

À PROPOS DE PIPETAGE...

Il y a plus d'un siècle, Louis Pasteur inventait la pipette en verre pour réduire la contamination lors du transfert d'échantillons. 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 ne proposaient qu'un volume unique prédéfini (pipettes à volume fixe). Aussi, l'amélioration suivante la plus significative fut la flexibilité liée à l'intégration d'un système de réglage du volume (pipettes à volume variable).

En 1972, le Docteur Warren Gilson introduisit une pipette de haute précision pouvant être réglée sur n'importe quel volume, dans la limite de son domaine d'utilisation, pour n'importe quelle décimale (réglage continu). Son originalité résidait dans le fait que, pour éviter toute erreur, le volume sélectionné était affiché sur la pipette (lecture directe). Aujourd'hui encore, la pipette Gilson reste une référence mondiale en termes d'exactitude, de fidélité et de fiabilité.

Depuis, Gilson poursuit son effort de créativité pour proposer aux scientifiques des pipettes innovantes, robustes, fiables afin de les aider dans leurs tâches quotidiennes. Les systèmes de pipetage sont notre coeur de métier, et nous apprécions par dessus tout, de partager cette expertise et notre expérience, avec les utilisateurs de pipette afin qu'ils puissent atteindre leurs objectifs.

Ce quide vous donnera les clés pour mieux comprendre les pipettes et leur utilisation afin d'en obtenir le meilleur. Les exemples donnés se basent sur nos propres gammes de pipettes et de pointes, mais les techniques décrites s'appliquent également aux pipettes et aux pointes d'autres marques.



reddot design award winner 2015

Gilson est l'un des lauréats "Red Dot Award" pour le design de MICROMAN E.

CHAPITRE 1 - CHOIX DE LA PIPETTE | 8

Principe de fonctionnement | 8

Choix selon la nature de l'échantillon | 11

Choix selon l'application | 13

Productivité & pipetage répétitif | 14

CHAPITRE 2 - TECHNIQUES DE PIPETAGE | 16

Affichage du volume | 16

Mode de pipetage direct ou inverse | 17

Bonnes Pratiques du Pipetage | 23

Pipetage & Ergonomie | 23

CHAPITRE 3 - CHOIX DES POINTES | 26

Mise en place d'une pointe | 26

Choix selon l'application | 28

Évaluation de la qualité des pointes | 30

CHAPITRE 4 - PRÉVENTION DE LA CONTAMINATION | 32

Types de contamination et prévention | 32

Décontamination de votre pipette | 34

CHAPITRE 5 - MAINTENANCE & ETALONNAGE | 36

Spécifications ISO 8655 | 36

Reparation sur place ou retour SAV ? | 36

Diagnostic rapide | 37

Calcul de l'exactitude et de la fidélité | 38

Etalonnage | 39

Méthode gravimétrique | 41

Procédure d'étalonnage | 43

ANNEXE | 45

Annexe A: Glossaire | 45

Annexe B: Exemple d'étalonnage | 47

Annexe C: Facteur Z | 48

Annexe D: Evaporation | 49

Annexe E: Résistance chimique des plastiques | 50

FAQ | 51





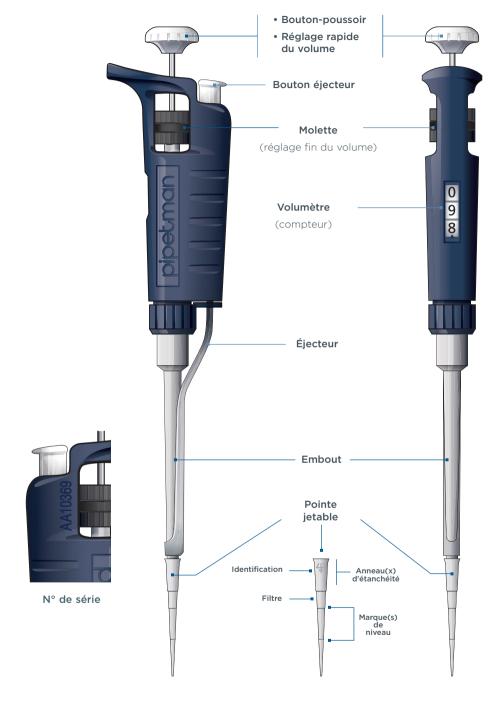


Figure 1 SCHÉMA PIPETMAN®

D'autres modèles sont disponibles. Pour plus d'information, visitez www.gilson.com.



Figure 2 SCHÉMA MICROMAN® E

GUIDE DU PIPETAGE | 7 | GUIDE DU PIPETAGE

CHOIX DE LA PIPETTE ADAPTÉE



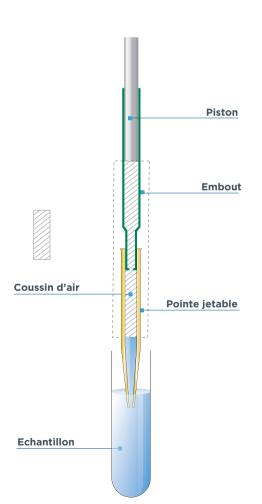
Principe de fonctionnement

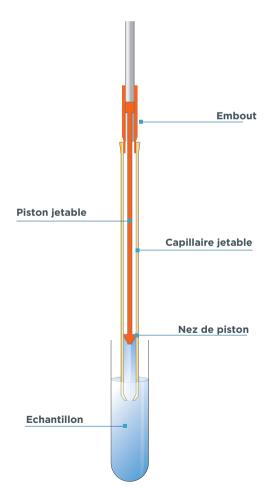
Pipette à déplacement d'air

- Recommandée pour les échantillons aqueux et pour le travail de laboratoire en général.
- Présence d'un coussin d'air (volume mort) entre le piston de la pipette et l'échantillon liquide.
- Le piston fait partie intégrante de la pipette.

Pipette à déplacement positif

- Recommandée pour les échantillons difficiles à pipeter (visqueux, denses, volatils, radioactifs, corrosifs, contaminants, chauds et froids).
- Contact direct entre et l'échantillon liquide (absence de coussin d'air).
- · Le piston, jetable, est associé au consommable (Il n'est pas intégré à la pipette).





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

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



Sélection du volume

Le volume demandé est affiché. Le piston se positionne à la hauteur correspondante.



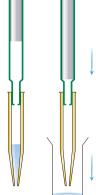
Préparation de l'aspiration

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



Aspiration de l'échantillon

Lorsque le boutonpoussoir est relâché, un vide partiel se crée à l'intérieur de la pointe. La pression atmosphérique fait monter le volume de liquide souhaité dans la pointe.



Distribution de l'échantillon

Le bouton-poussoir est actionné à nouveau. La pression augmente à l'intérieur de l'embout et de la pointe. L'air. comprimé, expulse le liquide hors de la pointe.

Fonctionnement d'une pipette à déplacement positif

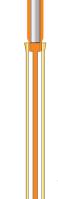
Les pipettes à déplacement positif, telles que MICROMAN®, fonctionnent comme des serinques, II n'y a pas de coussin d'air entre le piston jetable et l'échantillon. Sans ce coussin d'air élastique pouvant se dilater ou se contracter, la force d'aspiration reste constante et n'est pas affectée par les caractéristiques physiques de l'échantillon.

Ceci permet de pipeter des échantillons très visqueux ou de haute densité, tels que le glycérol ou le sang.



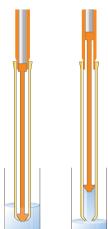
Sélection du volume

Le volume demandé est affiché. Le piston se positionne à la hauteur correspondante.



Préparation de l'aspiration

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





Aspiration de l'échantillon

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





Distribution de l'échantillon

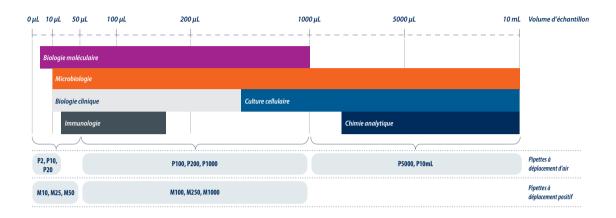
Le bouton-poussoir est actionné à nouveau. Le piston descend et expulse le liquide hors du capillaire.



Choix selon l'application

Le type d'analyse à effectuer, les propriétés physiques de l'échantillon liquide et le volume à pipeter déterminent la pipette à utiliser. Il est recommandé de choisir une pipette dont le volume nominal (maximum) soit le plus proche possible du volume à transférer.

Recommandations en fonction des volumes



Prise en compte des propriétés physiques de l'échantillon

Pour des volumes supérieurs à 10 mL, il est conseillé de travailler avec un pipeteur type MACROMAN, associé à des pipettes plastiques ou sérologiques.

Indépendamment du volume requis, la nature de l'échantillon affecte directement la précision et l'exactitude. Les pipettes à déplacement d'air seront plus adaptées aux liquides aqueux, tandis que les pipettes à déplacement positif s'utiliseront de préférence avec les liquides difficiles à pipeter.

