

Guide du pipetage Gilson

Louis Pasteur,
le père de la biologie moderne,
1822-1895

Il y a plus d'un siècle, Louis Pasteur donnait une nouvelle forme aux pipettes en verre pour empêcher le reflux de liquide. La pipette Pasteur continue à être utilisée de nos jours. La première amélioration significative concernant les pipettes eut lieu à la fin des années 50 grâce à l'introduction d'une pipette à piston pour remplacer le pipetage par la bouche potentiellement dangereux. Les premières pipettes manuelles étaient équipées d'un volume préétabli (pipettes à volume fixe). Une amélioration supplémentaire fut apportée par l'introduction du réglage pas à pas (pipettes à volume variable).

Le pipetage depuis Louis Pasteur

En 1972, le docteur Warren Gilson introduisit une pipette de haute précision qui pouvait être réglée sur n'importe quel volume dans la limite de son domaine d'utilisation... pour n'importe quelle décimale (réglage continu). Son originalité... pour éviter toute erreur, résidait dans le fait que le volume sélectionné était affiché sur la pipette (lecture directe). Vingt-cinq ans plus tard, les pipettes de précision Gilson représentent la référence mondiale en termes d'exactitude, de fidélité et de fiabilité.



Photo publiée avec la permission de l'Institut Pasteur.

RÉPÉTABILITÉ
plaques de microtitration

VISCOSITÉ

ÉCHANTILLONS AQUEUX



CONTAMINATION

ADN ARN

DÉPLACEMENT POSITIF

Mode Direct

spécifications
JUSTESSE

PERFORMANCES

Deuxième Edition

Quitter

Imprimer

Sommaire



Chapitre 1 Choix de la pipette la mieux adaptée à votre application

Prise en compte des caractéristiques physiques de l'échantillon	7
▶ Échantillons aqueux	
▶ Échantillons visqueux	
▶ Échantillons radioactifs et corrosifs	
▶ Échantillons biologiques, ADN, ARN	
Principe de fonctionnement des pipettes à déplacement d'air et à déplacement positif	8
En savoir plus... Toutes les pipettes à déplacement d'air ne se valent pas	
En savoir plus... Pipetage sans faute	
Prise en compte du volume de liquide à transférer	14
▶ Plage d'utilisation des pipettes Pipetman	
▶ Plage d'utilisation des pipettes Microman	
▶ Plage d'utilisation des pipettes Distriman	
En savoir plus... Comment lire le volume ?	

Chapitre 2 Choix du cône correspondant à votre pipette

Évaluation des cônes	17
En savoir plus... Plus qu'il n'y paraît	
Choix du cône le mieux adapté à votre application	18
▶ Cônes en racks	
▶ Cônes stérilisés	
▶ Cônes à filtre	
En savoir plus... Comment empêcher la contamination par les aérosols ?	

Chapitre 3 Utilisation correcte

Organisation optimale du poste de travail	21
Mise en place d'un cône jetable	22
En savoir plus... Comment monter des cônes sur une pipette multicanal ?	
Affichage du volume	24
Recommandations pour le pipetage direct ou inverse	25
En savoir plus... Pré-rinçage	
Éjection du cône usagé et stockage de la pipette en position verticale	32
En savoir plus... Pourquoi utiliser un portoir de pipettes ?	

Chapitre 4 Prévention de la contamination

Types de contamination et méthodes pour les éviter	34
▶ Risque personnel	
▶ Pipette / échantillon	
▶ Échantillon / pipette	
▶ Échantillon / échantillon	
Décontamination du Pipetman	36

Chapitre 5 Entretien de la pipette

Diagnostic rapide - Inspection du Pipetman en deux minutes	39
En savoir plus... Comment déterminer l'âge de la pipette ?	
En savoir plus... Comment empêcher la corrosion du piston ?	
En savoir plus... Comment obtenir une mise en place correcte des cônes ?	
En savoir plus... Quelles sont les principales causes de fuites ?	
En savoir plus... Comment les solvants organiques provoquent-ils des fuites ?	
Réparation au laboratoire ou retour au SAV ?	43

Chapitre 6 Étalonnage et réglage

À quoi correspondent les spécifications publiées ?	45
En savoir plus... Qu'est-ce que l'exactitude ? Qu'est-ce que la fidélité ?	
Calcul de l'exactitude et de la fidélité volumétriques	46
Utilisation de la méthode gravimétrique	47
Procédure d'étalonnage	49
Fréquence des tests	49

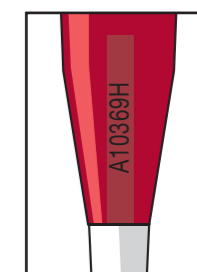
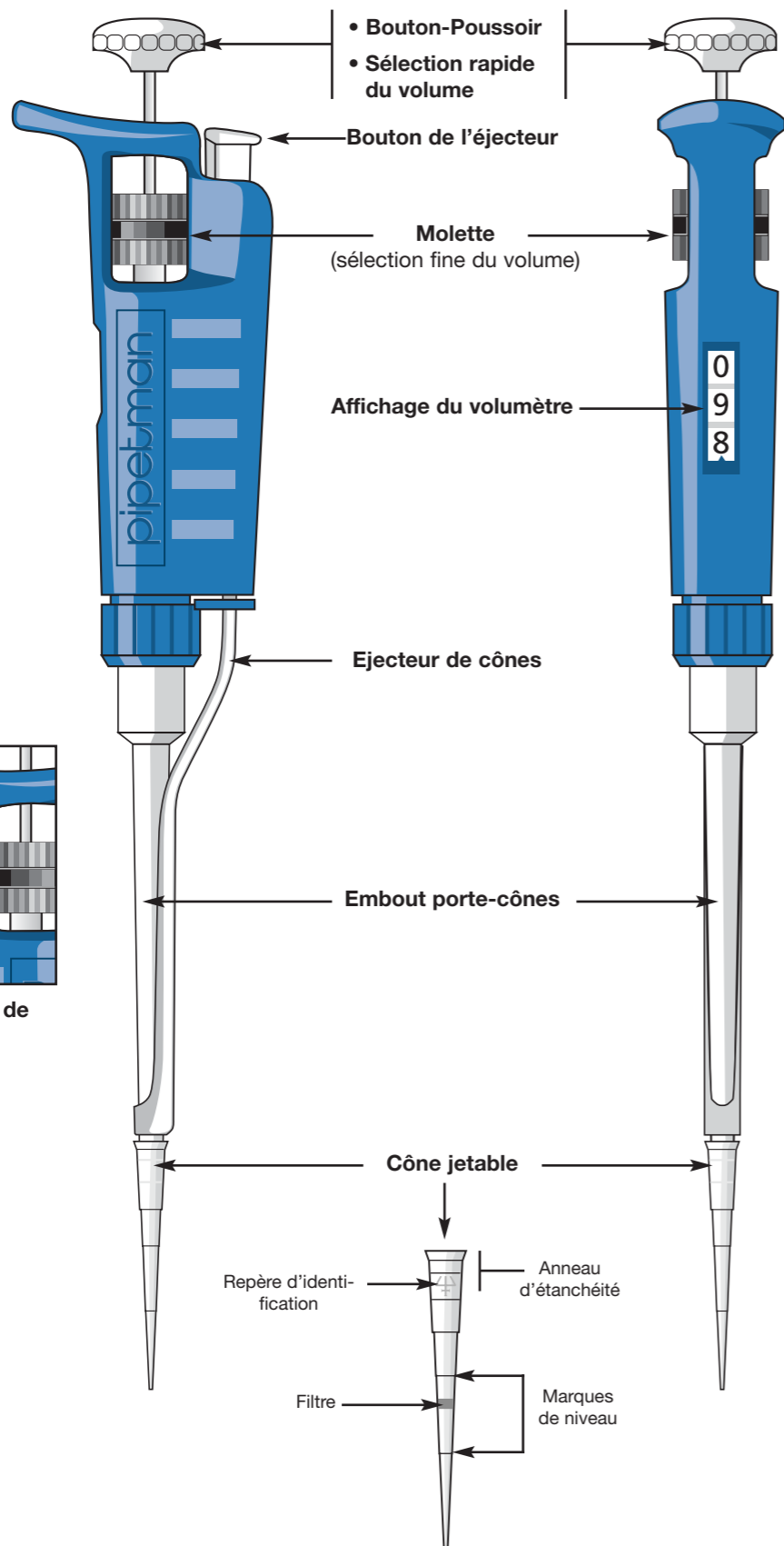
Glossaire

Annexe

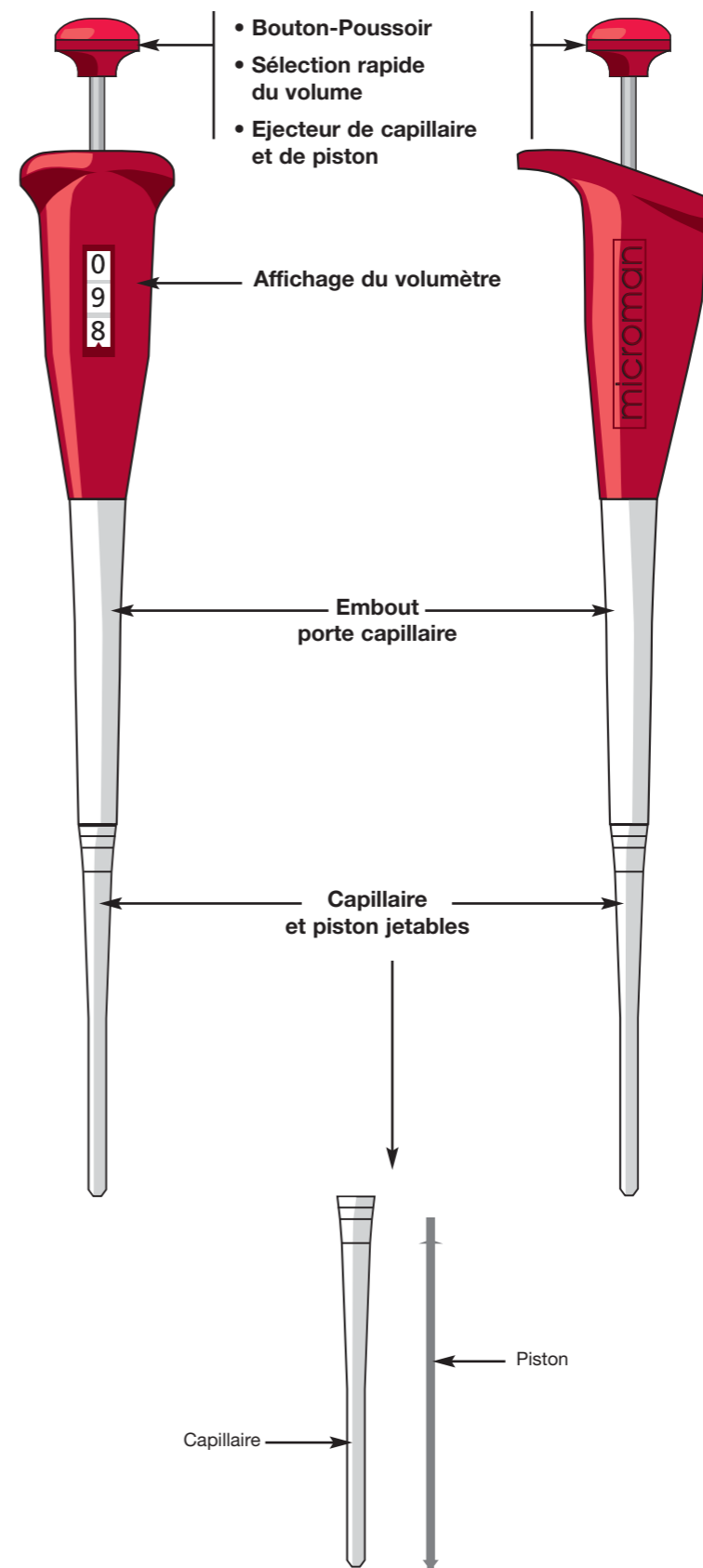
ANNEXE I • Exemple d'étalonnage	52
ANNEXE II • Facteur Z	53
ANNEXE III • Perte par évaporation	54



Numéro de série



Numéro de série



Choix de la pipette la mieux adaptée à votre application

De nos jours, il existe des pipettes pour répondre pratiquement à tous vos besoins..., solutions aqueuses, composés denses, visqueux ou radioactifs, séquençage de l'ADN, distribution d'échantillons liquides, remplissage de plaques de microtitration, etc.

Le type d'analyse que vous effectuez, les caractéristiques physiques du liquide et le domaine d'utilisation déterminent le choix de la pipette et des cônes à utiliser.

Chapitre 1

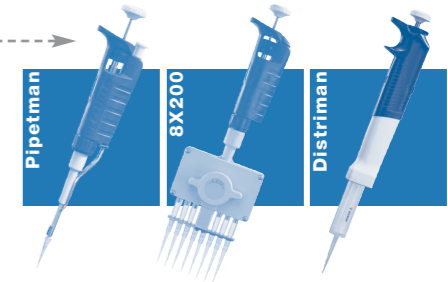


Échantillons aqueux

Échantillons aqueux

À condition d'être manipulées et entretenues correctement, les pipettes **Pipetman**® donneront des résultats exacts avec la plupart des liquides rencontrés dans les laboratoires.

Pour distribuer un grand nombre de fractions, utilisez plutôt une pipette à répétition **Distriman**™.



Échantillons visqueux

Échantillons visqueux ou volatils

Dans ces cas, la pipette **Microman**® est plus facile à utiliser. Le **Microman** vous fournit des résultats reproductibles avec des échantillons très visqueux, tels que le glycérol, les détergents et le miel. Le **Microman** est également recommandé pour des liquides particulièrement volatils (chloroforme) ou denses (mercure) qui sont souvent difficiles à aspirer.



Échantillons radioactifs, corrosifs, ...

Échantillons radioactifs et corrosifs

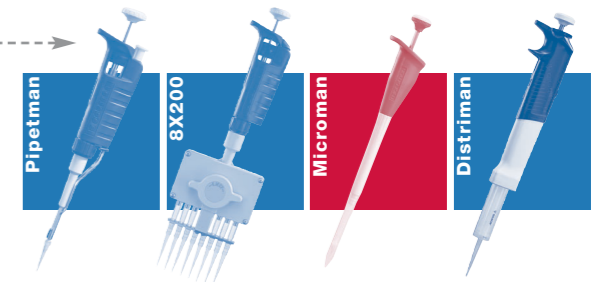
Les pipettes **Microman** sont spécialement étudiées pour traiter des liquides agressifs sans danger pour l'utilisateur ni risque pour l'instrument.



Échantillons biologiques, ADN, ARN

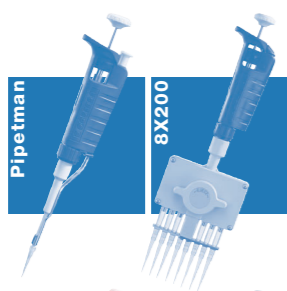
Échantillons biologiques, ADN, ARN

Vous avez le choix d'utiliser soit un **Pipetman** avec des cônes à filtre autoclavables **Diamond**® (0,1 µL- 1 ml), soit un **Microman** autoclavable (Modèles M10 et M100) avec des capillaires et pistons stérilisés. Utilisés correctement, ces appareils assurent des résultats fidèles et exempts de contamination. Pour des distributions multiples, optez plutôt pour une pipette à répétition **Distriman** avec une microseringue stérilisée **DistriTip**™.

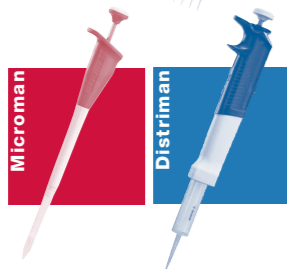


1.2 Principe de fonctionnement des pipettes à déplacement d'air et à déplacement positif

Les pipettes des gammes **Pipetman**, **Microman** et **Distriman** se différencient surtout par leur principe de fonctionnement.



Les **Pipetman** (à un ou plusieurs canaux) sont des pipettes **à déplacement d'air**.



Les **Microman** et **Distriman** sont des pipettes **à déplacement positif**.

