

# Guide sur le transfert de méthodes d'analyse

*Ce guide est destiné aux laboratoires de l'Anses pour la conduite des transferts de méthodes d'analyse qu'ils sont amenés à effectuer dans le cadre de leurs missions de laboratoires de référence nationaux et européens. Il propose des lignes directrices générales sur le processus de transfert d'une méthode et la vérification de la réussite du transfert.*

# Sommaire

<b>AVANT-PROPOS .....</b>	<b>4</b>
<b>1. GÉNÉRALITES SUR LE TRANSFERT DE MÉTHODE .....</b>	<b>5</b>
1.1 PRINCIPES RECONNUS .....	5
1.2 LE TRANSFERT DE METHODE DANS LE CONTEXTE DES LABORATOIRES DE L'ANSES.....	6
<b>2. DOMAINE D'APPLICATION.....</b>	<b>8</b>
<b>3. DOCUMENTS DE RÉFÉRENCE ET DÉFINITIONS.....</b>	<b>9</b>
3.1 DOCUMENTS DE REFERENCE.....	9
3.1.1 Documents internes .....	9
3.1.2 Documents normatifs.....	9
3.2 DOCUMENTS ASSOCIES .....	10
3.3 DEFINITIONS .....	10
3.4 ACRONYME .....	11
<b>4. LES DIFFÉRENTES PHASES DU TRANSFERT .....</b>	<b>12</b>
4.1 ORGANISATION DU TRANSFERT .....	12
4.1.1 Équipe projet du laboratoire émetteur .....	12
4.1.2 Contexte du transfert.....	12
4.1.3 Stratégie et planification du transfert.....	13
4.2 MOYENS.....	13
4.2.1 Documentation .....	13
4.2.2 Formation.....	14
4.2.3 Essais d'appropriation.....	14
4.2.4 Essais de transfert.....	14
4.3 APPROBATION DU TRANSFERT .....	15
<b>5. ESSAIS DE TRANSFERT .....</b>	<b>15</b>
5.1 NATURE DES ESSAIS DE TRANSFERT .....	15
5.1.1 Essais de transfert : cas général.....	15
5.1.2 Essais de transfert : EILT .....	15
5.1.3 Essais de transfert : validation .....	15
5.2 ENTITES SOUMISES AUX ESSAIS DE TRANSFERT (ESET).....	16
5.2.1 Pour une nouvelle méthode d'analyse .....	16
5.2.2 Pour une méthode d'analyse révisée (modification(s) majeure(s)).....	16
5.2.3 Caractérisation et maîtrise des ESET.....	16

5.3 PLAN EXPERIMENTAL .....	18
5.3.1 Méthode d'analyse produisant des résultats qualitatifs.....	19
5.3.2 Méthode d'analyse produisant des résultats quantitatifs .....	23
<b>6. APPROBATION DU TRANSFERT .....</b>	<b>27</b>
<b>ANNEXE 1 MEMBRES DU GROUPE GT TMA .....</b>	<b>28</b>
<b>ANNEXE 2 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>29</b>
<b>ANNEXE 3 APPROCHES STATISTIQUES .....</b>	<b>30</b>
<b>ANNEXE 4 EXEMPLES.....</b>	<b>36</b>
EXEMPLE POUR EVALUER L'HOMOGENEITE ET LA STABILITE .....	36
EXEMPLE DE CONFIRMATION DES PERFORMANCES DE PCR (NF U47 600-1).....	39
EXEMPLE DE RECHERCHE DE LA DILUTION PROCHE DE LA LOD <sub>METHODE</sub> ET MODALITES D'ADOPTION DE LA METHODE .....	42
EXEMPLE DE TRANSFERT EN SANTE VEGETALE .....	42
EXEMPLE DE TRANSFERT POUR DES VARIABLES QUANTITATIVES .....	45

## Avant-propos

Le présent guide a été rédigé par le groupe de travail sur le transfert des méthodes d'analyse « GT TMA » constitué sur décision du directeur général adjoint en charge des laboratoires n°DL-2015-074 du 13 novembre 2015. Les participants à ce groupe de travail sont listés dans l'annexe 1.

Ce guide est destiné aux laboratoires de l'Anses (dénommés dans le guide « laboratoires émetteurs ») pour la conduite des transferts de méthodes d'analyse développées et validées des laboratoires de référence nationaux et européens vers les laboratoires agréés ou reconnus pour réaliser des analyses officielles (dénommés dans le guide « laboratoires receveurs »). Il propose des lignes directrices générales sur le processus de transfert d'une méthode et la vérification de la réussite du transfert (définition d'une stratégie, critères d'acceptation, évaluation statistique). Ce guide ne se substitue pas aux référentiels réglementaires ou normatifs applicables aux différents domaines d'activités de l'Agence et utilisés dans les laboratoires. La stratégie présentée dans le guide peut être adaptée en fonction du contexte, des contraintes et des besoins des laboratoires.

Pour l'élaboration de ce document et conformément à son mandat, le groupe de travail s'est attaché à prendre en compte les différents types de méthodes (qualitatives et quantitatives, les méthodes dites semi-quantitatives étant considérées comme des méthodes qualitatives ordonnées) et à recenser les pratiques déjà en vigueur au sein de l'Agence. Il a pris en compte les évolutions normatives les plus récentes sur ce sujet et a veillé à la compatibilité de ses recommandations avec les exigences d'accréditation du Comité français d'accréditation (Cofrac). L'ensemble des documents de référence utilisés est répertorié dans le chapitre 3.

La parution de ce guide s'accompagne de la mise à disposition d'un document associé (ANSES/PR3/7/03-01) qui permet d'assurer la planification, la traçabilité, la communication avec les laboratoires receveurs et le compte-rendu des résultats. Ce document se présente comme un fichier Excel constitué de plusieurs onglets, dont l'un d'eux est son guide d'utilisation.

Prenant en compte les préoccupations exprimées par les laboratoires de l'Anses en réponse à un questionnaire qui leur a été soumis par le GT en début de mandat, ainsi que leur contexte d'activité particulier, ce guide :

- propose une définition du transfert de méthode d'analyse ;
- expose des recommandations pratiques quant à l'organisation d'un transfert de méthode en termes de stratégie et d'appropriation du transfert (transférabilité, prérequis pour le laboratoire receveur, cahier des charges (orientation du laboratoire receveur en fonction du cahier des charges), matériaux de référence, adaptabilité de la méthode, exigences réglementaires...) ;
- définit les critères d'acceptation du transfert et les modalités de son évaluation statistique permettant de montrer l'équivalence des résultats du laboratoire émetteur de la méthode à ceux de chacun des laboratoires receveurs ;
- discute de la place et de l'incidence des modifications de méthodes réalisées *a posteriori* d'un transfert (modifications mineures/majeures) ;
- clarifie le rôle des autorités compétentes dans le processus de conduite du transfert.

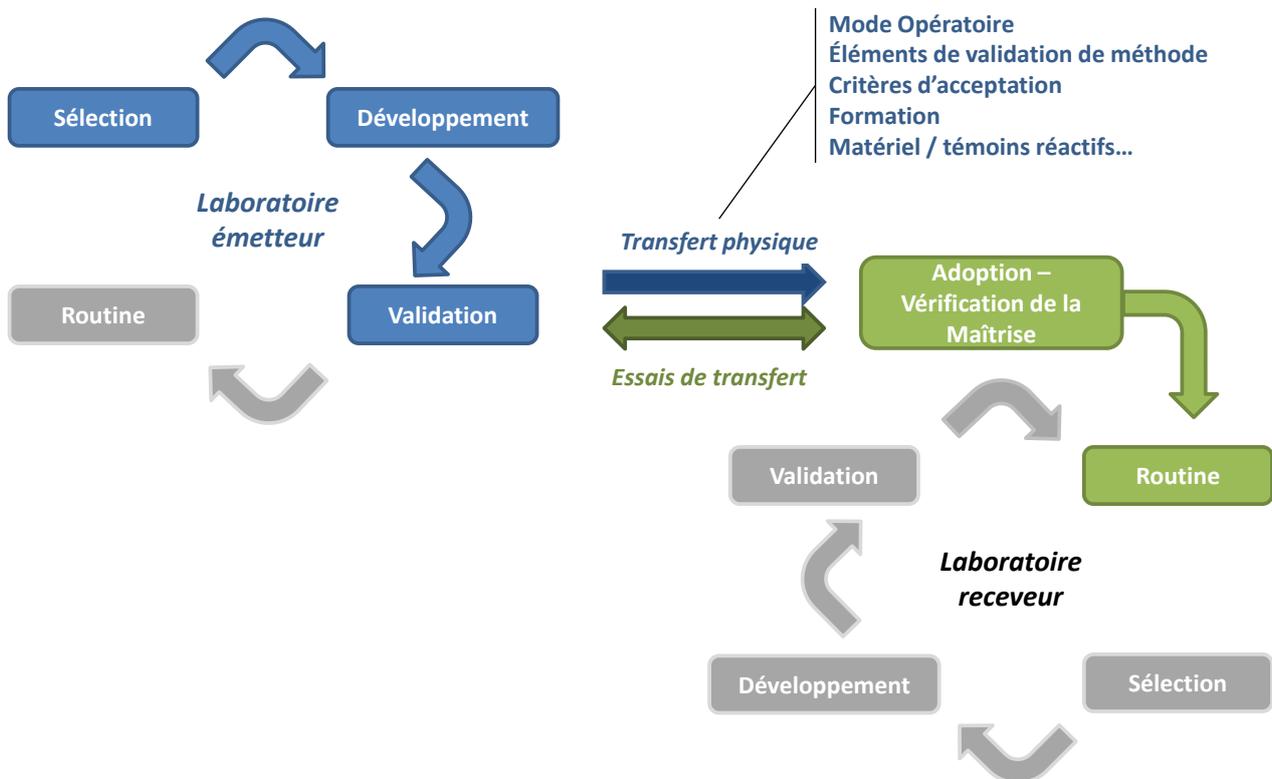
# 1. GÉNÉRALITES SUR LE TRANSFERT DE MÉTHODE