ÉCHANTILLON	EXEMPLES	PIPETTE RECOMMANDÉE
Aqueuse	Eau, sucrose, Tris, tampons pH 7	Déplacement d'air
Biologique	ADN, ARN, protéines	Déplacement d'air avec pointes à filtre
Visqueux	Glycérol, surfactants, huile	
Volatil	Éthanol, hexane, formaldéhyde	
Dangereux	Isotopes radioactifs, sang, bactéries, virus, agents pathogènes	
Corrosif	Acides (acide chlorhydrique, sulfurique), bases (ammoniaque), sels (chlorure de sodium)	Déplacement positif

Précision pour les liquides difficiles à pipeter

La pipette à déplacement positif est la solution idéale pour pipeter intégralement et rapidement les échantillons visqueux ou denses, tels que : huile, sirop, crème cosmétique, aliment liquéfié, peinture, glycérol ou solutions tampons.

La pipette à déplacement positif est également recommandée pour pipeter sans fuite les liquides volatils, tels que : acétone, chloroforme, alcool et autres solvants.

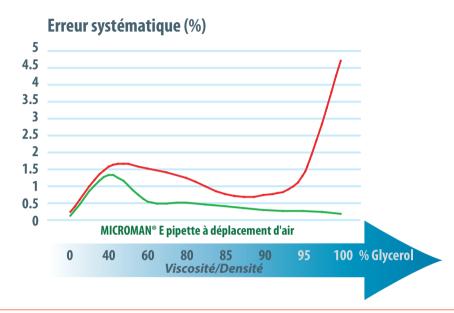


Figure 3 MICROMAN® E, Pipette à déplacement positif, Erreur systématique

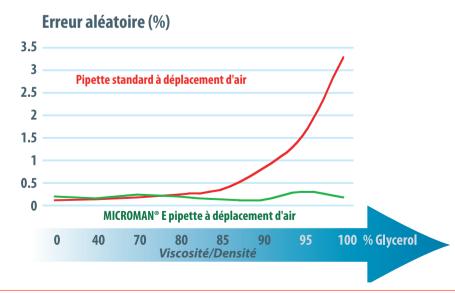


Figure 4 MICROMAN® E. Pipette à déplacement positif. Erreur aléatoire

CHOIX DE LA PIPETTE ADAPTÉE

Choix selon le format du contenant



Microtubes: toutes les pipettes monocanal conviennent pour les applications en microtubes comme par exemple les préparations gPCR.



Tubes à essais longs et étroits : Optez plutôt pour les pipettes à déplacement positif (capillairespistons longs et effilés) ou les pipeteurs (pipette verre ou plastique), dont le design est étudié pour atteindre le fond de ces tubes.



Réservoirs à réactifs : conçus pour la distribution de réactifs, notamment avec les pipettes multicanaux.



Microplagues 96 et 384 puits, et barrettes de tubes : les pipettes multicanaux sont couramment utilisées pour des applications type ELISA, mais on retrouve aussi les pipettes monocanal.

En permettant le pipetage simultané de 8 ou 12 échantillons, les pipettes multicanaux permettent de traiter une microplaque 8 à 12 fois plus rapidement qu'avec une pipette monocanal.



Lors d'applications de pipetage exigeant une grande productivité, la fiabilité des résultats est essentielle et chaque opération doit être aussi efficace que possible. Des résultats fiables ne signifient pas seulement des résultats reproductibles avec les échantillons d'un seul technicien, mais également entre tous les techniciens du laboratoire. Il existe plusieurs facons d'améliorer fiabilité et efficacité, comme par exemple l'utilisation de pipettes motorisées et/ou répétitives.

Variabilité entre utilisateurs

Les pipettes motorisées contribuent à réduire la variabilité entre utilisateurs. De nombreux facteurs peuvent affecter vos résultats de pipetage comme le réglage du volume, la technique de pipetage, la régularité et la vitesse d'aspiration, de distribution. Avec une pipette motorisée, vous réglez le volume exact sur le cadran numérique, le moteur utilise la même force de pipetage à chaque fois et maintient une vitesse constante lors de l'aspiration et la distribution de l'échantillon.

Aliquotage

Pour distribuer plusieurs aliquotes successivement sans remplissage intermédiaire, vous pouvez soit utiliser une pipette motorisée à déplacement d'air en mode répétitif, soit une pipette répétitive à déplacement positif.

Les pipettes répétitives permettent de distribuer un grand nombre d'aliquotes (jusqu'à 125), tandis qu'avec des pipettes motorisée, le nombre d'aliquotes est plus limité, et dépend du volume de la pipette.

Pour une distribution de 10 aliquotes ou moins, la pipette motorisée à déplacement d'air se présente comme la meilleure option.



TECHNIQUES DE PIPETAGE

TECHNIQUES DE PIPETAGE



Affichage du volume



Lecture et sélection du volume

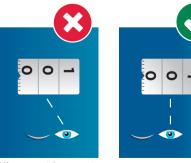
Tenez la poignée de la micropipette d'une main et de l'autre main, tournez la molette ou le boutonpoussoir. Cette opération est également réalisable facilement d'une seule main. Le réglage du volume par le bouton-poussoir est disponible sur les pipettes MICROMAN et, depuis avril 1995, sur les pipettes PIPETMAN (sauf PIPETMAN L).

Une astuce pour améliorer la précision

Terminer toujours l'affichage dans le sens des aiguilles d'une montre; ainsi les jeux mécaniques s'exercent toujours de façon identique. Voici comment procéder :

- Pour diminuer le volume, tournez la molette lentement jusqu'à ce que le volume souhaité soit affiché, sans dépasser la position requise.
- Pour augmenter le volume, tournez la molette d'environ 1/3 de tour au-delà du volume souhaité pour revenir ensuite lentement jusqu'à atteindre la valeur voulue.





Alignement incorrect: erreur de lecture

Alignement correct: lecture exacte

Pour éviter les erreurs de parallaxe, lors de la lecture du volume, assurez-vous que l'affichage se trouve directement dans votre ligne de vision. Pour cela, tenir la pipette horizontalement, à hauteur d'yeux et aligner la graduation.

Pour éviter d'endommager votre pipette, ne jamais tenter de forcer le réglage du volume au-delà des limites indiquées

TECHNIQUES DE PIPETAGE

Mode de pipetage direct ou inverse

Déplacement d'air / Mode direct

Le mode direct est le mode standard de pipetage avec une pipette à déplacement d'air comme PIPETMAN.



Préparation

Tenez la pipette verticalement. Appuyez doucement sur le boutonpoussoir jusqu'à la première butée.



pointe.

Aspiration

Immergez l'extrémité de la pointe dans le liquide*. Laissez le piston remonter lentement et sans à-coup à sa position de repos. Attendez 1 seconde afin que la totalité du liquide puisse remonter dans la



Distribution

Positionnez la pointe avec un angle de 10 à 45° contre la paroi du tube récepteur. Appuyez doucement sur le bouton-poussoir jusqu'à la première butée.



Purge

Attendez 1 seconde, appuyez ensuite sur le bouton-poussoir jusqu'à la deuxième butée. Cette course de "purge" chasse toute trace d'échantillon de la pointe. Retirez la pipette en faisant glisser l'extrémité de la pointe le long de la paroi.



Position initiale

Laissez le piston remonter jusqu'en position initiale.

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).

VOLUME	PROFONDEUR D'IMMERSION (mm)
0.1 —1 μL	1
1—100 μL	2-3
101—1000 μL	2-4
_1001 μL— 10 mL	3-6

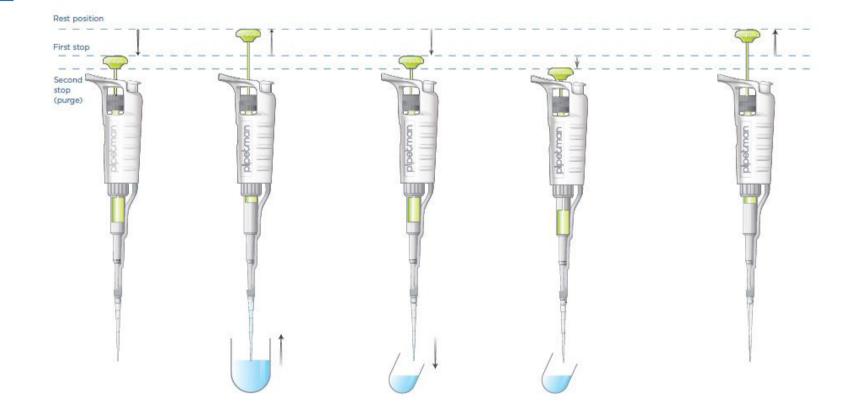
Pré-Rincage

On obtient une plus grande uniformité et donc une meilleure répétabilité, si les surfaces de contact sont identiques pour toutes les aliquotes. Ce résultat s'obtient grâce à un pré-rinçage avec le liquide qui sera distribué.

Pour pré-rincer, aspirer le liquide dans la pointe puis le redistribuer dans le récipient d'origine ou le jeter.

