

Les Webinars du



Réunion n°27 du Club des Laboratoires Accrédités

*Partage d'expériences, évolutions dans le domaine de
l'accréditation, évolutions normatives...*

Utilisation des AVAP selon l'ISO 8655-10 : 2024

I. Présentation du CT2M

II. Déroulement du webinar

III. Thématique : Utilisation des AVAP selon l'ISO 8655-10 : 2024

IV. Questions / réponses

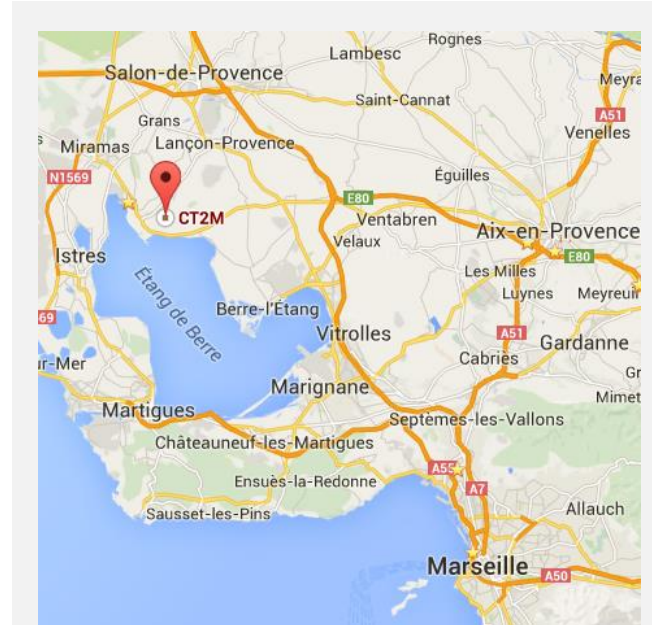
V. Conclusion

Le CT2M :

- ✓ Créé en 1993
- ✓ Laboratoire d'étalonnage de masses accrédité COFRAC selon l'ISO 17025 depuis 1994 (N° accréditation 2-1292, Portée disponible sur www.cofrac.fr)
- ✓ Statut SCOP depuis le 1^{er} avril 2016

Une équipe de 8 formateurs / consultants :

David BENHAMOU.....	dbenhamou@ct2m.fr
Laure DOMENECH.....	ldomenech@ct2m.fr
Boris GEYNET.....	bgeynet@ct2m.fr
Lise HEGRON.....	lhegron@ct2m.fr
Nicolas GARTNER.....	ngartner@ct2m.fr
Cécilia BOYON.....	cboyon@ct2m.fr
Margaux VITELA.....	mvitela@ct2m.fr
Océane ANTOINE.....	oantoine@ct2m.fr



✉ Centre des Creusets
Route de Lançon
13250 SAINT CHAMAS

📞 04 90 50 90 14

💻 www.ct2m.fr



Formation / Conseil / Audit

→ Formations sur votre site, sur-mesure, à distance

« Accompagner les laboratoires dans leurs projets

Qualité et Métrologie »

Contact : David BENHAMOU

dbenhamou@ct2m.fr

06.78.00.10.26

Qualiopi
processus certifié

REPUBLICQUE FRANÇAISE

La certification qualité a été délivrée au titre de la catégorie d'action suivante :
ACTIONS DE FORMATION

Organisation de comparaisons interlaboratoires (CIL)

« Organiser des CIL conformément à l'ISO 17043 et sous accréditation
COFRAC pour les CIL sur l'étalonnage de masses de 1 mg à 20 kg »

Contact : Boris GEYNET

bgeynet@ct2m.fr

06.83.94.60.87



N° accréditation 1-7127

Portée disponible sur www.cofrac.fr

Etalonnage de masses pour toutes les classes jusqu'au E2

« Etalonner et vérifier des masses de 1 mg à 5 tonnes
sous accréditation COFRAC »

Contact : Anaïs LAMOUR

alamour@ct2m.fr

04.90.50.90.14



N° accréditation 2-1292

Portée disponible sur www.cofrac.fr

Ils nous font confiance...