Important Le piston parfait

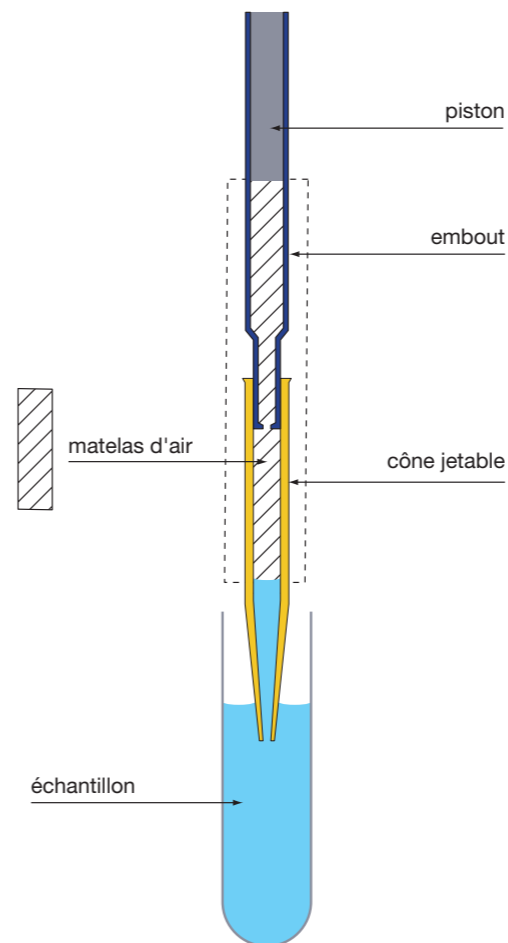
Quand vous sélectionnez le volume sur une pipette à déplacement d'air, le piston ajuste le volume du matelas d'air, qui à son tour détermine le volume de liquide à aspirer. Afin que le volume d'échantillon corresponde exactement au volume sélectionné, le piston doit être parfait. Les pistons du **Pipetman** sont donc examinés individuellement pour s'assurer qu'ils ne présentent aucun défaut. Ils sont même nettoyés individuellement pour éliminer toute trace de poussière.

Le piston faisant partie intégrante des pipettes Pipetman, un piston parfait garantit une mesure parfaite.

Qu'est-ce qu'une pipette à déplacement d'air ?

Trois points essentiels

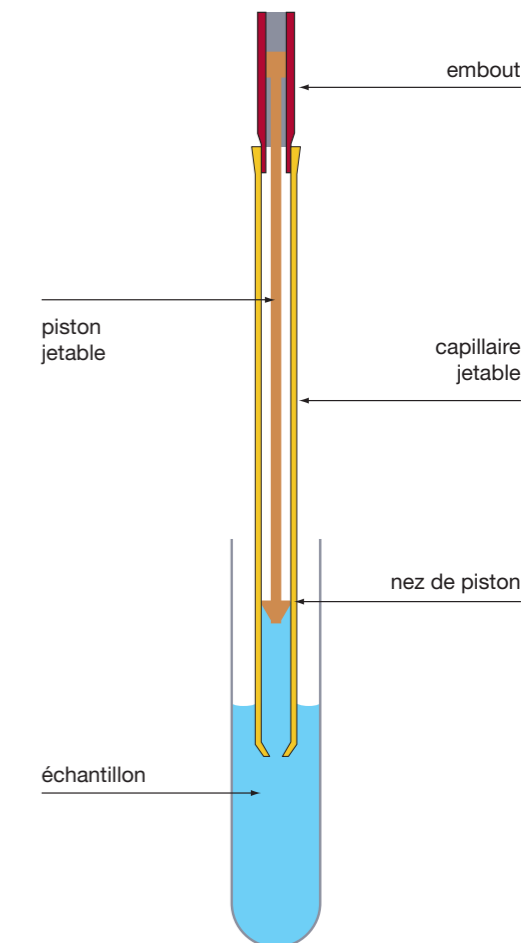
- 1 • Elles sont recommandées pour les échantillons aqueux et pour le travail de laboratoire en général.
- 2 • Il existe toujours un matelas d'air (volume mort) entre le piston de la pipette et l'échantillon liquide.
- 3 • Le piston fait partie intégrante de la pipette.



Qu'est-ce qu'une pipette à déplacement positif ?

Trois points essentiels

- 1 • Elles sont recommandées pour les échantillons difficiles (visqueux, denses, volatils, radioactifs, corrosifs).
- 2 • Le piston est en contact direct avec l'échantillon (sans matelas d'air).
- 3 • Le piston est un consommable (il ne fait pas partie intégrante de la pipette).



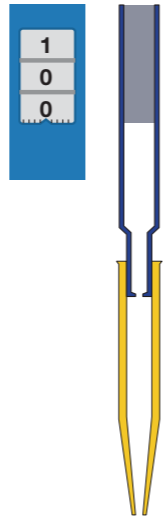
Comment fonctionnent les pipettes à déplacement d'air ?

Quand on appuie sur le bouton-poussoir d'une pipette à déplacement d'air, le piston descend pour laisser échapper l'air. **L'air est déplacé par le piston.** Le volume d'air déplacé correspond au volume de liquide pipeté.

Les schémas ci-contre montrent comment le piston détermine le volume d'air déplacé et ensuite le volume de l'échantillon aspiré.

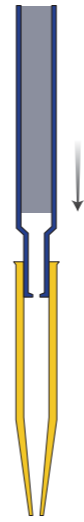
1 Sélection du volume

Le volume demandé est affiché. Le piston descend jusqu'à la position correspondante.



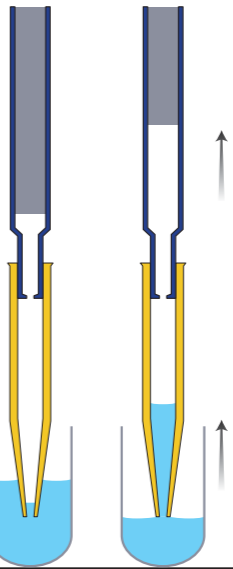
2 Préparation de l'aspiration

Le bouton-poussoir est actionné avant l'aspiration de l'échantillon. Le piston descend et chasse un volume d'air égal au volume de liquide sélectionné.



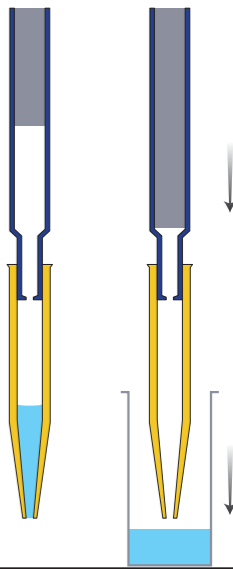
3 Aspiration de l'échantillon

Quand le bouton-poussoir est relâché, un vide partiel se crée à l'intérieur du cône. La pression atmosphérique fait monter le volume de liquide souhaité dans le cône.



4 Distribution de l'échantillon

Le bouton-poussoir est actionné à nouveau. La pression augmente à l'intérieur de l'embout et du cône. L'air comprimé chasse le liquide hors du cône.



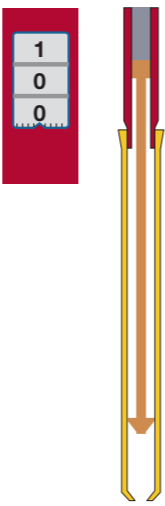
Comment fonctionnent les pipettes à déplacement positif ?

Les pipettes à déplacement positif fonctionnent comme des seringues. **Il n'y a pas de matelas d'air entre le piston jetable et l'échantillon.** Sans matelas d'air élastique pouvant se dilater ou se contracter, la force d'aspiration reste constante et n'est pas affectée par les caractéristiques physiques de l'échantillon.

Ceci permet à l'opérateur du Microman de pipeter des échantillons très visqueux, volatils ou à haute densité, tels que le mercure ou la pâte dentifrice.

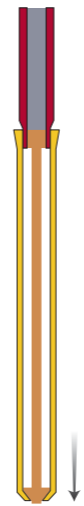
1 Sélection du volume

Le volume demandé est affiché. Le piston descend jusqu'à la position correspondante.



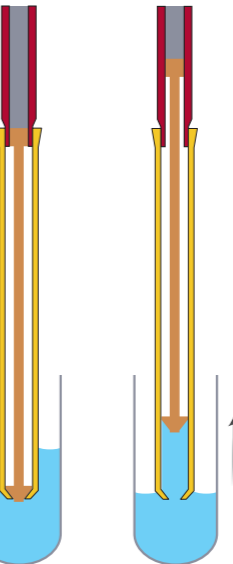
2 Préparation de l'aspiration

Le bouton-poussoir est actionné avant l'aspiration de l'échantillon. Le piston descend jusqu'à l'extrémité du capillaire.



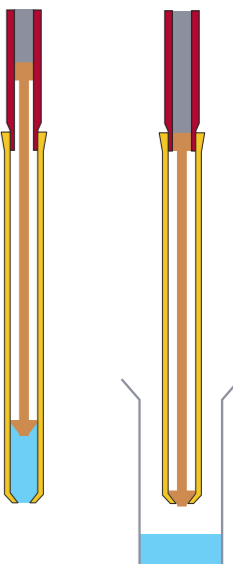
3 Aspiration de l'échantillon

L'orifice est ensuite immergé sous la surface du liquide. Quand le bouton-poussoir est relâché, le piston remonte et la pression ambiante fait monter le volume de liquide souhaité dans le capillaire.



4 Distribution de l'échantillon

Le bouton-poussoir est actionné à nouveau. Le piston descend et chasse le liquide hors du capillaire.



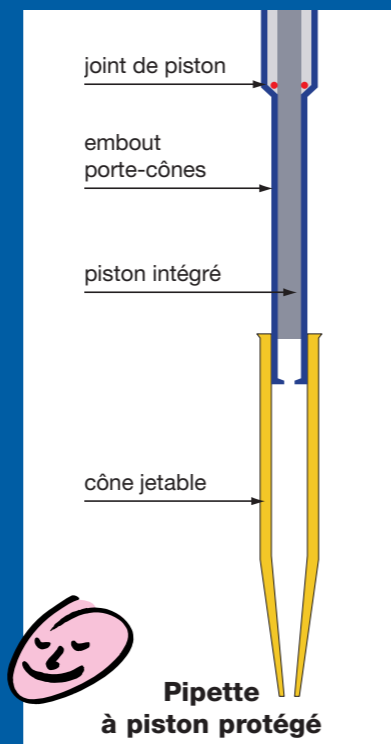

Toutes les pipettes à déplacement d'air ne se valent pas

Pour des applications comme le séquençage de l'ADN ou des procédures biochimiques qui nécessitent des échantillons minuscules et précieux, deux modèles de **Pipetman** assurent une exactitude et une fidélité exceptionnelles, de 0,1 à 2 μL pour le modèle P2 et de 0,5 à 10 μL pour le modèle P10.

Un volume d'air minimum entre le piston et l'échantillon rend la performance moins sensible aux variations de température et aux caractéristiques du liquide, telles que la pression et la densité de vapeur.

Choisissez une pipette à piston protégé pour éliminer tout risque de contamination croisée et de contact avec l'échantillon.

Le **Pipetman sans lubrification** nécessite un entretien réduit et diminue le risque de fuites et de contamination.



Important

Lubrification, pour ou contre ?

Certaines pipettes ont des pistons lubrifiés, d'autres – comme le **Pipetman** – utilisent une technologie à « joints secs ». Les pistons lubrifiés doivent être relubrifiés régulièrement sous peine de voir apparaître des fuites. La graisse peut être détériorée par les vapeurs des liquides pipetés... encore une cause de fuite. La lubrification peut aussi introduire des particules contaminantes dans le corps de la pipette.

Ne jamais lubrifier les Pipetman Gilson.

Pipetage sans faute

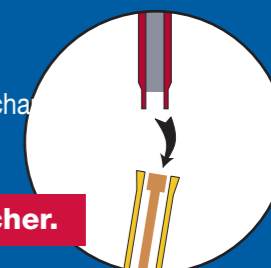
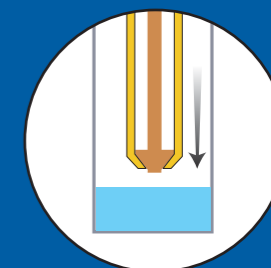
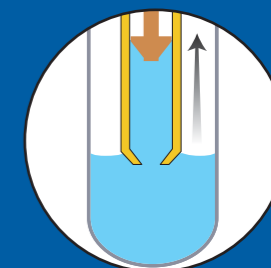
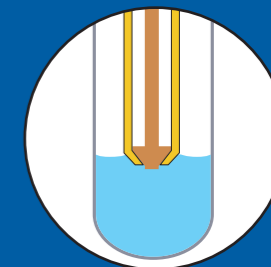
Le piston des Microman entre en contact direct (déplacement positif) avec l'échantillon. Il n'y a aucun matelas d'air qui se dilate ou se contracte en fonction de la densité ou de la température des échantillons.

Le volume demandé est aspiré entièrement. Le piston étanche empêche les aérosols dangereux, radioactifs ou corrosifs de pénétrer dans l'embout de la pipette.

Pendant la distribution, le piston se déplace le long de la paroi interne du capillaire avec une parfaite étanchéité, ce qui assure la distribution précise de pratiquement tout type d'échantillon visqueux, du glycérol à la colle.

Pour éviter toute contamination, le capillaire et le piston doivent être remplacés après chaque échantillon. Ils sont éjectés automatiquement.

... vous n'avez pas à les toucher.





Pipetman

Les huit modèles du Pipetman Gilson sont prévus pour distribuer des volumes précis entre 0,1 µL et 10 ml. Les Pipetman sont également disponibles pour des volumes fixes de 2 µL à 1 ml.

Modèle	Plage d'utilisation
P2	0.1 - 2 µL
P10	0.5 - 10 µL
P20	2 - 20 µL
P100	20 - 100 µL
P200	50 - 200 µL
P1000	200 - 1000 µL
P5000	1 - 5 mL
P10mL	1 - 10 mL



Microman

µL

Modèle	Plage d'utilisation
M10	1 - 10 µL
M25	3 - 25 µL
M50	20 - 50 µL
M100	10 - 100 µL
M250	50 - 250 µL
M1000	200 - 1000 µL



DistriMan

La pipette répétitive DistriMan accepte trois seringues différentes (micro, mini et maxi) permettant de distribuer des aliquotes (même fractionnées) entre 1 µL et 1,25 ml.

Seringue (Volume total de la seringue)	Plage d'utilisation des aliquotes
Micro (125 µL)	1 to 12.5 µL
Mini (1250 µL)	10 to 125 µL
Maxi (12.5 ml)	100 µL to 1.25 ml

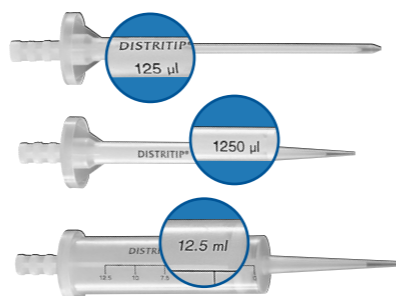
Important

Le volume maximal pour les pipettes **Pipetman** et **Microman** est indiqué sur le dessus du bouton-poussoir.



Important

Le volume total pouvant être aspiré est indiqué sur le côté de chaque seringue **DistriTip**.



En savoir plus

Q

Comment lire le volume ?

A

Le volume est indiqué sur le volumètre numérique



Pipetman P20

MIN.	INT.	MAX.
0	1	2
2	2	0
0	5	0
2 µl	12.5 µl	20 µl

Pipetman P200

MIN.	INT.	MAX.
0	1	2
5	2	0
0	5	0
50 µl	125 µl	200 µl

Pipetman P1000

MIN.	INT.	MAX.
0	0	1
2	7	0
0	5	0
200 µl	750 µl	1000 µl

Exemples d'affichage de volume d'un Pipetman

Le volume est affiché sous forme de trois chiffres lus de haut en bas. L'illustration à gauche montre l'affichage du volume minimum (MIN.) et maximum (MAX.). Elle montre également des exemples d'affichage de volumes intermédiaires (INT.).

Les chiffres en rouge représentent des dixièmes de microlitres (µL) sur la P20 et de millilitres (ml) sur la P1000. Vous trouverez la correspondance exacte avec les autres modèles en consultant votre documentation.

Exemples pris parmi les modèles de Pipetman les plus courants, P20, P200 and P1000.



Les micropipettes, telles que Pipetman et Microman, doivent toujours être utilisées en association avec un cône adapté. Les cônes pour les Microman sont également appelés "capillaires". Les cônes pour les Distriman sont également appelés "seringues".

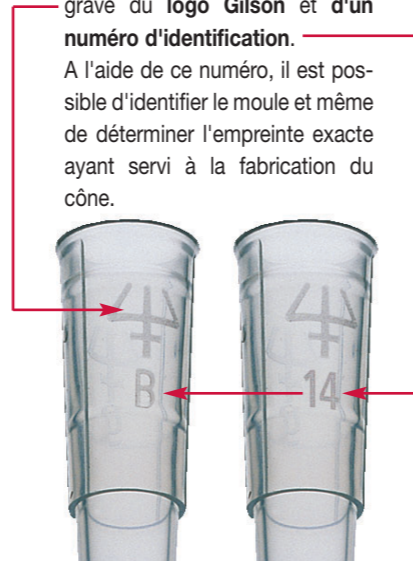
Utilisées correctement, toutes ces pipettes assurent exactitude et fidélité à condition d'utiliser les cônes Gilson adéquats.

Sécurité avant tout !
Les capillaires et pistons Gilson pour le Microman sont incassables. Le risque d'accident lié aux capillaires en verre est donc totalement éliminé.

GARANTIE DE QUALITÉ DE FABRICATION

Chaque cône de précision Diamond® est individuellement gravé du logo Gilson et d'un numéro d'identification.

A l'aide de ce numéro, il est possible d'identifier le moule et même de déterminer l'empreinte exacte ayant servi à la fabrication du cône.