Le pré-rinçage est nécessaire à chaque changement de pointe et à chaque changement de volume.

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



Mode de pipetage direct ou inverse

Déplacement d'air / Mode inverse

Le mode inverse n'est possible qu'avec les pipettes à déplacement d'air. Il est parfois utilisé pour le pipetage de liquides légèrement visqueux.

Lors du pipetage en mode inverse, la course de purge est utilisée pendant l'étape de préparation. Un volume supplémentaire de liquide est ainsi aspiré permettant de compenser la rétention ou l'évaporation d'échantillon.



Préparation

Tenez la pipette verticalement. Appuyez doucement sur le boutonpoussoir jusqu'à la deuxième butée.



Aspiration

Immergez l'extrémité de la pointe dans le liquide*. Laissez le piston remonter lentement et sans à-coup à sa position de repos. Attendez une seconde afin que la totalité du liquide puisse remonter dans la



Distribution

Positionnez la pointe avec un angle de 10 à 45° contre la paroi du tube récepteur. Appuyez doucement sur le bouton-poussoir jusqu'à la première butée. Attendez une seconde.



Ré-Aspiration

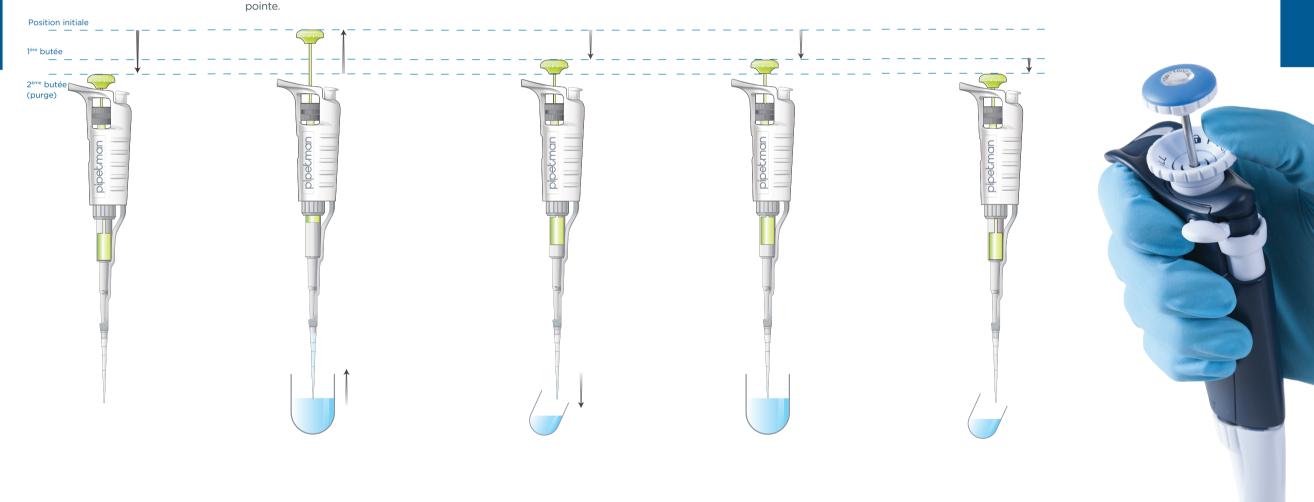
Si la pointe est réutilisée pour le même échantillon, maintenez le piston à la position intermédiaire et recommencez à partir de l'étape 2.



ou

Purge complète

Attendez une seconde et purgez. Si la pointe n'est pas réutilisée, appuyez sur le bouton-poussoir jusqu'en position de purge audessus d'un récipient et éjectez ensuite la pointe.



20 TECHNIQUES DE PIPETAGE | GUIDE DU PIPETAGE

Mode de pipetage direct ou inverse

Déplacement positif / Mode direct



Préparation

Appuyez sur le boutonpoussoir jusqu'à la première butée. Le piston se déplace jusqu'à la position correspondante.



Aspiration

Immergez le capillaire/piston dans le liquide*. Relâchez le bouton-poussoir pour le laisser remonter jusqu'à la position de repos. Le piston remonte, entraînant le volume de liquide souhaité dans le capillaire.



Distribution

Appuyez sur le boutonpoussoir jusqu'à la première butée. Le piston descend et chasse le liquide du capillaire.



Ejection

Appuyez complètement sur le bouton-poussoir jusqu'à la deuxième et dernière butée. Le capillaire et le piston sont éjectés simultanément sans contact manuel.



Pour éviter de fausser les résultats de pipetage, veiller à l'absence de liquide à l'extérieur de la pointe. Si nécessaire (pour les liquides visqueux, tels que les crèmes), essuyer l'extérieur de la pointe ou du capillaire avec une lingette à usage médical. Ne pas toucher l'orifice. Choisissez une lingette résistante, non pelucheuse, et inerte aux acides et solvants. Respecter les règles d'hygiène et de sécurité pour l'éliminer.

> Lors du pipetage d'échantillons à risque, ne jamais essuyer le consommable. Veiller simplement à respecter la profondeur d'immersion recommandée.



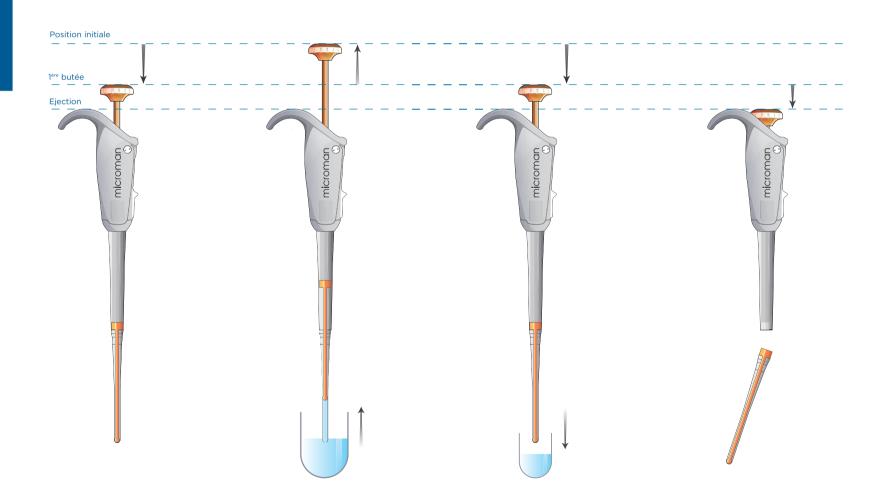
Pré-rincage

Pour pré-rincer le capillaire, aspirer/refouler une 1ère fois l'échantillon dans le réservoir d'origine (ou à la poubelle) avant de pipeter.



Lors du pipetage d'échantillons à risque, ne jamais essuyer le consommable. Veiller simplement à respecter la profondeur d'immersion recommandée.

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



22 TECHNIQUES DE PIPETAGE | GUIDE DU PIPETAGE

Bonnes Pratiques du Pipetage

Évitez les erreurs de pipetage les plus courantes

DE NOMBREUX FACTEURS PEUVENT IMPACTER LA PRÉCISION DU PIPETAGE

PARAMÈTRES & EFFETS	CORRECTIVE MEASURES
Des pointes inadaptées ou présentant un défaut d'étanchéité peuvent affecter la précision de 0.5 à 50%	Utilisez des pointes d'origine ou les pointes recommandées
La réutilisation des pointes peut affecter la précision de jusqu'à 4%	Les pointes sont à usage unique
La rectitude et le profil des pointes peut affecter la précision jusqu'à 10%	Utilisez les pointes recommandées
La différence de tension de vapeur entre le liquide pipeté et l'eau utilisée pour l'étalonnage initial peut affecter la précision jusqu'à 2%	Pré-rinçage suffisant des pointes
Absence de contact entre la pointe et la paroi du récipient lors de la distribution peut affecter la précision jusqu'à 3%	Distribuez au contact de la paroi du récipient en "essuyant" la pointe sur 8 à 10mm*
La profondeur d'immersion et l'angle de manipulation pendant le pipetage peuvent affecter la précision jusqu'à 1%	Tenez la pipette à la verticale durant le pipetage
Un rythme de pipetage irrégulier peut affecter la précision jusqu'à 1.5 %	Veillez à la régularité du rythme et de la technique de pipetage
Un défaut d'étanchéité au niveau du piston peut affecter la précision de 1 à 50%	Vérifiez régulièrement la pipette ainsi que le volume pipeté
Un mouvement irrégulier du piston peut affecter la précision jusqu'à 0.5 %	Pipetez sans à-coup.

