



**FACULTE DE MEDECINE**  
**DEPARTEMENT DE PHARMACIE**  
CHIMIE ANALYTIQUE  
Professeur Ph. HUBERT

---

## **TRANSFERT DES METHODES ANALYTIQUES**

E. ROZET et Ph. HUBERT

Janvier 2010

Service de Chimie Analytique  
Département des Sciences Pharmaceutiques - Faculté de Médecine  
UNIVERSITE DE LIEGE

# Transfert de méthodes analytiques

<b>1</b>	<b>GÉNÉRALITÉS.....</b>	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>MÉTHODOLOGIE DU TRANSFERT ANALYTIQUE .....</b>	<b>5</b>
2.1	CRITÈRES D'ACCEPTATION DU TRANSFERT ANALYTIQUE .....	7
2.2	APPROCHES STATISTIQUES CONVENTIONNELLES.....	9
2.2.1	<i>Fidélité</i> .....	9
2.2.1.1	Approche descriptive .....	9
2.2.1.2	Approche par l'équivalence .....	10
2.2.2	<i>Justesse</i> .....	10
2.2.2.1	Approche descriptive .....	10
2.2.2.2	Approche par la différence.....	10
2.2.2.3	Approche par l'équivalence .....	11
2.3	ANALYSE COMPARATIVE DES APPROCHES STATISTIQUES CONVENTIONNELLES.....	12
2.3.1	<i>Approche descriptive</i> .....	12
2.3.2	<i>Approche par la différence</i> .....	13
2.3.3	<i>Approche par l'équivalence</i> .....	14
2.4	APPROCHES BASÉES SUR L'ERREUR TOTALE.....	16
2.5	PLANIFICATION EXPÉRIMENTALE .....	18
<b>3</b>	<b>LES APPROCHES STATISTIQUES APPLIQUEES AUX TRANSFERTS .....</b>	<b>20</b>
3.1	APPROCHE PAR L'ÉQUIVALENCE .....	22
3.1.1	<i>Fidélité</i> .....	22
3.1.2	<i>Justesse</i> .....	23
3.2	APPROCHES BASÉES SUR L'ERREUR TOTALE.....	25
<b>4</b>	<b>EXEMPLE D'APPLICATION.....</b>	<b>28</b>
4.1	APPROCHE PAR L'ÉQUIVALENCE .....	29
4.2	APPROCHES BASÉES SUR L'ERREUR TOTALE.....	29
	<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>31</b>

# 1 Généralités

Un transfert analytique est un processus complet qui consiste à transférer physiquement une méthode analytique préalablement validée d'un laboratoire émetteur à un laboratoire receveur mais aussi et surtout à s'assurer que ce dernier maîtrise cette méthode dans son environnement. Ces transferts de méthodes analytiques sont pleinement inclus dans le développement de nouveaux produits chimiques, pharmaceutiques, cosmétiques, agroalimentaires... En effet, la progression des produits de R&D vers les opérations industrielles et leur commercialisation nécessite le transfert des méthodes de contrôle de production. D'autre part, des contraintes socio-économiques particulières impliquent le transfert de méthodes analytiques, telles que la rationalisation des sites de fabrication, la sous-traitance analytique, les achats/ventes de produits en cours de développement et la consolidation/fusion des groupes pharmaceutiques.

Les autorités réglementaires demandent, de plus en plus, la formalisation des transferts de méthode, processus devenu notamment obligatoire pour la Food and Drug Administration (FDA) [1]. En effet, la formalisation du transfert permet aux autorités ainsi qu'aux laboratoires de garantir que la méthode qui sera utilisée en routine au sein du laboratoire receveur est maîtrisée. Une autre raison, plus technique, est que le transfert permet de tester une nouvelle fois la méthode analytique et simultanément le laboratoire receveur.

A l'heure actuelle, aucun document officiel ne présente une stratégie expérimentale pour conduire un transfert. Cette absence de document de référence entraîne différents types d'interprétations (autorités, Industries Pharmaceutiques...). Pour le moment, toutes les approches sont acceptées, et acceptables, du moment qu'elles sont basées sur un rationnel et sur les résultats de validation. Cependant, afin de répondre à la demande croissante de l'industrie pour un protocole de transfert généralisé, différents groupes de travail ont été mis sur pied, notamment sous l'égide de l'International Society for Pharmaceutical Engineering (ISPE) [2] et de la Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques (SFSTP) [3], afin d'éditer des recommandations et des guides décrivant clairement, et de façon concise, la manière de conduire un transfert analytique dans le secteur pharmaceutique.

Dans sa forme la plus commune, le transfert de méthode implique un laboratoire émetteur et un laboratoire receveur réalisant, conformément à un protocole pré-approuvé, des analyses répétées du même lot d'échantillons. Ces essais sont accompagnés de critères d'acceptation également pré-déterminés avec lesquels les résultats de ces analyses sont confrontés afin de vérifier l'équivalence des résultats et, dès lors, de déterminer l'habilitation ou non du laboratoire receveur à utiliser la méthode transférée.

## 2 Méthodologie du transfert analytique

Dans le secteur pharmaceutique, le but du transfert est de transmettre dans une autre unité tout ce qui a trait au contrôle d'un produit. On peut ainsi transférer toutes les techniques et/ou procédures spécifiques, concernant un principe actif, une forme pharmaceutique (solide, semi-solide, liquide, à administration transdermique, parentérale, ophtalmique ou par inhalation), des excipients et/ou des échantillons de nettoyage.

De manière générale, on considère qu'un transfert s'effectue d'une unité qui maîtrise vers une unité qui devra maîtriser. Le transfert analytique d'une procédure analytique dans sa totalité et/ou d'une méthode peut s'effectuer, par exemple, d'une unité de recherche vers une autre unité de recherche ou de développement, d'un laboratoire de développement au contrôle qualité d'un site de fabrication, d'un site de production à un autre, vers ou à partir de sous-traitants.

La mise en place d'un processus de transfert peut avoir divers objectifs tels que qualifier un laboratoire receveur en y apportant formation et expertise, prouver que le laboratoire receveur sait mettre en œuvre les méthodes décrites, prouver l'équivalence des résultats entre les laboratoires, démontrer que les résultats sont indépendants du site qui les génère, confirmer les sources de variations intra-sites et, enfin, évaluer la robustesse de la méthode. Notons que ces deux derniers objectifs font idéalement partie de la validation d'origine.

On remarque qu'il existe un lien étroit entre la validation et le processus de transfert. En effet,

- si nous adoptons la proposition de Hubert et al. [4, 5] qui revendiquent que l'objectif de toute méthode analytique quantitative est d'obtenir des résultats suffisamment proches de la vraie valeur (inconnue) de la quantité mesurée, alors l'objectif d'un transfert est similaire à celui de la validation, à savoir de garantir que l'objectif de la méthode analytique est toujours atteint au sein du laboratoire receveur. En d'autres termes, à l'issue du transfert, il faut garantir que chaque nouvelle mesure effectuée par le laboratoire receveur sera effectivement suffisamment proche de la vraie valeur de l'analyte contenue dans l'échantillon,

- la comparaison des résultats d'analyse d'un même lot ou d'un même groupe d'échantillon, obtenus dans les laboratoires émetteur et receveur, permet d'appréhender à la fois la justesse et la fidélité d'une méthode et l'exactitude de ses résultats,
- la fixation des critères d'acceptation, qui est un pré-requis à tout transfert, doit tenir compte des résultats de validation.

La méthodologie proposée ci-dessous s'applique aux transferts de méthodes analytiques impliquant un laboratoire émetteur qui maîtrise la méthode à transférer et un laboratoire receveur. Par « maîtriser » nous entendons ici que le laboratoire émetteur a validé la méthode analytique à transférer. En effet, l'étape préalable à tout transfert de méthode est la validation de celle-ci par le laboratoire émetteur. Dans le cas où la méthode devrait être transférée vers plusieurs laboratoires receveurs, il est conseillé de traiter les transferts indépendamment, toujours entre l'émetteur et le receveur ou d'effectuer une étude inter-laboratoire proprement dite.

## 2.1 Critères d'acceptation du transfert analytique

La définition des critères d'acceptation pose fréquemment problème mais n'en est pas moins une des étapes importantes dans le transfert des méthodes.