AP-HM, AP-HP, HCL
CHU, LABM
EFS, Bioqualité,
Biosanté,
SANOFI, EDQM
ARKOPHARMA
BIOMERIEUX

**Biologie
Médicale**
Pharmaceutique

EDF, CEA, ORANO, IRSN
EICHROM
MIRION
CARSO
PROTEC
PRONETEC
LDA, SCL

Energie
Environnement

DGA
Airbus
Naval Group
Aviation civile
Marine Nationale
STMicroelectronics,
AIA Ambérieu et Cuers

Electronique
Aéronautique
Défense

Agroalimentaire
Chimie
Pétrochimie

Total
Nestlé
Arcelor
Coca Cola
Royal Canin
Geogaz, SEPR
Lyondellbasell

- ✓ Les échanges se font par écrit dans le **fil de conversation**
- ✓ Les questions sont abordées **au fil de la présentation**
- ✓ Les **réponses aux questions** sont apportées :
 - Lorsqu'elles concernent le sujet qui est abordé
 - Si elles peuvent intéresser les autres participants
 - En fin de webinar si elles n'ont pas pu l'être avant

La **présentation** sera disponible sur notre site internet :

<https://ct2m.fr/communication/petits-dejeuners/>

La **vidéo du webinar** vous sera transmise avec un lien disponible 1 semaine uniquement.



LE PARTENAIRE À VOTRE MESURE

Thématique : Utilisation des AVAP selon l'ISO 8655-10 : 2024

1. **Domaine d'application**
2. Exigences et bonnes pratiques
3. Qualification de l'utilisateur
4. Qualification de l'AVAP

1. Domaine d'application

La série des normes ISO 8655 est un ensemble de standards internationaux concernant les appareils volumétriques à piston (AVAP) utilisés en laboratoire.

La norme **ISO 8655-10**, publiée en mars 2024 :

- fournit des recommandations aux utilisateurs concernant la **sélection** des appareils volumétriques à piston (AVAP) et les **bonnes pratiques d'utilisation**,
- spécifie également des exigences relatives à la **formation** et aux **compétences** des utilisateurs,
- décrit les **tolérances de performance** des AVAP pour garantir leur adéquation à l'usage prévu.

1. Domaine d'application
2. **Exigences et bonnes pratiques**
3. Qualification de l'utilisateur
4. Qualification de l'AVAP

GENERALITES :

- Il est recommandé de sélectionner un AVAP offrant un volume nominal **proche du volume à distribuer.**
- Les cônes en plastique des pipettes à déplacement d'air sont conçus pour un **usage unique.** Ils ne doivent pas être nettoyés en vue de les réutiliser, car leurs caractéristiques métrologiques ne seront plus fiables.
- Lorsque le cône est monté sur la pipette, il peut être utilisé pour procéder à **plusieurs cycles d'aspiration et de distribution.**

:

2. Exigences et bonnes pratiques



Réglage du volume :

- Faire pivoter les pipettes dotées d'un mécanisme à piston à vis au moins **d'un tiers de tour au-dessus du volume souhaité**, puis de le tourner de nouveau dans le sens inverse jusqu'au volume souhaité.

EXEMPLE : Une pipette d'un volume nominal de 200 μ L réglée pour un volume souhaité de 100 μ L.