Informations extraites de la norme ISO 8655-2 - Annexe B

Pipetage & Ergonomie

Prenez quelques minutes pour vous organiser:

- 1. Adoptez une posture adaptée
- 2. Sélectionnez le matériel adéquat Gilson propose différents modèles de pipettes dont les forces de pipetage sont adaptées aux préférences de chaque utilisateur. PIPETMAN L présente les forces de pipetage les plus faibles de la gamme.
- 3. Exécutez une gestuelle appropriée
- 4. Optimisez votre poste travail





Téléchargez le poster **Gilson Ergonomics**

et augmentez votre confort de travail au laboratoire

www.gilson.com/resources/ergonomics.pdf

Prenez le temps de vous détendre

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

Veillez surtout à effectuer un mouvement de pipetage régulier

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

Utilisez un portoir

Vous protégez vos pipettes en les rangeant systématiquement à la verticale sur un portoir. En effet, les pipettes posées sur la paillasse ou stockées dans un tiroir sont particulièrement exposées à la contamination. Le portoir contribue également à améliorer l'ergonomie du poste de pipetage.



Figure 5 Portoir SINGLE®



Figure 6 Portoir POWER CARROUSEL®

24 TECHNIQUES DE PIPETAGE | GUIDE DU PIPETAGE

^{*} Gilson recommande de positionner la pointe avec un angle de 10 à 45° contre la paroi du tube récepteur.

CHOIX DES POINTES

CHOIX DES POINTES



Mise en place d'une pointe



Appuyez en imprimant un léger mouvement de rotation.



Évitez de marteler les pointes avec la pipette.

Avec une pipette monocanal

Maintenez la pipette d'une main et appuyez en imprimant un léger mouvement de rotation pour permettre l'ajustement correct de la pointe sur l'embout de la pipette et assurer l'étanchéité.

Pour protéger votre pipette, évitez de marteler la pointe avec la pipette. Les pointes sont disponibles en racks TIPACK pour une prise des pointes facile et sans contact avec la main.



Figure 7 Mise en place des pointes jetables sur pipette mono et multicanaux

Avec une pipette multicanaux

Pour éviter d'endommager votre pipette, Gilson recommande de ne pas marteler les pointes.

Pour une mise en place facile et fiable des pointes sur les pipettes multicanaux, Gilson a conçu ROCKY RACK™, un système breveté, disponible sur tous les racks et recharges de pointes TIPACK™, TOWERPACK™, BLISTER REFILL™ et RELOAD PACK™. D'un simple mouvement de balancier, les pointes se fixent parfaitement et durablement, sans aucun ajustement manuel supplémentaire.

Mise en place du Capillaire-Piston (CP) sur MICROMAN

- Appuyez sur le bouton-poussoir jusqu'en 2^{ème} butée.
- Placez la pipette au-dessus d'un CP. La pince de MICROMAN s'ouvre pour saisir le piston.
- 3. Appuyez avec la pipette pour fixer le capillaire sur la pipette.
- 4. Laissez remonter la tige de commande.
- 5. Appuyez sur le bouton-poussoir jusqu'à la lère butée pour finaliser la fixation.

C'est encore plus simple avec la nouvelle génération MICROMAN E, grâce au système "QuickSnap":

- Appuyez doucement MICROMAN E sur le CP jusqu'à ce qu'il se fixe.
- 2. Prenez le CP en le sortant du rack.
- Appuyez sur le bouton-poussoir en 1ère butée, jusqu'à sentir et entendre un léger clic.

Pour une protection maximale contre la contamination, les CPs pour MICROMAN sont disponibles pré-assemblés sur racks et stérilisés.

Éjection des pointes usagées

Évitez tout contact avec les consommables usagés. Pour éjecter les pointes, appuyez sur le bouton d'éjection en veillant à maintenir la pipette au dessus de la poubelle.

Pour éjecter le CP de MICROMAN, appuyez sur le bouton-poussoir jusqu'en 2^{ème} butée.

Les consommables usagés étant susceptibles de contenir des résidus, en particulier lors du pipetage en mode inverse, veillez à prendre les précautions nécessaires.



Figure 8
Mise en place du CP sur
MICROMAN E



Figure 9
Ejection du consommable

Quand changer de pointe ?

Lors du transfert d'échantillons différents, remplacez la pointe à chaque nouveau liquide. Il est recommandé d'effectuer un pré-rinçage pour chaque nouvelle pointe.

Pour une distribution répétitive d'un même liquide (diluant, tampon ou réactif), il est possible de garder la même pointe. Cette méthode est économique et efficace. Il est recommandé de pré-rincer la pointe avant de commencer une série.

Choix selon l'application

Les pointes PIPETMAN sont disponibles dans un large choix de modèles et de conditionnements pour répondre à une grande variété de besoins et applications :

Pointes autoclavables

Vrac

Une solution économique pour les applications de routine. Ils peuvent être placés à la main dans des racks vides pour faciliter l'utilisation, ou pour l'autoclavage.

En rack pré-rangé, pour une utilisation rapide et sans contact manuel

Les racks TIPACK sont des boîtes avec couvercle articulé pour une protection optimale contre la poussière. Format microplaque 96 puits pour une utilisation avec pipettes multicanaux. Code couleur pour faciliter l'identification. Prêts à autoclaver, les racks sont réutilisables.

En rack stérilisé pour les applications en conditions stériles

Les pointes PIPETMAN sont stérilisées par irradiation et livrées dans des boîtes scellées.

Système de recharge TOWERPACK & RELOAD PACK

Des pointes de qualité, des systèmes de recharge simples, économiques et écologiques. Boîtes vides rechargeables, réutilisables et autoclavables. TOWERPACK est disponible également en version stérile

Pointes à filtre stériles

Pointes à filtres stériles en racks TIPACKS

Les pointes à filtres préviennent la contamination par aérosols. Elles sont stérilisées par irradiation et livrées dans des boîtes scellées.

Stériles sous emballage individuels STERIPACKS

Ouverts juste au moment de l'utilisation pour garantir la stérilité jusqu'au dernier moment. Une bonne solution lorsque vous n'avez besoin que d'une petite quantité de pointes stériles.

Capillaires et Pistons pour pipettes à déplacement positif

Priorité à la sécurité!

Les CPs pour MICROMAN sont en plastique incassable, ce qui élimine tout risque de blessure lié à la rupture des capillaires en verre.



Méthodes de stérilisation des consommables

1. Rayons bêta ou gamma

Cette méthode est utilisée par les fabricants pour les produits portant la mention «stérile». Les rayons, pénétrants, sont très efficaces pour les matières plastiques relativement inertes mis en oeuvre pour la fabrication des pointes. Le choix des rayons, gamma ou bêta, est déterminé par le type plastique utilisé. Les pointes PIPETMAN DIAMOND sont stérilisées aux rayons gamma, avec un niveau d'assurance de stérilité garanti SAL 10-6.

2. Oxyde d'éthylène

Si le plastique n'est pas compatible avec une irradiation bêta ou gamma, on utilise l'oxyde d'éthylène. L'EtO est notamment utilisé pour la stérilisation des CPs.

Conditionnements

Gilson propose un large choix de conditionnements pour des applications variées :



Options de conditionnement des pointes PIPETMAN

Pour trouver les pointes standard ou à filtre correspondant à votre pipette, consultez le tableau de compatibilité du catalogue "Solutions pour le Pipetage"



Évaluation de la qualité des pointes

Bien qu'elles aient toutes l'air identiques, toutes les pointes ne se valent pas! Le choix d'une pointe de mauvaise qualité peut compromettre vos résultats. Choisissez plutôt la pointe recommandée par le fabricant de la pipette pour garantir exactitude et répétabilité et vérifiez toujours les points suivants:

La qualité du matériau

Il existe quantité de marques de pointes et différentes qualité de matière plastique. Gilson sélectionne pour ses pointes une qualité spécifique de polypropylène, naturellement hydrophobe et de faible rétention.

Absence de contaminants potentiels

La propreté des pointes est un critère important. En effet, les résidus de production, la poussière ou les contaminants biologiques provenant du site de production peuvent contaminer vos échantillons. De plus, les pointes doivent être chimiquement résistantes et sans additifs tels que silicones, colorants, biocides, agents antistatiques ou traces de métaux tels que aluminium, nickel ou zinc.

Un certificat concernant les traces de métaux des pointes Gilson est disponible sur demande.

Les garanties du fabricant

TRAÇABILITÉ

Le numéro de lot apparait sur chaque boîte ou sachet de pointe, ainsi l'historique des pointes est tracable depuis la fabrication, le conditionnement jusqu'à la paillasse du laboratoire.

QUALITÉ DE PRODUCTION

Chaque pointe PIPETMAN DIAMOND est marquée individuellement avec le logo Gilson ainsi qu'un numéro d'identification.

Ce numéro permet l'identification du moule ainsi que de l'empreinte exacte qui a produit la pointe.



Figure 11 Pointes PIPETMAN DIAMOND Etiquette d'identification



Figure 12 Pointes PIPETMAN DIAMOND Garantie de tracabilité

30 CHOIX DES POINTES | GUIDE DU PIPETAGE GUIDE DU PIPETAGE | CHOIX DES POINTES 31

PRÉVENTION DE LA CONTAMINATION



Type de contamination & Prévention

Équipement protection individuelle

PRÉVENTION

Selon votre laboratoire, l'équipement de protection individuelle spécifique recommandé peut inclure le port de :

- Blouse de laboratoire
- Gants
- Lunettes de protection
- Masque
- Chaussures de sécurité.