Les critères d'acceptation sont choisis au moment de l'élaboration du protocole de transfert et spécifiés dans celui-ci. Ils doivent permettre de vérifier l'équivalence des résultats et de conclure sur l'habilitation du laboratoire receveur, avec un risque accepté et acceptable.

Les critères d'acceptation devraient être basés sur l'usage prévu de la méthode, sa validation et les données historiques générées par le laboratoire émetteur. Ils dépendent aussi de la méthode et de la forme des résultats générés. Nous distinguerons les méthodes générant un résultat qualitatif (identifications, caractères...), les essais limites et les méthodes générant un résultat quantitatif (spectroscopies, HPLC, GC, titrimétrie...).

Pour la bio-analyse comme pour une recherche d'impuretés, se pose le problème des faibles quantités. Il est alors judicieux de fixer des critères d'acceptation sur les seuils de détection et de quantification qui doivent être ré-estimés sur le site receveur. Lorsque les impuretés, produits de dégradation, métabolites et/ou interférences potentielles ne sont pas « naturellement » présents dans les échantillons et que l'on dispose de ceux-ci, le Guide ISPE recommande, afin de démontrer l'équivalence entre les laboratoires, d'utiliser des échantillons chargés. Si ces molécules ne sont pas disponibles, on dilue très fortement les échantillons pour avoir de très faibles concentrations de principes actifs ou d'analytes imitant par exemple le métabolite.

Les valeurs limites dépendent du type de composé étudié (produit fini [PF], principe actif [PA], conservateur, produits de dégradation [PdD], anti-oxydant...), de sa concentration, de la matrice dans laquelle l'analyte ou le composé est dosé mais également de la technique analytique utilisée et des données de validation. Dans tous les cas, l'historique de la technique à transférer doit être pris en compte, lors de l'examen de la documentation, pour fixer ces critères d'acceptation.

Une sélection rigoureuse de limites d'acceptation pertinentes permet de se protéger contre d'éventuels problèmes futurs causés par un mauvais procédé de

mesure (large biais ou large CV de fidélité intermédiaire) lors du travail de routine aux sites de production.

Bien que l'on puisse éventuellement évaluer les données de façon subjective, l'utilisation des statistiques va amener l'objectivité dans l'analyse des données et permettre des comparaisons non biaisées des jeux de données. Toutefois, il est essentiel de noter que c'est seulement en utilisant les outils statistiques que l'on peut gérer les risques associés au transfert d'une méthode. La décision d'utiliser les statistiques doit faire partie du plan d'essai. Remarquons qu'il n'est pas acceptable de n'utiliser les statistiques que comme moyen d'expliquer un transfert qui a échoué.

Deux groupes de méthodes statistiques se distinguent pour évaluer un transfert de méthodes analytiques : les statistiques conventionnelles qui évaluent de manière distinctes le critère de justesse (biais) et de fidélité (variance de fidélité intermédiaire) et les statistiques basées sur l'erreur totale de mesure qui évaluent via un seul critère l'exactitude des résultats (biais et variance simultanément). Nous passerons en une revue critique les méthodes conventionnelles et décrirons les avantages des approches erreurs totales dans les sections qui suivent. Mais précisons déjà qu'à la place d'échantillons spécialement préparés avec des concentrations nominales « connues » comme lors de la validation, on utilise des lots produits pour le secteur pharmaceutique ou des échantillons de concentration nominale inconnue provenant d'études de pharmacocinétique, de biodisponibilité ou de bioéquivalence. Et rappelons que l'objectif d'une méthode analytique est d'obtenir des résultats suffisamment proches de la vraie valeur (inconnue) de la quantité mesurée.

## 2.2 Approches statistiques conventionnelles

Usuellement, avec des résultats quantitatifs, les critères de décision portent sur les deux types d'erreur que sont l'erreur systématique ou justesse (biais) et l'erreur aléatoire ou fidélité (variance). Il faut ainsi montrer que

- en moyenne, les résultats dans le laboratoire receveur sont comparables à ceux fournis par le laboratoire émetteur (justesse),
- la variabilité des résultats (fidélité) du laboratoire receveur est acceptable.

Si ces deux critères sont remplis, alors le transfert de la méthode peut être accepté.

Suivant le guide élaboré par la SFSTP, trois approches statistiques sont envisageables pour analyser les résultats quantitatifs de méthodes non normalisées [3].

- La **première approche statistique** est purement descriptive : elle est basée sur l'estimation et la comparaison des moyennes et des coefficients de variation des résultats.
- La **seconde**, qui est la plus utilisée actuellement, est l'approche par la différence.
- La **troisième** est l'approche par l'équivalence.

Ces deux dernières approches utilisent des tests statistiques différents mais ont toutes deux pour objectif, d'une part de comparer statistiquement les moyennes des résultats des deux laboratoires (contrôle de la justesse), et d'autre part de vérifier, comme dans l'approche descriptive, que les fidélités sont acceptables. On peut dès lors comprendre que les risques de ne pas détecter qu'un site est inacceptable et/ou de rejeter un site acceptable sont fonction de l'approche choisie.

### 2.2.1 Fidélité

#### 2.2.1.1 Approche descriptive

Dans cette méthode, la fidélité est estimée par une comparaison de l'estimation du CV du laboratoire receveur à une valeur limite  $\lambda$  définie a priori par l'équipe de transfert. En fonction de la planification expérimentale, ces coefficients de

variation calculés caractérisent la répétabilité d'une étape de l'analyse ou la fidélité intermédiaire du receveur.

Si le CV observé est inférieur à  $\lambda$ , alors le transfert peut être accepté au niveau de la fidélité.

#### 2.2.1.2 Approche par l'équivalence

Cette méthode consiste à comparer la borne supérieure  $L_S$  de l'intervalle de confiance unilatéral à  $(1-\alpha)$  du coefficient de variation de fidélité intermédiaire du receveur à une limite d'acceptation  $\lambda$  fixée a priori.

Si la borne supérieure  $L_S$  est inférieure à  $\lambda$ , alors le transfert peut être accepté au niveau de la fidélité.

### 2.2.2 Justesse

#### 2.2.2.1 Approche descriptive

La justesse est évaluée par la comparaison de l'estimation du biais relatif à une valeur limite (limite d'acceptation  $\lambda$ ), définie par l'équipe responsable du transfert.

#### 2.2.2.2 Approche par la différence

L'approche décrite dans ce paragraphe est celle qui est classiquement utilisée pour comparer des moyennes. La comparaison des moyennes de résultats obtenus dans deux laboratoires se base sur le test  $t$  de Student classique. On construit un intervalle de confiance de niveau de confiance  $(1-\alpha)$  pour la différence entre les deux moyennes c'est-à-dire un intervalle dans lequel on a de bonnes raisons de croire qu'il contient la vraie valeur de la différence.

La décision s'effectue comme suit :

- si l'intervalle de confiance de la différence entre les moyennes calculé contient 0, la justesse est alors satisfaisante ;
- sinon le transfert est rejeté pour ce critère.

### 2.2.2.3 Approche par l'équivalence

La comparaison des moyennes se base cette fois sur deux tests unilatéraux. Les limites  $\lambda_1$  (négatif) et  $\lambda_2$  (positif) sont fixées a priori par l'équipe responsable du transfert et correspondent aux différences maximales tolérées entre les moyennes de l'émetteur et du receveur ou encore aux différences entre les vraies moyennes qui seraient considérées comme « analytiquement » importantes.

En pratique [6], on construit un intervalle de confiance  $(1-2\alpha)$  pour la différence entre les deux moyennes que l'on compare aux limites  $\lambda_1$  et  $\lambda_2$ .

La décision sur l'équivalence des moyennes se prend alors comme suit :

- si l'intervalle de confiance à  $(1-2\alpha)$  pour la différence entre les moyennes n'est pas inclus dans l'intervalle  $[\lambda_1, \lambda_2]$ , alors les moyennes ne peuvent être considérées comme équivalentes ;
- sinon les moyennes sont considérées comme équivalentes.

## 2.3 Analyse comparative des approches statistiques conventionnelles

L'approche employée a une influence directe sur la décision de qualifier ou non un laboratoire receveur. Avant de choisir une des approches, il convient de bien considérer les risques associés à une prise de décision.