GARANTIE DE TRAÇABILITÉ

Le numéro de lot sur chaque boîte et sachet permet de retracer l'itinéraire des cônes entre le conditionnement et l'expédition au laboratoire.



Bien qu'ils aient l'air tous identiques, les cônes ne sont pas tous les mêmes. Le choix d'un cône de mauvaise qualité peut compromettre vos résultats. Choisissez plutôt un cône recommandé par le fabricant de la pipette et vérifiez toujours les points suivants :

Fiche d'évaluation de cône

Aspect physique	oui	non
Propre et exempt de particules de poussière ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Taille et géométrie parfaites ? (pour une étanchéité absolue)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Surface lisse et régulière ? (rétention de liquide minimale)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Orifice sans aspérités ? (empêche la formation de gouttelettes)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Translucide (sans additifs ou colorants contaminants)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Résistance chimique	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Garantie du fabricant de cônes		
Identification de la marque ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Numéro d'identification sur le cône ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Numéro de lot sur la boîte ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Certificat de qualité ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

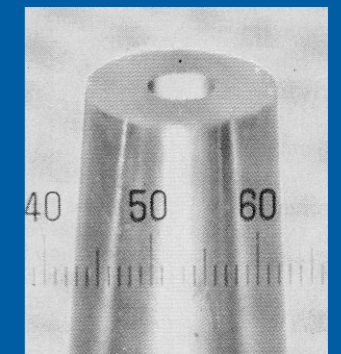
Important

Les cônes Gilson Diamond sont fournis avec des valeurs typiques de relargage de métaux trace. Ces concentrations sont réduites au niveau de bruit analytique après 5 à 10 rinçages avec de l'acide concentré.

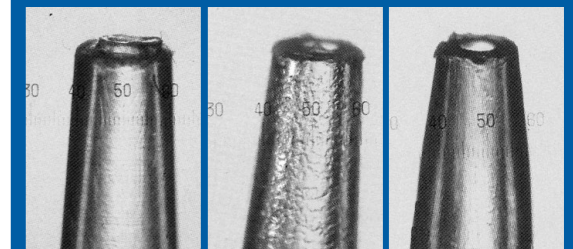
En savoir plus

Plus qu'il n'y paraît

Ces photos prises sous microscope montrent quelques-unes des différences entre des cônes de bonne et de mauvaise qualité.



Extrémité parfaite



Orifice imparfait

Surface rugueuse

Excès de matière plastique



Les cônes Gilson existent en différents conditionnements :

► **Vrac en sachets**

C'est une solution économique pour le travail de routine. Ils peuvent être placés à la main dans des racks vides pour faciliter l'utilisation, ou pour l'autoclavage.

► **Sur rack pour une mise en place facile sans contact manuel**

Des couvercles à charnières protègent les cônes de la poussière. Le rack de 96 positions est pratique pour remplir des plaques de microtitration avec un Pipetman multicanal. Des codes couleurs aident à l'identification. Les cônes sont prêts pour l'autoclavage au laboratoire. Les portoirs de cônes sont réutilisables.

► **Sur rack stérilisé pour travailler dans des conditions stériles**

Irradiés aux rayons gamma en usine et fournis dans un rack scellé.

► **Sur rack et avec filtre autoclavable**

Les cônes à filtre empêchent les aérosols contaminants de pénétrer dans la pipette. Les cônes à filtre Gilson Diamond peuvent être autoclavés au laboratoire.

► **Sur rack stérilisé avec filtre**

Des cônes à filtre irradiés en usine fournis dans un rack scellé.

► **Sous blister individuel stérilisé**

A ouvrir juste avant l'utilisation pour conserver l'avantage de la stérilisation jusqu'au dernier moment. C'est une bonne solution si vous utilisez seulement une petite quantité de cônes.



En savoir plus

Comment empêcher la contamination par les aérosols ?

Quand vous utiliser la PCR ou toute autre méthode d'amplification, il est indispensable d'empêcher la contamination par les aérosols; de même quand vous pipetez des solutions d'ADN/ARN, des matières infectieuses, des échantillons radioactifs etc...

Gilson propose deux solutions :



1 Utilisez un Pipetman avec des cônes à filtre Diamond stérilisés quand vous devez faire face en même temps à au moins deux des problèmes suivants :

- travail sous conditions stériles
- pipetage d'échantillons aqueux
- prévention de la contamination croisée.



2 Utilisez un Microman avec des capillaires et pistons stérilisés quand vous devez faire face en même temps à au moins deux des problèmes suivants :

- travail sous conditions stériles
- pipetage d'échantillons visqueux
- prévention de la contamination croisée.

Pour plus de renseignements, voir page 35.



Pour optimiser vos résultats, la pipette a son importance, mais il ne faut pas oublier de l'utiliser correctement.

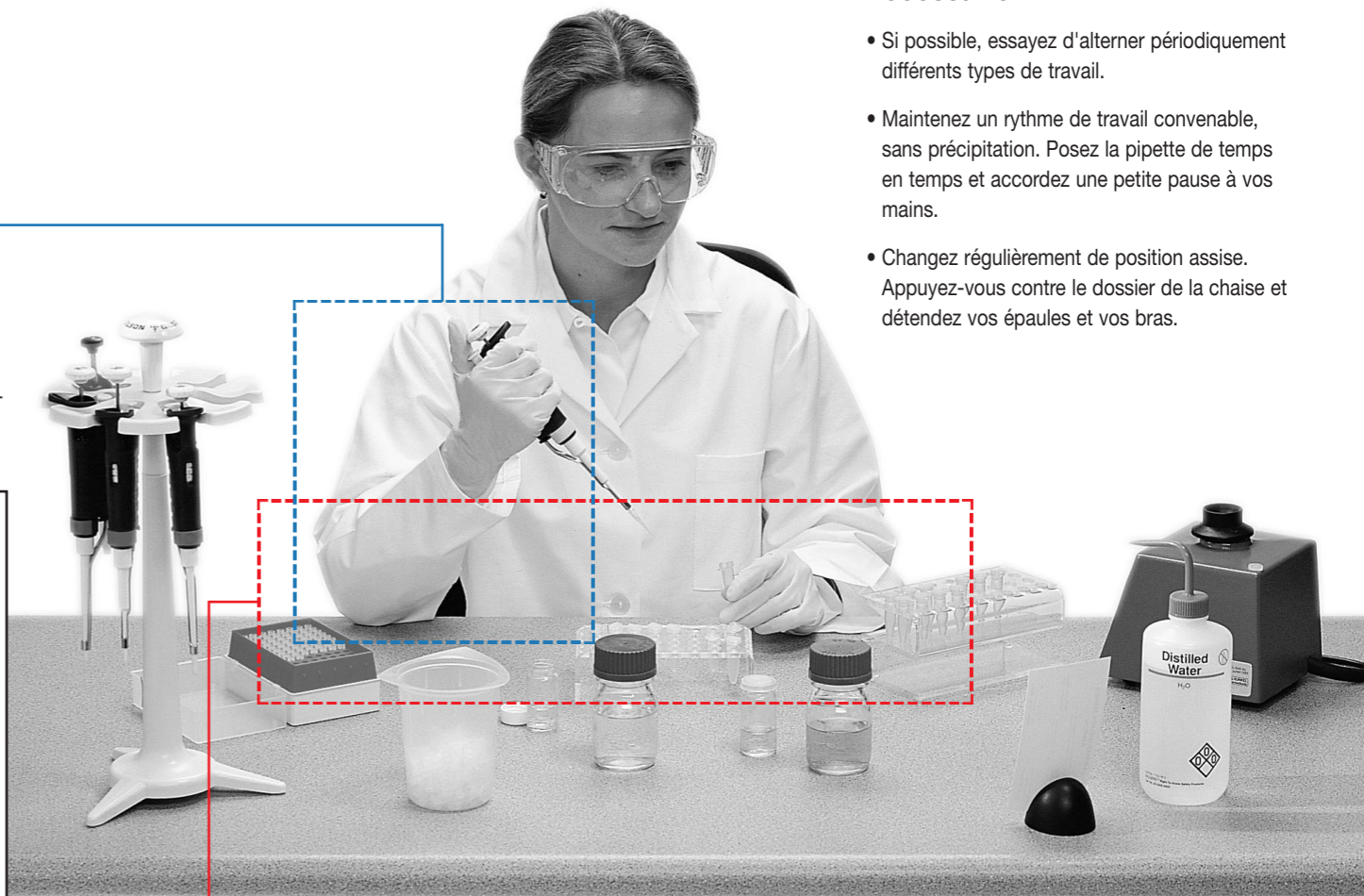
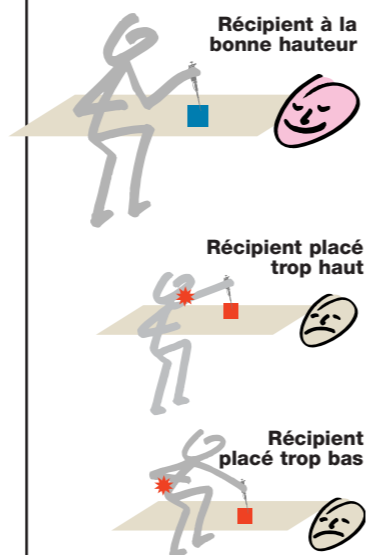
- 1 • Organisez tout d'abord votre poste de travail en vue d'une efficacité maximale et d'une fatigue minimale.
- 2 • Assurez-vous que le cône est correctement monté et s'adapte bien avant de sélectionner le volume.
- 3 • Affichez le volume souhaité.
- 4 • Choisissez le mode de pipetage (mode inverse ou direct) en fonction de l'échantillon à traiter.
- 5 • Ejectez le cône usagé et stockez la pipette en position verticale pour éviter tout endommagement ainsi que la contamination croisée.

Prenez un peu de temps pour vous organiser

- Ajustez la hauteur de votre **chaise ou tabouret** de sorte que le plan de travail se trouve à la bonne hauteur quand vous êtes en position assise.
- Si possible, travaillez toujours en gardant **les mains sous le niveau des épaules**.
- Voyez si vous pouvez réduire la hauteur de certaines applications, telles que le chargement de gel.
- Les tables/ paillasse réglables constituent une bonne solution.

Important

Un bon test consiste à vérifier si vous pouvez poser le coude confortablement sur le plan de travail.



Un peu de détente est nécessaire

- Si possible, essayez d'alterner périodiquement différents types de travail.
- Maintenez un rythme de travail convenable, sans précipitation. Posez la pipette de temps en temps et accordez une petite pause à vos mains.
- Changez régulièrement de position assise. Appuyez-vous contre le dossier de la chaise et détendez vos épaules et vos bras.

Veillez surtout à effectuer un pipetage régulier

- Pour favoriser des gestes réguliers et une bonne synchronisation, ayez tous les objets nécessaires à portée de main.
- Placez les **objets les plus utilisés** devant vous. Les objets moins utilisés peuvent rester légèrement en retrait.
- L'ouverture du récipient destiné aux cônes usagés doit se trouver à la même hauteur que l'extrémité de la pipette.



3.2

Mise en place d'un cône jetable



Pipetman

Pour monter un cône jetable sur un Pipetman, maintenez la micropipette d'une main et appliquez un mouvement légèrement tournant pour bien fixer le cône sur l'embout de la micropipette et assurer l'étanchéité.

Les cônes Diamond pour Pipetman sont disponibles sur des racks TIPACK pour une mise en place facile sans contact manuel.



Distriman

Pour monter des DistriTips sur un Distriman, consultez le manuel d'instruction.



Microman

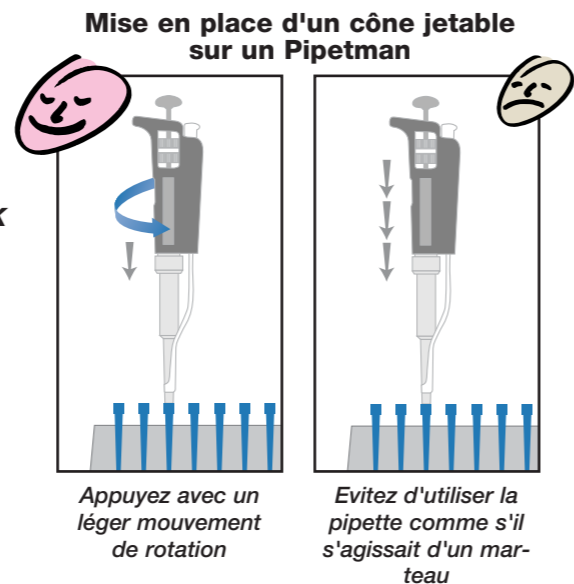
Pour monter un ensemble capillaire/piston sur un Microman, appuyez sur le bouton-poussoir jusqu'à la deuxième butée. Les mâchoires de la pipette s'ouvrent automatiquement et saisissent le piston, plaçant le capillaire/piston dans la position correcte.

Pour une protection maximale contre la contamination, les capillaires/pistons pour Microman sont disponibles pré-assemblés sur racks et stérilisés.



8X200

Mise en place de cônes sur une pipette multicanal Pipetman 8X200. Quand vous utilisez une pipette multicanal avec un rack de cônes standard, il n'est pas toujours facile de monter les huit cônes en même temps. Il faut appuyer fort, parfois de façon répétée et saccadée. Le concept breveté du "Rocky Rack"™ permet une mise en place rapide, et les cônes ne tombent plus.

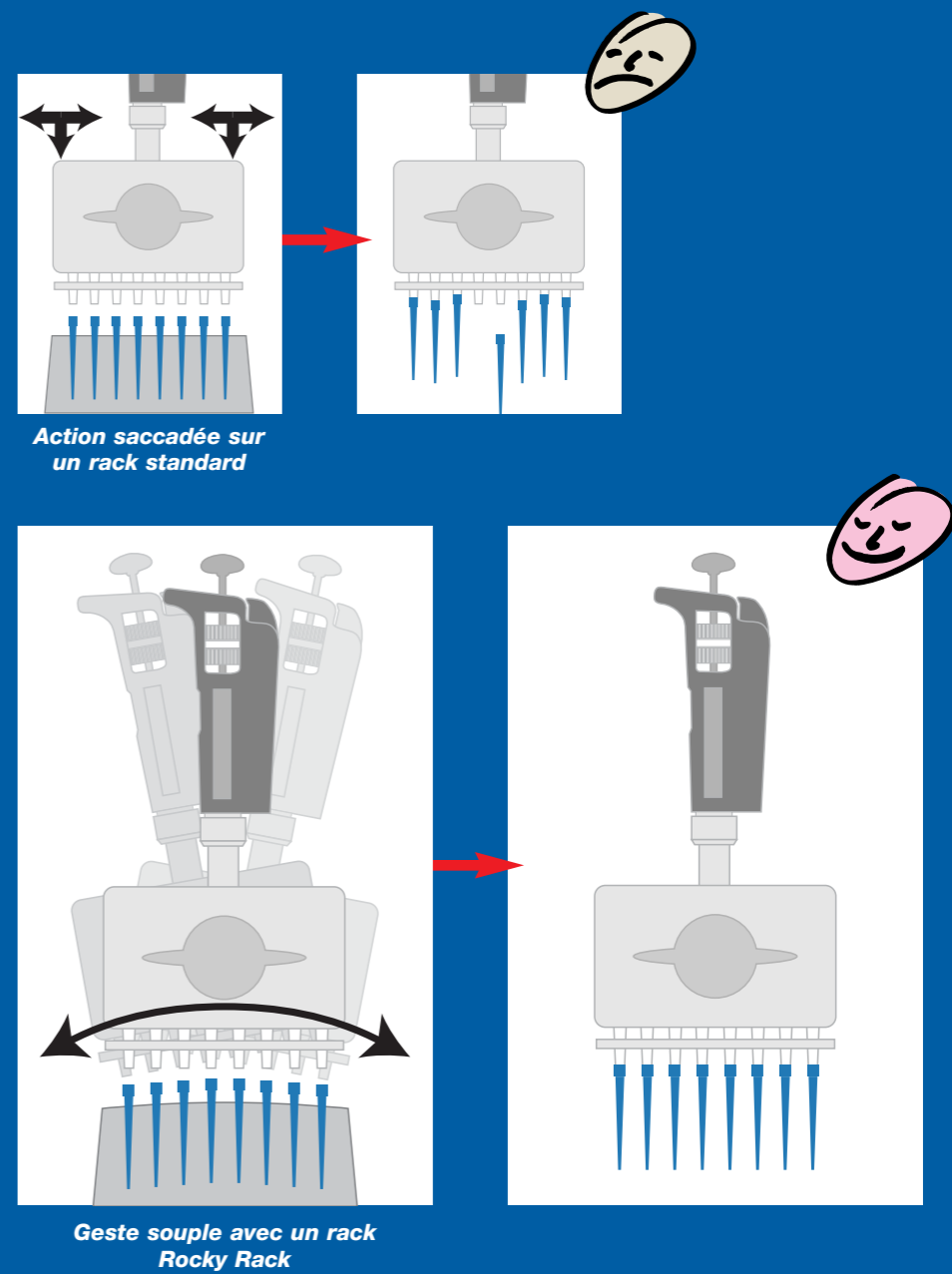


Important
 Choisissez toujours un cône recommandé par le fabricant de la pipette (voir page 16).