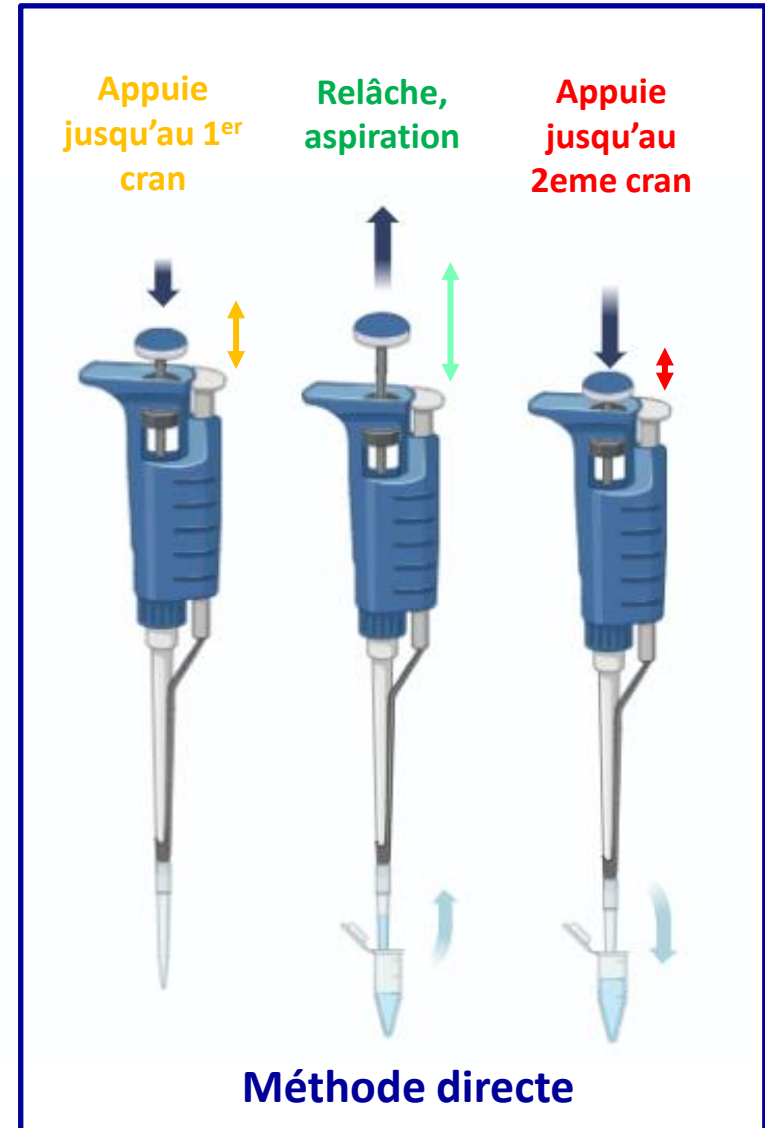
- Ramener l'AVAP à volume variable au **réglage du volume nominal pour le stockage.**