Le premier risque encouru est celui d'habiliter à tort un laboratoire receveur (faux positif ou risque du consommateur). En effet, une méthode inadéquate étant utilisée pour les tests de stabilité et de libération, la qualité du produit étudié peut être remise en cause, ce qui est inacceptable pour raisons de santé publique. L'autre risque est de rejeter à tort un laboratoire (faux négatif ou risque du producteur). Ce second risque n'a que des conséquences financières liées aux analyses réalisées à perte (Figure 1). Une analyse précise de ces risques inhérents au transfert est disponible dans l'article de Kringle *et al.* [7].

**Figure 1** : Matrice de décision pour les études de transfert de technologie

		<u>Situation réelle du transfert</u>	
		Réussite	Echec
<u>Décision concernant le transfert</u>	Réussite	<i>Décision correcte</i>	<i>Le mauvais site M est passé (risque du consommateur)</i>
	Echec	<i>Le bon site M a échoué (risque du producteur)</i>	<i>Décision correcte</i>

Outre cet important problème du contrôle des risques, Kringle *et al* ont également abordé, pour chacune des trois approches pré-citées, celui de la puissance (ou probabilité) de conclure à l'acceptabilité du biais relatif lorsqu'il est réellement acceptable. Ils ont évalué cette probabilité au moyen de simulations, lors d'une étude de transfert.

### 2.3.1 Approche descriptive

L'approche descriptive est la plus simple à mettre en œuvre. Elle permet de réaliser un transfert rapide lorsque l'on dispose de peu de données, mais cette approche « intuitive » n'est pas suffisante pour garantir la qualité du transfert car

aucune notion de risque d'erreur n'y est associée. L'approche descriptive ne contrôle ni le risque consommateur ni le risque producteur. En particulier, Kringle *et al.* ont montré par simulations que cette approche accepte les transferts une fois sur deux lorsque la différence moyenne entre les laboratoires émetteur et receveur correspond à la limite d'acceptation  $\lambda$ . Ajoutons également que le travail effectué est trop largement dépendant de l'expérience de l'analyste, de son jugement et de la stratégie intrinsèque du laboratoire d'analyse. Une telle approche ne peut donc pas être raisonnablement entérinée par les autorités réglementaires.

### 2.3.2 Approche par la différence

L'approche par la différence, la plus utilisée actuellement, ne répond pas réellement, pour sa part, à l'objectif du transfert en termes de justesse. D'une part, si la décision prise est de ne pas rejeter statistiquement l'hypothèse que les deux moyennes sont égales, cela ne signifie pas pour autant qu'il n'y a pas réellement de différence analytique importante. En effet, un manque de puissance statistique (pouvant être dû à un effectif insuffisant) peut expliquer ce non-rejet. Cela se produit lorsque la différence entre les moyennes est importante et que la variabilité de cette différence est élevée. Afin de contrôler ce risque du consommateur, il sera important d'avoir un nombre de résultats suffisamment grand.

D'autre part, même si cette approche par la différence contrôle le risque du producteur (risque de première espèce), une différence détectée comme étant statistiquement significative entre les deux moyennes n'a pas toujours un sens analytique. C'est notamment le cas lorsque la différence entre les moyennes et la variabilité de cette différence sont faibles.

Il est également important de noter le manque de logique scientifique de cette approche. En effet, lorsque le vrai biais relatif est faible mais acceptable (0,5 ou 1%), la chance de correctement conclure à l'acceptabilité diminue lorsque la taille de l'échantillon augmente.

**Figure 2** : Matrices de décision relatives à l'approche par la différence (a) et à l'approche d'équivalence (b)

a)

		<u>Situation réelle du transfert</u>	
		Transfert acceptable : $H_0$ vraie	Transfert non acceptable : $H_0$ fausse
<u>Décision concernant le transfert</u>	Transfert accepté : $H_0$ vraie	<i>Décision correcte</i>	<i>Mauvaise décision : risque du consommateur = risque de 2<sup>de</sup> espèce <math>\beta</math></i>
	Transfert non accepté : $H_0$ fausse	<i>Mauvaise décision : risque du producteur = risque de 1<sup>ère</sup> espèce <math>\alpha</math></i>	<i>Décision correcte</i>

b)

		<u>Situation réelle du transfert</u>	
		Transfert acceptable : $H_{01}$ et $H_{02}$ fausses	Transfert non acceptable : $H_{01}$ et $H_{02}$ vraies
<u>Décision concernant le transfert</u>	Transfert accepté : $H_{01}$ et $H_{02}$ fausses	<i>Décision correcte</i>	<i>Mauvaise décision : risque du consommateur = risque de 1<sup>ère</sup> espèce <math>\alpha</math></i>
	Transfert non accepté : $H_{01}$ et $H_{02}$ vraies	<i>Mauvaise décision : risque du producteur = risque de 2<sup>de</sup> espèce <math>\beta</math></i>	<i>Décision correcte</i>

### 2.3.3 Approche par l'équivalence

L'approche d'équivalence répond mieux à l'objectif d'un transfert en ce qui concerne ce critère, à savoir l'équivalence entre les résultats moyens obtenus par le laboratoire receveur et ceux obtenus par le laboratoire émetteur.

Cette approche permettra d'accepter un transfert dans lequel les variances et la différence entre les moyennes sont faibles et permettra de rejeter un transfert pour lequel les différences entre les moyennes et entre les variances observées sont importantes. Il s'agit de la seule approche statistique conventionnelle qui contrôle strictement l'important risque du consommateur (risque de première espèce) (Figure 2b). Le risque du producteur est également contrôlé pour autant que le nombre de résultats soit suffisamment important. En outre, elle fonctionne d'une façon scientifiquement logique. En effet, si le vrai biais est faible, la probabilité de conclure correctement augmente avec la taille de l'échantillon.

Toutefois, il est important de noter qu'évaluer séparément le critère de justesse et de fidélité ne permettra de garantir que chaque nouvelle mesure effectuée par le laboratoire receveur sera effectivement suffisamment proche de la vraie valeur de l'analyte contenue dans l'échantillon. De plus, la combinaison de ces critères ne permet pas d'accepter des situations où il n'y a pas de biais mais une variabilité excessive. En effet, une telle situation, l'absence d'erreur systématique pourrait compenser l'erreur aléatoire et toujours fournir la garantie que les futurs résultats seront suffisamment proches de la vraie valeur. La situation inverse, où l'erreur systématique est inacceptable mais la cette garantie de résultats est satisfaite grâce à une erreur aléatoire faible.

Le Tableau 1 reprend de manière synthétique les différences en matière de risque des trois approches statistiques conventionnelles.

**Tableau 1** : Résumé de trois approches possibles pour le transfert de méthodes analytiques

<u>Approche</u>	<u>Risque du producteur (le bon site M a échoué)</u>	<u>Risque du consommateur (le mauvais site M est passé)</u>
Approche descriptive	<i>Pas contrôlé</i>	<i>Pas contrôlé</i>
Approche par la différence	<i>Strictement contrôlé</i>	<i>Approximativement contrôlé selon la taille de l'échantillon</i>
Approche par l'équivalence	<i>Approximativement contrôlé selon la taille de l'échantillon</i>	<i>Strictement contrôlé</i>

## 2.4 Approches basées sur l'erreur totale

Récemment, une nouvelle approche statistique a été proposée par Dewé et al. [8] pour statuer sur la validité d'un transfert analytique. Cette approche est née sur le constat d'une part des limitations des approches statistiques conventionnelles et, d'autre part, qu'une méthode juste et fidèle ne donne pas nécessairement des résultats exacts. Rappelons que l'objectif de toute méthode analytique quantitative est d'obtenir des résultats suffisamment proche de la vraie valeur (inconnue) de la quantité mesurée [4, 5]. Dès lors, l'objectif d'un transfert est de donner des garanties suffisantes aux laboratoires ainsi qu'aux autorités que les résultats obtenus par le laboratoire receveur seront proches de la vraie valeur. Un transfert ne se borne donc plus uniquement à l'évaluation des critères de justesse et de fidélité du laboratoire receveur.