SURFACES DE TRAVAIL

- Nettoyer la paillasse avant et après avec un produit adapté à votre application (culture cellulaire, composé radioactif, échantillon pathogène, etc.).
- Travailler sous hotte.
- Travailler derrière un écran de protection contre la radioactivité.
- Éviter tout contact avec les pointes usagées.

Pipette → Échantillon

Des pointes contaminées, ou une pipette souillée, vont à leur tour contaminer l'échantillon.

PRÉVENTION

- Ranger vos pipettes sur un portoir, verticalement.
- Éjecter les pointes usagées dans le conteneur dédié.
- Nettoyer votre pipette selon le protocole du laboratoire.
- Utiliser des pointes stériles si nécessaire.
- Remplacer la pointe à chaque échantillon pour éviter la contamination croisée.

Échantillon → Pipette

Une contamination peut se produire si l'échantillon ou des aérosols pénètrent dans le corps de la pipette.

PRÉVENTION

- Pour empêcher que des liquides ne remontent dans le corps de la pipette, éviter d'incliner la pipette de manière excessive et stocker toujours l'instrument verticalement.
- Relâcher le bouton-poussoir lentement et sans à-coup.
- Utiliser des pointes à filtre pour éviter la contamination par aérosols.
- Utiliser le Kit Anti-corrosion disponible pour PIPETMAN P1000 (Neo, G & L).
- Choisissez MICROMAN E pour une protection totale.

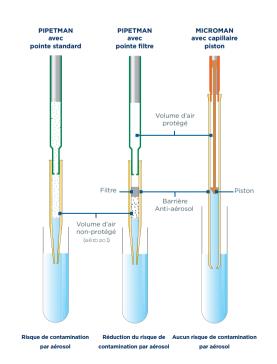


Figure 13 Solutions contre la contamination

Échantillon → Échantillon (Carryover ou rétention)

CHANGER DE POINTE À CHAQUE ÉCHANTILLON.

Une partie de l'échantillon (A) peut adhérer à la paroi interne de la pointe après la distribution de l'échantillon.

La partie restante de l'échantillon (A) peut se mélanger avec l'échantillon suivant (B) et fausser le résultat d'essai.

Comment prévenir la contamination par aérosol?

Il est essentiel d'éviter la contamination par aérosol lors d'applications type PCR ou autres procédés d'amplification, ou lors du pipetage de solutions d'ADN/ARN, de matières infectieuses, d'échantillons radioactifs, etc.

Gilson propose deux solutions:

- 1. Utilisation de pointes à filtre stériles PIPETMAN DIAMOND avec votre pipette PIPETMAN dans les cas suivants:
 - Travail en conditions stériles
 - Pipetage d'échantillons aqueux
 - Pour éviter la contamination croisée
- 2. Utilisation de capillaires-pistons stérilisés avec une pipette MICROMAN pour les cas suivants :
 - Travail en conditions stériles
 - Pipetage d'échantillons visqueux
 - Pour éviter la contamination croisée

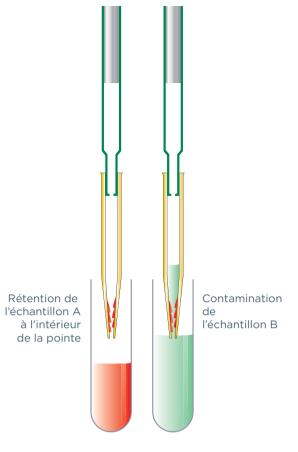


Figure 14 Carryover ou Rétention

Décontamination de votre pipette

Les solutions mentionnées ci-dessous sont des exemples. Si vous en envisagez d'autres, assurezvous au préalable de la compatibilité de votre protocole de décontamination avec les matériaux de votre pipette avant de vous reporter à la procédure de décontamination en vigueur au laboratoire.

CAUSES DE CONTAMINATION	TECHNIQUES DE DÉCONTAMINATION	RECOMMANDATIONS
		Démontez la partie basse de votre pipette et immergez complètement les pièces contaminées* dans un bac à ultrasons contenant un détergent ou une solution nettoyante recommandée pour les appareils de laboratoire. Rincez abondamment les éléments de la pipette à l'eau distillée avant de les sécher soigneusement.
Composés radioactifs	Détergent - solution nettoyante	Assurez-vous toujours que la radioactivité ait diminué jusqu'à un seuil acceptable.
Virus, bactéries, mycoplasme,		Les plans de travail peuvent être décontaminés par exposition aux rayons UV (300 nm) pendant 15 minutes. Les rayons UV n'endommagent pas les matériaux de PIPETMAN. NOTE : les rayons UV n'étant pas pénétrants, cette méthode ne
champignons	UV radiation	permet pas la décontamination interne de la pipette. Démontez la partie basse de votre pipette et immergez complètement les pièces contaminées* dans une solution d'eau de javel à 3% au moins pendant 15 minutes. Rincez abondamment à l'eau distillée et séchez soigneusement.
ADN, ARN, Échantillons biologiques	Solution javel 10% ou Rayons UV	L'exposition aux UV pendant 30-60 minutes permettra de réduire davantage la contamination par de l'ADN, sans totalement l'éliminer de la surface de la pipette.
Solutions aqueuses Tampons Acides/Bases	Eau	Démontez la partie basse de votre pipette. Rincez abondamment à l'eau distillée avant de sécher soigneusement.
Solvants organiques Protéines	Détergent - solution nettoyante	Démontez la partie basse de votre pipette et immerger totalement les pièces contaminées* dans un bac à ultrasons contenant un détergent ou une solution nettoyante recommandée pour les appareils de laboratoire. Rincez abondamment les éléments à l'eau distillée avant de les sécher soigneusement.

Pour les pipettes d'autres marques, merci de vous assurer de la compatibilité des matériaux avec les solutions de nettoyage

Autoclavage

Il s'agit du moyen de stérilisation le plus courant. Les pointes PIPETMAN DIAMOND ainsi que certains éléments des pipettes PIPETMAN peuvent être stérilisés en laboratoire en respectant les conditions suivantes : chaleur humide/ 121°C/ 20 minutes/ 1 bar.



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

^{*}Consultez le manuel d'utilisation pour la liste des éléments pouvant être nettoyés par immersion.

^{*} Certains éléments de PIPETMAN peuvent être autoclavés. Reportez-vous au manuel d'utilisation de votre PIPETMAN pour des informations détaillées.



MAINTENANCE & ETALONNAGE

Spécifications ISO 8655

La norme ISO 8655 indique des valeurs limites d'exactitude et de répétabilité en valeur absolue et en valeur relative. Ces valeurs varient selon la technique utilisée (déplacement d'air, déplacement positif, pipettes répétitives).

A quoi correspondent les spécifications constructeur?

Ces spécifications, établies par le fabricant, garantissent, en termes d'exactitude et de précision, la performance de toutes les pipettes d'une marque donnée, pour un modèle donné et un volume

	1AXIMALE TOLÉRÉE TTE DE 1 000 μL	ERREUR MAXII GILSON	MALE TOLÉRÉE	ERREUR MAXIMALE TOLÉRÉE ISO 8655		
MODÈLE	VOLUME	ERREUR (µL)	ERREUR (µL)	ERREUR (μL) ERREUR (μL)		
	(μL)	SYSTÉMATIQUE	ALÉATOIRE	SYSTÉMATIQUE ALÉATOIRE		
P1000	100	± 3	≤ 0.6	± 8	≤ 3	
	500	± 4	≤ 1	± 8	≤ 3	
	1000	± 8	≤ 1.5	± 8	≤ 3	

Ces spécifications sont définies pour une utilisation des pipettes en mode direct, par méthode gravimétrique, la température de l'eau distillée et conditions d'environnement étant stabilisées entre 15 et 30°C. Les valeurs indiquées incluent toutes les composantes de l'erreur due à la fois au transfert de chaleur manuelle et au changement de pointe.

Pour être conforme à la norme ISO 8655, les spécifications de la pipette doivent respecter les erreurs maximales tolérées correspondantes.

Réparation sur place ou retour SAV?

PROBLÈME	SOLUTION
Votre pipette a plus d'un an et les dossiers indiquent qu'elle n'a pas été révisée au cours des 12 derniers mois.	La conformité aux erreurs maximales tolérées autorisées devrait être vérifiée au moins une fois par an (ISO 8655-1). Si vous ne disposez pas de l'équipement nécessaire ou si la pipette échoue à un contrôle de performance, retournez la pipette à votre centre de service Gilson. Pendant l'intervalle entre deux étalonnages, Gilson recommande de procéder régulièrement à un diagnostic rapide (voir "INSPECTION EN DEUX MINUTES" page 37).
Vous avez identifié un problème au niveau du bouton- poussoir, écrou-raccord, joint de piston, joint torique, embout, ou éjecteur (sauf microvolumes, P2 et P10 µL).	Des pièces détachées sont disponibles auprès de votre représentant local Gilson. Ces pièces garanties d'origine constructeur, peuvent être remplacées sans aucune incidence sur les performances de votre pipette.
Pour tout autre problème et pour les microvolumes (modèles 2 et 10 μ L).	Retournez la pipette au Centre de Service GILSON.