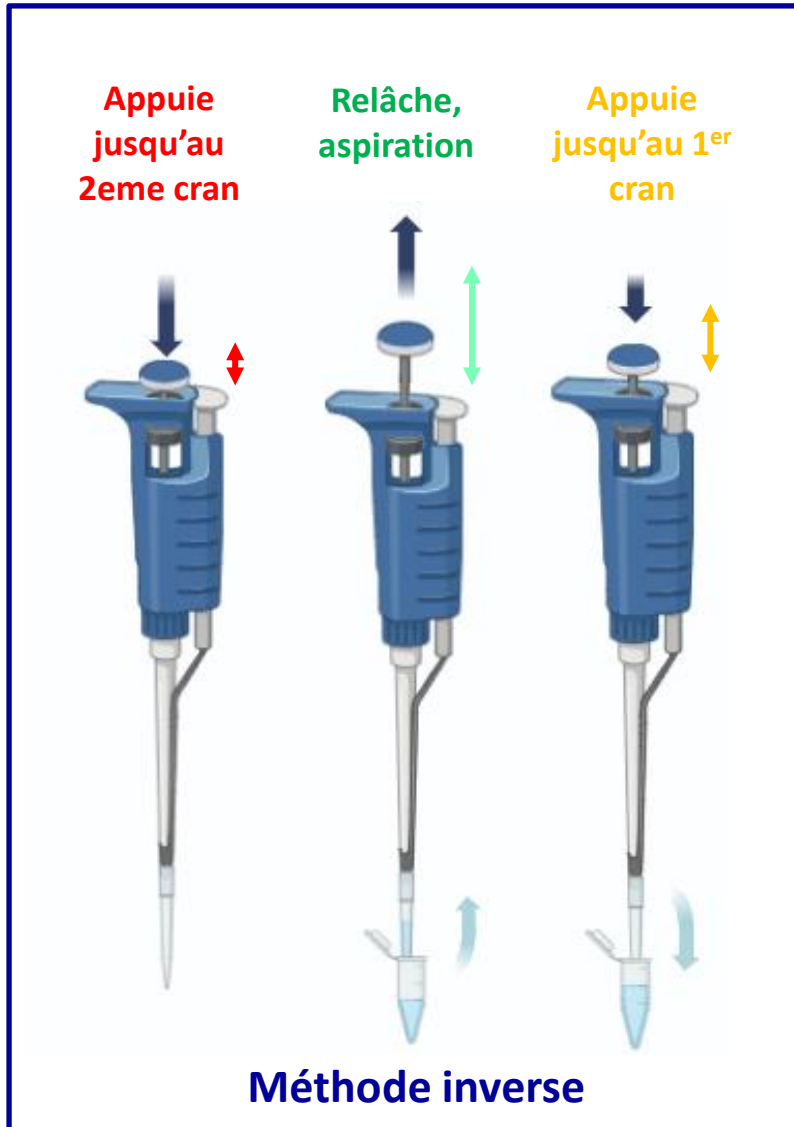
Humidification préalable des cônes :

- Après avoir installé un nouveau cône sur la pipette, il convient d'aspirer le volume souhaité de solution échantillon et de le distribuer à **cinq reprises au moins**.
 - En cas d'environnements présentant une très faible humidité ou de pipetage de liquides volatils, il convient de réaliser plus de cinq cycles d'humidification préalable.
- Veiller à ne pas aspirer d'air dans le cône de la pipette entre la distribution et l'aspiration du prochain échantillon.

Pipetage en mode direct (liquides aqueux) :

1. Appuyer sur le piston jusqu'à la première butée,
2. Immerger le cône de la pipette dans la solution échantillon,
3. Relâcher le piston dans un mouvement lent (mais constant) pour aspirer l'échantillon,
4. Distribuer l'échantillon dans le récipient de destination, de préférence le long de la paroi, en appuyant sur le piston jusqu'à la première butée, en effectuant une pause si possible, puis en appuyant de nouveau jusqu'à la deuxième butée.





Pipetage en mode indirect (liquides visqueux) :

1. Appuyer le piston jusqu'à la deuxième butée,
2. Immerger le cône de la pipette dans l'échantillon liquide,
3. Aspirer dans un mouvement lent, mais constant,
4. Distribuer l'échantillon liquide dans le récipient de destination en appuyant sur le piston jusqu'à la première butée seulement.

→ Une partie de l'échantillon liquide aspiré reste dans le cône de la pipette au terme de la distribution de la quantité souhaitée.

→ Veiller à ce que le liquide aspiré n'entre pas en contact avec le filtre.

Equilibre thermique :

- Le matelas d'air entre le piston et la solution échantillon est sensible à la température.
- La pipette, le cône et l'échantillon doivent atteindre un équilibre thermique afin d'obtenir des résultats corrects.
- Si ce n'est pas possible (ex : liquides chauds ou froids) :
 - l'effet sur l'exactitude du volume distribué doit être pris en compte
 - utiliser des pipettes à déplacement positif

Transfert thermique :

Moyens d'éviter de chauffer la pipette en cas d'utilisation prolongée :

- port des gants,
- pas d'utilisation en continu pendant des durées prolongées (plus de 10 min),
- stockage des pipettes sur leur support désigné,
- utilisation de modèles de pipettes conçus pour réduire le transfert thermique dû aux mains de l'utilisateur.