Nous devons donc montrer que, pour la plupart des échantillons analysés par le receveur, l'écart entre le résultat obtenu ( $X$ ) et la vraie valeur ( $\mu$ ) est inférieur à une limite d'acceptation  $\lambda$  qui peut être variable suivant la finalité de la méthode. En langage statistique, il faut s'assurer que la probabilité d'avoir un écart entre le résultat et la vraie valeur inférieur à  $\lambda$  est supérieure à un niveau  $\beta$ :

$$\Pr (|X - \mu| < \lambda) > \beta.$$

Pour ce faire, la première nouvelle approche se base sur l'estimation de l'erreur totale, c'est-à-dire la combinaison des erreurs systématique et aléatoire, du laboratoire receveur en utilisant un outil statistique appelé « Intervalle de Tolérance » dans lequel nous nous attendons à trouver  $\beta\%$  des futurs résultats ( $\beta$ -expectation tolerance interval en anglais) :

$$\left[ \hat{\mu}_R - k\hat{\sigma}_{FI,R}; \hat{\mu}_R + k\hat{\sigma}_{FI,R} \right]$$

où  $\hat{\mu}_R$  est l'estimation de la moyenne des résultats du laboratoire receveur,  $\hat{\sigma}_{FI,R}$ , variance de fidélité intermédiaire du laboratoire receveur, et  $k$  est déterminé de telle façon que la proportion attendue  $\beta$  de la population soit dans cet intervalle.

L'objectif étant de prouver que la plupart des résultats sont proches de la vraie valeur, nous devons comparer cet intervalle de tolérance à la valeur de référence.

Or la valeur de référence est donnée par le laboratoire émetteur puisqu'on conduit toujours un transfert analytique en utilisant un lot d'échantillons de concentration en analyte inconnue et rarement des échantillons reconstitués. La

différence entre les résultats et la valeur nominale du lot pourrait être due par exemple à son instabilité, particulièrement s'il n'est pas récent. De plus, la référence ne doit pas être la moyenne des résultats obtenus chez l'émetteur mais plutôt l'intervalle de confiance de la moyenne. En effet, même si l'émetteur maîtrise la méthode, il effectue néanmoins des erreurs et la moyenne des résultats est entachée d'incertitude.

Par conséquent, en notant, d'une part,  $L_E$  et  $U_E$  respectivement les bornes inférieure et supérieure de l'intervalle de confiance de la moyenne du laboratoire émetteur, et d'autre part,  $L_R$  et  $U_R$  les bornes inférieure et supérieure de l'intervalle de tolérance des résultats pour le laboratoire receveur, nous devons exprimer l'intervalle de décision comme suit  $[U_E(1-\lambda), L_E(1+\lambda)]$  où l'intervalle de tolérance des résultats du receveur  $[L_R, U_R]$  doit se trouver pour accepter le transfert [8]. Sinon, il n'y a pas de garantie suffisante que le receveur donne des résultats suffisamment proches de ceux donnés par l'émetteur et nous rejetons le transfert.

La seconde approche basée sur l'erreur totale consiste elle à estimer la probabilité d'avoir des résultats chez le receveur hors des limites d'acceptation :

$$P[X_R < (1-\lambda)U_E] + P[X_R > (1+\lambda)L_E]$$

Si cette probabilité est plus petite que  $1-\beta$ , nous avons dès lors suffisamment de garantie que le receveur fournira des résultats proche de la vraie valeur et le transfert est accepté. Sinon, le transfert est rejeté.

Il est important de souligner que si l'analyste dispose ainsi d'un outil, la décision d'accepter ou non le transfert d'une méthode analytique reste toujours sous sa responsabilité en fonction du risque qu'il est prêt à prendre.

Ces nouvelles approches suivent les réflexions actuelles que l'on retrouve dans plusieurs secteurs du monde pharmaceutique, à savoir la bioéquivalence [9], la validation des méthodes analytiques [4, 5, 10] et bioanalytiques [11], qui ne s'intéressent non plus aux estimations des moyennes et des variances obtenues à partir des expériences mais aux résultats individuels de ces dernières ou à l'erreur totale de mesure.

## 2.5 Planification expérimentale

La planification expérimentale d'un transfert de méthode est élaborée à partir de la documentation échangée, et en particulier des données de validation qui permettent d'identifier les sources de variation pertinentes à mettre en œuvre. La performance du processus de transfert est fortement dépendante de la quantité et de la qualité des données.

Afin de déterminer la taille des échantillons requise - et, par-là même le nombre de séries nécessaires - pour que la probabilité d'accepter un transfert analytique lorsque le laboratoire receveur maîtrise effectivement la méthode soit suffisamment grande, la première solution est d'utiliser des formules décrites dans la littérature. C'est ainsi, par exemple, que la formule de Chow et Liu [12] nous permet de déterminer le nombre de séries nécessaires pour prouver l'équivalence des moyennes des deux laboratoires avec l'approche d'équivalence si cette équivalence est effective. Il s'avère cependant très important de vérifier la pertinence de ces formules car elles peuvent parfois s'avérer trop générales et n'être que des approximations.

Une série est constituée par un ensemble indépendant d'échantillons et permet d'estimer la variabilité inter-série de la procédure analytique nécessaire à la détermination de sa fidélité intermédiaire. L'effet série peut dans certains cas être un effet « jour », un effet « opérateur » ou un effet « appareillage », voire la combinaison de ces effets. Il est important de noter qu'entre chaque série la procédure analytique est recommencée dans son intégralité (préparation des échantillons, des différentes solutions, des réactifs, de l'étalonnage).

La solution consiste alors à réaliser des simulations du transfert semblable à celui qui va être effectué. En d'autres termes, avec les mêmes informations que pour

le calcul par formule (variances, vrai biais relatif et limite d'acceptation), il est possible de générer des données qui pourraient être celles du transfert effectif. Ce sont ces données qui forment une simulation. Il est recommandé d'effectuer un grand nombre de simulations et, pour chacune d'elles, il convient de réaliser l'analyse qui sera utilisée en réalité. Au terme de l'exercice, on peut calculer la proportion de simulations pour lesquelles la conclusion a été positive (puissance). Si on fait un exercice pour différentes combinaisons de nombres de séries et de répétitions, on peut déterminer celle qui est idéale.

Pour assurer une qualité adéquate des données, il est important d'introduire dans l'étude de transfert de technologie autant de sources de variation aléatoire inter-séries que ce qui sera rencontré lors du travail de routine. Généralement, lors du transfert de méthode, on prend en compte toutes les sources de variations non contrôlables (facteurs jour, opérateur, équipement...) afin d'estimer la fidélité intermédiaire tandis que les facteurs contrôlables (colonne, pH de la phase mobile...) ne font pas l'objet d'une attention particulière.

### 3 Les approches statistiques appliquées aux transferts

Dans cette section, nous nous proposons de décrire exhaustivement les 2 approches statistiques les plus adéquates relatives au transfert de méthodes analytiques que nous avons succinctement présentées dans l'introduction, à savoir l'approche conventionnelle dite par équivalence et les approches erreur totale.

Quelle que soit l'approche choisie, une analyse de variance (ANOVA) hiérarchisée doit être préalablement réalisée, pour chacun des laboratoires considérés, afin de permettre l'estimation de différents paramètres utiles lors de l'évaluation de la fidélité et de la justesse de la stratégie de transfert. Cette ANOVA doit contenir un effet fixe pour le laboratoire et un effet aléatoire pour la série par laboratoire. L'effet fixe permettra d'estimer les moyennes de chaque laboratoire ( $\mu_i$ ) et, l'effet aléatoire, d'estimer les variances intra- et inter-séries des deux laboratoires ( $\sigma_{W,i}^2$  et  $\sigma_{B,i}^2$ ).

Le modèle ANOVA utilisé est le suivant :

$$x_{ijk} = \mu_i + \alpha_{j(i)} + \varepsilon_{jk(i)}$$

- où
- $x_{ijk}$  est la k-ième répétition de la série j du laboratoire i ;
  - $\mu_i$  est la moyenne générale des résultats du laboratoire i ;
  - $\alpha_{j(i)}$  correspond à l'écart entre la moyenne de la série j du laboratoire i et  $\mu_i$  ;  $\alpha_{j(i)}$  est considéré comme une variable aléatoire ayant une distribution normale de moyenne 0 et de variance  $\sigma_{B,i}^2 \rightarrow \alpha_{j(i)} \sim N(0, \sigma_{B,i}^2)$  ;
  - $\mu_i + \alpha_{j(i)}$  est la moyenne dans la série j du laboratoire i ;
  - $\varepsilon_{jk(i)}$  est l'erreur expérimentale qui correspond à la différence entre l'observation  $x_{ijk}$  et la moyenne de la série j du laboratoire i ;  $\varepsilon_{jk(i)}$  est considérée comme une variable aléatoire ayant une distribution normale de moyenne 0 et de variance  $\sigma_{W,i}^2 \rightarrow \varepsilon_{jk(i)} \sim N(0, \sigma_{W,i}^2)$  ;
  - $\sigma_{B,i}^2$  représente la variance inter-série du laboratoire i ;

-  $\sigma_{W,i}^2$  représente la variance intra-série du laboratoire i.