Diagnostic rapide

Maintenance

L'entretien régulier de votre pipette est garant de la fiabilité de vos résultats. Les recommandations du constructeur sont détaillées dans le manuel d'utilisation fourni avec chaque pipette.

INSPECTION EN 2 MINUTES

La vidéo ainsi que le poster Gilson "Inspection en 2 minutes" vous quident pas-à-pas pour établir un diagnostic rapide de votre pipette. A l'issue de ces tests, selon le défaut identifié, vous pourrez décider soit de réparer vous-même la pipette au laboratoire, soit de la retourner au centre de service pour maintenance.

Pour toute question relative au service, l'entretien ou la réparation, n'hésitez pas à contacter nos

La réalisation d'une maintenance de routine adaptée permet de prévenir les réparations coûteuses.





Inspection en 2 minutes VIDÉO

www.gilson.com/Inspection_Videos



Inspection en 2 minutes **POSTER**

www.gilson.com/resources/inspection_poster.pdf

Calcul de l'Exactitude et de la Fidélité

"Exactitude" et "Fidélité" sont des termes qualitatifs. Les termes quantitatifs correspondants sont "Erreur Systématique" et "Erreur Aléatoire". Il faut au préalable effectuer une conversion des masses en volumes.

Évaluation de l'Exactitude

L'exactitude spécifiée est la limite de l'erreur systématique, qui est la différence entre la moyenne des volumes distribués et le volume nominal ou volume sélectionné sur l'instrument.

L'erreur systématique (E) peut être évaluée comme suit:

$$E = V - V_0$$

E Erreur systématique

V₀ Volume nominal

 $\overline{\mathbf{V}}$ Volume moyen

$$\overline{\mathbf{V}} = \frac{\sum_{i=1}^{n} \mathbf{V}_{i}}{\mathbf{n}}$$

Vi volumes individuels mesurés

n nombres de mesures

L'erreur systématique d'une pipette peut également s'exprimer en % du volume nominal:

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

Facteurs influençant l'exactitude

Température

NOTE

(différence de température entre l'instrument et le liquide)

Densité de l'échantillon

(affecte le volume de liquide aspiré dans la pointe)

Technique de pipetage

Évaluation de la Fidélité

La fidélité spécifiée est la limite de l'erreur aléatoire, qui est la dispersion des volumes distribués autour de la moyenne des volumes. Pour les pipettes, la fidélité fait référence à un groupe de données au sein d'une même série et donc à la répétabilité.

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 :

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

Volume moyen

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 :

$$CV = \frac{SD}{\overline{V}} \times 100$$

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.

Étalonnage

L'étalonnage doit être réalisé régulièrement, par un personnel qualifié, afin d'évaluer et quantifier les performances de votre pipette.

Étalonnage et Système Qualité

L'intégration de l'étalonnage des pipettes au sein du système qualité a pour principal objectif de garantir que la distribution des échantillons s'effectue avec une exactitude et une fidélité données. Bien souvent, les erreurs maximales tolérées sont basées sur celle du constructeur alors même qu'un tel niveau de précision n'est pas systématiquement nécessaire pour la tâche concernée. Il convient de prendre en compte le fait que dans un environnement de laboratoire (non contrôlé), les spécifications constructeur pourraient ne pas être atteintes.

Par conséquent, les utilisateurs doivent définir leurs propres limites d'acceptation en fonction de l'application concernée et des conditions ambiantes. Une autre option est d'utiliser les limites d'acceptation indiquées dans les normes, telles que l'ISO 8655. Quelles que soient les spécifications, celles de la norme ou, plus exigeantes, celles du constructeur, elles impliquent que le test soit effectué dans un environnement contrôlé avec de l'eau distillée ou déminéralisée. à l'aide d'un équipement approprié et dûment contrôlé.

Équipement nécessaire et conditions du test

La méthode gravimétrique nécessite une balance analytique dont la plage d'utilisation sera choisie en fonction du volume sélectionné de la pipette. La norme ISO 8655 stipule les limites d'exactitude et de fidélité en valeur absolue et relative.

Les valeurs sont spécifiées pour les pipettes à déplacement d'air monocanal à volume fixe. Pour les pipettes à volume variable, le volume nominal est le volume maximal que l'on puisse sélectionner sur la pipette.

L'erreur maximale tolérée au volume nominal en valeur absolue est appliquée à chaque volume sélectionnable sur toute la plage de volume. Par exemple, pour une pipette de 10 à 100 µL, l'erreur maximale autorisée pour l'exactitude (erreur systématique) est de 0,8 µL et l'erreur maximale autorisée pour la répétabilité (erreur aléatoire) est de 0,3 μL. Pour les pipettes multicanaux, ces valeurs sont doublées.

Procédure d'étalonnage

La pipette est vérifiée au volume nominal (volume maximal), à 50% du volume nominal et soit à 10% du volume nominal, soit au plus petit volume spécifié par le constructeur.

Si les résultats calculés sont dans les limites sélectionnées, la pipette est conforme.



Pour plus d'information concernant l'étalonnage des pipettes, téléchargez la Procédure de Vérification Gilson

www.gilson.com/resources/verification.pdf



#

Étalonnage par Méthode Gravimétrique

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 oeuvre de cette méthode nécessite le contrôle strict des conditions environnementales ainsi que l'utilisation d'un équipement approprié et contrôlé.

Généralités

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)



L'hygrométrie doit être comprise entre 50 - 75% limiter l'évaporation et contrôler la formation de charges électrostatiques.



NOTE

Si les pipettes sont utilisées et donc vérifiées en dehors de ces conditions, le poids du volume d'eau aspiré devra être corrigé selon la table de conversion ($\mu L/mg$). Voir Annexe II.

Équipement recommandé

 Thermomètre avec incertitude-type de 0.2°C max

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 avec incertitude-type de 10% max

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

Baromètre avec incertitude-type de 0.5 KPa max

Baromètre étalonné pour vérifier la pression atmosphérique.

· Eau distillée

Utiliser de l'eau distillée ou désionisée de grade 3 (cf. norme ISO 3696), dégazée et à température ambiante.

Balances

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

VOLUME TESTÉ (V)	SENSIBILITÉ BALANCE MG	RÉPÉTABILITÉ & LINÉARITÉ MG	INCERTITUDE DE MESURE MG
1 μL < V ≤ 10 μL	0.001	0.002	0.002
$10 \ \mu L < V \le 100 \ \mu L$	0.01	0.02	0.02
100 μL < V ≤ 1000 μL	0.1	0.2	0.2
1 mL < V ≤ 10 mL	0.1	0.2	0.2

Récipients

Le matériel pour le test doit présenter les caractéristiques suivantes :

EXEMPLES INSTRUMENTS	VOLUMES	RÉSERVOIR	RÉCIPIENT DE PESÉE	SENSIBILITE BALANCE	AUTRE ÉQUIP
P2 - P20 PM x20 F2 - F10 M10 à M25 M100	0.1 à 20 μL	Ø 35 mm H 50 mm	Ø 10.5 mm H 13 mm	0.001 mg	Couvercle Pince Filtre
P100 - P200 F25 - F200 PM x300 M50 - M250	> 20 à 200 µL	Ø 35 mm H 50 mm	Ø 21 mm H 50 mm	0.01 mg	Couvercle
P1000 - P5000 F250 - F5000 M1000	> 200 à 5000 μL	Ø 50 mm H 70 mm	Ø 35 mm H 50 mm	0.1 mg	Couvercle
P10 mL	> 5 à 10 mL	250 mL bécher	Ø 40 mm H 100 mm	0.1 mg	Couvercle

A propos des balances

Avec les balances analytiques modernes, seulement deux balances sont nécessaires à un laboratoire pour vérifier un parc de pipettes allant de 0,1 µL à 10 mL. Une bonne combinaison correspondrait à une balance avec une sensibilité de 1 µg et une autre fonctionnant sur une double échelle, 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 un marbre ou un support spécifique équivalent. La zone de pesée doit être hors courant d'air, et l'air ambiant, 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 (Vi) peut être calculé comme suit :

NOTE: Pour des mesures supérieures à 50 μ L, le facteur d'évaporation pout être négligé

Pour vous aider, vous trouverez un exemple complet **ANNEXE A** page 45.

$V_i = (W_i + e) Z$

W: valeur lue sur la balance

e: évaporation moyenne durant 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

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 prend aussi en compte de la densité de l'air et de la densité des masses utilisées pour étalonner la balance.

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

La formule détaillée ainsi que le tableau indiquant la valeur du Facteur Z à prendre en compte sont fournis en **ANNEXE B** page 47.

Estimation du Facteur 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 microvolumes (inférieurs à 50 µL).

La perte par évaporation est évaluée en exécutant une série de quatre cycles de pesée simulés et en calculant la perte de poids movenne par cycle de pesée en ma.