Important
 Ne jamais essayer d'utiliser une micropipette sans cône approprié.

En savoir plus

Comment monter des cônes sur une pipette multicanal



3.3 Affichage du volume

Affichage du volume

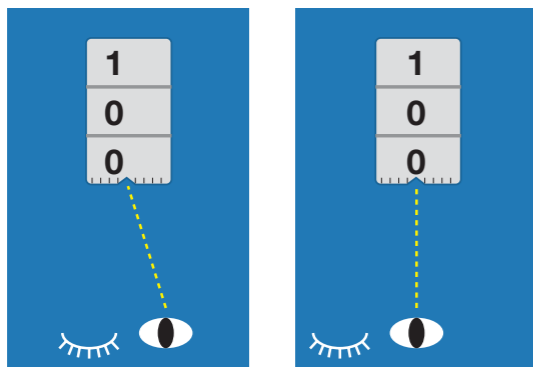
Tenez le corps de la micropipette d'une main et utilisez l'autre main pour tourner la molette – ou le bouton-poussoir. Cette opération est réalisable facilement d'une seule main. Cette nouvelle fonction du bouton-poussoir est disponible sur toutes les pipettes Microman et les pipettes Pipetman fabriquées depuis avril 1995.

Une astuce utile pour améliorer la fidélité

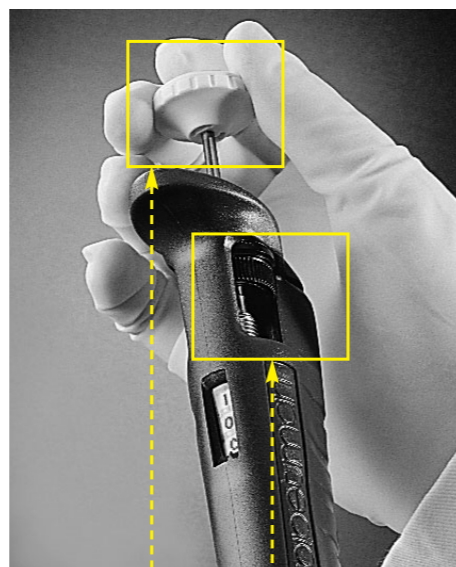
Terminez l'affichage toujours dans le sens des aiguilles d'une montre. De cette façon, en présence de jeu mécanique, celui-ci s'exerce toujours sur la même position. Voici comment sélectionner le volume :

- Pour diminuer le volume, tournez la molette lentement jusqu'à ce que le volume souhaité soit affiché. Ne dépassez pas la position requise.
- Pour augmenter le volume, tournez la molette approximativement d'un tiers de tour au-delà du volume souhaité et revenez ensuite lentement pour diminuer le volume jusqu'à atteindre l'affichage voulu.

Une astuce utile pour améliorer l'exactitude



Pour éviter les erreurs de parallaxe, assurez-vous que l'affichage du volume se trouve directement dans votre ligne de vision. Pour une lecture de près, il peut être utile de fermer un œil.



Molette
Bouton-poussoir

Important

Pour éviter tout endommagement intérieur de la pipette, ne jamais essayer de forcer le volume au-delà des limites indiquées dans les tableaux de la **page 14**.

3.4 Conseils pour le pipetage direct ou inverse

Le choix du mode opératoire peut avoir un impact significatif sur les résultats analytiques.

Les pipettes Gilson sont calibrées pour le pipetage en mode direct. Les fabricants sont tenus d'annoncer tous les modes de pipetage autorisés et de spécifier le mode pour lequel l'appareil est calibré.

Le mode direct correspond à la façon habituelle de pipeter avec une pipette à déplacement d'air comme le Pipetman.

Voir page 26.

Le mode direct pour les pipettes à déplacement positif comme le Microman élimine la course de purge.

Voir page 30.

Le mode inverse est seulement possible avec des pipettes à déplacement d'air. Il est utilisé pour les solvants ou les liquides légèrement visqueux.

Voir page 28.

Nettoyage

Si nécessaire (pour les liquides visqueux, tels que les crèmes), essuyez l'extérieur du cône ou du capillaire avec un tissu à usage médical. Ne pas toucher l'orifice. Choisissez un chiffon qui soit résistant, non pelucheux, et inerte aux acides et solvants. Débarrassez-vous du chiffon en respectant les règles de sécurité et d'hygiène.

Important

Lors du travail sur des échantillons à risque, ne pas nettoyer la partie jetable. La profondeur d'immersion dans le liquide ne doit pas dépasser 3 mm. Ensuite, il suffit d'effleurer la paroi latérale du récipient.

En savoir plus

Pré-rinçage

On obtient normalement une plus grande uniformité et répétabilité de la distribution en utilisant des surfaces de contact identiques pour toutes les aliquotes. Ce résultat est obtenu grâce à un pré-rinçage avec le même liquide que celui distribué. Pour le pré-rinçage, aspirez avec le cône et redistribuez le liquide dans le récipient d'origine.

Q
Quand faut-il pré-rincer le cône ?

R
Le pré-rinçage est nécessaire

- à chaque changement de cône
- à chaque augmentation du volume

Ne pas oublier de pré-rincer

- les capillaires et pistons du Microman
- les DistriTips du Distriman

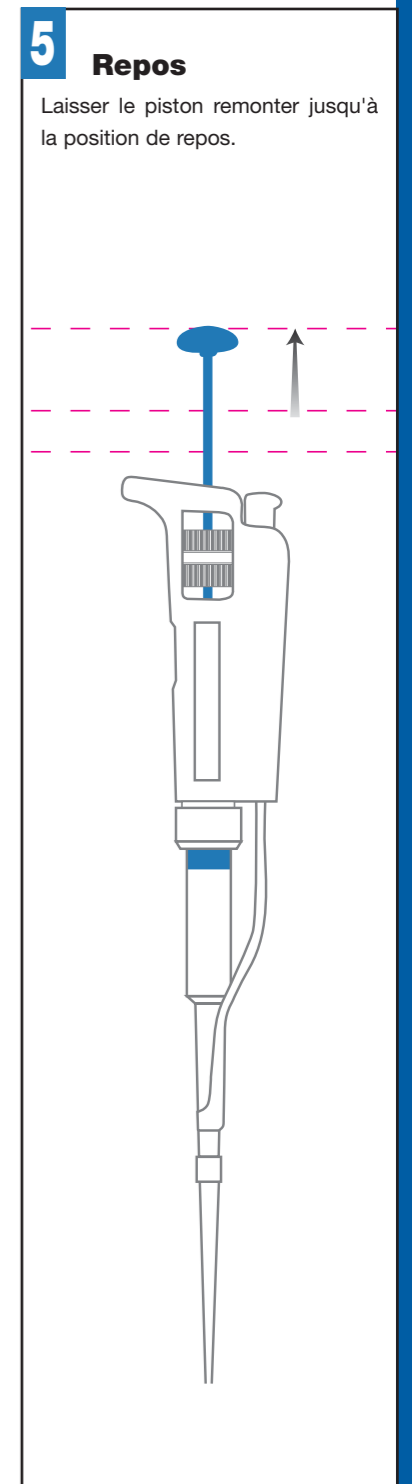
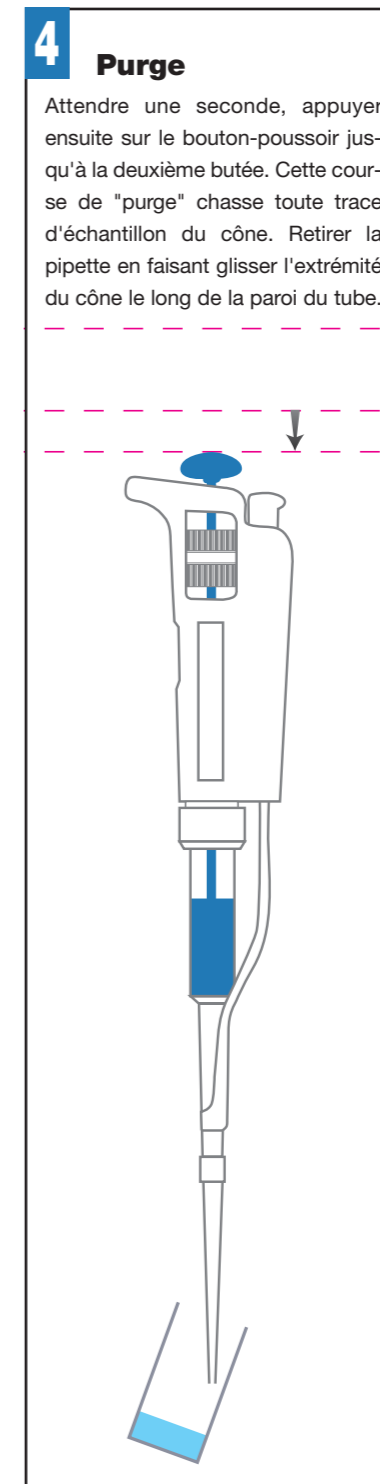
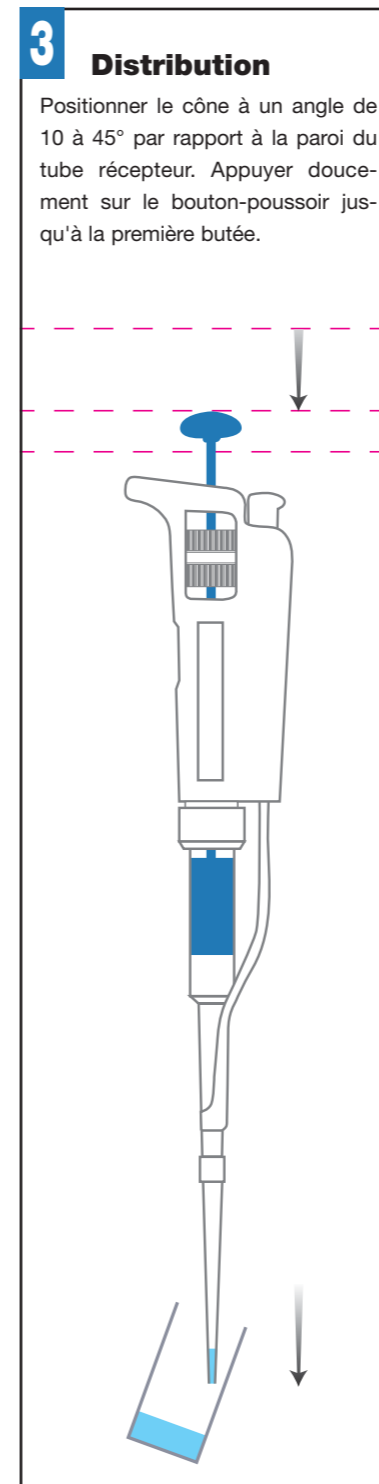
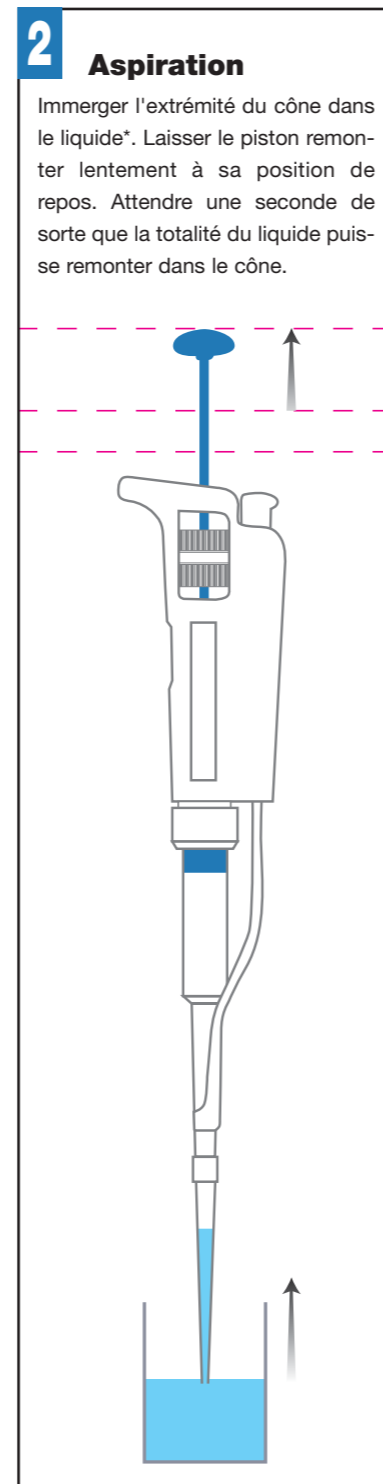
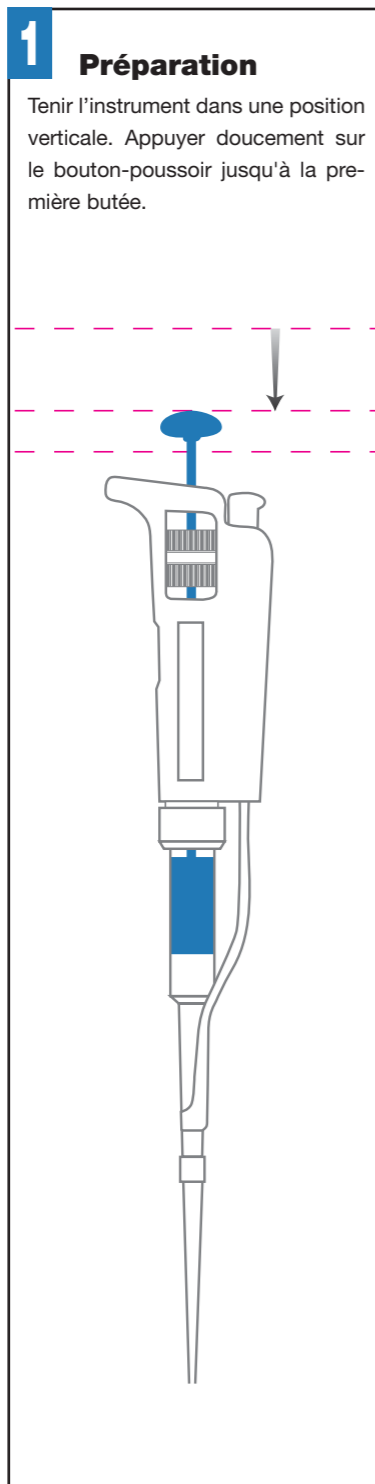


Déplacement d'air/ Mode direct

La précision du mode direct repose sur la régularité du flux et de la pression d'air (pipettes à déplacement d'air) ou sur l'étanchéité de l'ensemble capillaire/piston (pipettes à déplacement positif).