## 1.1 Principes reconnus

D'après les publications [1], [2], [3], [4], **le transfert de méthode est un processus qui consiste à transférer une méthode analytique préalablement validée d'un laboratoire émetteur à un laboratoire receveur et à s'assurer de la maîtrise de la méthode par le laboratoire receveur.** Ce processus est une méthodologie permettant de fournir toutes les garanties quant à la décision du transfert, de déterminer quels sont les éléments à mettre en œuvre dans le laboratoire receveur pour s'assurer de la fiabilité de l'application de la méthode et des critères de validation du transfert.

Il peut concerner le transfert de la totalité ou d'une partie du protocole analytique de la méthode considérée. Un tel processus est mis en œuvre par exemple dans le contexte industriel, lorsqu'il s'agit de transférer une méthode mise au point par un laboratoire de développement à des laboratoires de contrôle qualité qui l'appliqueront en routine.

Le processus de transfert, dans le cycle de vie des méthodes analytiques, peut se schématiser comme présenté sur la figure 1 :



**Figure 1** Le transfert dans le cycle de vie des méthodes (adapté de [3])

À partir d'une méthode validée et maîtrisée par le laboratoire émetteur, le processus de transfert se décompose ainsi en deux phases principales :

- Le « transfert physique » de la méthode (flèche bleue sur la figure 1) : il inclut, selon les situations, les modes opératoires, les matériaux, les matériels ou réactifs, des données et informations issues de la validation, les prérequis des compétences nécessaires pour travailler sur un matériel ou dans un environnement particulier par exemple. Il peut être organisé comme un projet à part entière.
- La vérification de la maîtrise de la méthode que nous appellerons « Essais de transfert » par le receveur (flèche verte sur la figure 1) : le laboratoire receveur met en œuvre la méthode, applique le protocole de vérification de sa maîtrise tel qu'il a été prédéfini et communique les résultats de ces essais de transferts au laboratoire émetteur. En effet, le protocole de vérification de la maîtrise est, dans le cas général, basé sur la réalisation d'essais dans des configurations définies par le laboratoire émetteur et sur les paramètres de performance qu'il juge appropriés, en fonction de sa connaissance des performances et des propriétés de la méthode. Les résultats des essais obtenus sont comparés par des méthodes statistiques afin de statuer sur la capacité du laboratoire receveur à mettre en œuvre la méthode conformément aux attendus. Le constat de capacité (ou non capacité) du laboratoire receveur marque la fin du processus de transfert de la méthode.

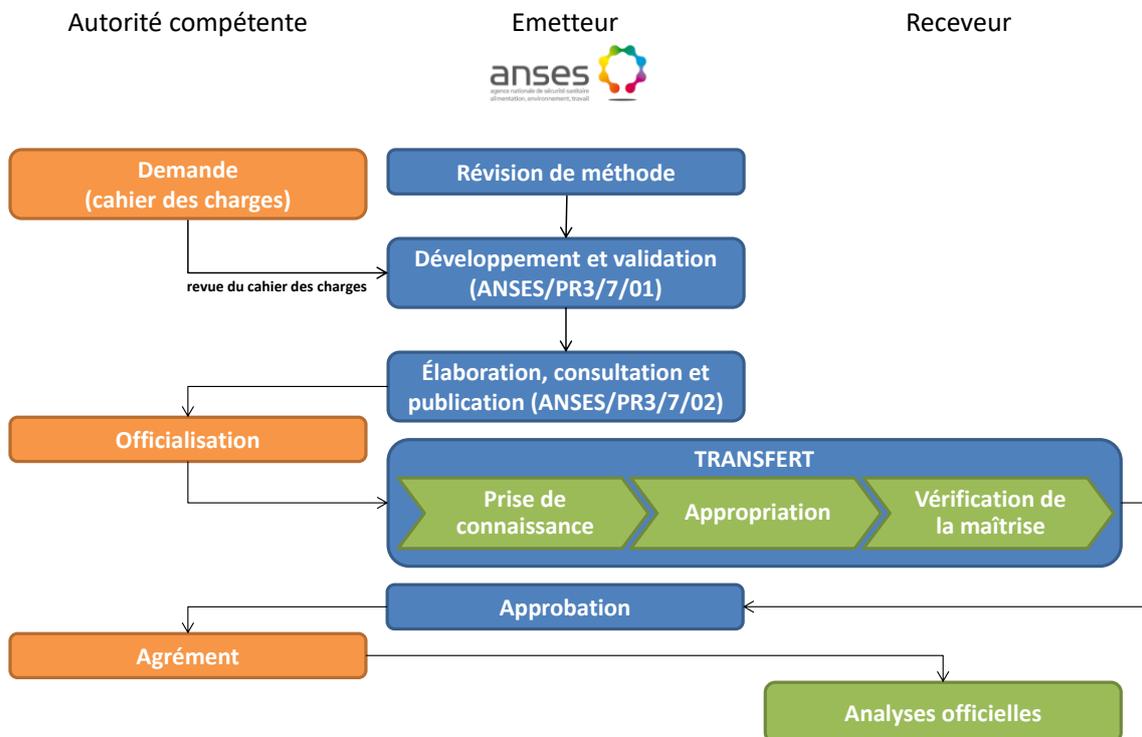
La mise en œuvre d'un tel processus dispense le laboratoire receveur de procéder à une validation de la méthode dans son environnement.

Les activités de planification, d'organisation et de suivi de l'ensemble des opérations indispensables au bon déroulement d'un transfert de méthode d'analyse peuvent être regroupées dans un processus dénommé « Management du transfert ». Selon les auteurs cités en référence, son pilotage est confié à l'entité émettrice seule [3], ou à une fonction dédiée qui peut être ou non séparée des entités émettrices et réceptrices [2].

Comme le soulignent Rozet et Hubert [3], dans le cas où une même méthode est transférée vers plusieurs laboratoires receveurs, l'analyse et l'interprétation des résultats du transfert se conduisent toujours de façon indépendante entre le laboratoire émetteur et chaque laboratoire receveur.

## **1.2 Le transfert de méthode dans le contexte des laboratoires de l'Anses**

Le transfert de méthode s'inscrit, pour les laboratoires de l'Anses, dans les contextes réglementaires européens et français qui régissent l'ensemble de leurs missions (figure 2).



**Figure 2** Schéma d'un transfert de méthode dans le contexte des laboratoires de l'Anses

Cette activité figure parmi les missions confiées aux laboratoires de référence de l'Union européenne (LRUE) par le règlement UE 2017/625 ; dans ce cas, le transfert s'effectue à destination des laboratoires nationaux de référence (LNR).

Concernant les LNR, si le transfert de méthodes ne figure pas explicitement dans leurs activités telles que prévues dans ce même règlement européen, il se comprend en revanche comme une activité dévolue aux LNR français intervenant dans le domaine de la santé publique vétérinaire et de la protection des végétaux par le décret 2006-7 du 4 janvier 2006 [6], au travers de leurs missions de « développement, optimisation et validation des méthodes d'analyses » et d'« animation technique du réseau de laboratoires agréés ». Dans ce cas, le transfert s'effectue à destination des laboratoires agréés ou reconnus par l'autorité compétente.