Effectuez chaque cycle de pesée sans ajouter le liquide aspiré dans le récipient.

Distribuez le liquide dans un récipient d'essai. L'évaporation moyenne ē est calculée comme suit :

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

Une procédure pour la détermination de E est fournie en ANNEXE C page 48.

Procédure d'Étalonnage

Fréquence de test

Étant donné que l'exactitude et la fidélité ont une influence directe sur la qualité des résultats analytiques, il est impératif de vérifier régulièrement les performances des pipettes.

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

FRÉQUENCE*	CONTRÔLE	ACTION	QUI
Quotidienne	Maintenance préventive	Test d'étanchéité (voir poster Inspection en 2 min.)	Utilisateurs
Hebdomadaire à trimestrielle	Maintenance préventive	Test d'exactitude Nettoyage & diagnostic : - Inspection visuelle - Test fonctionnel	Utilisateurs
		Remplacement de pièces détachées niveau 1 (joints, embouts,) Ajustage - Étalonnage	Centre de Service Agréé Gilson & Utilisateurs
Annuelle	Maintenance complète	Remplacement de pièces détachées niveau 2 (piston, volumètre, tige de commande) Ajustage - Étalonnage	Centre de Service Agréé Gilson

^{*} La fréquence doit être adaptée selon le type et la nature des échantillons, le nombre de pipetages et les conditions environnementales du laboratoire.

NOTE

Vérifiez toujours que la pipette ne présente pas de défaut mécanique (voir <u>INSPECTION EN 2</u> MIN page 37) avant de procéder à un test gravimétrique.

- Placez une petite quantité d'eau dans le récipient de pesée (3 mm minimum).
- Notez les conditions environnementales (température ambiante, température eau, hygrométrie et pression atmosphérique).
- Sélectionnez le volume à tester de votre pipette à volume variable.
- Ajustez une pointe ou un capillairepiston sur la pipette (les spécifications constructeur ne s'appliquent que si le test est réalisé avec les pointes préconisées par le constructeur).
- Pré-rincez 5 fois la pointe pour équilibrer le volume mort de la pipette, sans en tenir compte pour les calculs.
- Changez de pointe.
- Pré-rincez 1 fois la pointe.
- Pipetez le volume à tester.
- Tarez la balance.
- Ouvrez la porte de la balance, retirez le récipient de pesée, distribuez l'échantillon, reposez sur le plateau et fermer la porte.
- Après stabilisation de l'affichage, notez la valeur (W₁).
- Répétez les étapes 6 à 11 et enregistrer 10 mesures W₁ à W₁₀.

- Pour un échantillon ≤ 50 µL. estimez la perte par évaporation en répétant les étapes 8 à 10 exactement comme pour une pesée d'échantillon normale mais sans ajouter réellement l'échantillon dans le récipient de pesée. Notez la valeur absolue (ei) et répétez la mesure plusieurs fois (m).
- Enregistrez les conditions environnementales. Vérifiez que les valeurs se trouvent toujours dans les limites recommandées.
- Utilisez la moyenne des valeurs de température et de pression barométrique pour déterminer la correction nécessaire (Z). Voir **ANNEXE B** page 47.
 - Calculez l'exactitude et la fidélité et comparez le résultat aux spécifications du fabricant ou de l'ISO 8655-2. (Pour les calculs, voir CALCUL DE L'EXACTITUDE ET DE LA FIDÉLITÉ page 38.)



ANNEXES

ANNEXE A: Glossaire

Exactitude*



Degré de concordance entre une valeur mesurée et une valeur vraie d'un mesurande.

Note: L'exactitude est une notion qualitative.

Coussin d'air



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

Aliquot



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*

Différence entre la valeur mesurée d'une grandeur et une valeur de référence.

Note: 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*

Composante de l'erreur de mesure qui. dans des mesurages répétés, varie de façon imprévisible.

Notes:

- 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*

Composante de l'erreur de mesure qui, dans des mesurages répétés, demeure constante ou varie de facon prévisible.

Notes:

- 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.

L'erreur systématique quantifie l'erreur d'exactitude d'une pipette.

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 que l'on veut mesurer

Ex : pression de vapeur d'un échantillon d'eau donné à 20°C. Note : La définition du mesurande peut nécessiter des indications relatives à des grandeurs telles que le temps, la température et la pression.

Valeur nominale*



Valeur arrondie ou approximative d'une grandeur caractéristique d'un instrument de mesure ou d'un système de mesure, qui sert de guide pour son utilisation appropriée. Exemples: a) la valeur 1L marquée sur une

fiole iaugée à un trait. b) l'affichage 100 μL apparaissant sur le volumètre

d'une pipette.

Pipette/Pipeteur



Instrument destiné à distribuer un volume prédéterminé de liquide d'un récipient à un autre et qui n'est pas relié à un réservoir.

Précision*



Degré de concordance entre les indications ou les valeurs mesurées obtenues par des mesurages répétés du même objet ou d'objets similaires dans des conditions spécifiées.

Répétabilité* (des résultats de mesures)

Fidélité de mesure selon un ensemble de conditions de répétabilité. Ces conditions de répétabilité comprennent :

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

Note : pour le pipetage, les variations liées à l'opérateur (comme le temps de cycle) doivent être minimisées.

Reproductibilité* (des résultats de mesures)

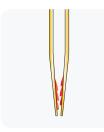
Fidélité de mesure selon un ensemble de conditions de reproductibilité.

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 (Carryover)



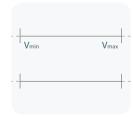
Partie de l'échantillon retenue après la distribution et aui peut affecter les échantillons suivants

Note: La rétention d'échantillon d'une pipette à déplacement positif est moindre que celle d'une pipette à déplacement

Valeur réelle

Valeur qui serait obtenue par une mesure parfaite.

Plage d'utilisation



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

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

Annexe B: Exemple d'étalonnage

Voici un exemple pour évaluer Les performances PIPETMAN P10 at 1 uL.

1. Déterminez la valeur moyenne ē de perte par évaporation e, qui se produit pendant les cycles de pipetage. Procéder comme décrit en annexe III

$$\overline{\mathbf{e}} = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^{m} \mathbf{e}_{i}$$

m: nombre de pesées

 $e_a = 0.016 \text{ mg}$ $e_a = 0.021 \text{ mg}$

 $e_2 = 0.018 \text{ mg}$ $e_4 = 0.017 \text{ mg}$

 $e = (e_1 + e_2 + e_3 + e_4) / 4$

e = (0.016 + 0.018 + 0.021 + 0.017) / 4

e = 0.018 mg/par cycle

2. Remplacez la pointe et procéder à la première pesée. Maintenir ensuite un cycle régulier et effectuer les dix mesures suivantes.

 $W_r = 0.957 \text{ mg}$

 $W_1 = 0.968 \text{ mg}$ $W_6 = 0.966 \text{ mg}$ $W_2 = 0.960 \text{ mg}$ $W_7 = 0.955 \text{ mg}$ $W_3 = 0.984 \text{ mg}$ $W_8 = 0.972 \text{ mg}$ $W_4 = 0.942 \text{ mg}$ $W_9 = 0.958 \text{ mg}$ $W_5 = 0.969 \text{ mg}$ $W_{10} = 0.967 \text{ mg}$

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

3. Calculez la Masse moyenne

$$\overline{\mathbf{W}} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{n} \mathbf{W}_{i}$$

n: nombre de pesées

W_i résultats des pesées

 $\overline{\mathbf{W}} = (0.968 + 0.960 + 0.984 + 0.942 + 0.969$ + 0.966 + 0.955 + 0.972 + 0.958 + 0.967) / 10

 $\overline{W} = 0.964 \text{ mg}$

4. Calculez le Volume moyen

Pour une température de 21.5°C et une pression d'air de 1013 hPa, le facteur Z est égal à 1,0032 ul/ma (voir tableau Annexe C).

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

5. Évaluez l'Exactitude

Erreur systématique (E):

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

V₀ Valeur affichée sur l'instrument $E = 0.985 - 1 = -0.015 \mu L$

Erreur relative (E%):

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

E% = (-0.015 x 100) / 1 = - 1.50 %

6. Évaluez la Fidélité (Répétabilité)

Ecart-type (**SD**,...)

$$SD_{w} = \sqrt{\sum_{i=1}^{n} \frac{(W_{i} - \overline{W})}{n-1}^{2}}$$

$$SDw^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^{n} (W_i - \overline{W})^2$$

$$\mathbf{SDw}^2 = \frac{1}{9} \begin{bmatrix} (0.968 - 0.964)^2 + (0.960 - 0.964)^2 + (0.984 - 0.964)^2 + (0.942 - 0.964)^2 + (0.969 - 0.964)^2 + (0.966 - 0.964)^2 + (0.955 - 0.964)^2 + (0.972 - 0.964)^2 + (0.958 - 0.964)^2 + (0.967 - 0.964)^2 + (0.$$

Erreur Aléatoire (SDv):

 $SD_{W} = 0.011 \text{ mg}$

 $SD_v = SD_w \times Z$

 $SD_v = 0.011 \times 1.0032 = 0.011 \mu L$

Annexe C: Facteur Z

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

P_A = densité de l'air à t°C.