Profondeur d'immersion :

- Immerger l'orifice du cône pour pipette à la profondeur appropriée en dessous de la surface de l'échantillon liquide
- Maintenir l'orifice du cône à cette profondeur tout en aspirant l'échantillon liquide dans le cône de la pipette

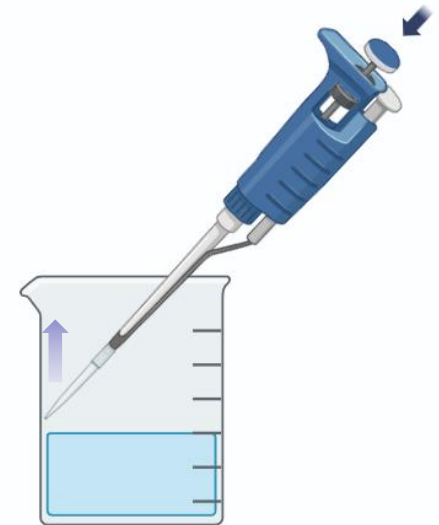
Profondeurs d'immersion du cône pour pipette au cours de l'aspiration d'échantillon liquide	
Volume à pipeter (μl)	Profondeur d'immersion en dessous de la surface de la solution échantillon (mm)
0,1 à 1	1 à 2
1,1 à 100	2 à 3
101 à 1000	2 à 4
> 1001	3 à 6

Position du cône durant l'aspiration :

- Tenir la pipette de sorte que le cône soit bien droit (position verticale).
- Pas de contact avec les parois ou le fond du récipient pour échantillon.

Position du cône durant la distribution :

- Placer le cône de la pipette contre la paroi du récipient à un angle de 30° à 45° au-dessus de la surface du liquide de sorte à pouvoir distribuer l'intégralité de l'échantillon.
- Faire glisser le cône le long de la paroi du récipient sur une distance de 5 mm à 8 mm afin de s'assurer qu'aucune gouttelette n'adhère au cône lors de son retrait du récipient.



Pause après aspiration :

- Laisser immergé l'orifice du cône en dessous de la surface de l'échantillon liquide pendant un certain temps une fois que le piston est revenu dans sa position initiale au terme de sa course d'aspiration.

Durée de la pause après aspiration de liquide aqueux	
Volume de liquide aspiré (μ l)	Pause après aspiration (s)
0,1 à 1	1
1,1 à 100	1
101 à 1000	1
> 1001	3 ou plus *

* Pour les pipettes d'un volume nominal de plus de 5 ml, la pause peut durer jusqu'à 5 s afin de permettre un parfait équilibre de la pression.



**Pas recommandé
d'essuyer le cône**

2. Exigences et bonnes pratiques

Bonnes pratiques pour des liquides dont les propriétés diffèrent de celles de l'eau:

Type	Propriétés	Moyens de Maîtrise
Liquides visqueux	Liquide épais, s'écoule avec difficulté	<ul style="list-style-type: none"> • Utiliser des pipettes à déplacement positif • Si pipette à déplacement d'air : pipetage inverse • Réduire la vitesse d'aspiration • Augmenter les temps d'attente après l'aspiration et la distribution • Possibilité d'utiliser des cônes à large orifice et à faible rétention
Solutions biologiques	Viscosité élevée ou faible tension superficielle Et/ou composants qui peuvent se séparer de la solution	<ul style="list-style-type: none"> • Utiliser des pipettes à déplacement positif si viscosité élevée ou adhérence de composants dans le cône • Si pipette à déplacement d'air : pipetage inverse • Utiliser des cônes à large orifice, en particulier pour pipeter des cellules en suspension.