Tant pour les LRUE que pour les LNR, et tenant compte de la définition du transfert de méthode posée au §1.1, les méthodes faisant l'objet du transfert sont des méthodes validées par eux-mêmes et destinées à être utilisées par les laboratoires receveurs.

En 2016, une trentaine de méthodes, de type quantitatif ou qualitatif, ont été transférées par les LNR de l'Anses aux laboratoires réalisant des analyses officielles, sachant que les réseaux de laboratoires receveurs sont de taille très variable (de 1 à près de 100 laboratoires selon les thématiques).

La performance des analyses officielles, et en conséquence la performance du système de surveillance relatif à la santé publique vétérinaire et végétale, dépend donc en partie de la qualité du transfert opéré par les LNR/LRUE, avec notamment les risques suivants :

- que la performance analytique de la méthode démontrée par le développeur ne soit pas reproduite par les laboratoires receveurs (biais et/ou reproductibilité de la méthode non évalués ou mal évalués) ;
- que la capacité des laboratoires receveurs à mettre en œuvre la méthode soit mal évaluée par le laboratoire émetteur (laboratoire receveur déclaré apte alors qu'il ne l'est pas ou inapte alors qu'il l'est).

La formalisation du processus de transfert de méthodes apparaît donc comme une démarche de nature à renforcer la maîtrise de cette activité par les laboratoires émetteurs de l'Anses et permet d'améliorer la communication avec les laboratoires receveurs et avec les instances du Cofrac. Elle permet ainsi d'offrir aux autorités compétentes une meilleure garantie de maîtrise des analyses officielles par les laboratoires agréés.

## 2. DOMAINE D'APPLICATION

Tenant compte des éléments exposés précédemment, le présent guide a pour objectif d'harmoniser au sein de l'Anses, dans le contexte des missions attachées aux mandats de référence, la démarche à suivre lors d'un transfert de méthode, depuis la décision du transfert jusqu'à son approbation.

Ce guide est destiné à être mis en œuvre par les laboratoires de l'Anses, lorsqu'ils œuvrent dans le cadre de leurs mandats de LNR et/ou de LRUE dans le contexte du contrôle officiel.

Il concerne également les laboratoires receveurs (par exemple les laboratoires agréés faisant partie d'un réseau ou en attente d'agrément).

Ce guide concerne les méthodes officialisées par le gestionnaire, amenées à être transférées après développement, caractérisation et validation par le laboratoire de référence (développement s'entendant comme développement *de novo* ou adaptation/optimisation d'une autre méthode).

Il ne concerne pas les méthodes basées sur des kits ou dispositifs commerciaux dont la responsabilité de mise en œuvre est celle du fournisseur, par exemple les méthodes alternatives certifiées par AFNOR Certification dans le domaine de la sécurité sanitaire des aliments ou les méthodes faisant l'objet d'un contrôle par les LNR, en application du décret n°2007-311 du 5 mars 2007 relatif au contrôle de conformité des réactifs [9]. De même, il ne concerne pas les méthodes non développées et validées par un laboratoire de référence (normes AFNOR/CEN/ISO, méthodes décrites dans la législation européenne...) devant être appliquées par le réseau de laboratoires.

Dans ces situations, le laboratoire de référence peut néanmoins accompagner les laboratoires de son réseau pour la mise en œuvre de ces méthodes.

## 3. DOCUMENTS DE RÉFÉRENCE ET DÉFINITIONS

### 3.1 Documents de référence

#### 3.1.1 Documents internes

ANSES/PR3/7/01 (Code Ennov ANSES/PG/0069) : Guide de validation des méthodes d'analyse.

ANSES/PR3/7/01-01 (Code Ennov ANSES/FGE/0155) : Glossaire relatif à la validation et au transfert de méthodes d'analyse à l'Anses.

ANSES/PR3/7/01-04 (Code Ennov ANSES/FGE/0139) : Modèle de méthode d'analyse.

ANSES/PR3/7/02 (Code Ennov ANSES/PG/0075) : Elaboration et publication des méthodes d'analyse.

#### 3.1.2 Documents normatifs

NF EN ISO / CEI 17025 : 2005 Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais.

NF EN ISO / CEI 17025 : 2017 Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais.

NF ISO 5725-1 : 1994 Application de la statistique – Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure – Partie 1 : Principes généraux et définitions.

NF ISO 5725-2 : 1994 Application de la statistique – Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure – Partie 2 : Méthode de base pour la détermination de la répétabilité et de la reproductibilité d'une méthode de mesure normalisée.

NF ISO 5725-3 : 1994 Application de la statistique – Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure – Partie 3 : Mesures intermédiaires de la fidélité d'une méthode de mesure normalisée.

NF ISO 5725-4 : 1994 Application de la statistique – Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure – Partie 4 : Méthodes de base pour la détermination de la justesse d'une méthode de mesure normalisée.

NF ISO 5725-5 : 1998 Application de la statistique – Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure – Partie 5 : Méthodes alternatives pour la détermination de la fidélité d'une méthode de mesure normalisée.

NF EN ISO 16140-2 : 2016 Microbiologie de la chaîne alimentaire — Validation des méthodes — Partie 2 : Protocole pour la validation de méthodes alternatives (commerciales) par rapport à une méthode de référence.

Project ISO/DIS 16140-3: 2017 Microbiology of the food chain – Method validation – Part 3: Protocol for the verification of reference and validated alternative methods implemented in a single laboratory.

NF V 03-110 : 2010 Analyse des produits agricoles et alimentaires – Protocole de caractérisation en vue de la validation d'une méthode d'analyse quantitative par construction du profil d'exactitude.

NF U 47-600-1 : 2015 Méthodes d'analyse en santé animale PCR : Exigences et recommandations pour la mise en œuvre de la PCR en santé animale.

NF U 47-600-2 : 2015 Méthodes d'analyse en santé animale PCR : Exigences et recommandations pour le développement et la validation de la PCR en santé animale.

XP CEN ISO/TS 22117 : 2010 Microbiologie des aliments – Exigences spécifiques et lignes directrices pour les essais d'aptitude par comparaison interlaboratoires.

NF ISO 13528 : 2015 Méthodes statistiques utilisées dans les essais d'aptitude par comparaison interlaboratoires.

NF U47-400 : 2014 Méthode d'analyse en santé animale – guide pour l'organisation des essais interlaboratoires d'aptitude en santé animale.

### 3.2 Documents associés

ANSES/PR3/7/03-01 (code Ennov ANSES/FGE/0206) : Fichier de transfert de méthode d'analyse (en cours d'élaboration).

### 3.3 Définitions

Les définitions des termes utilisés dans ce guide sont répertoriées dans le glossaire ANSES/PR3/7/01-01. Cependant, pour faciliter la lecture, les principales notions sont reprises ci-après :

**Transfert de méthode** : Processus visant à s'assurer que par la méthode donnée, un laboratoire obtient des résultats valides dans son environnement, en comparaison à ceux obtenus par le laboratoire de référence.

Note : Cette définition s'applique à l'Anses avec les précisions suivantes : la méthode est une méthode d'analyse officielle ou en cours d'officialisation, développée, caractérisée et validée par le laboratoire de référence.

**Entité soumise à essai de transfert (ESET)** : Echantillon ou matériau de référence, biologique ou chimique, utilisé pour un essai de transfert. Une ESET peut contenir (ESET positive) ou non (ESET négative, « blanc ») le mesurande d'intérêt à évaluer lors du transfert. Ce mesurande peut être naturellement présent ou artificiellement ajouté à l'ESET (contaminée, chargée, spikée, supplémentée, dopé...).

**Essais interlaboratoires de transfert (EILT)** : Evaluation du résultat du transfert d'une méthode d'analyse au moyen d'une comparaison interlaboratoire.

**Essai de transfert** : Essai permettant de s'assurer que la méthode est correctement transférée et que le laboratoire receveur fait preuve de la maîtrise de la méthode.

**Laboratoire émetteur** : Laboratoire transférant une méthode d'analyse validée à un laboratoire receveur.

Note : Dans le cadre d'un transfert de méthode organisé par l'Anses, le laboratoire émetteur est le laboratoire de référence.

**Laboratoire receveur** (ou laboratoire récepteur) : Laboratoire chargé d'appliquer la méthode d'analyse transférée par un laboratoire émetteur.

Note 1 : Dans le cadre d'un transfert de méthode organisé par l'Anses, les laboratoires receveurs sont ceux du réseau de laboratoires agréés ou laboratoires d'analyses officielles ou candidats à l'agrément.

Note 2 : Dans le cas où le laboratoire émetteur est le LRUE, la méthode d'analyse est transférée aux LNR considérés alors comme laboratoires receveurs.