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

P_n = densité des masses de la balance. Utiliser 8 g/mL pour P_n

NOTE

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 hPa	d'air				
	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

ANNEXES

Annexe D: Perte par évaporation

Procédure pour déterminer la perte par évaporation

L'eau distillée, le récipient de pesée et la balance doivent être identiques à ceux utilisés pour le contrôle gravimétrique.

- Remplissez le récipient de pesée à mi-hauteur avec de l'eau distillée.
- Couvrez le récipient de pesée d'un couvercle et placez-le sur la balance à l'aide d'une
- Aspirez un échantillon.
- Tarez la balance et sortez le récipient de pesée de la balance.
- Enlevez le couvercle à l'aide de la pince.
- Distribuez l'échantillon dans un autre récipient.
- Remettez le couvercle sur le récipient de pesée à l'aide de la pince, et reposez-le sur le plateau de la balance.
- Lisez le résultat (valeur négative) e, et notez la valeur absolue.
- Répétez les étapes 3 à 8, trois fois pour obtenir **e**₂, **e**₃, et **e**₄.
- Calculez la perte par évaporation ē à l'aide de la formule suivante :

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

En conditions normales, cette valeur se situe généralement entre 0,01 mg et 0,03 mg.

Annexe E: Résistance chimique des plastiques

Product		Steel	PET	Nitril	EPDM	LCP	PA	PBT	PC	PE	PVDF	TPX	РОМ	PP
Acetamide		++	N/A	++	++	N/A	++	N/A	N/A	++	N/A	N/A	++	++
Ethyl acetate		++	+		++	++	++	++	++	++	++	+	N/A	++
Acetone		++	+		++	++	++	++	-	++	++	+	+	++
Acetonitrile		++	N/A	+	++	+	N/A	N/A	-	++	+	N/A	N/A	++
	20 %	++	++	+	++	++	++	N/A	++	++	++	++	++	++
Acetic acid	50 %	++	++	+	++	++	-	N/A	+	++	++	++	++	++
	100 %	++	++	_	++	+	_	N/A	-	++	++	+	+	++
	10 %	-	++	++	++	++	-	++	++	++	++	++	++	++
Hydrochloric acid	20 %	-	+	+	++	++	-	+	++	++	++	++	+	++
	37 %	-	-	-	++	++	-	-	+	++	++	++	-	++
	20 %	+	+	-	++	+	-	+	++	++	++	++	+	++
Hydrofluoric acid	40 %	-	+	-	++	-	-	-	+	++	++	++	+	++
Formic acid	100 %	++	N/A	-	++	++	-	+	-	++	++	N/A	+	++
	10 %	++	++	+	++	++	-	++	++	++	++	++	+	++
Nitric acid	30 %	++	+	-	+	++	-	+	++	++	++	++	-	+
	65 %	++	-	-	-	+	-	-	+	+	+	++	-	-
	20 %	++	N/A	+	++	N/A	-	++	++	++	++	++	+	++
Phosphoric acid	85 %	++	N/A	-	++	N/A	-	++	++	++	++	++	-	++
Book of the second	50 %	++		+	N/A	N/A	++	++	+	++	++	N/A		++
Propionic acid	100 %	++			N/A	N/A	+	++		++	++	N/A		++
	20 %	++	++	+	+	++	+	++	++	++	++	++	+	++
Sulfuric acid	50 %	++	++		+	++		+	++	++	++	++		++
	95 %	++	+						+	+	+	++		+
	20 %	++	N/A		N/A	N/A	+	N/A	++	++	++	N/A	++	++
Trifluoroacetic acid	80 %	++	N/A		N/A	N/A		N/A	+	++	++	N/A	+	++
	100 %	++	N/A		N/A	N/A		N/A		++	++	N/A		++
Benzyl alcohol		++	++		N/A	N/A	+	N/A		++	++	++		++
Aniline		++		+	++	N/A	++	N/A		+	++	N/A	+	++
Butanol / Butyl alcohol		++	++	++	++	N/A	++	++	++	++	++	N/A	++	++
Chloroform		++				N/A	+			+	++	+	+	
Cyclohexane		++	++	++		N/A	++	N/A	++	++		+	++	+
Diacetone alcohol		++	++	+	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	+	N/A	N/A	++
Methylene chloride		++	+			N/A				+	++	++	++	+
Diethylene glycol		++	N/A	++	++	++	N/A	N/A	N/A_	++	++	++	++	++
Dimethylformamide (DMF)		++	++		+	++	++	++		++		++	++	++
Dimethylsulfoxide (DMSO)		++	N/A		N/A	N/A	+	N/A		++	N/A	N/A	N/A	N/A
Dioxane (1,4)		++	++		+	N/A	++	++		++	+	N/A	++	+
Ethanol		++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Ether		++	++	++	+	N/A	++	++	++	+	++	+	++	++
Formaldehyde		++	++	++	++	N/A	++	N/A	++	++	++	++	++	++
Hexane		++	N/A	++		+	++	++	++	+	++	+	++	++
Hydrogen peroxide	50 %	++	N/A	+	++	N/A	++	++	++	++	++	++	++	++
Ammonium hydroxide	20 %	++	++	++	++	N/A	N/A	+		++	N/A_	++	++	++
Sodium hydroxido	10 %	++	+	++	++	++	++	+		++	++	++	++	++
Sodium hydroxide	40 %	++		+	++	++	++	+		++	++	++	++	++
Sodium hypochlorite	15 % CI	+	N/A	+	++	++	++	++	++	++	++	++	-	+
Methanol		++	++	++	++	+	++	++	+	++	++	++	++	++
Methyl ethyl ketone		++	++	-	+	++	++	++	-	++		+	+	++
Pentane		++	N/A	++	-	N/A	N/A	N/A	++	++	++	+	++	N/A
Tetrahydrofuran (TH-)		++	++	+	+	+	++	+	-	-	+	+	N/A	+
Urea		++	++	N/A	N/A		++	++	N/A	++	++	N/A	++	++

PET = Polyethylene Terephthalate

Nitril = Nitrile

EPDM = Ethylene Propylene

LCP = Liquid Cristal Polymer

PA = Polyamide

PBT = Polybutylene Terephthalate

PC = Polycarbonate

PE = Polyethylene

PVDF = Polyvinylidene fluoride

TPX = Polymethylpentene

POM = Polyoxymethylene

PP = Polypropylene

++ Absence de dégradation chimique

+ Résistance moyenne aux agents chimiques

Faible résistance aux agents chimiques

N/A Aucune donnée disponible

NOTES

Question: Je dois pipeter 100µL, plusieurs pipettes peuvent être utilisées, laquelle dois-je choisir?

Réponse:

FAQ

- Selon les caractéristiques du liquide à pipeter, vous choisirez une pipette à déplacement d'air ou à déplacement positif.
- Optez pour le modèle P100 pour une précision optimale. Le modèle P200 conviendrait également si vous pouvez vous assurer que les spécifications sont adaptées à votre protocole.

Question: Quand effectuer un pré-rinçage ? Réponse:

Un pré-rinçage doit être réalisé :

- à chaque changement de pointe,
- à chaque augmentation de volume sélectionné.

Question: Comment éviter la corrosion du piston ?

Réponse: Après tout contact avec un liquide corrosif, le piston doit être nettoyé avec un chiffon doux imbibé d'alcool. Prenez soin d'éviter tout choc ou rayure.

Pensez à utiliser :

- des pointes à filtre.
- le kit anti-corrosion,
- les pipettes à déplacement positif.

Question: Les pointes ne s'ajustent pas bien. Que dois-je faire ?

Réponse:

- Utiliser toujours des pointes de marque Gilson avec les pipettes Gilson.
- Repousser l'éjecteur vers le haut pour vous assurer qu'il est correctement positionné.
- Nettoyez l'embout à l'alcool. S'il est usé ou endommagé, le remplacer (kit de maintenance disponible auprès de votre représentant Gilson).

Question: Qu'est ce que l'Exactitude ? Réponse:

Degré de concordance entre une valeur mesurée et une valeur réelle d'un mesurande.

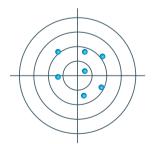
Notes: L'exactitude est une notion qualitative.

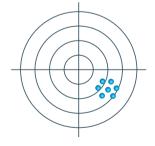
Définitions extraites du VIM (Vocabulaire International de Métrologie).

Question: Qu'est ce que la Répétabilité ? Réponse:

Degré de concordance entre les résultats de mesurages successifs du même mesurande, mesurages effectués avec l'application de la totalité des conditions de mesure identiques spécifiées.

Note: Définitions extraites du VIM (Vocabulaire International de Métrologie)







Exacte mais non répétable

Répétable mais pas exacte

Exacte et répétable

NOTES