Nous utilisons la méthode de maximum de vraisemblance restreint pour estimer les paramètres  $\mu_i$ ,  $\sigma_{B,i}^2$  et  $\sigma_{W,i}^2$  du modèle. Cette méthode de maximum de vraisemblance consiste à trouver les valeurs des paramètres qui maximisent la fonction représentant la vraisemblance d'observer les données générées.

Une fois cette analyse de variance effectuée, nous pouvons calculer le biais relatif par la formule suivante :

$$BR(\%) = 100 \times \frac{\hat{\mu}_2 - \hat{\mu}_1}{\hat{\mu}_1} \quad \text{Equation 1}$$

où 1 correspond au laboratoire émetteur et 2 au laboratoire receveur.

D'autre part, la variance de fidélité intermédiaire dans chaque laboratoire est estimée par la somme des estimations des variances intra- et inter-séries :

$$\hat{\sigma}_{FI,i}^2 = \hat{\sigma}_{W,i}^2 + \hat{\sigma}_{B,i}^2 \quad \text{Equation 2}$$

et, le coefficient de variation de fidélité intermédiaire ( $CV_{fi,i}$ ) exprimé en pourcent par la relation suivante :

$$CV_{fi,i} = 100 \times \frac{\hat{\sigma}_{FI,i}}{\hat{\mu}_i} \quad \text{Equation 3}$$

A partir de ces différents paramètres, il est ensuite possible de comparer les résultats des sites donneur(s) et receveur(s) et d'estimer, au moyen de trois approches statistiques classiques, la fidélité et la justesse du transfert réalisé ainsi que par la nouvelle approche basée sur l'erreur totale, d'évaluer l'exactitude du transfert.

### 3.1 Approche par l'équivalence

#### 3.1.1 Fidélité

Comme nous l'avons vu, cette méthode [13] consiste à comparer la borne supérieure  $L_S$  de l'intervalle de confiance unilatéral à  $(1-\alpha)$  du coefficient de variation de fidélité intermédiaire du receveur à une limite d'acceptation  $\lambda$  fixée a priori.

Si  $MSE_R < MSM_R$ ,

avec  $MSE_R$  : carré moyen de l'erreur résiduelle du laboratoire receveur obtenu par l'ANOVA et  $MSM_R$  : carré moyen du modèle ANOVA pour le laboratoire receveur ;

alors

$$L_{S, \sigma_{FI,R}^2} = \hat{\sigma}_{FI,R}^2 + \sqrt{\left( \frac{J-1}{Q_{\chi^2}(\alpha; J-1)} - 1 \right)^2 \left( \frac{MSM_R}{K} \right)^2 + \left( \frac{JK-J}{Q_{\chi^2}(\alpha; JK-J)} - 1 \right)^2 \left( 1 - \frac{1}{K} \right)^2 MSE_R^2}$$

**Equation 4**

où  $Q_{\chi^2}(\alpha; J-1)$  et  $Q_{\chi^2}(\alpha; JK-J)$  correspondent aux quantiles de la loi Chi-carré à respectivement  $J-1$  et  $JK-J$  degrés de liberté.

Sinon 
$$L_{S, \sigma_{FI,R}^2} = \frac{(JK-1)\hat{\sigma}_{FI,R}^2}{Q_{\chi^2}(\alpha; JK-1)}$$
 **Equation 5**

où  $Q_{\chi^2}(\alpha; JK-1)$  est le quantile de la loi Chi-carré à  $JK-1$  degrés de liberté.

Cette borne supérieure peut être exprimée de manière relative par la relation suivante :

$$L_S, CV_{FI,R} = 100 \times \frac{\sqrt{L_{S, \sigma_{FI,R}^2}}}{\hat{\mu}_R}$$
 **Equation 6**

Si la borne supérieure  $L_S$  est inférieure à  $\lambda$ , alors le transfert peut être accepté en terme de fidélité.

### 3.1.2 Justesse

La comparaison des moyennes se base pour cette approche sur deux tests unilatéraux dont les hypothèses sont :

$$\begin{array}{ll} H_{01} : \mu_E - \mu_R < \lambda_1 & H_{02} : \mu_E - \mu_R > \lambda_2 \\ \text{vs} & \text{vs} \\ H_{11} : \mu_E - \mu_R \geq \lambda_1 & H_{12} : \mu_E - \mu_R \leq \lambda_2 \end{array}$$

avec, la plupart du temps,  $\lambda_1 = -\lambda_2$ .

Si les deux hypothèses nulles  $H_{01}$  et  $H_{02}$  doivent être rejetées, cela signifie que la moyenne du receveur est probablement située à une distance inférieure à  $\lambda$  de la moyenne de l'émetteur et par conséquent peut être considérée comme comparable à celle de l'émetteur.

En pratique [6], on construit un intervalle de confiance  $(1-2\alpha)$  pour la différence entre les deux moyennes que l'on compare aux limites  $\lambda_1$  et  $\lambda_2$  :

$$\left[ \left( \hat{\mu}_R - \hat{\mu}_E \right) - Q_t(1-\alpha; \nu) \hat{\sigma}_{\mu_R - \mu_E} ; \left( \hat{\mu}_R - \hat{\mu}_E \right) + Q_t(1-\alpha; \nu) \hat{\sigma}_{\mu_R - \mu_E} \right] \text{Equation 7}$$

où -  $Q_t(1-\alpha; \nu)$  est le quantile supérieur  $(1-\alpha)$  de la loi  $t$  de Student à  $\nu$  degrés de liberté,

$$\nu = \frac{(a_1 MS_1 + \dots + a_5 MS_5)^2}{\frac{(a_1 MS_1)^2}{ddl_1} + \dots + \frac{(a_5 MS_5)^2}{ddl_5}} \text{ (méthode de Satterthwaite,}$$

[14])

-  $MS_i$  correspondent aux carrés moyens qui composent la variance d'intérêt,

-  $a_i$  sont les coefficients des carrés moyens dans la décomposition des variances,

-  $ddl_i$  correspondent aux degrés de libertés des carrés moyens,

$$\hat{\sigma}_{\mu_R - \mu_E}^2 = \hat{\sigma}_{\mu_R}^2 + \hat{\sigma}_{\mu_E}^2 = \left( \frac{\hat{\sigma}_{B,R}^2}{J_R} + \frac{\hat{\sigma}_{W,R}^2}{J_R K_R} \right) + \left( \frac{\hat{\sigma}_{B,E}^2}{J_E} + \frac{\hat{\sigma}_{W,E}^2}{J_E K_E} \right).$$

La décision sur l'équivalence des moyennes se prend alors comme suit :

- si l'intervalle de confiance à  $(1-2\alpha)$  pour la différence entre les moyennes calculé sous  $H_0$  n'est pas inclus dans l'intervalle  $[\lambda_1, \lambda_2]$ , alors les moyennes ne peuvent être considérées comme équivalentes ;
- sinon les moyennes sont considérées comme équivalentes.

### 3.2 Approches basées sur l'erreur totale

Comme nous l'avons mentionné ultérieurement, ces approches statistiques pour analyser les résultats du transfert sont basées sur l'utilisation de l'exactitude comme critère de décision. Ceci est tout à fait justifiable puisqu'il est impossible de décomposer les sources d'erreurs sur un échantillon inconnu. En effet, on ne connaît jamais sa vraie valeur et c'est elle que l'on cherche à estimer au mieux.

Par conséquent, dans cette approche, la définition des critères d'acceptation est réalisée en regroupant la fidélité et la justesse sous un seul concept : l'erreur totale. La règle de décision repose dès lors sur l'intégration des bornes de l'intervalle de tolérance, basé sur la notion d'erreur totale (biais + écart-type) associée à la procédure, dans des limites d'acceptation définies a priori en fonction de l'objectif de la méthode sous épreuve. L'utilisation de cette approche permet donc de minimiser considérablement le risque d'accepter une méthode qui ne serait pas suffisamment performante en terme d'exactitude ou d'erreur totale.