**Modifications majeures** (d'une méthode d'analyse) : Une modification est considérée comme majeure lorsqu'elle concerne le processus analytique, le domaine d'application ou des points critiques de la méthode, dont la prise en compte peut modifier les performances de la méthode d'analyse et/ou les résultats. Une modification majeure induit des adaptations et requiert une nouvelle validation, totale ou partielle, de la méthode ainsi modifiée.

**Modifications mineures** (d'une méthode d'analyse) : Une modification est considérée comme mineure si elle apporte des précisions utiles ou pratiques, reformule les propos pour les rendre plus clairs ou plus précis, rectifie des erreurs bénignes. Une modification mineure est sans influence sur les performances de la méthode et ne requiert pas une nouvelle validation.

*Note : Des modifications mineures ne nécessitent pas de mettre en œuvre un nouveau transfert.*

### 3.4 Acronyme

ADN	Acide désoxyribonucléique
AFNOR	Association française de normalisation
ANOVA	Analyse de la variance
CITAC	Cooperation on international traceability in analytical chemistry
Cofrac	Comité français d'accréditation
CV	Coefficient de variation
EIL	Essai interlaboratoires
EILA	Essai interlaboratoires d'aptitude
EILT	Essai interlaboratoires de transfert
EILV	Essai interlaboratoires de validation
ELISA	Enzyme linked immuno sorbent assay
eLOD	Limite de détection estimée
eNED	Niveau exigé de détection estimée
ESET	Entité soumise à essai de transfert
GT	Groupe de travail
GT TMA	Groupe de travail sur les transferts de méthodes d'analyse
ISO	International standard organisation/organisation internationale de normalisation
IUPAC	Union internationale de chimie pure et appliquée
LAB GTA	Guides techniques pour l'accréditation des laboratoires
LNR	Laboratoire national de référence
LOD	Limit of detection / Limite de détection
LOD <sub>50</sub>	Limite de détection avec un niveau de cible/contamination correspondant à une probabilité de détection de 50%
LOD <sub>95</sub>	Limite de détection avec un niveau de cible/contamination correspondant à une probabilité de détection de

95%

LOQ	Limit of quantification / Limite de quantification
LRUE	Laboratoire de référence de l'union européenne
NA	Nombre d'accords négatifs
NED	Niveau exigé de détection : niveau de cible le plus faible correspondant à une probabilité de détection de 100%
NF	Norme française
PA	Nombre d'accords positifs
PAS	Plateforme d'analyses statistiques de l'Anses
PCR	Polymerase chain reaction / Réaction de polymérisation en chaîne

## 4. LES DIFFÉRENTES PHASES DU TRANSFERT

Les différentes phases du transfert qui permettent au laboratoire émetteur d'organiser, de planifier et de mettre en œuvre le transfert sont formalisées et regroupées dans le fichier de transfert de méthode associé au guide (ANSES/PR3/7/03-01 – *en cours d'élaboration à cette date*) dont le contenu est détaillé ci-dessous.

### 4.1 Organisation du transfert

Le responsable du mandat de référence (LRUE, LNR) initie le fichier ANSES/PR3/7/03-01 et précise le cadre du transfert.

#### 4.1.1 Équipe projet du laboratoire émetteur

Le GT recommande la constitution d'une équipe de transfert (équipe projet).

Le responsable du mandat de référence définit l'équipe de transfert. Celle-ci doit comprendre *au minima* le responsable du projet de développement/validation de la méthode, à défaut un personnel scientifique ou technique maîtrisant la méthode. D'autres personnes peuvent compléter cette équipe si nécessaire (responsable du mandat de référence, personnel technique, responsable ou correspondant qualité, référent statistique...).

La composition de l'équipe de transfert est renseignée dans le fichier ANSES/PR3/7/03-01.

Dans cette équipe, il est recommandé de désigner un chef de projet de transfert, dénommé ici « pilote du transfert ». Il assure le suivi et l'organisation du transfert.

À la fin du projet, l'équipe statue sur l'approbation du transfert (cf. §6). Le responsable du mandat de référence informe l'autorité compétente des résultats du transfert.

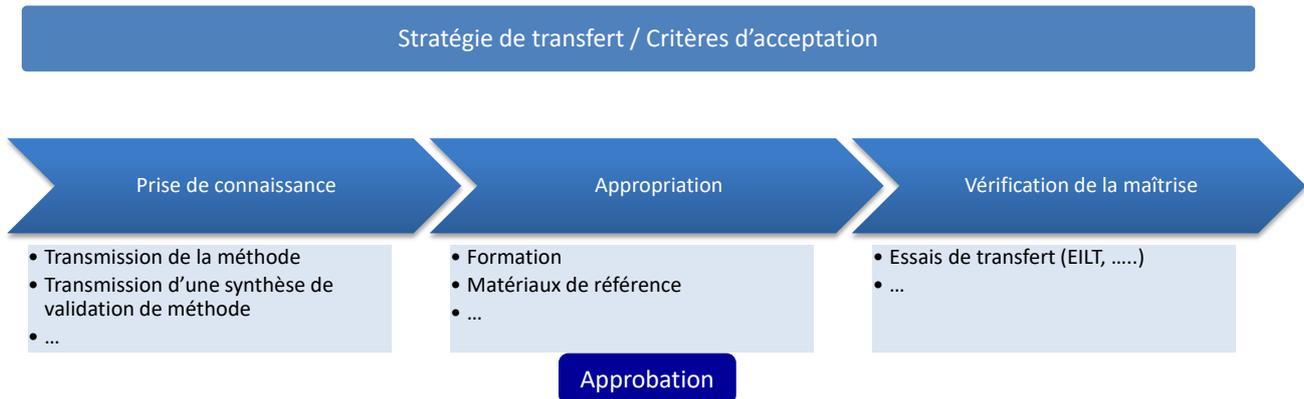
#### 4.1.2 Contexte du transfert

Le transfert d'une méthode peut être appliqué à un ou plusieurs laboratoires dans le cadre d'un réseau existant ou non. Le processus de transfert est mis en œuvre pour une nouvelle méthode ou une méthode faisant l'objet de modifications majeures.

Les laboratoires receveurs sont identifiés et leur nombre est précisé dans le document ANSES/PR3/7/03-01.

### 4.1.3 Stratégie et planification du transfert

La planification du transfert est conditionnée par la stratégie du transfert qui peut comprendre une ou plusieurs phases (figure 3). Les laboratoires receveurs doivent être informés suffisamment en amont du calendrier prévisionnel de transfert, à l'occasion d'une formation ou d'un message d'information, pour une organisation adéquate (achats de consommables, de matériel, bilan des compétences techniques nécessaires...).



**Figure 3** Schéma d'un transfert de méthode

La stratégie de transfert est étroitement liée au contexte du transfert (par exemple modification(s) majeure(s), nouvelle méthode). Le tableau 1 résume les moyens à utiliser en fonction des différentes phases et du contexte.

Quel que soit le contexte, la phase de prise de connaissance de la méthode repose essentiellement sur de la documentation.

**Tableau 1** Moyens à utiliser en fonction du contexte et de la stratégie retenue

Contexte	Prise de connaissance	Appropriation		Vérification de la maîtrise
	Documentation(s)	Formation	Essais d'appropriation	Essais de transfert
Nouvelle méthode	X	X	X	X
Méthode révisée (modification(s) majeure(s))	X	(X)	(X)	X

X : recommandé, (X) à l'appréciation de l'équipe projet.

## 4.2 Moyens

### 4.2.1 Documentation

La documentation minimale fournie par le laboratoire émetteur est :

- la méthode d'analyse rédigée selon le modèle Anses (ANSES/PR3/7/01-04),

- les éléments extraits du dossier de validation nécessaires à l'appropriation de la méthode, (*a minima* les caractéristiques de performance de la méthode, évaluées selon le guide de validation ANSES/PR3/7/01).

*Note : Il peut être fourni tout autre élément jugé utile tel que les sources de variation, l'incertitude ou la liste des points critiques identifiés.*

La prise de connaissance de cette méthode par le laboratoire receveur pourra se faire au moment de sa mise en ligne sur le site de l'Anses (ANSES/PR3/7/02) et/ou par l'envoi par le laboratoire émetteur. Tout type de documentation jugée utile au transfert par le laboratoire émetteur pourra être fourni (présentation, fichier powerpoint, vidéo...).

L'ensemble des documents fournis au(x) laboratoire(s) receveur(s) est détaillé dans le document ANSES/PR3/7/03-01.

#### **4.2.2 Formation**

Dans le cadre du transfert d'une nouvelle méthode, le GT recommande au laboratoire émetteur d'organiser une formation.

La formation peut être optionnelle pour des méthodes s'appuyant sur des technologies maîtrisées par les laboratoires receveurs.