* La profondeur d'immersion du cône peut avoir une influence significative sur les résultats. Si le cône est immergé trop profondément, des gouttelettes se forment à l'extérieur du cône et seront déposées en même temps que l'échantillon. Si le cône n'est pas immergé à une profondeur suffisante, il se crée un effet de tourbillon et la pipette n'aspire pas le volume sélectionné.

volume μL	profondeur d'immersion mm
0,1 - 1	1
1 - 100	2-3
101 - 1000	2-4
1001 μL - 10 ml	3-6



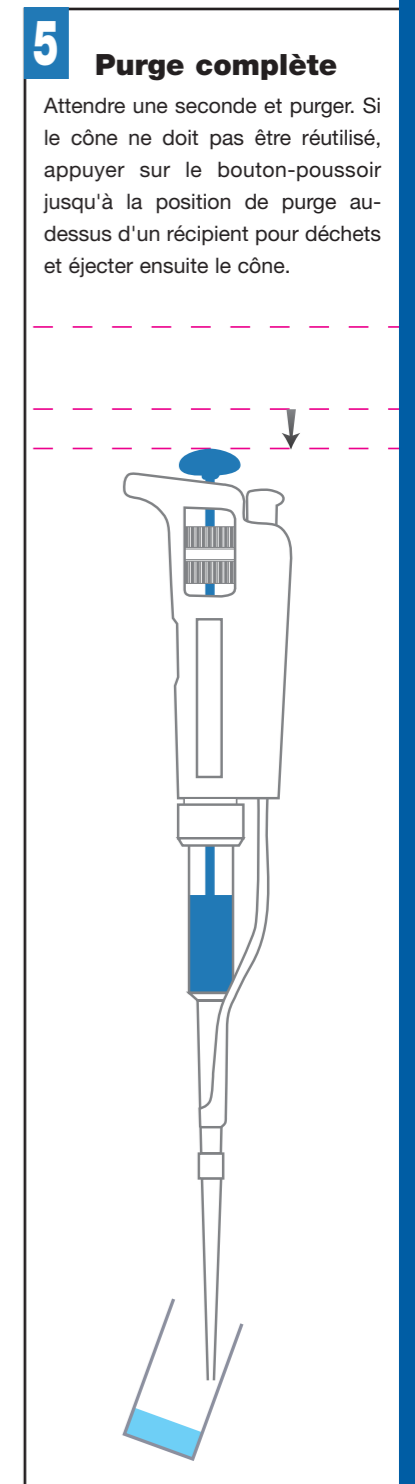
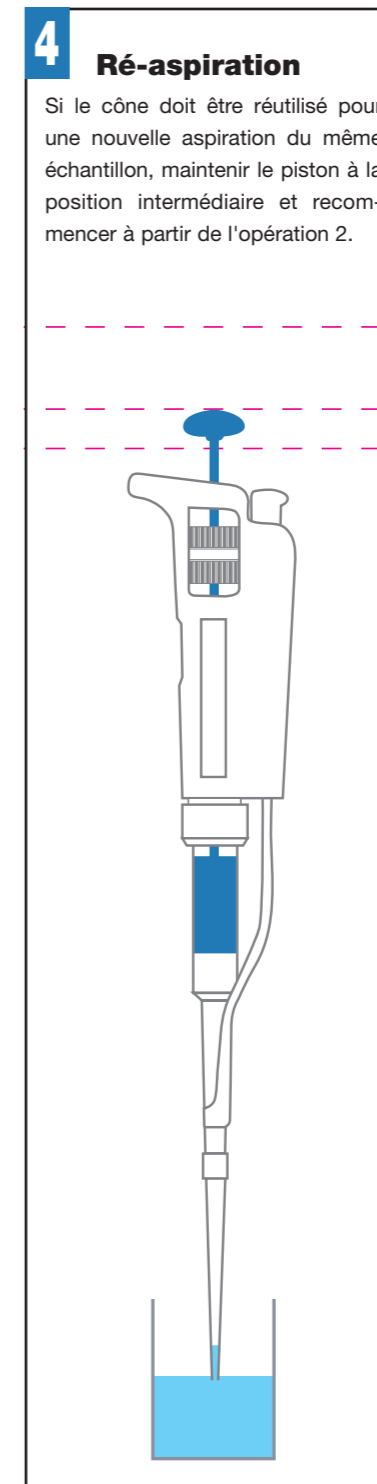
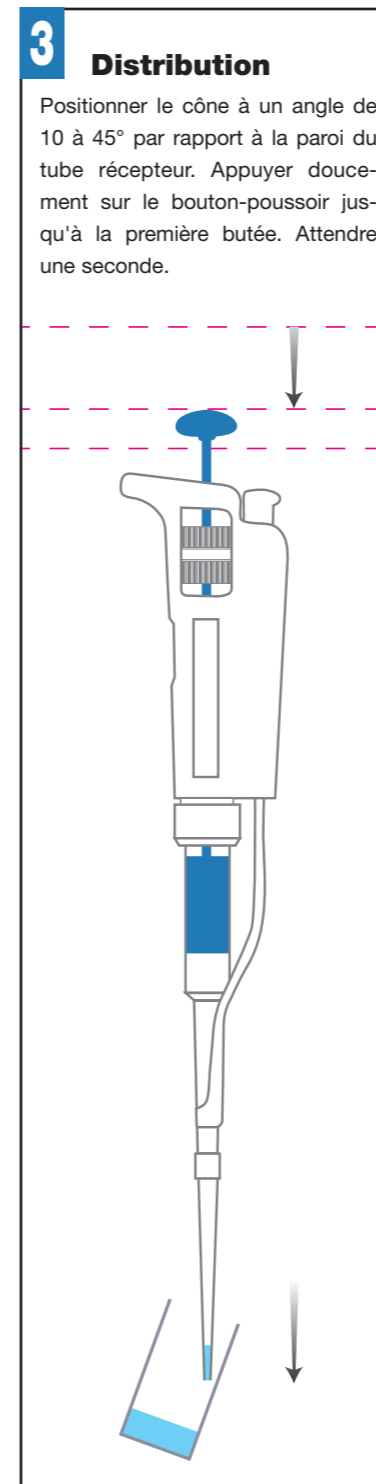
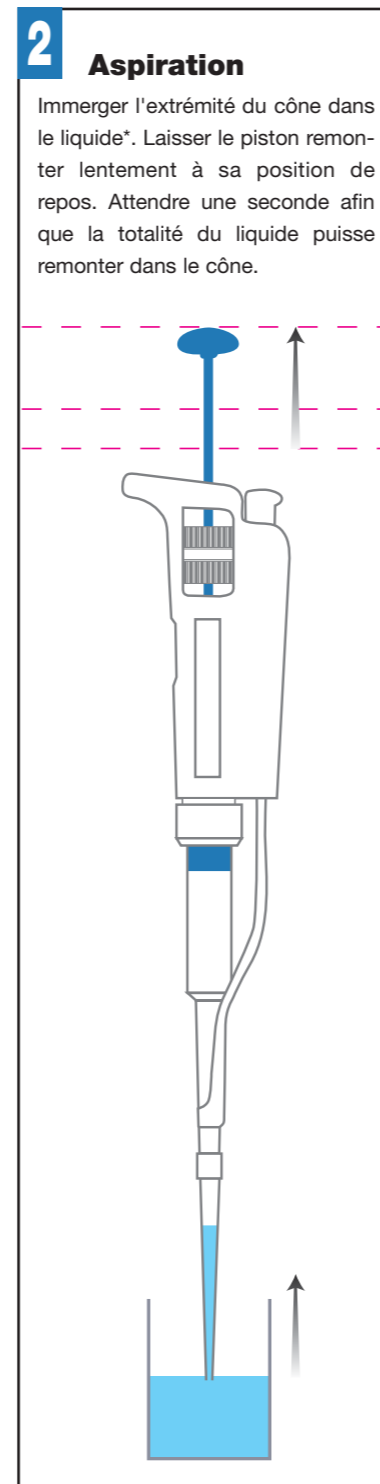
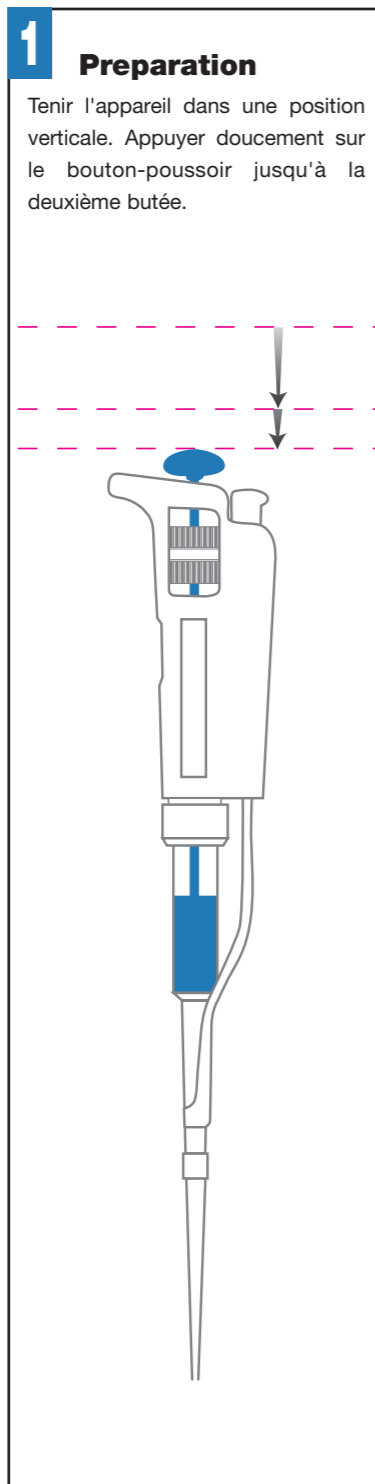
Déplacement d'air/ Mode inverse

Dans le pipetage en mode inverse, la course de purge est utilisée pendant la préparation. **Quand le liquide est aspiré, une quantité de liquide égale à l'air de purge déplacé est ajoutée.**

Cette quantité compense la pellicule de liquide qui reste à l'intérieur du cône pendant la distribution.

* La profondeur d'immersion du cône peut avoir une influence significative sur les résultats. Si le cône est immergé trop profondément, des gouttelettes se forment à l'extérieur du cône et seront déposées en même temps que l'échantillon. Si le cône n'est pas immergé à une profondeur suffisante, il se crée un effet de tourbillon et la pipette n'aspire pas le volume sélectionné.

volume μL	profondeur d'immersion mm
0,1 - 1	1
1 - 100	2-3
101 - 1000	2-4
1001 μL - 10 ml	3-6



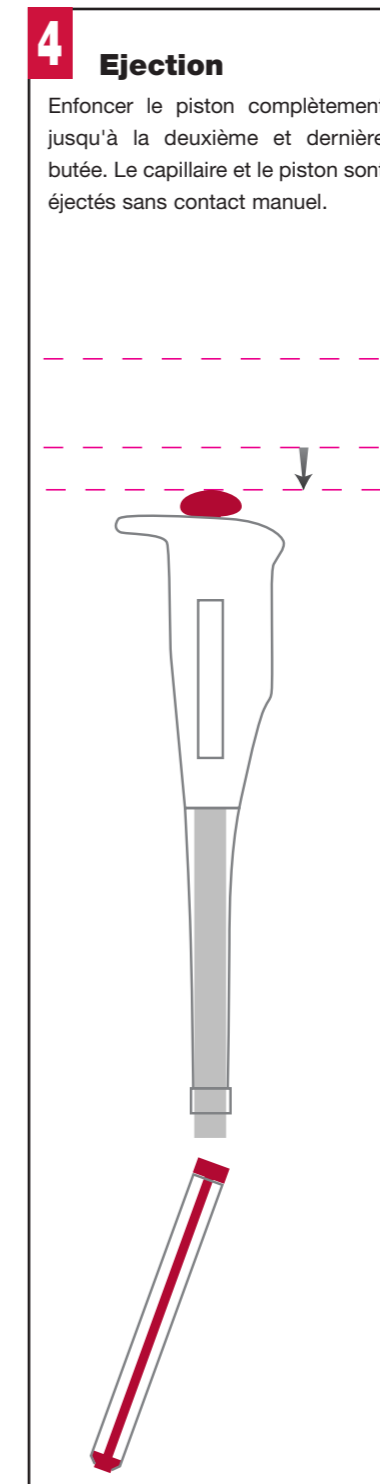
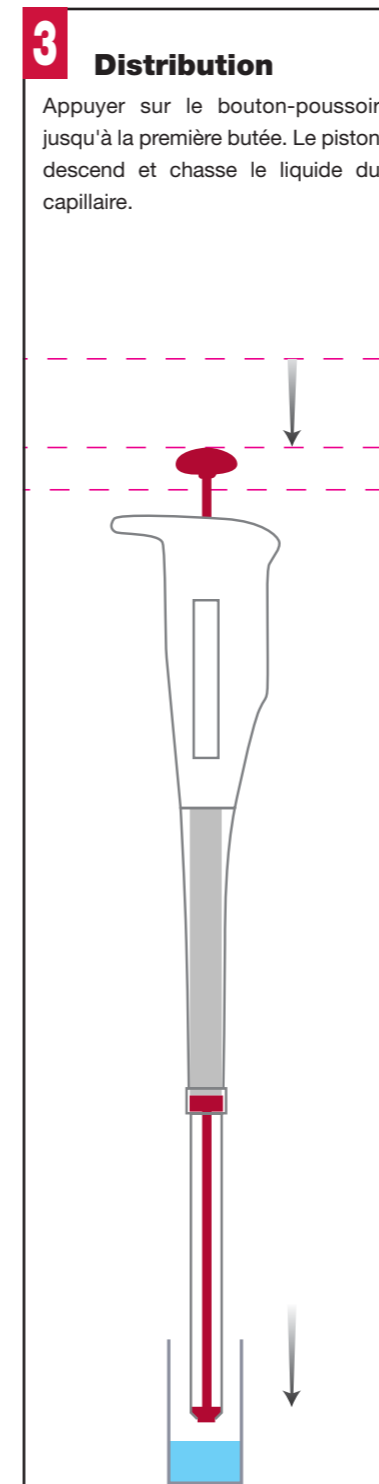
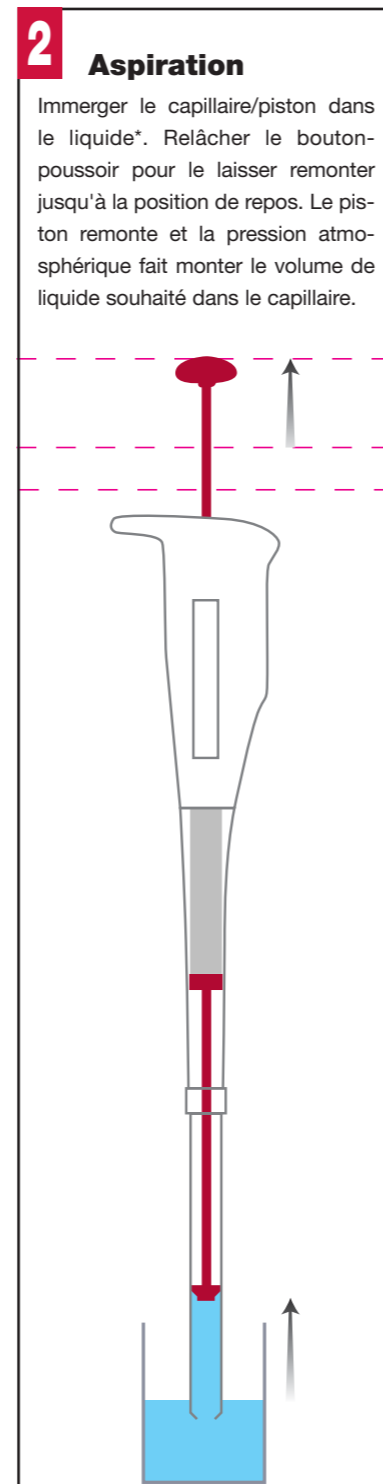
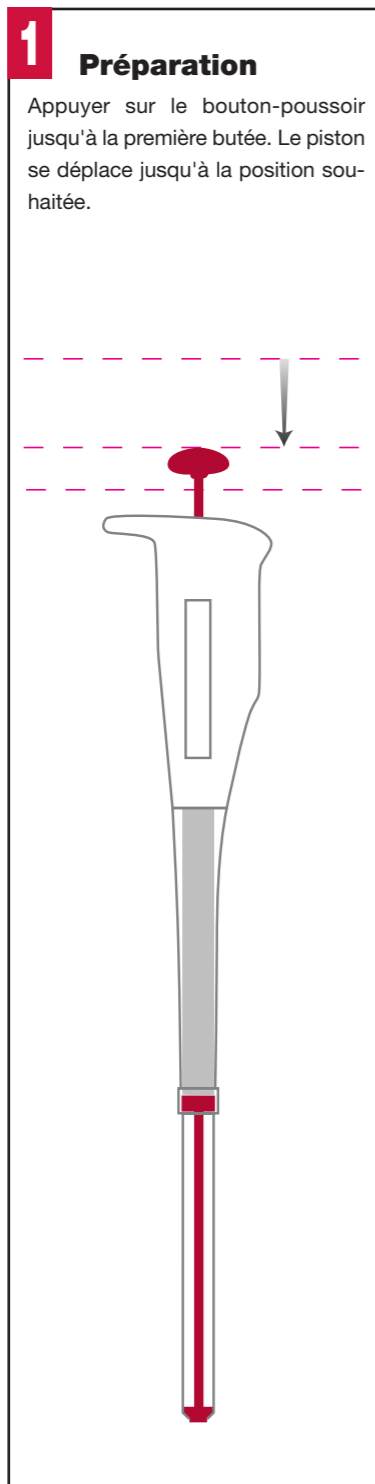
Déplacement positif

Sur les pipettes à déplacement positif, le piston entre en contact direct avec le liquide; il n'y a pas de volume d'air intermédiaire.

Le contact direct améliore l'exactitude et la fidélité avec les liquides trop denses ou trop visqueux pour être déplacés par de l'air. Le contact direct permet l'aspiration de liquides volatils sans évaporation. De plus, l'absence d'air permet un pipetage rapide sans formation d'aérosols.

* La profondeur d'immersion du cône peut avoir une influence significative sur les résultats. Si le cône est immergé trop profondément, des gouttelettes se forment à l'extérieur du cône et seront déposées en même temps que l'échantillon. Si le cône n'est pas immergé à une profondeur suffisante, il se crée un effet de tourbillon et la pipette n'aspire pas le volume sélectionné.

volume μL	profondeur d'immersion mm
0,1 - 1	1
1 - 100	2-3
101 - 1000	2-4
1001 μL - 10 mL	3-6



position de repos
première butée
éjection

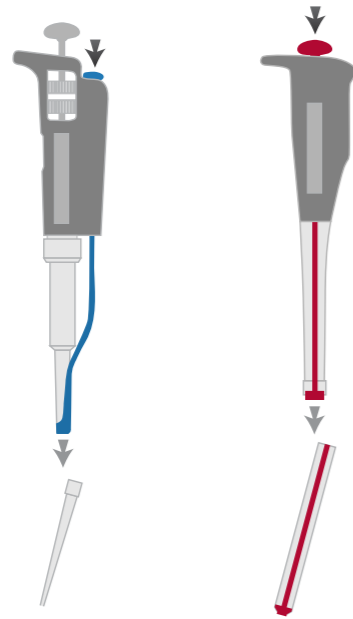
Important

Le piston et le capillaire sont des composants volumétriques des pipettes à déplacement positif. Les deux pièces étant en contact avec le liquide, elles doivent toutes les deux être remplacées fréquemment pour éviter toute contamination croisée et assurer une parfaite étanchéité.