En pratique, tout comme pour les approches précédemment décrites, une ANOVA doit être réalisée pour chacun des laboratoires considérés afin d'estimer les moyennes de chaque laboratoire ( $\mu_i$ ) et les variances intra- et inter-séries des deux laboratoires ( $\sigma_{W,i}^2$  et  $\sigma_{B,i}^2$ ). A partir de ces estimations, nous pouvons construire :

- d'une part, l'intervalle de confiance de la moyenne du laboratoire émetteur :

$$\left[ \hat{\mu}_E - Q_t \left( 1 - \frac{\alpha}{2}; n_E - 1 \right) \frac{\hat{\sigma}_{FI,E}}{\sqrt{n_E}}; \hat{\mu}_E + Q_t \left( 1 - \frac{\alpha}{2}; n_E - 1 \right) \frac{\hat{\sigma}_{FI,E}}{\sqrt{n_E}} \right] \quad \text{Equation 8}$$

où -  $\hat{\mu}_E$  = moyenne des résultats,

-  $\frac{\hat{\sigma}_{FI,E}}{\sqrt{n_E}}$  = erreur standard sur la moyenne de l'émetteur,

-  $\hat{\sigma}_{FI,E} = \sqrt{\hat{\sigma}_{W,E}^2 + \hat{\sigma}_{B,E}^2}$  = écart-type de fidélité intermédiaire des observations,

-  $n_E$  = nombre total des observations,

-  $Q_t\left(1-\frac{\alpha}{2}; n_E-1\right)$  = quantile  $1-\frac{\alpha}{2}$  de la distribution t de Student à  $n_E - 1$  degrés de liberté,

-  $\alpha$  = niveau de signification, par exemple 0,05.

➤ d'autre part, pour le laboratoire receveur, l'intervalle de tolérance des mesures attendues au niveau  $\beta$  (en anglais  $\beta$ -expectation tolerance limits)<sup>1</sup> dans un schéma équilibré [15]:

$$\left[ \hat{\mu}_R - Q_t\left(\frac{1+\beta}{2}; \nu\right) \sqrt{1 + \frac{1}{J_R K_R B_R^2}} \hat{\sigma}_{FI,R}; \hat{\mu}_R + Q_t\left(\frac{1+\beta}{2}; \nu\right) \sqrt{1 + \frac{1}{J_R K_R B_R^2}} \hat{\sigma}_{FI,R} \right] \text{Equation 9}$$

où -  $\hat{\mu}_R$  = moyenne des résultats,

-  $\hat{\sigma}_{FI,R}^2 = \hat{\sigma}_{W,R}^2 + \hat{\sigma}_{B,R}^2$ ,

-  $R_R = \frac{\hat{\sigma}_{B,R}^2}{\hat{\sigma}_{W,R}^2}$ ,

-  $B_R = \sqrt{\frac{R_R + 1}{K_R R_R + 1}}$ ,

-  $J_R$  = nombre de séries,

-  $K_R$  = nombre de répétitions par série,

-  $\nu = \frac{(R_R + 1)^2}{\left(R_R + \frac{1}{K_R}\right)^2 + \frac{1 - \frac{1}{K_R}}{J_R - 1}}$ ,

-  $Q_t\left(\frac{1+\beta}{2}; \nu\right)$  est le quantile  $\beta$  de la distribution t de Student à  $\nu$  degrés de liberté,

-  $\beta$  = proportion attendues de résultats dans l'intervalle, par exemple 0,95.

<sup>1</sup> Intervalle dans lequel on s'attend à observer une proportion  $\beta$  de l'ensemble de la population des résultats.

Soient  $L_E$  et  $U_E$  respectivement les bornes inférieure et supérieure de l'intervalle de confiance de la moyenne du laboratoire émetteur et  $L_R$  et  $U_R$  les bornes inférieure et supérieure de l'intervalle de tolérance des mesures attendues au niveau  $\beta$  pour le laboratoire receveur, il est dès lors aisé de calculer, l'intervalle de décision  $[U_E(1-\lambda), L_E(1+\lambda)]$  sur lequel se base le critère de validité du transfert.

Notons que les estimations des moyennes de chaque laboratoire et des variances intra- et inter-séries des deux laboratoires sont des éléments indispensables à l'évaluation de l'acceptabilité d'un transfert analytique, c'est-à-dire que les estimateurs sont nécessaires pour prendre une décision, mais que la décision ne porte pas sur les valeurs de ces estimateurs.

L'intervalle de tolérance du receveur est comparé à  $[U_E(1-\lambda), L_E(1+\lambda)]$ . Si cet intervalle de tolérance y est inclus. Si ce n'est pas le cas, il n'y a pas de garantie suffisante que le receveur donne des résultats suffisamment proches de ceux donnés par l'émetteur.

Pour l'approche évaluant le risque d'avoir des résultats chez le receveur hors des limites d'acceptations, on calcul :

$$\begin{aligned}
 & P[X_R < (1-\lambda)U_E] + P[X_R > (1+\lambda)L_E] \\
 &= P \left[ Q_i(\nu) < \frac{(1-\lambda)U_E - \hat{\mu}_R}{\hat{\sigma}_{FI,R} \sqrt{1 + \frac{JR+1}{N(R+1)}}} \right] + P \left[ Q_i(\nu) > \frac{(1+\lambda)L_E - \hat{\mu}_R}{\hat{\sigma}_{FI,R} \sqrt{1 + \frac{JR+1}{N(R+1)}}} \right]
 \end{aligned}$$

## 4 Exemple d'application

Une méthode pharmaceutique ayant pour objectif de quantifier la quantité d'une substance active dans une formulation a été transférée d'un laboratoire d'assurance qualité vers un sous-traitant. Cette méthode était basée sur de la chromatographie liquide à haute performance avec détection UV. L'approche par l'équivalence d'une part et les approches par l'erreur totales seront illustrées pour statuer quand à l'acceptabilité du transfert. Les résultats obtenus dans chaque laboratoire sont présentés au Tableau 2.

Les limites d'acceptation pour le critère de justesse et de fidélité intermédiaire ont tous les deux été fixées à 3% en valeur relative. Pour l'approche par erreur totale, le transfert est considéré acceptable si l'on peut démontrer que au moins 95% des résultats futurs du receveur seront à moins de 5% de la vraie valeur. En d'autres termes,  $\beta$  et  $\lambda$  valent respectivement 0,95 et 0,05.

La validation préalable de la méthode par le laboratoire émetteur a permis d'obtenir l'estimateur de sa variance inter-série ce qui nous a permis d'établir un design pour le transfert. En effet, étant donnée que cette variance est négligeable, seulement une série de 3 répétitions a été réalisée par l'émetteur. Toutefois, comme il est essentiel d'estimer la fidélité intermédiaire chez le receveur 5 séries de 3 répétitions ont été effectuées.

Tableau 2 : Résultats obtenus lors du transfert.

Emetteur		Receveur			
Série 1	Série 1	Série 2	Série 3	Série 4	Série 5
10.41	10.38	10.41	10.25	10.21	10.49
10.39	10.47	10.46	10.20	10.21	10.49
10.42	10.35	10.51	10.35	10.29	10.50

Pour l'émetteur, la moyenne ainsi que la variance des résultats ont été calculés :

$$\hat{\mu}_E = 10.4067 \text{ et } \hat{\sigma}_E^2 = 0.000233$$

Pour le receveur, une analyse de variance incluant un effet aléatoire pour la série a été ajustée sur ses résultats ce qui a permis d'estimer la moyenne ainsi que les variances intra et inter-séries :

$$\hat{\mu}_R = 10.3713, \hat{\sigma}_{w,R}^2 = 0.00288 \text{ et } \hat{\sigma}_{B,R}^2 = 0.01220$$

#### 4.1 Approche par l'équivalence

Pour le critère de justesse, un intervalle de confiance à 90% de la différence des moyennes des résultats des laboratoires a été calculé en échelle relative (Tableau 3) et comparé aux limites d'acceptations [-3% ; +3%]. Etant donné que cet intervalle de confiance est inclus dans ces limites d'acceptation, les moyennes des deux laboratoires sont considérés comme comparables.

Tableau 3 : Statistiques calculées pour évaluer le critère de justesse.

Echelle	Biais	Intervalle de confiance à 90%	
		Limite inférieure	Limite supérieure
Absolue	-0.0353	-0.01446	0.07393
Relative (%)	-0.339	-1.389	0.710

Pour le critère de fidélité, le CV de fidélité intermédiaire du receveur a été estimé à 1.184% avec une borne supérieure de l'intervalle de confiance à 95% de 2.661%. Etant donné que cette borne est inférieure à la limite d'acceptation de 3%, le critère de fidélité est accepté.