*Note 1 : La réalisation d'une formation reste à l'appréciation de l'équipe projet selon le contexte du transfert.*

*Note 2 : Un programme de formation sera fourni et une attestation de présence sera délivrée aux participants du laboratoire receveur.*

*Note 3 : Différents formats d'ateliers peuvent être mis en place (formation « Théorique » et/ou « Pratique » au laboratoire émetteur, formation sur site du laboratoire receveur, formation à distance, tutoriel...).*

#### **4.2.3 Essais d'appropriation**

Ces essais sont réalisés par le laboratoire receveur pour s'approprier la méthode dans son environnement (matériel différent, réactifs, opérateurs...). A cette étape, le laboratoire émetteur a essentiellement un rôle de conseil et d'accompagnement. Ces essais ne requièrent pas d'évaluation par le laboratoire émetteur. Celui-ci peut néanmoins fournir ou recommander des matériaux ou des réactifs qui seront listés dans le document ANSES/PR3/7/03-01.

*Note : Il peut être fourni des matériaux de référence certifiés ou internes, des matériaux de statut connu, des consommables ou tout autre type de matériaux.*

#### **4.2.4 Essais de transfert**

La dernière phase du transfert est la phase de vérification de la maîtrise de la méthode.

Les essais de transfert permettent de s'assurer que la méthode est correctement mise en œuvre par le laboratoire receveur. Ces essais sont effectués à partir d'ESET qui peuvent être fournies ou non par le laboratoire émetteur.

Les essais de transfert font l'objet du chapitre suivant (§5).

### 4.3 Approbation du transfert

L'approbation du transfert doit être clairement formalisée et tracée. Ce point est décrit dans le chapitre 6.

## 5. ESSAIS DE TRANSFERT

### 5.1 Nature des essais de transfert

#### 5.1.1 Essais de transfert : cas général

Le présent guide propose des essais de transfert conçus de manière à évaluer la maîtrise des points critiques et de l'appropriation de la méthode et à ce que les ESET testées soient représentatives du domaine d'utilisation de la méthode (matrice, analyte, cible, teneur...).

Ces ESET caractérisées peuvent être fournies par le laboratoire émetteur ou préparées par le laboratoire receveur. Des matériaux de référence certifiés peuvent également être utilisés.

Les résultats fournis par les laboratoires receveurs sont analysés par le laboratoire émetteur selon les modalités décrites dans le paragraphe 5.3 et dans l'annexe 3.

#### 5.1.2 Essais de transfert : EILT

Des essais interlaboratoires de transfert (EILT) peuvent être mis en œuvre pour évaluer le transfert. Pour les méthodes quantitatives, les réseaux de laboratoires doivent être suffisamment grands ( $n \geq 12$ ).

*Note 1 : Ce type d'EILT ne doit pas être confondu avec un EILA (essai interlaboratoires d'aptitude) ou un EILV (essai interlaboratoires de validation). En effet dans le cas d'un EILT, le laboratoire émetteur doit prévoir a minima l'évaluation de **la justesse et de la fidélité telles que définies dans le glossaire ANSES/PR3/7/01-01**. Lorsque des exigences spécifiques à un secteur d'activité donné existent, celles-ci devront être prises en compte.*

*Note 2 : Cette approche ne fait pas l'objet du guide, le laboratoire émetteur se référera à la norme NF EN 13528 (2015).*

*Note 3 : Dans ce cadre, la plateforme d'analyses statistiques (PAS) de l'Anses peut être sollicitée pour apporter un appui à l'élaboration et à l'analyse de cet EILT.*

#### 5.1.3 Essais de transfert : validation

Ce type d'essais de transfert peut être choisi dans le cas de méthodes complexes, s'appliquant à un grand nombre d'analytes et/ou un grand nombre de matrices. Les laboratoires receveurs doivent valider la méthode en respectant les consignes de validation fournies par le laboratoire émetteur. Les résultats des caractéristiques de performance de chaque laboratoire receveur sont fournis au laboratoire émetteur en vue de l'approbation du transfert. Cette approbation est prononcée par rapport à des limites réglementaires ou des valeurs fixées par le laboratoire émetteur.

*Note : Cette approche ne fait pas l'objet du guide, le laboratoire émetteur pourra se rapprocher de la plateforme d'analyses statistiques PAS de l'Anses qui pourra apporter un appui à l'élaboration du plan expérimental et à l'analyse des résultats.*

## **5.2 Entités Soumises aux Essais de Transfert (ESET)**

La sélection des ESET utilisées pour le transfert est critique [10]. Leur maîtrise l'est tout autant.

Il est important d'intégrer des témoins appropriés de processus analytique positifs/négatifs, permettant également de vérifier, si nécessaire, que le processus analytique ne provoque pas d'inter-contamination.

### **5.2.1 Pour une nouvelle méthode d'analyse**

Dans le cas du transfert d'une nouvelle méthode, le GT recommande l'utilisation de matériaux de référence certifiés ou la fourniture d'ESET « supports » du transfert par le laboratoire émetteur qui en assurera la caractérisation et la maîtrise.

Lorsque cette situation n'est pas possible (par exemple dans le cas d'une disponibilité insuffisante des matériaux de référence ou lorsque la fourniture d'ESET caractérisées par le laboratoire émetteur est impossible), il convient de se rapprocher de la plateforme PAS de l'Anses pour déterminer la meilleure stratégie adaptée à la situation rencontrée.

### **5.2.2 Pour une méthode d'analyse révisée (modification(s) majeure(s))**

Dans le cas du transfert d'une méthode révisée présentant une ou des modifications majeures, le laboratoire émetteur peut choisir une ou plusieurs des options suivantes :

- utiliser le même type d'ESET qu'en cas de nouvelle méthode d'analyse (cf. §5.2.1) ;
- recourir à des matériaux de référence internes au laboratoire receveur, à la condition que ceux-ci soient disponibles et suffisamment caractérisés et maîtrisés ;
- réaliser des analyses en doublon entre laboratoire émetteur et laboratoire receveur sur des ESET fournies par le laboratoire receveur (par exemple sur des ESET issues d'échantillons de terrain ou artificiellement contaminées) ;
- utiliser des ESET prétraitées par le laboratoire émetteur (par exemple des « extraits d'ADN », des surnageants...) disponibles en quantité plus importante ou permettant d'assurer une meilleure maîtrise.

### **5.2.3 Caractérisation et maîtrise des ESET**

Quelle que soit l'origine des ESET, celles-ci doivent être caractérisées et leur homogénéité et stabilité doivent être évaluées.

Ces données doivent donc être documentées, soit par connaissance de ces caractéristiques (par exemple dans le cas de matériaux de référence certifiés pour lesquels ces données sont connues, ou grâce à l'historique acquis sur certaines matrices), soit en les déterminant.

## Caractérisation

Dans le cas d'ESET produites par le laboratoire émetteur, la valeur cible est déterminée pour chaque lot ; l'incertitude associée est déterminée grâce aux données du dossier de validation de la méthode.

Dans le cas d'ESET produites par le laboratoire receveur, le laboratoire émetteur précise les modalités de leur caractérisation (valeurs cibles nécessaires, nombre de répétitions par niveau, nombre de séries, nombre de niveaux...).

L'homogénéité et la stabilité des ESET est un préalable à leur envoi et doivent être vérifiées.

## Homogénéité

**L'homogénéité** peut être vérifiée en utilisant une analyse de variance (ANOVA) au risque  $\alpha=5\%$ . Pour une variable de type quantitatif, un nombre minimal de 10 ESET mesurées deux fois est préconisé.

Si un EIL est utilisé pour vérifier le transfert ou si des données sont disponibles pour fixer l'écart-type d'aptitude, les recommandations de la norme NF ISO 13528 (2015) peuvent être appliquées, ainsi que le rapport technique IUPAC/CITAC (11).

*Note 1 : Dans le cas où il n'est pas possible de faire de répétition, le nombre d'ESET doit être porté à 20.*

*Note 2 : Le nombre d'ESET peut être réduit dans certaines conditions. Si cela est nécessaire, la plateforme PAS de l'Anses peut être consultée pour valider cette réduction.*

Pour des variables de type qualitatif, pour un nombre d'ESET  $\geq 2$  et pour un nombre de répétitions suffisant ( $n \geq 2$ ), l'homogénéité du résultat qualitatif doit être 100% et conforme à la valeur de référence assignée.

## Stabilité

En ce qui concerne **la stabilité**, elle doit être vérifiée *a minima* sur 2 échéances.

Dans ce cas, pour des variables de type quantitatif, la comparaison des valeurs obtenues peut se faire à l'aide d'un test de Student associé à un risque  $\alpha=5\%$ . Si plusieurs échéances sont réalisées ( $n > 2$ , avec deux répétitions recommandées par échéance), il est préconisé soit une régression linéaire soit une ANOVA avec toujours un risque  $\alpha=5\%$ .