3.5 Ejection du cône usagé et stockage de la pipette en position verticale

Pour éviter de toucher des cônes contaminés, tenez la pipette au-dessus d'une poubelle et appuyez sur le bouton-poussoir de l'éjecteur.



PIPETMAN
élimination sans contact avec le cône

MICROMAN
élimination sans contact avec le capillaire et le piston

Important

Les cônes usagés contiennent du liquide résiduel, surtout quand la pipette est utilisée en mode inverse. Pensez à prendre les précautions nécessaires quand vous les éliminez.

Des sachets autoclavables sont disponibles pour la collecte, la stérilisation et/ou l'élimination des déchets dangereux. Des sachets spéciaux et des conteneurs anti-bêta sont également disponibles pour les déchets radioactifs solides et liquides.

Quand faut-il changer de cône ?

Distribution répétitive d'échantillons

Pour une distribution répétitive d'un même liquide (diluant, tampon ou réactif), utilisez le même cône. Cette méthode est économique et efficace. Il est recommandé de pré-rincer le cône avant de commencer une série d'essais.

Transfert d'échantillons différents

Choisissez un nouveau cône pour chaque nouveau liquide. Il est recommandé de pré-rincer chaque nouveau cône.

Toujours éliminer les cônes usagés. Le liquide résiduel peut endommager la pipette.

En savoir plus

Q

Pourquoi utiliser un portoir de pipettes ?

R

Pour empêcher toute corrosion, contamination et endommagement

Ne pas laisser les pipettes sur une paillasse où elles pourraient entrer en contact avec des produits chimiques ou tomber et se casser.

Les pipettes doivent toujours être stockées verticalement pour empêcher le liquide de remonter dans l'embout de la pipette.



La prévention de la contamination dans les laboratoires nécessite l'application de précautions strictes. Parmi celles-ci, on trouve la décontamination des pipettes, le port de gants et le choix d'un cône adéquat.

L'importance de ces précautions est évidente quand on considère la sensibilité extrême des techniques modernes, telles que la PCR qui permet la détection d'une seule molécule. Il faut également tenir compte des dangers de la radioactivité et du risque de contamination personnelle par des micro-organismes pathogènes.

Risque personnel

Actions préventives

- Porter une blouse.
- Porter des gants.
- Porter des lunettes de sécurité.
- Porter un masque.
- Nettoyer la paillasse avant et après le travail avec un nettoyant correspondant à l'application (culture de cellules, composants radioactifs, échantillons pathogènes, ...).
- Travailler sous une hotte.
- Travailler derrière un écran de protection contre la radioactivité.
- Eviter de toucher des cônes usagés.
- Utiliser des capillaires et pistons incassables.

Pipette/échantillon

Des cônes contaminés, ou une pipette contaminée, vont à leur tour contaminer l'échantillon.

Actions préventives

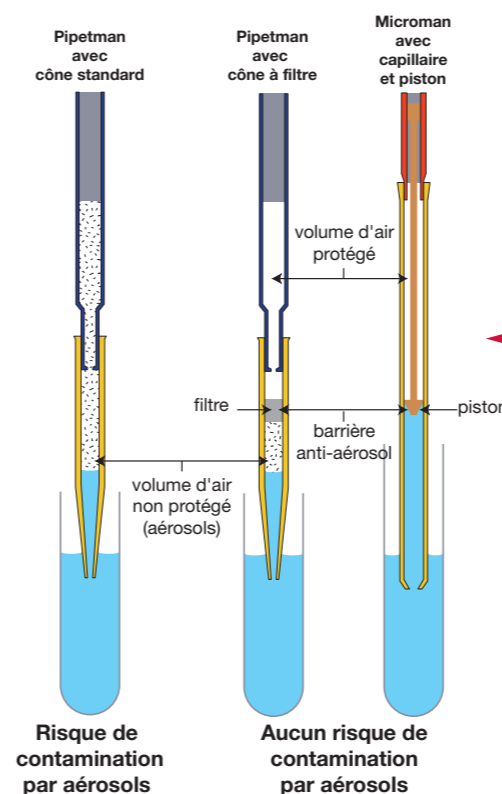
- Utiliser des cônes stérilisés et nettoyer ou autoclaver les pièces de la pipette qui sont en contact avec l'échantillon (voir pages 36-37).
- Changer de cône après chaque échantillon.

Echantillon/pipette

Il peut se produire une contamination si l'échantillon ou des aérosols de l'échantillon peuvent entrer dans le corps de la pipette.

Actions préventives

- Pour empêcher que des liquides ne remontent dans le corps de la pipette, éviter d'incliner la pipette de manière excessive et stocker l'instrument toujours verticalement.
- Relâcher le bouton-poussoir lentement.
- Pour éviter la contamination par aérosols, utiliser des cônes à filtre avec le Pipetman ou choisir une pipette Microman à déplacement positif avec une barrière anti-aérosol intégrée.

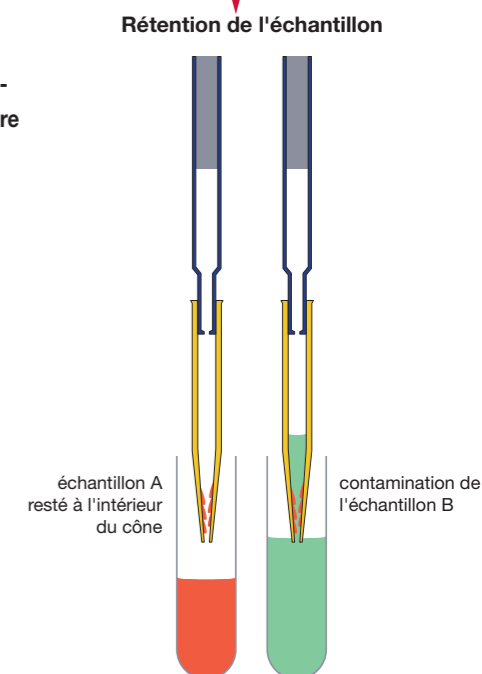


Echantillon/échantillon (également appelé rétention de l'échantillon)

Une partie de l'échantillon (A) peut adhérer à la paroi interne du cône après la distribution de l'échantillon. La partie restante de l'échantillon (A) peut se mélanger avec l'échantillon suivant (B) et provoquer un résultat d'essai faussé.

Action préventive

Changer de cône après chaque échantillon



Si votre pipette risque d'être contaminée, l'une des procédures suivantes doit être effectuée avant toute autre utilisation ou tout autre entretien de l'instrument.

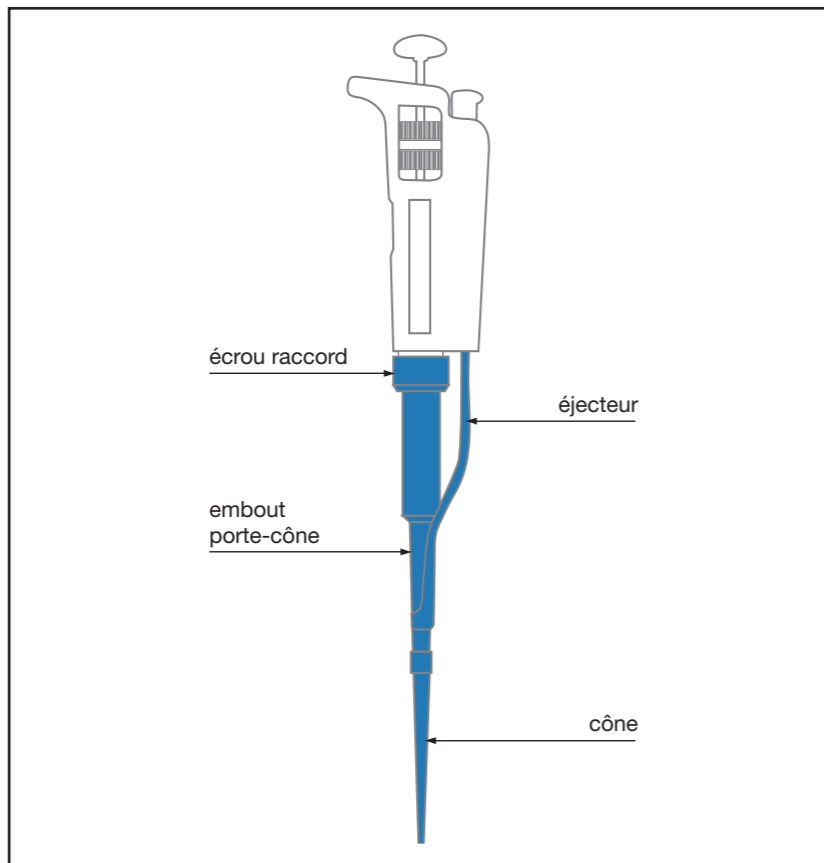
Autoclavage



Il s'agit du moyen de stérilisation le plus courant. Les cônes Gilson Diamond et certaines pièces des pipettes Pipetman peuvent être stérilisés en laboratoire en respectant les conditions suivantes : chaleur humide/ 121°C/ 20 minutes/ 1 bar.

NB : L'autoclavage a un champ d'action limité et ne détruira pas les RNases, par exemple.

Pièces de Pipetman autoclavables



Certaines pièces, comme le piston et la poignée, ne peuvent pas être autoclavées sans affecter l'exactitude et la fidélité de la pipette.

Décontamination chimique



Cette technique est utilisée par Gilson pour décontaminer les pipettes renvoyées au service après-vente. Le Pipetman est démonté et entièrement plongé dans un bac à ultrasons contenant un détergent recommandé pour les appareils de laboratoire. Ensuite, les pièces sont immergées dans une solution virucide, bactéricide et fongicide. Il est fortement recommandé de rincer la pipette à l'eau et de la sécher soigneusement.

NB : Une solution de formaldéhyde à 2% (CIDEX® de Johnson and Johnson) est utilisée couramment. Le Clorox® à 10% a été recommandé comme décontaminant pour l'élimination des matrices d'ADN dans les laboratoires PCR*. Cependant, alors qu'il est toujours possible de trouver un liquide présentant les bonnes propriétés pour faire face à un risque donné, aucun liquide spécifique ne peut agir efficacement contre tous les risques.

Rayonnement UV



Les plans de travail peuvent être décontaminés en les exposant à une lumière ultraviolette à 300nm pendant 15 minutes. Cette méthode n'est pas recommandée pour les pipettes parce que, contrairement aux liquides ou vapeurs contaminants, les rayons UV ne peuvent pas entrer à l'intérieur de la pipette.

Rayons bêta (β) ou gamma (γ)



Cette méthode est utilisée par les fabricants pour des produits vendus sous l'appellation "stérilisés". Les rayons pénétrants sont hautement efficaces pour les matières plastiques relativement inertes utilisées pour fabriquer les consommables des pipettes. Coûteuse et nécessitant des installations spéciales, cette irradiation est réservée aux utilisateurs de grande quantités de consommables.

NB : Le choix des rayons gamma ou bêta est déterminé par le type de matière plastique utilisée pour fabriquer la pipette ou le consommable.

Oxyde d'éthylène



L'oxyde d'éthylène et son produit réactionnel, l'éthylène chlorydrine, sont hautement toxiques et mutagènes. Ils sont donc réservés à la stérilisation des matières plastiques qui pourraient être endommagées par une irradiation.

*A. Prince et L. Andrus, PCR : How to kill unwanted DNA, Bio Techniques 1992, 12, 359-360. PCR est une marque de Hoffman Laroche



Pour une longue durée de vie et des performances optimales, les pipettes doivent être renvoyées pour une révision complète une fois par an.

Si vous êtes confronté à une petite difficulté technique, il est très probable que ce dysfonctionnement puisse être corrigé directement chez vous.

Avertissement : Utiliser uniquement des pièces détachées d'origine Gilson disponibles chez Gilson.

Un diagnostic rapide du Pipetman vous permet de détecter des défauts et de décider si la pipette doit être réparée chez vous ou renvoyée chez Gilson pour la maintenance.

Etape 1
Identification du Pipetman

Etape 2
Evaluation des fonctions de pipetage

Etape 3
Test de fuite

Etape 4
Démontage

Etape 5
Remontage

Important



Ne jamais manipuler une pipette d'origine inconnue sans porter des gants. Elle pourrait être contaminée.

5.1 Diagnostic rapide : Inspection du Pipetman en deux minutes

Etape 1
Identification du Pipetman

- ▶ Utilisez le numéro de série pour identifier la pipette et déterminer son âge.
- ▶ Vérifiez la fiche de vie de la pipette pour retrouver la date de la dernière maintenance.



Gestion des dossiers

Selon les Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL), il faut conserver des enregistrements détaillés de chaque étape de la procédure analytique. Quand une pipette est utilisée, le laboratoire doit pouvoir fournir les informations suivantes :

- **Identité de la pipette (numéro d'identification).**
- **Historique de la pipette (dates d'entretien, réparations dans le laboratoire, étalonnage, réglage, nom de l'opérateur, etc.).**
- **Spécifications.**
- **Méthode de contrôle.**
- **Conditions d'environnement.**

Ces informations peuvent être classées manuellement, mais de plus en plus de laboratoires se tournent vers des systèmes informatisés de gestion de la Qualité, tels que le logiciel Gilson QualiTrace™.

Q
R
Comment déterminer l'âge de la pipette ?
Toutes les pipettes Gilson portent un numéro de série qui identifie la pipette et la date de fabrication.

Exemple de numéro de série
A10369H

- La première lettre (A)** représente l'année de fabrication.
- Le numéro (10369)** est le numéro de fabrication individuel.
- La dernière lettre (H)** correspond au mois de fabrication.

Lettre	Année	Lettre	Mois
A	1984	A	Janvier
B	1985	B	Février
C	1986	C	Mars
D	1987	D	Avril
E	1988	E	Mai
G	1989	G	Juin
H	1990	H	Juillet
J	1991	J	Août
K	1992	K	Septembre
L	1993	L	Octobre
M	1994	M	Novembre
N	1995	N	Décembre
P	1996		
Q	1997		
R	1998		
S	1999		
T	2000		

En savoir plus



Etape 2 Evaluation des fonctions de pipetage

- **Passez toute la plage de volume en revue en utilisant le réglage par le bouton-poussoir.**

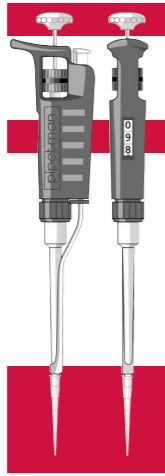
(Sur les pipettes antérieures à mai 1995, utilisez la molette. Voir Pour en savoir plus, page 24).

- La molette doit tourner sans à-coups.
- L'affichage des valeurs minimales et maximales doit correspondre à la gamme des volumes nominaux de la pipette comme indiqué dans le manuel d'instruction (ou voir page 14).
- Vérifiez l'alignement et le mouvement de l'affichage du volumètre.

- **Sélectionnez le volume maximal et appuyez lentement sur le bouton-poussoir.**

Le mouvement doit être régulier. Des "à-coups" ou des variations de friction peuvent être dus à une rayure ou à la corrosion du piston, ou être provoqués par une tige de commande tordue. Ecoutez si le ressort produit un bruit qui indiquerait un positionnement incorrect à l'intérieur du Pipetman.

- **Montez un cône Gilson et appuyez sur l'éjecteur pour vérifier son bon fonctionnement.**



Comment empêcher la corrosion du piston ?

Après chaque contact avec des liquides corrosifs, le piston doit être nettoyé à l'alcool avec un chiffon doux. Veillez à éviter tout choc ou rayure.

Vous trouverez plus de renseignements sur les pistons en page 8.

Comment obtenir une mise en place correcte des cônes ?

- Utilisez toujours des cônes Gilson pour les Pipetman.
- Poussez l'éjecteur de cône vers le haut pour vous assurer qu'il est bien en place.
- Nettoyez l'embout porte-cône à l'alcool. S'il est usé ou a subi une attaque chimique, commandez une nouvelle pièce chez Gilson.

En savoir plus

Etape 3 Test de fuite

- **Pour les Pipetman P1000 à P10 ml**

- Sélectionnez le volume maximal et remplissez le cône avec de l'eau.
- Laissez reposer pendant 20 secondes.

Si une goutte apparaît à l'extrémité du cône, la pipette fuit.

- **Pour les Pipetman P2 à P200**

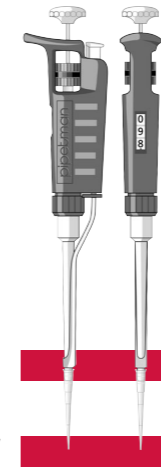
- Sélectionnez le volume maximal et remplissez le cône.
- Laissez reposer pendant 20 secondes.

Si une goutte apparaît à l'extrémité du cône, la pipette fuit.