2. Exigences et bonnes pratiques

Type	Propriétés	Moyens de Maîtrise
Liquides volatils	Taux d'évaporation supérieur par rapport à l'eau	<ul style="list-style-type: none"> • Humidification préalable des cônes • Utiliser des seringues ou des pipettes à déplacement positif
Liquides contenant des tensio-actifs	Les tensio-actifs (détergents) altèrent la tension superficielle du liquide (possibilité de mousse)	<ul style="list-style-type: none"> • Utiliser des pipettes à déplacement positif • Si pipette à déplacement d'air : pipetage inverse • Utiliser des cônes à filtre
Liquides corrosifs	Les bases et acides minéraux forts, les solutions salines concentrées, ainsi que les solvants organiques peuvent interagir avec les matériaux de la pipette	<ul style="list-style-type: none"> • Utiliser des cônes à filtre • Pipettes à déplacement positif de type D2 • Veiller à ce que le liquide ou l'aérosol ne pénètre pas dans l'embout de la pipette • Contrôler, entretenir et étalonner la pipette plus fréquemment

1. Domaine d'application
2. Exigences et bonnes pratiques
3. **Qualification de l'utilisateur**
4. Qualification de l'AVAP

3.1) Formation de l'utilisateur :

- Des **erreurs aléatoires et systématiques significatives** peuvent être introduites par la technique employée par son utilisateur.
- Dans le cas de certains types d'AVAP, tels que les pipettes, l'utilisateur ET l'AVAP forment **un système** et la performance volumétrique globale dépend de l'AVAP et de son utilisateur.



- Les personnes qui utilisent des AVAP ou les étalonnent **doivent être formées** pour apprendre à se servir correctement de l'appareil et il convient d'actualiser leurs connaissances **à intervalles réguliers**.

3.2) Compétences de l'utilisateur :

- Définir les **exigences de compétence** pour chaque utilisateur d'AVAP, y compris les **exigences de qualification et de formation**.
 - Evaluer la compétence de l'utilisateur à intervalles réguliers et **au moins une fois par an**.
 - Détermination de la fréquence et la méthode d'évaluation de la compétence de l'utilisateur par **une évaluation des risques** du travail de l'utilisateur en laboratoire.
 - Les tolérances imposées concernant l'utilisateur de l'AVAP doivent être déterminées par les exigences du laboratoire.
 - L'essai doit comporter **au moins 4 répétitions par volume**
- Surveillance possible de la compétence de l'utilisateur au moyen d'**essais d'aptitude** ou d'une **comparaison de plusieurs utilisateurs**.

3.3) Qualification de l'utilisateur :

- La qualification de l'utilisateur doit inclure **une formation (3.1) et une compétence avérée (3.2)** dans l'utilisation de l'AVAP.
- La documentation de la qualification doit contenir au moins les informations suivantes:
 - l'identification de l'utilisateur et du formateur,
 - l'identification de l'AVAP et type d'embout utilisés,
 - les conditions ambiantes,
 - les volumes pour lesquels l'utilisateur a été formé / évalué,
 - les critères de l'évaluation des compétences de l'utilisateur (par ex : erreurs aléatoire et systématique ou incertitudes),
 - une référence à l'ISO 8655-10 et à la méthode d'essai employée,
 - les résultats de mesure volumétrique pour chaque volume distribué,
 - le nombre total de répétition de mesurages effectués et nombre de résultats de mesure utilisés pour l'analyse statistique,
 - la date de l'essai et sa durée de validité.

1. Domaine d'application
2. Exigences et bonnes pratiques
3. Qualification de l'utilisateur
4. **Qualification de l'AVAP**

Exigences en matière de performances métrologiques :

- Les **exigences de performance** peuvent différer des EMT énoncées dans les normes ISO 8655 (par exemple Tolérance du procédé de manipulation de liquide).

Fréquence de qualification de l'AVAP :

- Une confirmation métrologique doit être effectuée à intervalles réguliers et **au moins une fois par an**.
- Des **essais de routine** doivent être réalisés à intervalles réguliers, de préférence à des intervalles de temps plus courts.
- La fréquence doit être fondée sur une **évaluation des risques**.
- L'évaluation des risques comprend une évaluation de **l'impact du résultat du procédé** en cas d'utilisation d'un volume de liquide incorrect, ainsi que de sa **probabilité d'occurrence**.