Si un EIL est utilisé pour vérifier le transfert ou si des données sont disponibles pour fixer l'écart-type d'aptitude, les recommandations de la norme NF ISO 13528 (2015) peuvent être appliquées, ainsi que le rapport technique IUPAC/CITAC (11).

*Note 3 : Dans le cas où il n'est pas possible de faire de répétition, le nombre d'ESET doit être porté à 6.*

*Note 4 : Dans certains cas, il est possible de ne pas réaliser d'étude de stabilité. Ceci doit être justifié par exemple par l'utilisation de données historiques, ou par des connaissances acquises par le laboratoire émetteur sur l'ESET.*

Pour des variables de type qualitatif, pour un nombre d'échéances  $\geq 2$ , un nombre d'ESET  $\geq 2$  et un nombre de répétitions  $\geq 2$ , la stabilité du résultat qualitatif doit être de 100% et conforme à la valeur de référence assignée.

Un exemple de traitement de données pour évaluer l'homogénéité et la stabilité est fourni en annexe 4.

### 5.3 Plan expérimental

Le plan statistique dépend des approches statistiques utilisées et du type de méthode d'analyse transférée, c'est-à-dire des méthodes produisant des résultats qualitatifs ou des résultats quantitatifs.

L'évaluation et la comparaison des données fournies par le laboratoire receveur aux données du laboratoire émetteur ne peuvent être réalisées de façon subjective. En effet, l'utilisation de statistiques va permettre de décider objectivement si les données sont comparables et du même ordre de grandeur. Seule l'utilisation d'outils statistiques permet une prise de décision sur la réussite du transfert, en gérant les risques associés au transfert.

Les risques encourus sont d'une part le risque de conclure à tort que le transfert est réussi dans le laboratoire receveur et d'autre part, le risque de conclure à tort que le transfert est rejeté dans le laboratoire receveur [12, 13].

Le tableau de décision (Tableau 2) résume l'ensemble des risques statistiques encourus.

**Tableau 2** Risques statistiques encourus entre la conclusion sur le transfert et la situation réelle

		Situation réelle	
		Réussite du transfert	Échec du transfert
Conclusion	Transfert réussi	Conclusion correcte	Conclusion erronée
	Transfert rejeté	Conclusion erronée	Conclusion correcte

L'utilisation d'approches statistiques doit faire partie du plan d'essai et elles doivent être définies *a priori*.

Selon que les méthodes d'analyse génèrent des résultats qualitatifs ou quantitatifs, les méthodes statistiques utilisées seront différentes et seront appliquées sur des paramètres également différents. Cependant, l'objectif d'une méthode d'analyse reste le même, c'est-à-dire produire des résultats suffisamment proches de la valeur vraie (inconnue).

Compte-tenu du fait que les méthodes statistiques à utiliser sont différentes selon le type de méthode d'analyse, nous décrivons les méthodes à utiliser pour chaque cas.

### 5.3.1 Méthode d'analyse produisant des résultats qualitatifs

Pour les méthodes qualitatives, le GT recommande *a minima* la mise en œuvre d'essais limites. Si des exigences le requièrent (LAB GTA, points critiques de la méthode...) et selon le domaine concerné, des essais d'exactitude peuvent être réalisés en complément.

**Les essais limites** permettent de vérifier le seuil de détection et peuvent être conçus sous différentes formes :

- d'une LOD<sub>50</sub> (niveau correspondant à une probabilité de détection de 50%) ;
- ou d'une LOD<sub>95</sub> (niveau correspondant à une probabilité de détection de 95%) ;
- ou d'un niveau exigé de détection (NED : niveau le plus faible correspondant à une probabilité de détection de 100%).

**Les essais d'exactitude** permettent de vérifier la concordance des résultats sur un panel d'ESET cibles et non cibles représentatives du domaine d'application de la méthode.

La maîtrise des risques liés au transfert, tels qu'évoqués au paragraphe précédent, passe par :

- un plan expérimental qui intègre :
  - o des ESET, supports du transfert suffisamment caractérisés, maîtrisés ;
  - o des ESET suffisamment représentatives du domaine d'application de la méthode ;
  - o des répétitions réalisées dans des conditions représentatives des conditions de routine [conditions de répétabilité et si nécessaire de fidélité intermédiaire (reproductibilité intra-laboratoire)] ;
- des critères d'acceptation établis en vertu des données de validation [caractéristiques de performance et variabilité de la méthode, dont la limite de détection (LOD)] et le cas échéant, de l'expérience de développement, de l'historique... [10].

#### Plan expérimental de transfert

Le plan expérimental de transfert doit définir les caractéristiques de performance à vérifier, le type d'ESET et leur nombre, le nombre de réplicats et le nombre de séries indépendantes à réaliser.

##### 5.3.1.1 Plan expérimental-type

Le plan expérimental suivant est un exemple pouvant être utilisé pour des méthodes de détection.

*Note 1 : Pour les méthodes d'identification, la mise en œuvre d'essais limites n'est pas forcément pertinente car l'objectif n'est pas d'évaluer un seuil de détection.*

*Note 2 : Ce plan permet notamment de répondre aux exigences techniques des dossiers de confirmation d'emploi (vérification selon la nouvelle norme NF EN ISO 17025 :2017) préconisées dans les documents Cofrac LAB GTA 27 (immunologie sérologie animale), LAB GTA 32 (virologie animale), LAB GTA 36 (bactériologie animale), LAB GTA 40 (santé végétale).*

**Tableau 3** Exemple de plan expérimental de transfert pour une méthode qualitative

Type d'essais de transfert	Caractéristique vérifiée	Plan expérimental de transfert	Paramètre de vérification	Critère d'acceptation
<b>Essais d'exactitude (a)</b>	Sensibilité (diagnostique) / Inclusivité	Au moins 4 ESET cibles différentes présentant une diversité représentative du domaine d'application de la méthode	Nombre d'accords positifs (PA)	100%
	Spécificité (diagnostique) / Exclusivité	Au moins 4 ESET non cibles différentes	Nombre d'accords négatifs (NA)	100%
<b>Essais limites</b>	Seuil de détection	1 matrice * au moins 3 niveaux (2 niveaux pour l'évaluation de la LOD <sub>95</sub> ) et le niveau « zéro » * 2 répétitions (jusqu'à 10 répétitions pour l'évaluation de la LOD <sub>95</sub> ) *(b) 2 séries indépendantes (intégrant les facteurs de variabilité inter-séries représentatifs des conditions de variabilité maximale en intra-laboratoire : opérateurs différents, jours différents, éventuellement matériels/consommables différents)	Selon la modalité d'évaluation choisie : -NED estimé (eNED) -LOD <sub>50</sub> estimée (eLOD <sub>50</sub> ) -LOD <sub>95</sub> estimée (eLOD <sub>95</sub> )	≤ 1xNED prédéterminée ≤ 3x LOD <sub>50</sub> prédéterminée ≤ 1x LOD <sub>95</sub> prédéterminée
<i>(a) Obligatoire ou optionnel selon domaine, (b) Optionnel</i>				

### 5.3.1.2 Les essais d'exactitude

Les ESET utilisés pour ces essais doivent être d'une nature la plus proche possible des ESET de routine (au moins pour certains d'entre eux), afin de vérifier l'efficacité du transfert sur l'ensemble du processus analytique dans des conditions proches des conditions de routine.

Les ESET retenus pour ces essais ne doivent présenter aucune ambiguïté quant à leur valeur attendue (état, statut...). Les ESET « cibles » doivent contenir la cible, naturellement ou par supplémentation, à un niveau supérieur au seuil de détection. Les ESET « non cibles » ne doivent pas présenter d'interférences avec l'analyte recherché.

Le critère d'acceptation du transfert pour ces essais d'exactitude est que 100% des résultats obtenus par le laboratoire receveur doivent être conformes à la valeur de référence assignée à l'ESET.

### 5.3.1.3 Les essais limites

Cette partie est rédigée en accord avec les normes NF U47-400, NF U47-600, ISO/CD 16140-3 et XP CEN ISO/TS 22117 (cf. § 3.1).

Le seuil de détection doit être vérifié dans le laboratoire receveur avec un critère d'acceptation en cohérence avec les données de validation de la méthode.

Les essais limites peuvent porter soit sur la  $LOD_{50}$ , soit sur la  $LOD_{95}$ , soit sur le NED prédéterminé, le critère d'acceptation est fixé par le laboratoire émetteur, en tenant compte des données de validation et de la variabilité de la méthode.