Si aucune goutte n'apparaît, replongez le cône dans le liquide d'essai.

- Pendant l'immersion, le niveau du liquide dans le cône doit rester constant.

Si le niveau dans le cône descend, la pipette fuit.



Quelles sont les principales causes de fuites ?

- Rayure ou endommagement de l'embout porte-cône
- Cônes non adaptés
- Joints défectueux
- Pression de vapeur provenant de solvants organiques

Comment les solvants organiques provoquent-ils des fuites ?

Quand un solvant organique est utilisé avec une pipette à déplacement d'air, des fuites peuvent se produire. Ces fuites sont provoquées par la différence entre la pression de vapeur du solvant et la pression du matelas d'air entre le piston et l'échantillon (voir page 9).

Solution

- 1 • Utilisez une pipette à déplacement positif sans matelas d'air (voir page 6).
- 2 • Si vous utilisez une pipette à déplacement d'air, saturez le matelas d'air de votre pipette en vapeur de solvant en aspirant et distribuant du solvant de façon répétée. La fuite disparaît quand l'équilibre de pression est atteint.

En savoir plus



5.2 Réparation au laboratoire ou retour au SAV ?

Etape 4 Démontage

Important

Les ultra-micropipettes Pipetman, modèles P2 et P10, comportent des pièces miniaturisées. Il est conseillé de ne pas démonter ces pipettes dans le laboratoire.

► **Démontez la partie inférieure de la pipette pour confirmer votre diagnostic.**

► **Protocole de démontage :**

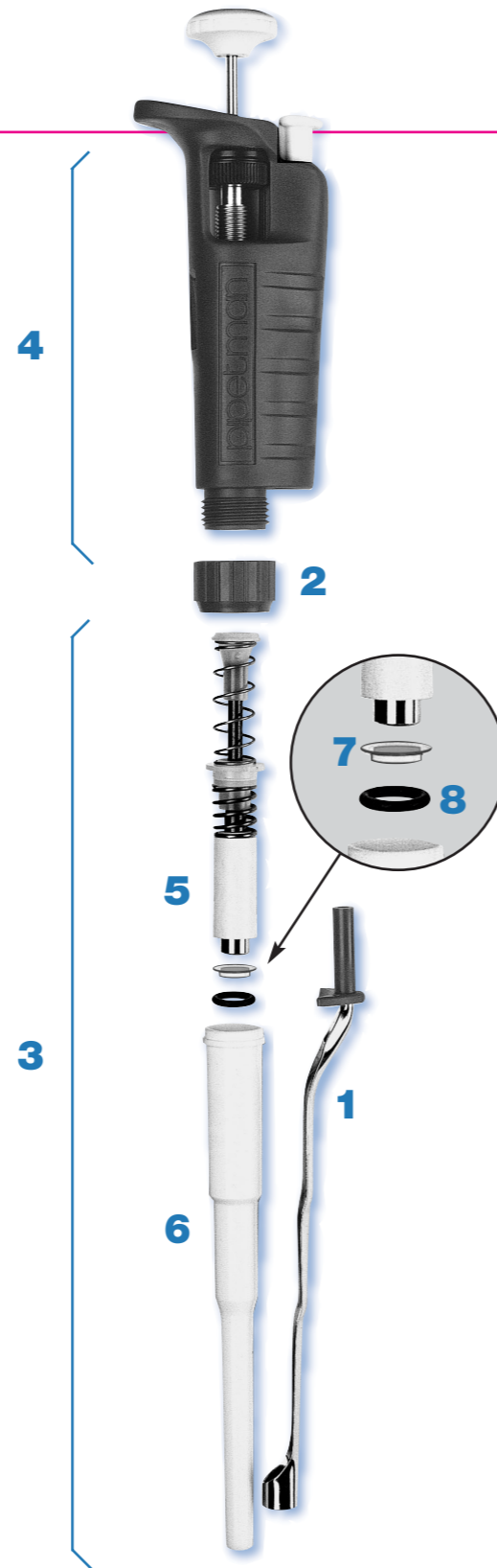
- Ejecter le cône.
- Retirer l'éjecteur de cône **1**.
- Dévisser l'écrou raccord **2**.
- Séparer la poignée **4** de la partie inférieure **3** de la pipette.
- Retirer le piston **5** de l'embout porte-cône **6**.
- Vérifier la surface du piston **5**, le joint d'étanchéité **7** et le joint torique **8**.

Ne jamais démonter la partie supérieure de la pipette.

Etape 5 Remontage

► **Pour éviter de perdre ou d'endommager des pièces fragiles, remontez la pipette immédiatement après le diagnostic.**

Veillez à respecter l'ordre correct des pièces : le joint d'étanchéité **7** doit toujours être mis en place avant le joint torique **8**.



Problème **Solution**
La pipette a plus d'un an et sa fiche de vie montre qu'elle n'a pas été révisée au cours des 12 mois précédents : **Renvoyez la pipette chez Gilson pour une révision.**

Problème **Solution**
Pour les modèles autres que P2 et P10, vous avez identifié des dommages concernant le bouton-poussoir, l'écrou raccord, le joint d'étanchéité, le joint torique, l'embout porte-cône ou l'éjecteur : **Vous pouvez commander des pièces détachées chez Gilson. Ces pièces peuvent être remplacées dans le laboratoire sans affecter les performances de la pipette.**

Problème **Solution**
Pour tout autre problème, et pour les modèles P2 et P10 : **Renvoyez la pipette chez GILSON pour une vérification complète.**

Un bon entretien de routine aide à éviter les réparations coûteuses.



Pour mieux savoir comment prendre soin de votre pipette et obtenir des informations sur les stages de formation, contactez les spécialistes du micro-pipetage GILSON.



Une pipette est aux liquides ce qu'une balance de laboratoire est aux solides. Tout comme les balances et tout autre instrument de précision, les pipettes doivent être inspectées, nettoyées, entretenues et vérifiées périodiquement de façon à s'assurer de leur fonctionnement dans la limite des spécifications établies par le constructeur.

Dans le chapitre 5, nous avons découvert le diagnostic, le nettoyage et l'entretien des pipettes. Dans ce chapitre, nous allons découvrir les spécifications et la façon de déterminer si la pipette doit être réglée ou non.

6.1 A quoi correspondent les spécifications publiées ?

Les spécifications sont établies par le constructeur. Elles garantissent, en terme de justesse et répétabilité, les performances de toutes les pipettes pour un modèle et un volume donné. Le tableau ci-dessous indique les performances que vous pouvez obtenir avec n'importe quel modèle Pipetman P1000 réglé sur 200, 500 ou 1000 µL, à condition que la pipette soit entretenue correctement et qu'elle soit utilisée dans les conditions indiquées.

Vol. µL	Spécifications ¹			
	Exactitude erreur systématique		Fidélité erreur aléatoire	
	E (µL)	E (%)	S.D. (µL)	R.S.D. (%)
200	± 3	± 1,5	≤ 0,6	≤ 0,30
500	± 4	± 0,8	≤ 1,0	≤ 0,20
1000	± 8	± 0,8	≤ 1,5	≤ 0,15

¹ Ces spécifications sont définies pour des pipettes utilisées en mode direct. La méthode gravimétrique est utilisée, la température de l'eau désionisée et toutes les autres conditions étant stabilisées entre 21 et 22°C. Les valeurs indiquées incluent toutes les composantes de l'erreur dues à la fois à la chaleur normale de la main et au changement de cône.

En savoir plus

Q Qu'est-ce que l'exactitude ?

R L'exactitude représente l'aptitude d'un instrument de mesure à donner des réponses proches d'une valeur nominale. *

Q Qu'est-ce que la fidélité ?

R La fidélité représente la capacité d'un instrument à fournir des mesures très proches les unes des autres. **

* AFNOR : NF X 07-001, 1994 (F), P. 41.
** Voir le glossaire page 50 pour des définitions complètes.

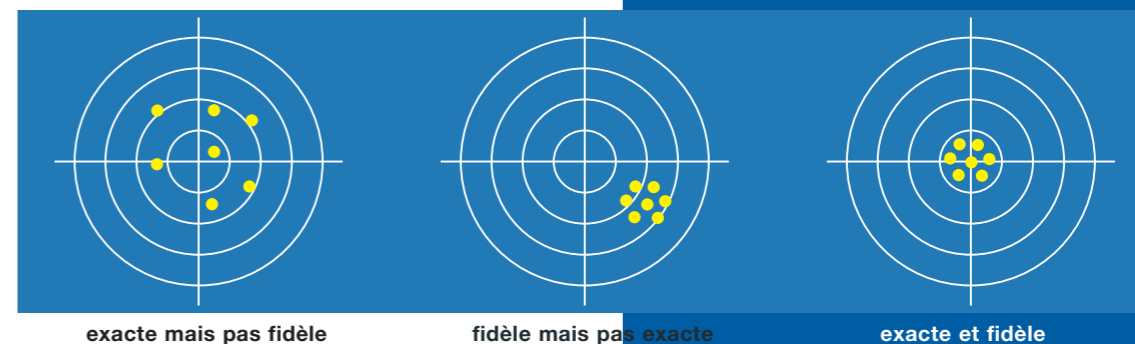
Quand c'est l'heure ...

Tous les jours à cinq heures, je règle ma montre sur l'horloge du clocher.

Si ma montre indique parfois 4h59 et parfois 5h01, on peut dire qu'elle est assez juste, mais pas répétable.

Si ma montre indique systématiquement 5h02, elle est répétable mais pas très juste.

Si elle indique toujours 5h00, ma montre est à la fois juste et répétable.



exacte mais pas fidèle

fidèle mais pas exacte

exacte et fidèle



"L'exactitude" et la "fidélité" sont des termes qualitatifs. Les termes quantitatifs correspondants sont "erreur systématique" et "erreur aléatoire".

• Evaluation de l'exactitude

L'exactitude spécifiée est la limite de l'erreur systématique qui est la différence entre le volume moyen des mesures réelles et la valeur nominale affichée sur l'instrument. L'erreur systématique (E) peut être estimée comme suit :

$$E = \bar{V} - V_0$$

E erreur systématique

V₀ volume nominal

\bar{V} volume moyen

$$\bar{V} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n V_i$$

V_i valeur mesurée

n nombre de mesures

L'exactitude d'une pipette peut être exprimée en pourcentage du volume nominal :

$$E\% = \frac{\bar{V} - V_0}{V_0} \times 100$$

Important

La moyenne et le nombre de mesures doivent être indiqués. La procédure expérimentale utilisée doit être décrite afin que d'autres opérateurs puissent la reproduire. Voir l'exemple de spécifications au chapitre 6.1.

• Evaluation de la fidélité

La fidélité spécifiée est la limite de l'erreur aléatoire qui correspond à la distribution des valeurs mesurées autour d'une moyenne. Pour les pipettes, la fidélité fait référence à un groupe de données à l'intérieur d'une série.

L'erreur aléatoire est alors quantifiée par l'écart-type des mesures effectuées par rapport à un volume donné sous les mêmes conditions de mesure.

L'écart-type (SD ou "S") peut être estimé comme suit :

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\bar{V} - V_i)^2}{n - 1}}$$

\bar{V} volume moyen

$$\bar{V} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n V_i$$

V_i valeur mesurée

n nombre de mesures (10 minimum)

La fidélité d'une pipette peut aussi être exprimée en pourcentage du volume moyen. Ce résultat est connu sous le nom d'écart-type relatif (RSD) ou coefficient de variation (CV), et est estimé comme suit :

$$CD = \frac{S}{\bar{V}} \times 100$$

La méthode gravimétrique est recommandée par les fabricants de pipettes et les organisations normatives internationales. Elle est basée sur la détermination du poids des échantillons d'eau distribués par la pipette.

La mise en œuvre de cette méthode nécessite le contrôle strict des conditions d'environnement et l'utilisation systématique d'un équipement approprié et contrôlé.

Considérations générales

Les pipettes Gilson sont conçues pour compenser les effets de la chaleur normale de la main pendant la série de tests. Cependant, l'appareil évalué ne doit pas être surchauffé par une utilisation prolongée.

21.5 °C
±1.5

La **température** doit se situer entre 21,5 ± 1,5°C (293-296 K)

70.7 °F
±2.7

1013 hPa
±25

La **pression barométrique moyenne** dans le laboratoire doit être de 1013 ± 25hPa (mbar)

14.5 psi
±0.36

45-75%

L'**humidité relative** doit être comprise entre 45 et 75% pour réduire la vitesse d'évaporation et contrôler la formation des charges électrostatiques.

45-75%

NB : Le poids de l'eau pipetée doit être converti en volume selon le tableau de correction (µL/mg). Voir annexe II.

Équipement nécessaire

• Thermomètre étalonné

Thermomètre étalonné avec échelle de lecture à 0,1°C pour mesurer la température ambiante et celle de l'eau au début et à la fin de la série de tests.

• Hygromètre

Hygromètre étalonné pour vérifier l'humidité de l'air pendant le test.

• Baromètre

Baromètre étalonné pour vérifier la pression atmosphérique.

• Eau désionisée

L'eau utilisée pour le test doit être désionisée, exempte d'air dissous, et doit être renouvelée deux fois par jour.

• Balances

Les balances de laboratoire nécessaires pour le test doivent présenter au moins les caractéristiques suivantes :

Volume testé µL	Sensibilité mg	Ecart-type mg	Classe IOLM*
0,1 à 20	0,001	0,002	E2
21 à 200	0,01	0,02	E2
201 à 10000	0,1	0,2	E2

*International Organization of Legal Metrology

• Verrerie

Le matériel de test doit présenter les caractéristiques suivantes :

Instruments	Volumes	Réservoir d'eau	Récipient de pesée	Balance	Autres
P2 - P20 F2 - F25 M10 M25 à 3 µL M100 à 10 µL	0,1 20 µL	Ø 35 mm H 50 mm	Ø 10.5 mm H 13 mm	10 ⁻⁶ g	Couvercle Pince
P100 - P200 8X200 F50 - F200 M25 - M50 M100 à 100 µL M250	20 200 µL	Ø 35 mm H 50 mm	Ø 21 mm H 50 mm	10 ⁻⁵ g	Couvercle
P1000 - P5000 F250 - F1000 M1000	200 5000 µL	Ø 50 mm H 70 mm	Ø 35 mm H 50 mm	10 ⁻⁴ g	-
P10ml	> 5 ml	bécher 250 ml	Ø 40 mm H 100 mm	10 ⁻⁴ g	-



6.4 Procédure d'étalonnage

Quelques remarques au sujet des balances

Avec les balances analytiques modernes, seulement deux balances sont nécessaires à un laboratoire pour vérifier tout un stock de pipettes allant de 0,1 µL à 10 ml. Une bonne combinaison correspondrait à une balance à six positions et une autre fonctionnant sur deux échelles, par exemple 50 g avec une sensibilité de 0,01 mg et 200 g avec une sensibilité de 0,1 mg.

Les balances de test doivent être étalonnées, entretenues et agréées par le service des poids et mesures.

Pour réduire les vibrations, les balances doivent être placées sur une table de balance ou un support équivalent. La zone de pesées doit être à l'abri des courants d'air, et l'air ambiant doit être exempt de poussière.

Conversion Masse/Volume

La conversion en volume doit tenir compte de la densité du liquide ainsi que de l'évaporation pendant le temps de cycle. Pour chaque mesure, le volume correspondant (V_i) peut être calculé comme suit :

$$V_i = (M_i + \bar{e}) Z$$

M_i est la masse lue sur la balance

\bar{e} est la perte d'évaporation moyenne pendant le temps de cycle

Z exprimé en µl/mg est un facteur de conversion intégrant la flottabilité de l'eau dans l'air, à la température et à la pression barométrique de test.

NB : Pour des mesures supérieures à 20 µL, le facteur d'évaporation peut être négligé.

Pour vous aider, vous trouverez un exemple complet en annexe I.

Estimation du facteur Z (facteur de conversion)

Le facteur Z ne correspond pas seulement à la densité de l'eau ajustée selon les paramètres locaux de température et de pression. Il doit aussi tenir compte de la densité de l'air et de la densité des masses utilisées pour étalonner la balance.

Pour les très petits volumes, l'application du facteur Z peut ne pas affecter le résultat final.

La formule détaillée ainsi que le tableau indiquant le facteur Z à prendre en compte sont fournis en annexe II.

Estimation du facteur \bar{e} (perte par évaporation)

L'évaporation qui se produit au cours du test gravimétrique dépend surtout de la température, de l'humidité et du temps de cycle de travail. Elle peut avoir un effet sensible sur les mesures des petits volumes (en particulier sur les modèles Pipetman P2, P10 et P20, F2, F5, F10 et F20, et les modèles Microman M10 et M25). La perte par évaporation est estimée en exécutant une série de quatre cycles de pesée simulés et en calculant la perte de poids moyenne par cycle de pesée en mg. Effectuez chaque cycle de pesée sans ajouter le liquide aspiré dans le récipient. Distribuez le liquide dans un récipient d'essai. L'évaporation moyenne \bar{e} est calculée comme suit :

$$\bar{e} = \frac{1}{4} (e_1 + e_2 + e_3 + e_4)$$

Une procédure pour la détermination de \bar{e} est fournie en annexe III.