Répétitions des mesurages n :

- L'étalonnage d'un AVAP nécessite de réaliser au moins 10 mesurages pour chaque volume défini. Les essais de routine peuvent être effectués avec moins de 10 mesurages par volume défini, **mais pas moins de 4** (réduction du niveau de confiance).
- L'incertitude calculées augmente lorsque le nombre de répétitions de mesurages n diminue.

Règles de décision de réussite/échec :

- La règle de décision pour la détermination de la réussite ou de l'échec de l'AVAP aux essais doit être **convenue et documentée**.
 - Réussite ou échec déterminé **en évaluant les erreurs systématiques et aléatoires** en fonction des limites de tolérance établies.
 - **L'incertitude élargie du volume distribué moyen** doit être estimée (contributions du système de mesure, de l'AVAP soumis à essai et du processus de distribution de liquides) : incertitude d'étalonnage.
 - **L'incertitude de mesure lors de l'utilisation d'un seul volume distribué** peut être estimée : incertitude de mesure.
 - L'impact du nombre de répétitions sur le niveau de confiance doit être pris en compte.
- Possibilité de ne pas statuer et d'en rester aux résultats d'étalonnage.

4. Qualification de l'AVAP

Plage sûre de manipulation des liquides :

Légende

X volume sélectionné, en μl

Y incertitude du volume distribué, en %

a incertitude relative, en %

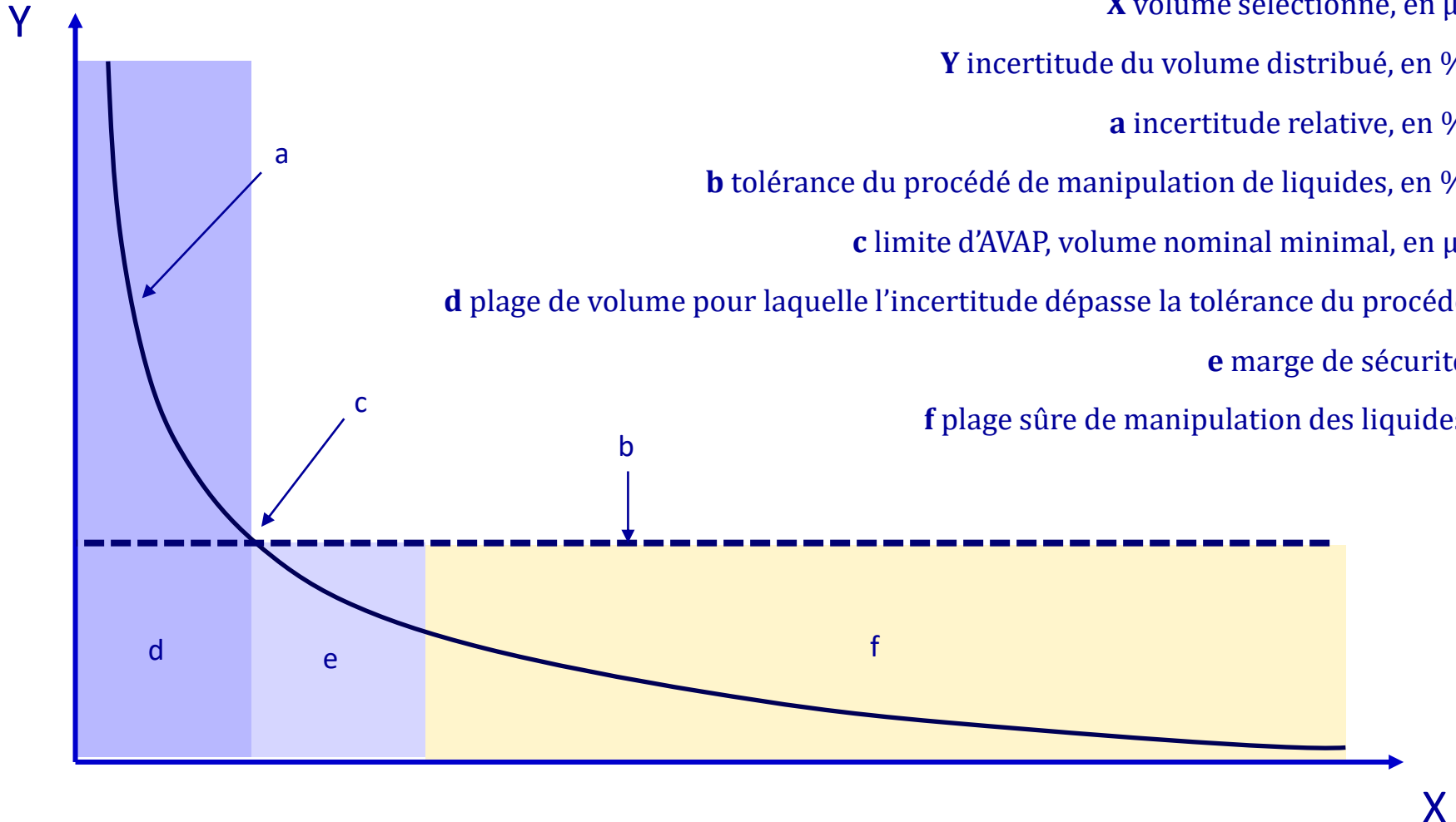
b tolérance du procédé de manipulation de liquides, en %