Dans certains cas, la valeur de la limite ( $LOD_{50}$ ,  $LOD_{95}$  ou NED) peut être liée à une ESET donnée et cette valeur peut nécessiter des adaptations par rapport au dossier de validation. Dans ce cas, une caractérisation complémentaire peut être menée par le laboratoire émetteur.

Pour ces essais, il est préconisé d'utiliser (au moins) un type de matrice artificiellement supplémentée pour une meilleure maîtrise des niveaux. Le choix du type d'ESET à utiliser (nature) et des niveaux doit faire référence aux données de validation.

Des répétitions doivent être mises en œuvre. En pratique, un nombre de répétitions compris entre 2 et 10 par niveau pourra être utilisé pour statuer sur les essais limites.

Par ailleurs, il est recommandé de réaliser ces essais limites lors d'au moins deux séries indépendantes pour tenir compte au moment du transfert de la fidélité intermédiaire au sein du laboratoire receveur dans des conditions qui soient les plus représentatives de la variabilité maximale qui puisse être observée en routine [13].

#### Essais limites portant sur la $LOD_{50}$

Lorsque les essais limites portent sur la  $LOD_{50}$ , au moins trois niveaux ainsi que le niveau zéro doivent être utilisés. Ces niveaux sont fixés de la façon suivante :

- niveau « élevé » : environ  $10 \times LOD_{50}$ , ce niveau doit produire uniquement des résultats positifs, sinon les essais doivent être réitérés pour tous les niveaux ;
- niveau intermédiaire : environ  $5 \times LOD_{50}$  ;
- niveau bas : environ  $1 \times LOD_{50}$  ;
- niveau « zéro » : contrôle blanc, ce niveau doit produire uniquement des résultats négatifs, sinon les essais doivent être réitérés pour tous les niveaux.

En microbiologie, les trois niveaux peuvent être obtenus par dilution de la culture d'inoculation au niveau élevé.

Chaque niveau fait l'objet d'une analyse *a minima* en duplicat (2 répétitions) en conditions de répétabilité.

Les résultats obtenus permettent d'estimer la  $LOD_{50}$  dans le laboratoire receveur, selon le tableau ci-après.

*Note : Il s'agit de la  $LOD_{50}$  estimée car le plan expérimental n'est pas suffisant pour permettre une évaluation précise de cette valeur.*

**Tableau 4** Estimation de la  $LOD_{50}$  du laboratoire receveur, basée sur le nombre de résultats positifs obtenus par le laboratoire receveur par niveau de cibles (d'après ISO/DIS 16140-3 : 2017)

Niveau élevé (10x $LOD_{50}$ )	Niveau intermédiaire (5x $LOD_{50}$ )	Niveau faible (1x $LOD_{50}$ )	Niveau « zéro » (Contrôle blanc)	$LOD_{50}$ estimée du Laboratoire receveur	Acceptation (O/N)
2/2	2/2	2/2	0/2	$\leq 1xLOD_{50}$	O
2/2	2/2	1/2	0/2	$= 1xLOD_{50}$	O
2/2	2/2	0/2	0/2	$= 2xLOD_{50}$	O
2/2	1/2	2/2	0/2	$= 2xLOD_{50}$	O
2/2	1/2	1/2	0/2	$= 3xLOD_{50}$	O
2/2	< 2/2	Toute valeur	0/2	$> 3xLOD_{50}$	N

$LOD_{50}$  prédéterminée dans l'étude de la validation de la méthode

La  $LOD_{50}$  estimée du laboratoire receveur doit être inférieure ou égale à 3 fois la  $LOD_{50}$  prédéterminée dans l'étude de validation de la méthode (cf. tableau4).

Lorsque plusieurs séries indépendantes sont mises en œuvre (évaluation de la reproductibilité intra-laboratoire), la  $LOD_{50}$  estimée pour chaque série doit être conforme à la valeur limite fixée.

### Essais limites portant sur la $LOD_{95}$

Lorsque les essais limites portent sur la  $LOD_{95}$ , au moins deux niveaux ainsi que le niveau « zéro » doivent être utilisés. Ces niveaux de contamination sont fixés de la façon suivante :

- niveau « élevé » : environ  $3xLOD_{95}$ , ce niveau doit produire uniquement des résultats positifs, sinon les essais doivent être réitérés pour tous les niveaux → 10 répétitions en conditions de répétabilité ;
- niveau intermédiaire :  $1xLOD_{95}$  → 10 répétitions en conditions de répétabilité ;
- niveau « zéro » : contrôle blanc, ce niveau doit produire uniquement des résultats négatifs, sinon les essais doivent être réitérés pour tous les niveaux → 2 répétitions en conditions de répétabilité.

Les résultats obtenus permettent d'estimer la  $LOD_{95}$  dans le laboratoire receveur selon le tableau ci-après.

*Note : Il s'agit de la  $LOD_{95}$  estimée car le plan expérimental n'est pas suffisant pour permettre une évaluation précise de cette valeur.*

**Tableau 5** Estimation de la  $LOD_{95}$  du laboratoire receveur basée sur le nombre de résultats positifs des différents niveaux de cible

Niveau élevé (3x $LOD_{95}$ )	Niveau intermédiaire ( $LOD_{95}$ )	Niveau « zéro » Contrôle blanc	$LOD_{95}$ estimée	Acceptation (O/N)
10/10	10/10	0/2	$\leq 1xLOD_{95}$	O
10/10	9/10	0/2	$= 1xLOD_{95}$	O

10/10	8/10	0/2	=1xLOD <sub>95</sub>	O
10/10	≤7/10	0/2	>1xLOD <sub>95</sub>	N
LOD <sub>95</sub> prédéterminée dans l'étude de la validation de la méthode				

La LOD<sub>95</sub> estimée du laboratoire receveur doit être inférieure ou égale à 1 fois la LOD<sub>95</sub> prédéterminée dans l'étude de validation de la méthode (cf. tableau 5).

Lorsque plusieurs séries indépendantes sont mises en œuvre (évaluation de la reproductibilité intra-laboratoire), la LOD<sub>95</sub> estimée pour chaque série doit être conforme à la valeur limite fixée.

### Essais limites portant sur le NED

Lorsque les essais limites portent sur le NED, au moins 3 niveaux (préférentiellement 4 voire 5), ainsi que le niveau « zéro » doivent être utilisés. Les niveaux doivent être choisis de façon à encadrer le NED et doivent *a priori* permettre d'aboutir à des résultats positifs et négatifs.

Le NED estimé correspond au niveau le plus faible pour lequel le laboratoire receveur obtient 100% de détection. Ce niveau est comparé à la valeur limite acceptée pour ce paramètre. La valeur limite est fixée par le laboratoire émetteur en cohérence avec les données de validation et tient compte de la variabilité de la méthode.

Lorsque plusieurs séries indépendantes sont mises en œuvre (évaluation de la reproductibilité intra-laboratoire), le NED estimé pour chaque série doit être conforme à la valeur limite fixée.

*Note 1 : Il s'agit du NED estimé car le plan expérimental n'est pas suffisant pour permettre une évaluation précise de cette valeur.*

*Note 2 : Il n'est pas recommandé de réaliser un EILT avec des ESET ayant des valeurs en dessous du NED.*

## 5.3.2 Méthode d'analyse produisant des résultats quantitatifs

L'évaluation de la réussite du transfert peut être réalisée en utilisant deux approches statistiques : une approche globale (privilegiée par le GT) ou une approche caractéristique par caractéristique.

### 5.3.2.1 Méthode statistique globale fondée sur l'erreur totale

En utilisant cette approche statistique globale, l'objectif est de montrer que l'écart entre le résultat obtenu ( $x$ ) et la valeur vraie ( $\mu$ ) est inférieur à une limite d'acceptation  $\lambda$  qui peut être variable suivant la finalité de la méthode. Statistiquement, cela se vérifie quand la probabilité d'avoir un écart entre le résultat ( $x$ ) et la valeur vraie ( $\mu$ ), inférieur à  $\lambda$ , est supérieure à une proportion  $\beta$  :

$$P(|x - \mu| < \lambda) > \beta$$

Pour vérifier cette inégalité, il est possible d'utiliser deux approches statistiques :

- a) **la première approche** est l'approche fondée sur l'estimation de l'erreur totale, c'est-à-dire la combinaison de l'erreur systématique et de l'erreur aléatoire du laboratoire receveur en

utilisant un outil statistique introduit notamment dans les normes NF V03-110 et NF EN ISO 16140-2, appelé « Intervalle de Tolérance ou Profil d'exactitude », dans lequel nous nous attendons à trouver  $\beta\%$  des futurs résultats :

$$[\mu_R - k\sigma_{FI,R}; \mu_R + k\sigma_{FI,R}]$$

$\mu_R$  représente l'estimation de la moyenne des résultats du laboratoire receveur,  $\sigma_{FI,R}$  représente la variance de fidélité intermédiaire du laboratoire receveur et  $k$  est déterminé de telle façon que la proportion attendue  $\beta$  (avec une valeur minimale de 80% de résultats attendus) de la population soit dans cet intervalle.

