aux exigences cliniques et à l'état de l'art, notamment à l'aide de publications indépendantes et des résultats des évaluations externes de la qualité. De même lors de l'instal-

lation de l'instrument, puis à intervalles de temps réguliers, lors de son utilisation, il est nécessaire de procéder ou de faire procéder par le service après-vente à la vérification de certaines des performances analytiques annoncées (17) et à la confirmation métrologique de l'automate, celle-ci étant : « L'ensemble des opérations nécessaires pour assurer qu'un équipement de mesure répond aux exigences correspondant à l'utilisation prévue » (3) et comportant, outre la vérification, l'étalonnage et les ajustages ultérieurs, éventuellement les réparations, puis la comparaison aux exigences spécifiées. De fait, pour un automate multiparamétrique de biochimie, par exemple, pourraient être vérifiées les répétabilités pour quelques analyses dépendant de chacun des modes de mesure, par exemple le glucose (spectrophotométrie classique), le sodium (électrode spécifique), une enzyme (ultra-violet), éventuellement la limite de détection ou de linéarité pour les analyses où celles-ci peuvent être critiques (hCG, troponine, oestradiol). La maîtrise et le suivi au jour le jour du système analytique seront assurés grâce au contrôle de qualité interne qui permet également de déterminer les reproductibilités pour chaque analyte (18).

### X - Conclusion

Pour assurer la qualité des résultats analytiques le GBEA puis la directive européenne 98/79/CE ont ouvert la voie à une série de normes spécialement destinées à la biologie médicale. Celles-ci insistent notamment sur la maîtrise des systèmes analytiques qui nécessite l'individualisation de la fonction métrologie, une formation métrologique appropriée du personnel, la généralisation des vérifications et confirmations métrologiques et le suivi quotidien des instruments grâce aux contrôles de qualité internes : ce travail de maîtrise métrologique et analytique est à la base du métier de biologiste et plusieurs documents de recommandations sur ces divers aspects sont actuellement en cours d'élaboration par le groupe Assurance Qualité et Métrologie de la SFBC.

### BIBLIOGRAPHIE

- (1) « Guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale ». Arrêté du 26 novembre 1999, Journal Officiel de la République Française du 11 décembre 1999 : II, 3.
- (2) NF X 07-001 - Décembre 1994 : « Vocabulaire International des termes fondamentaux et généraux de Métrologie » (VIM).
- (3) NF EN ISO 10012 - septembre 2003 : Système de management de la mesure. Exigences pour les processus et les équipements de mesure.
- (4) DUMONTET M., VASSAULT A., FUSS-OHLEN I., GUITEL F., PERRIN A., GIROUD C., ROBINEAU S., BRACONNIER F., BEAUDEUX J.L., LE MOEL G., Groupe Assurance Qualité et Métrologie de la SFBC, 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.
- (5) NF EN ISO 15189 - octobre 2003 : « Laboratoire d'analyses de biologie médicale - Exigences particulières concernant la qualité et la compétence ».
- (6) Directive 98/79/CE du parlement européen et du conseil du 27 octobre 1998, rela-

## Problématique de la maîtrise métrologique des instruments d'analyses automatiques

tive aux « dispositifs médicaux de diagnostic in vitro » Journal Officiel des Communautés Européennes 7.12.98, L 331-1 à L 331-37.

(7) DUMONTET M, FUSS-OHLEN I, BEAUDEUX JL, PERRIN A., VASSAULT A., GIROUD C., LE MOEL G., GUITEL F, ZIANI S., ZERAH S., ROBINEAU S., BRACONNIER F. « Présentation à l'usage des laboratoires d'analyses de biologie médicale, des normes de métrologie - Document A », *Ann. Biol. Clin.*, 2004, **62**, 121-125.

(8) GIROUD C. « La métrologie au laboratoire – Dispositif médicaux de diagnostic in vitro et équipements de mesure » In HENNEQUIN – LE MEUR C., LACOUR B. « Le management de la qualité » Vanves, édition FM/BIO, 2004

(9) BAUD M., COHEN R., DUMONT G., MERCIER M., NAUDIN C., VASSAULT A. /Commission Validation de Techniques de la SFBC « Evaluation de la limite de détection » *Inf. Sci. Biol.*, 1989, **15**, 157-63.

(10) BESNARD J.C. ; MORIN J.KF. « Immuno-stat : outils statistiques en immuno-analyse » Paris, Editions Nucléon, 1997.

(11) Groupe de travail Assurance Qualité et Métrologie de la SFBC. « Recommandations pour la maîtrise métrologique des instruments de mesure- Document D », *Ann. Biol. Clin.*, à paraître.

(12) « Guide de métrologie à l'usage des laboratoires d'analyses de biologie médicale » - Collège français de métrologie, Paris, 2003.

(13) Ordonnance n°2001-198 du 1er mars 2001 relative à la transposition de la directive 98/79/CE du parlement européen et du conseil du 27 octobre 1998 relative aux « dispositifs médicaux de diagnostic in vitro ».

(14) VASSAULT A. et al/ Commission Validation de Techniques de la SFBC « Protocole de validation de techniques – Document B, stade 3, *Ann. Biol. Clin.*, 1986, **44**, 686-745.

(15) FEINBERG M. «La validation des méthodes d'analyses », Masson, Paris, 1996.

(16) COFRAC « Guide de validation des méthodes en biologie médicale » Document LAB GTA 04. Révision 00 – juin 2004.

(17) NF EN 14136 – juillet 2004 : Utilisation des programmes d'évaluation externe de la qualité dans l'évaluation de la performance des procédures de diagnostic *in vitro*.

(18) DUMONTET M. « Contrôle de qualité et maîtrise métrologique des instruments d'analyses automatiques » *Spectra biologie*, à paraître.