Dès lors, comme le critère de justesse et de fidélité sont acceptés, le transfert est considéré comme réussi. Toutefois, notons qu'aucune information quant au risque d'avoir des résultats loin de la vraie valeur n'a été fournit.

D'autres exemples d'application de l'approche par équivalence au transfert de méthodes analytiques peuvent être trouvé dans les références suivantes : [7, 8, 16-19].

#### 4.2 Approches basées sur l'erreur totale

Rappelons que pour l'approche par erreur totale, le transfert sera considéré acceptable si l'on peut démontrer que au moins 95% des résultats futurs du receveur seront à moins de 5% de la vraie valeur. En d'autres termes,  $\beta$  et  $\lambda$  valent respectivement 0,95 et 0,05.

Afin de calculer l'intervalle de décision, calculons l'intervalle de confiance de la moyenne des résultats de l'émetteur à 50% :  $L_E = 10.3995$  et  $U_E = 10.4139$

L'intervalle de décision vaut donc :  $[U_E(1 - \lambda) = 9.8932$  et  $L_E(1 + \lambda) = 10.9195]$

L'intervalle de tolérance à 95% calculer pour le receveur est de [10.1018 ; 10.6408] et est inclus dans l'intervalle de décision précédemment calculé. On peut donc s'attendre qu'au moins 95% des futurs résultats du laboratoire receveur seront à moins de 5% de la vraie valeur et par conséquent le transfert est accepté.

Dans la seconde approche, la probabilité d'avoir des résultats hors des limites d'acceptations est calculée comme suit :

$$\begin{aligned} &P[X_R < 9.8932] + P[X_R > 10.9195] \\ &= P[Q_t(\nu = 12.1750) < -3.7254] + P[Q_t(\nu = 12.1750) > 4.2703] \\ &= 0.0014 + 0.0005 \\ &= 0.0019 \end{aligned}$$

Ce risque étant inférieur au risque  $1-\beta=0.05$ , le transfert est aussi accepté par cette méthode. On peut donc voir que le risque d'avoir des résultats à plus de 5% des ceux du receveur est négligeable.

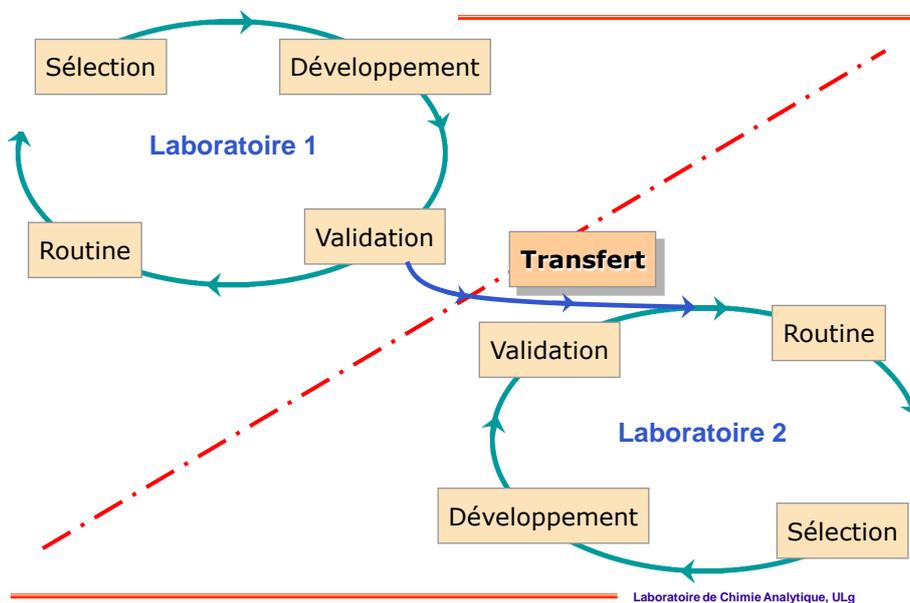
D'autres exemples d'application des approches basée sur l'erreur totale peuvent être trouvé dans les références suivantes : [8, 19].

## Références bibliographiques

- [1]. Ment W., Technology transfer of analytical methods, FDA News and Information, vol. 2, N°3, 1-3, 17 août 2001.
- [2]. Analytical procedure/Technology transfer, ISPE Guideline, pp. 23-34, 2003.
- [3]. Minois-Offroy F., Appriou Y., Brousset V., Chapuzet E., de Fontenay G., Dewé W., Dumas E., Ellie C., Galiay M., Lefebvre N., Mottu P., Quint M.P. et Schoeffter F., Transfert des méthodes analytiques : méthodologie, Rapport d'une Commission SFSTP, *STP Pharma Pratiques*, 12 (6), 337-343, 2002.
- [4]. Hubert Ph., Nguyen-Huu J.-J., Boulanger B., Chapuzet E., Chiap P., N. Cohen N., Compagnon P.-A., Dewé W., Feinberg M., Lallier M., Laurentie M., Mercier N., Muzard G., Nivet C. et Valat L. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 36, 579-586, 2004.
- [5]. Hubert P., N'guyen-Huu J.J., Boulanger B., Chapuzet E., Chiap P., Cohen N., Compagnon P.A., Dewé W., Feinberg M., Lallier M., Laurentie M., Mercier N., Muzard G., Nivet C. et Valat L., Validation des procédures analytiques quantitatives : Harmonisation des démarches, Rapport d'une Commission SFSTP, *STP Pharma Pratiques*, 13(3), 101-138, 2003.
- [6]. Schuirmann D.J. – Pharmacometrics. A comparison of the two one-sided tests procedure and the power approach for assessing the equivalence of average bioavailability, *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 15(6), 657-680, 1987.
- [7]. Kringle R., Khan-Malek R., Snikeris F., Munden P., Agut C. and Bauer M, A unified approach for design and analysis of transfer studies for analytical methods, *Drug Information Journal*, 35, 1271-1288, 2001.
- [8]. Dewé W., Govaerts B., Boulanger B., Rozet E., Chiap P. et Hubert Ph. Using total error as decision criterion in analytical method transfer, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, In press.
- [9]. Wang W., Gene Hwang J.T. A nearly unbiased test for individual bioequivalence problems using probability criteria, *Journal of Statistical Planning and Inference*, 99, 41-58, 2001.
- [10]. Hoffman D. and Kringle R. Two-sided tolerance intervals for balanced and unbalanced random effects models. *Journal of Biopharmaceutical Statistics* (2005), 15 (2) 283 - 293.
- [11]. Findlay J. W. A., Smith W. C., Lee J. W., Nordblom G. D., Das I., DeSilva B. S., Khan M. N., Bowsher R. R. Validation of immunoassays for bioanalysis: a pharmaceutical industry perspective, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* (2000), 21, 1249-1273.

- [12]. Chow S.C. and Liu J.P., Design and Analysis of Bioavailability and Bioequivalence Studies, New York, Marcel Dekker, 1992.
- [13]. Burdick R.K. and Graybill F.A., Confidence Intervals on Variance Components, New York, Marcel Dekker, 1992.
- [14]. Satterthwaite F., Synthesis of variance, *Psychometrika*, 6, pp. 309-316.
- [15]. Mee R., Beta-expectation and beta-content tolerance limits for balanced one-way ANOVA random model, *Technometrics*, 26(3), 251-254, 1984.
- [16]. Rodriguez S.A., Kubiak R., Mulcey M., Tamblyn T., Tougas T. Method Transfer from R&D to Quality Control of an RP-IPC Method with ELSD for the Analysis of an Excipient in a Pharmaceutical Drug Product. *American Laboratory* (2005), 37(24), 9-14.
- [17]. Schepers U., Wätzig H. Application of the equivalence test according to a concept for analytical method transfers from the International Society for Pharmaceutical Engineering (ISPE). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* (2005), 39, 310-314
- [18]. Chambers D., Kelly G., Limentani G., Lister A., Lung R., Warner E. Analytical method equivalency, an acceptable analytical practice. *Pharmaceutical Technology* (2005), September, 64-80.
- [19]. Rozet E., Mertens B., Dewe W., Govaerts B., Boulanger B., Chiap P., Streel B., Crommen J., Hubert Ph. The transfer of a LC-UV method for the determination of fenofibrate and fenofibric acid in Lidoses: use of total error as decision criterion. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. <http://hdl.handle.net/2268/6027>

## Cycle de vie des méthodes analytiques



3

## Transfert : Définition du problème

Approches conventionnelles:

Évaluation **distincte** des critères de **justesse** et de **fidélité** par rapport à des limites d'acceptation fixées a priori.