c limite d'AVAP, volume nominal minimal, en μl

d plage de volume pour laquelle l'incertitude dépasse la tolérance du procédé

e marge de sécurité

f plage sûre de manipulation des liquides



Maintenance :

- Nécessité de réaliser une **maintenance de routine** afin de garantir une performance constante et d'éviter les défaillances.
- Le **niveau et la fréquence** de la maintenance dépendent de l'AVAP, de son utilisation et de son utilisateur.
- Détermination de la fréquence des opérations de maintenance en procédant à une **évaluation des risques**.
- Les opérations suivantes doivent être réalisées **au moins 1 fois par an** :
 - inspection physique (vérifier l'intégrité et bon fonctionnement)
 - essai de fuite
 - remplacement et/ou lubrification des pièces sensibles à l'usure (joints, embouts porte-cône,...)
 - confirmation du montage et de l'éjection des pièces réutilisables ou à usage unique (ex : cônes pour pipettes).

Nos webinars

Les webinars (anciennement « Petits Déjeuners ») du CT2M sont l'occasion de discuter de vos préoccupations présentes et futures sur un thème particulier, en lien avec la métrologie et/ou la qualité.

Ils ont lieu 2 fois par an, courant juin et décembre, et se déroulent toujours un vendredi matin.

Ils sont totalement gratuits et ouverts à tous.

[En savoir plus](#)



Les thématiques des webinars passés ←

**Métrologie des
enceintes selon le FD X
15140 et évolutions du
LAB GTA 24**

Décembre 2023

**Métrologie des AVAP selon
l'ISO 8655 et LAB GTA 90**

Juin 2024

**Comparaison Inter-
laboratoires (CIL)**

Décembre 2022



LE PARTENAIRE À VOTRE MESURE

Nos formations sur le sujet :

Inscriptions : ct2m@ct2m.fr

Formation	Dates en INTER
MS4 – Métrologie des volumes	18 au 20 mars 2025
MS4B – Perfectionnement à la métrologie des volumes	20 et 21 mai 2025
MG1 – Métrologie par la pratique	3 au 6 juin 2025 4 au 7 novembre 2025

Inscriptions toujours ouvertes : CIL étalonnage de pipettes 2024/2025

Inscriptions et informations sur notre site internet

ou par mail : eil@ct2m.fr