6.5 Fréquence de tests

Etant donné que l'exactitude et la fidélité ont une influence directe sur la qualité des résultats analytiques, il est impératif de comparer régulièrement les performances des pipettes aux spécifications du fabricant.

L'analyse gravimétrique est une méthode pratique, largement utilisée pour tester les performances (justesse et répétabilité) d'une pipette.

Tableau de fréquence pour les tests de pipette

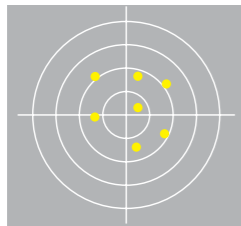
Fréquence	Test	Méthode
Quotidienne	Test de fuite	Voir Inspection en deux minutes (page 41)
Hebdomadaire	Test d'exactitude	4 mesures
Tous les six mois	Test d'exactitude et de fidélité	10 mesures

Important

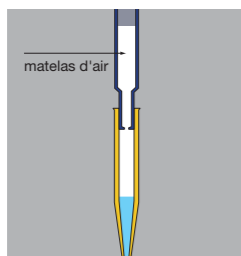
Vérifiez toujours si la pipette ne présente pas de défaut mécanique (voir inspection en deux minutes, page 38) avant de procéder à un test gravimétrique.

- Placer une petite quantité d'eau dans le récipient de pesée.
- Positionner le consommable (cône ou ensemble capillaire/ piston).
- Si le test concerne une pipette à volume variable, afficher le volume souhaité. En principe, on teste le volume minimum et le volume maximum spécifiés.
- Pré-rincer le cône une fois par une mesure normale sans la compter pour les calculs.
- Noter la température ambiante et celle de l'eau, l'humidité et la pression barométrique.
- Aspirer un échantillon en mode direct.
- Mettre la balance à zéro.
- Ouvrir la porte de la balance, retirer le récipient de pesée, distribuer l'échantillon, remettre sur le plateau de la balance et fermer la porte.
- Après stabilisation, noter la valeur (Mi).
- Répéter les étapes 6 à 9 autant de fois (n) que nécessaire pour le test.
- Pour un échantillon inférieur ou égal à 20 µL, estimer la perte par évaporation en répétant les étapes 6 à 8 exactement comme pour une pesée d'échantillon normale mais sans ajouter réellement l'échantillon dans le récipient de pesée. Noter la valeur absolue (ei) et répéter la mesure plusieurs fois (m).
- Noter la température, l'humidité et la pression barométrique. Vérifier que les valeurs se trouvent toujours à l'intérieur des limites recommandées.
- Utiliser la moyenne des premières et deuxièmes valeurs de la température et de la pression barométrique pour déterminer la correction nécessaire (Z). Voir annexe II.
- Calculer l'exactitude et la fidélité et comparer le résultat aux spécifications du fabricant. (Voir page 46 pour le calcul de l'exactitude et de la fidélité.)

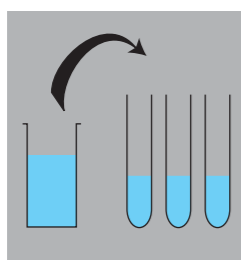


Exactitude*

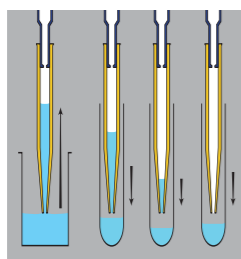
L'exactitude correspond à la capacité d'un instrument de mesure de donner des réponses proches d'une valeur nominale.
NB : «l'exactitude» est une notion qualitative.

Matelas d'air

Également appelé «volume mort», le Matelas d'air est le volume d'air situé entre la partie inférieure du piston de la pipette et le niveau de la surface de l'échantillon.

Aliquote

Partie mesurée d'une entité homogène. C'est un terme général pour désigner des échantillons multiples d'une solution, d'un mélange, etc.

Distributeur

Appareil qui fournit des volumes prédéterminés d'un liquide prélevé dans un réservoir. Le réservoir peut être intégré dans l'appareil ou y être raccordé.

Erreur (de mesure)*

Résultat d'un mesurage moins une valeur nominale du mesurande.

NB : Cette différence ou écart-type (positif ou négatif) est exprimée soit dans l'unité de la quantité mesurée (erreur absolue), soit en pourcentage de la valeur nominale (erreur relative).

Erreur (aléatoire)*

Résultat d'un mesurage moins la moyenne d'un nombre infini de mesurage du même mesurande effectués dans les conditions de répétabilité.

NB :

1 L'erreur aléatoire est égale à l'erreur moins l'erreur systématique.

2 Comme on ne peut faire qu'un nombre fini de mesurages, il est seulement possible de déterminer une estimation de l'erreur aléatoire.

Erreur (systématique)*

Moyenne qui résulterait d'un nombre infini de mesurages du même mesurande, effectués dans les conditions de répétabilité, moins une valeur vraie du mesurande.

NB : 1

1 L'erreur systématique est égale à l'erreur moins une erreur aléatoire.

2 Comme la valeur vraie, l'erreur systématique et ses causes ne peuvent pas être connues complètement.

Bonnes Pratiques de Laboratoire

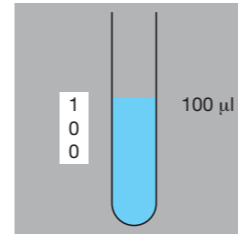
Les Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL) concernent le processus d'organisation et les conditions sous lesquelles des analyses de laboratoire sont planifiées, effectuées, surveillées, enregistrées et présentées.

Mesurande*

Grandeur particulière soumise à un mesurage.

Ex. : La pression de vapeur d'un échantillon d'eau donné à 20°C.

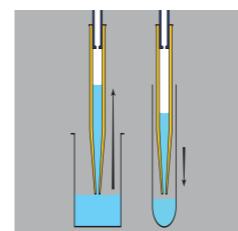
NB : La définition du mesurande peut nécessiter des indications relatives à des grandeurs telles que le temps, la température et la pression.

Volume nominal*

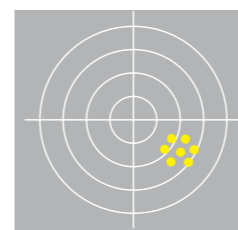
Valeur arrondie ou approximative d'une caractéristique d'un instrument de mesure qui sert de guide pour son utilisation.

Ex. : a) la valeur 1l marquée

sur une fiole jaugée à un trait. - b) 100 µl comme le réglage apparaissant sur le volumètre d'une pipette.

Pipette

Instrument destiné à distribuer un volume prédéterminé de liquide d'un récipient à un autre. Une pipette n'est pas reliée à un réservoir.

Fidélité

La fidélité est un terme qualitatif. Il s'agit de la capacité d'un instrument à fournir des réponses (mesures) très similaires. La fidélité est souvent appelée répétabilité et/ou reproductibilité.

Répétabilité* (des résultats de mesures)

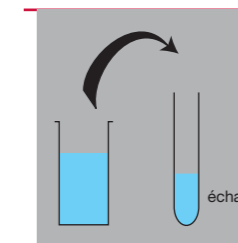
Étroitesse de l'accord entre les résultats des mesurages successifs du même mesurande, mesurages effectués dans la totalité des mêmes conditions de mesure.

- même mode opératoire
- même observateur
- même instrument de mesure utilisé dans les mêmes conditions
- même lieu
- Répétition durant une courte période de temps.

Remarque : Pour le pipetage, il faut réduire au minimum les variations imputables à l'opérateur (ex. : temps de cycle).

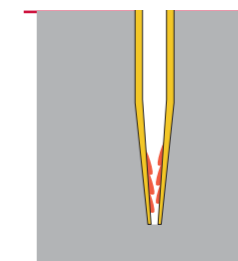
Reproductibilité* (des résultats de mesures)

Étroitesse de l'accord entre les résultats des mesurages successifs du même mesurande. Mesurages effectués en faisant varier les conditions de mesure (ex. : par un opérateur différent).

Échantillon

Partie représentative d'un liquide à analyser. Le terme «échantillon-test» est utilisé pour éviter la confusion avec le terme statistique «échantillon aléatoire

d'une population».

Rétention d'échantillon

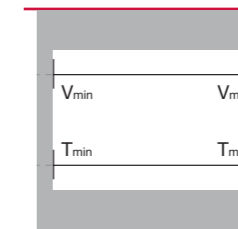
Partie de l'échantillon retenue dans l'instrument après la distribution de l'échantillon et qui peut affecter les échantillons suivants.

NB : La rétention d'échantillon d'une pipette à déplacement

positif est moindre que celle d'une pipette à déplacement d'air.

Valeur absolue

La valeur absolue est la valeur qui serait obtenue par une mesure parfaite.

Plage d'utilisation

Gamme de volumes et gamme de températures, ainsi que conditions ambiantes pour lesquelles sont données les spécifications de l'instrument.

NB : Ne pas sélectionner de volume en dehors des limites recommandées.

*Définitions extraites d'AFNOR : NF X 07+001, 1994 (F)



ANNEXE I - Exemple d'étalonnage

Voici un exemple pour évaluer les performances d'un Pipetman P10 à 1 µl.

1. Déterminer la valeur moyenne \bar{e} de la perte par évaporation e_i qui se produit pendant les cycles de pipetage. Procéder comme décrit en annexe III pour déterminer e_i :

$$\bar{e} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^m e_i$$

n : nombre de pesées

$$e_1 = 0,016 \text{ mg} \quad e_3 = 0,021 \text{ mg}$$

$$e_2 = 0,018 \text{ mg} \quad e_4 = 0,017 \text{ mg}$$

$$\bar{e} = (e_1 + e_2 + e_3 + e_4) / 4$$

$$\bar{e} = (0,016 + 0,018 + 0,021 + 0,017) / 4$$

$$\bar{e} = 0,018 \text{ mg/par cycle}$$

2. Remplacer le cône et procéder à la première pesée. Ensuite, maintenir un cycle régulier et effectuer les dix mesures suivantes.

$$M_r = 0,957 \text{ mg}$$

$$M_1 = 0,968 \text{ mg} \quad M_6 = 0,966 \text{ mg}$$

$$M_2 = 0,960 \text{ mg} \quad M_7 = 0,955 \text{ mg}$$

$$M_3 = 0,984 \text{ mg} \quad M_8 = 0,972 \text{ mg}$$

$$M_4 = 0,942 \text{ mg} \quad M_9 = 0,958 \text{ mg}$$

$$M_5 = 0,969 \text{ mg} \quad M_{10} = 0,967 \text{ mg}$$

M_r est la mesure de rinçage qui n'est pas prise en compte pour le calcul.

3. Calculer la masse moyenne.

$$\bar{M} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n M_i$$

n nombre de pesées

M_i résultats des pesées

$$\bar{M} = (0,968 + 0,960 + 0,984 + 0,942 + 0,969 + 0,966 + 0,955 + 0,972 + 0,958 + 0,967) / 10$$

$$\bar{M} = 0,964 \text{ mg}$$

4. Calculer le volume moyen.

$$\bar{V} = (\bar{W} + \bar{e}) \times Z$$

Pour une température de 21,5°C et une pression d'air de 1013 hPa, le facteur Z est égal à 1,0032 µl/mg (voir tableau à l'annexe II).

$$\bar{V} = (0,964 + 0,018) \times 1,0032$$

$$\bar{V} = 0,985 \text{ µl}$$

5. Évaluer l'exactitude.

Erreur systématique (E) :

$$E = \bar{V} - V_0$$

V_0 valeur nominale réglée sur l'instrument

$$E = 0,985 - 1 = -0,015 \text{ µl}$$

Erreur relative (E%) :

$$E\% = (\bar{V} - V_0) \times 100 / V_0$$

$$E\% = (-0,015 \times 100) / 1 = -1,50 \%$$

6. Évaluer la fidélité.

Écart-type (S_m)

$$S_m = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(M_i - \bar{M})^2}{n - 1}}$$

$$S_m^2 = \frac{1}{n - 1} \sum_{i=1}^n (M_i - \bar{M})^2$$

$$S_m^2 = \frac{1}{9} \left[\begin{array}{l} (0,968 - 0,964)^2 + (0,960 - 0,964)^2 + (0,984 - 0,964)^2 + \\ (0,942 - 0,964)^2 + (0,969 - 0,964)^2 + (0,966 - 0,964)^2 + \\ (0,955 - 0,964)^2 + (0,972 - 0,964)^2 + (0,958 - 0,964)^2 + \\ (0,967 - 0,964)^2 \end{array} \right]$$

$$S_m = 0,011 \text{ mg}$$

Erreur aléatoire (S_v) :

$$S_v = S_m \times Z$$

$$S_v = 0,011 \times 1,0032 = 0,011 \text{ µl}$$

ANNEXE II - Facteur Z

Voici l'équation pour le calcul de référence : $Z = [1/(P_E - P_A)] [1 - (P_A/P_B)]$

Où : P_A = densité de l'air à t°C.

P_E = densité du liquide de test à t°C.

P_B = densité des masses de la balance. Utiliser 8 g/cc pour P_B

NB : Les masses conformes à la Recommandation Internationale n°33 de l'IOLM ont été ajustées pour fournir des résultats lors de pesées dans l'air comme si la densité des masses était de 8,0 g/mL.

Valeurs du facteur de correction Z (µL/mg) pour l'eau désionisée en fonction de la température et de la pression.

Température °C	Pression d'air hPa					
	800	853	907	960	1013	1067
15	1,0018	1,0018	1,0019	1,0019	1,0020	1,0020
15,5	1,0018	1,0019	1,0019	1,0020	1,0020	1,0021
16	1,0019	1,0020	1,0020	1,0021	1,0021	1,0022
16,5	1,0020	1,0020	1,0021	1,0022	1,0022	1,0023
17	1,0021	1,0021	1,0022	1,0022	1,0023	1,0023
17,5	1,0022	1,0022	1,0023	1,0023	1,0024	1,0024
18	1,0022	1,0023	1,0024	1,0024	1,0025	1,0025
18,5	1,0023	1,0024	1,0025	1,0025	1,0026	1,0026
19	1,0024	1,0025	1,0025	1,0026	1,0027	1,0027
19,5	1,0025	1,0026	1,0026	1,0027	1,0028	1,0028
20	1,0026	1,0027	1,0027	1,0028	1,0029	1,0029
20,5	1,0027	1,0028	1,0028	1,0029	1,0030	1,0030
21	1,0028	1,0029	1,0030	1,0030	1,0031	1,0031
21,5	1,0030	1,0030	1,0031	1,0031	1,0032	1,0032
22	1,0031	1,0031	1,0032	1,0032	1,0033	1,0033
22,5	1,0032	1,0032	1,0033	1,0033	1,0034	1,0035
23	1,0033	1,0033	1,0034	1,0035	1,0035	1,0036
23,5	1,0034	1,0035	1,0035	1,0036	1,0036	1,0037
24	1,0035	1,0036	1,0036	1,0037	1,0038	1,0038
24,5	1,0037	1,0037	1,0038	1,0038	1,0039	1,0039
25	1,0038	1,0038	1,0039	1,0039	1,0040	1,0041
25,5	1,0039	1,0040	1,0040	1,0041	1,0041	1,0042
26	1,0040	1,0041	1,0042	1,0042	1,0043	1,0043
26,5	1,0042	1,0042	1,0043	1,0043	1,0044	1,0045
27	1,0043	1,0044	1,0044	1,0045	1,0045	1,0046
27,5	1,0044	1,0045	1,0046	1,0046	1,0047	1,0047
28	1,0046	1,0046	1,0047	1,0048	1,0048	1,0049
28,5	1,0047	1,0048	1,0048	1,0049	1,0050	1,0050
29	1,0049	1,0049	1,0050	1,0050	1,0051	1,0052
29,5	1,0050	1,0051	1,0051	1,0052	1,0052	1,0053
30	1,0052	1,0052	1,0053	1,0053	1,0054	1,0055



ANNEXE III - Perte par évaporation

Procédure pour déterminer la perte par évaporation

Utilisez la même eau désionisée, le même récipient de pesée et la même balance que ceux que vous allez utiliser pour le contrôle gravimétrique.

1. Remplir le récipient de pesée à moitié avec de l'eau désionisée.
2. Couvrir le récipient de pesée avec son couvercle et le placer sur la balance à l'aide d'une pince.
3. Pipeter un échantillon.
4. Tarer la balance et sortir le récipient de pesée de la balance.
5. Enlever le couvercle à l'aide de la pince.
6. Distribuer l'échantillon dans un récipient d'essai.
7. Remettre le couvercle en place sur le récipient de pesée et à l'aide de la pince, reposer le récipient sur la balance.
8. Lire le résultat négatif e_1 (noter la valeur absolue).
9. Répéter les étapes 3 à 8, trois fois pour obtenir e_2 , e_3 et e_4 .
10. Calculer la perte par évaporation \bar{e} à l'aide de la formule

$$\bar{e} = \frac{1}{4} (e_1 + e_2 + e_3 + e_4)$$

Normalement, cette valeur se situe entre 0,01mg et 0,03 mg.