- **Justesse:**
  - **descriptive:** basée sur les estimations des moyennes uniquement;
  - **différence:** basée sur un test t de Student bilatéral;
  - **équivalence:** basée sur deux tests t de Student unilatéraux.
- **Fidélité:**
  - **descriptive:** basée sur les estimations des variances uniquement;
  - **équivalence:** basée sur un intervalle de confiance.

Laboratoire de Chimie Analytique, ULg

4

## Transfert : Définition du problème

---

Critiques des approches conventionnelles:

- Approche descriptive:
  - ne contrôle aucun des risques producteur et consommateur.
- Approche par la différence:
  - contrôle uniquement le risque producteur
  - se comporte de manière illogique lors d'une augmentation de taille de l'échantillon.
- Aucune des approches:
  - ne permet de compenser l'erreur aléatoire par l'erreur systématique et vice versa
  - ne répond à l'objectif d'un transfert !

## Transfert : Définition du problème

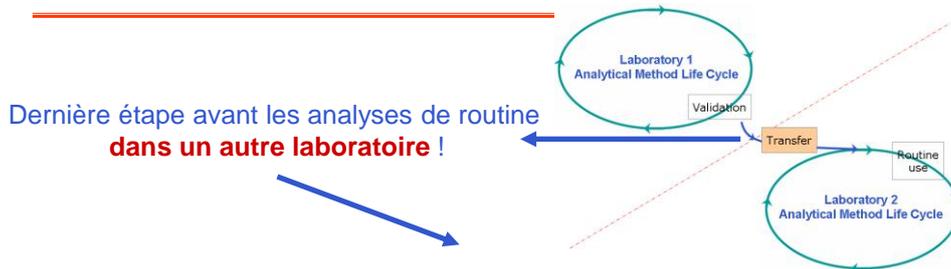
---

Développer une approche statistique adéquate qui:

- Est **cohérente** avec la validation des méthodes analytiques
- Consiste en **un seul critère** à évaluer
- Donne des **garanties** que les résultats du receveur seront **suffisamment proche** de la vraie valeur
- **Minimise les risques** de prendre une mauvaise décision :
  - Risque consommateur : transférer alors que le receveur ne maîtrise pas la méthode
  - Risque producteur : ne pas transférer alors que le receveur maîtrise la méthode

## Objectif du transfert de méthode

---



- L'objectif d'un transfert de méthode est similaire à celui de la validation:

L'**objectif du transfert** est de donner au laboratoire ainsi qu'aux instances réglementaires des **garanties** que chaque résultat qui sera obtenu en routine sera **suffisamment proche** de la vraie valeur inconnue de l'analyte dans l'échantillon.

**Mais...**

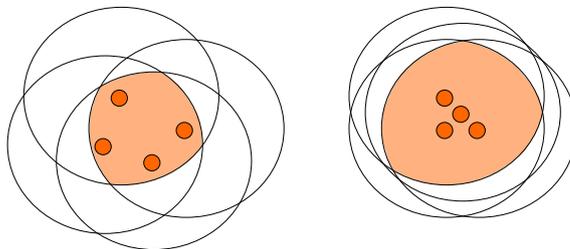
Laboratoire de Chimie Analytique, ULg

7

## Objectif du transfert de méthode

---

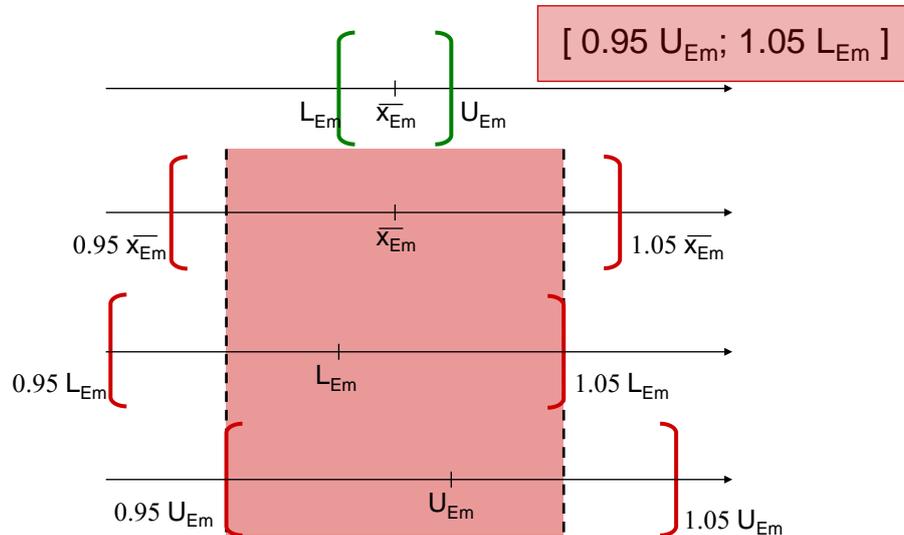
... la vraie valeur est **inconnue** (batch) ...  
... mais **estimée** par l'émetteur ...  
... avec **incertitude**



Laboratoire de Chimie Analytique, ULg

8

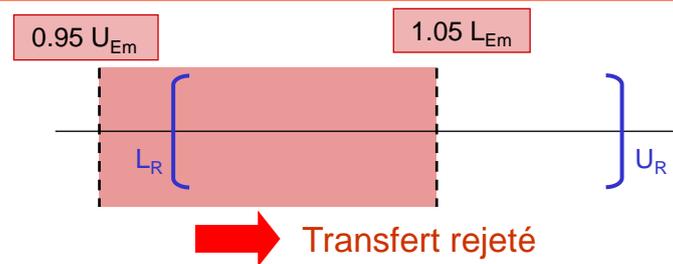
## Objectif du transfert de méthode



Laboratoire de Chimie Analytique, ULg

9

## Objectif du transfert de méthode



Laboratoire de Chimie Analytique, ULg

10

## Fénofibrate – Acide Fénofibrique : Transfert

- Plan expérimental

➤ Laboratoire émetteur

Série	1
Répétitions par série	3
Répétitions d'injections	3
Opérateur	A
Equipement HPLC	I

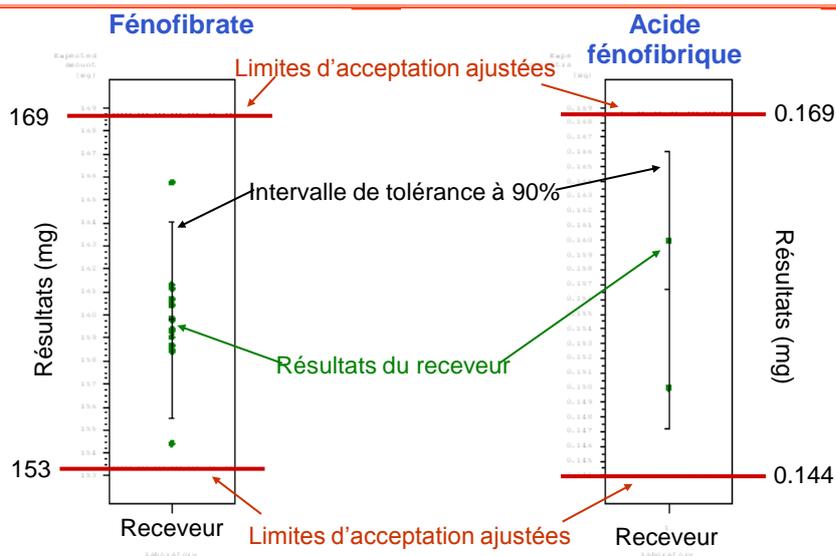
➤ Laboratoire receveur

Séries	1	2	3	4	5
Répétitions par série	3	3	3	3	3
Répétitions d'injections	3	3	3	3	3
Opérateurs	B	C	B	C	B
Equipements HPLC	II	II	III	III	II

Laboratoire de Chimie Analytique, ULg

11

## Fénofibrate – Acide Fénofibrique : Transfert



Laboratoire de Chimie Analytique, ULg

12