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

La valeur de référence est fixée par le laboratoire émetteur. Il faut veiller à ce que la différence entre les résultats et la valeur de référence ne soit pas liée à des facteurs (instabilité...) autres que la non-maitrise de la méthode. La référence ne doit pas être la moyenne des résultats obtenus dans le laboratoire 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.

Pour conclure que le transfert est réussi, l'intervalle de tolérance obtenu par le laboratoire receveur doit être comparé à l'intervalle de confiance obtenu par le laboratoire émetteur. Pour ce faire, un intervalle de décision sera construit.

Pour le laboratoire émetteur, l'intervalle de confiance sera défini par la borne inférieure ( $L_E$ ) et par sa borne supérieure ( $U_E$ ).

Pour le laboratoire receveur, nous pouvons calculer pour l'intervalle de tolérance sa borne inférieure ( $L_R$ ) et sa borne supérieure ( $U_R$ ).

En prenant en compte la limite  $\lambda$ , un intervalle de décision (ID) peut être construit :

$$ID=[U_E(1-\lambda), L_E(1+\lambda)]$$

Pour conclure à la réussite du transfert, l'intervalle de tolérance [ $L_R$ ,  $U_R$ ] doit être compris dans l'intervalle ID.

- b) la seconde approche fondée sur l'erreur totale consiste à estimer la probabilité  $P$  d'avoir des résultats du laboratoire receveur hors des limites d'acceptation :

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

avec :

$P[x_R < (1 - \lambda)U_E]$  représente la probabilité d'avoir des résultats inférieurs au laboratoire émetteur,

$P[x_R > (1 + \lambda)L_E]$  représente la probabilité d'avoir des résultats supérieurs au laboratoire émetteur.

Si la probabilité  $P$  est plus petite que  $1-\beta$ , il y a alors suffisamment de garantie que le laboratoire receveur fournira des résultats proches de la vraie valeur et que le transfert est accepté. Sinon, le transfert est rejeté.

Le détail des calculs statistiques est fourni en annexe 3.

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 d'analyse reste toujours sous sa responsabilité en fonction du risque qu'il est prêt à encourir.

Un exemple d'application est fourni en annexe 4.

#### 5.3.2.2 Méthode statistique caractéristique par caractéristique

Pour ces méthodes, le GT recommande qu'un minimum de trois caractéristiques (LOQ, justesse et fidélité) soient vérifiées par le laboratoire receveur. Ces caractéristiques doivent couvrir au maximum la plage des concentrations d'usage de la méthode (exemple : LOQ, niveau intermédiaire, niveau maximal). D'autres caractéristiques peuvent être incluses si elles ont été identifiées comme étant critiques lors de la validation de la méthode.

Trois approches statistiques ont été décrites [1, 13] : approche par l'équivalence (recommandée par le GT), approche descriptive et approche par la différence.

#### Approche par l'équivalence

Dans cette approche, les risques de conclusion erronée sont contrôlés. En effet, même dans le cas d'une différence entre moyennes faibles, associée à une faible variabilité, cette approche statistique permet de conclure sur la réussite du transfert.

De plus, cette approche respecte la logique analytique et statistique, c'est-à-dire même si le vrai biais est faible, l'augmentation du nombre d'observations conduira à une conclusion associée à une plus forte probabilité.

Le GT recommande d'utiliser cette approche dans le cas des études de transfert caractéristique par caractéristique. Elle est décrite sur le plan statistique en annexe 3.

Cette approche est applicable aux caractéristiques de justesse, de fidélité et à la limite de quantification (LOQ) :

- pour la justesse et la LOQ, la comparaison des moyennes se fonde 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 du laboratoire émetteur et du laboratoire receveur ;
- pour la fidélité, la méthode consiste à comparer la borne supérieure de l'intervalle de confiance unilatéral à  $(1-\alpha)$  du coefficient de variation (CV) de fidélité intermédiaire du laboratoire receveur à une limite d'acceptation  $\lambda$  fixée *a priori*. Si la borne supérieure est inférieure à  $\lambda$ , alors le transfert peut être accepté.

#### Approche descriptive

Cette approche est la plus simple mais elle présente l'inconvénient de ne pas être associée à des statistiques. En d'autres termes, elle ne permet pas de garantir la réussite du transfert car aucune notion de risque d'erreur n'y est associée. Les risques de conclusion erronée ne sont pas contrôlés.

Il a été clairement montré par simulations [12] que cette approche permet de conclure à la réussite du transfert, une fois sur deux, lorsqu'en moyenne, la différence de résultats entre le laboratoire émetteur et le laboratoire receveur correspond à la limite d'acceptation fixée.

Aussi, le GT recommande de ne pas utiliser cette approche.

### Approche par la différence

Cette approche est largement utilisée pour évaluer la réussite du transfert de méthode. Cependant, elle n'est pas adaptée pour conclure à cette réussite, en particulier pour la caractéristique de justesse.

Si la conclusion sur le plan statistique est d'accepter la réussite du transfert, c'est-à-dire que les moyennes sont statistiquement égales, cela ne signifie pas qu'il n'y a pas de différence sur le plan analytique. Cet écart entre l'observation analytique et la conclusion statistique est lié à un manque de prise en compte de la variabilité. En d'autres termes, la puissance du test statistique est trop faible pour pouvoir conclure.

*A contrario*, le rejet de la réussite du transfert, c'est-à-dire conclure sur le plan statistique que les moyennes sont différentes, n'a pas forcément un sens analytique. En effet, dans le cas où la différence est faible et est associée à une faible variabilité, la conclusion du test statistique sera un rejet de l'égalité des moyennes.

Cette approche permet de contrôler le risque de déclarer à tort la réussite du transfert, mais elle ne permet en aucun cas de contrôler le risque de déclarer à tort l'échec du transfert.

Un phénomène atypique est également observé en utilisant cette approche comme l'ont montré Krinkle *et al.* [12]. En effet, lorsque le vrai biais relatif est faible et acceptable (0,5 ou 1%), la chance de correctement conclure à l'acceptabilité diminue lorsque la taille de l'ESET augmente (Tableau 6).

**Tableau 6** (extrait de [12]) : Évolution de la probabilité (%) de conclure que le biais relatif est acceptable en fonction du nombre de jours et pour 3 répétitions par jour. Paradoxalement cette probabilité diminue lorsque le nombre de jours augmente.

Biais relatif (%)	Nombre de jours			
	3	5	7	9
0	95	95	95	95
0,5	91	87	84	80
1	79	65	50	40
2	38	12	03	01
3	08	<01	<01	<01

La probabilité de trouver un biais relatif de 1% après 3 jours d'expérimentation est de 79% et est seulement de 40% après 9 jours d'expérimentation.

Le GT recommande de ne pas utiliser cette approche dans la mesure où le nombre de répétitions à mettre en œuvre est très difficile à déterminer.

*Note : L'inconvénient d'utiliser une approche caractéristique par caractéristique est qu'elle ne permettra pas de garantir que chaque nouvelle mesure effectuée par le laboratoire receveur sera effectivement suffisamment proche de la valeur vraie de l'analyte contenue dans l'ESET comme le garantit l'approche globale précédemment décrite.*

*En effet, cette approche nécessite d'établir des règles de décision supplémentaires. Dans le cas où la justesse est jugée équivalente mais que la fidélité n'est pas équivalente ou inversement, il sera difficile de conclure si le transfert est réussi ou non. En routine, le résultat fourni est associé à une exactitude qui est la combinaison de la justesse et de la fidélité. Il est donc clair que la réussite du transfert doit garantir que les futurs résultats seront suffisamment proches de la valeur vraie, ce qui va au-delà de l'évaluation de la justesse et de la fidélité du laboratoire receveur.*

## 6. APPROBATION DU TRANSFERT

Une méthode sera déclarée transférée si le laboratoire receveur répond aux critères d'acceptation tels que définis par le laboratoire émetteur avec un risque accepté et acceptable.

L'analyse des résultats par l'équipe projet doit permettre :

- de conclure sur la réussite du transfert auprès de chaque laboratoire receveur ;
- de mener une investigation du type « résultats hors spécifications » en cas d'échec ;
- de finaliser le projet avec le responsable du mandat de référence pour informer l'autorité compétente ;
- de faire un bilan afin d'optimiser les analyses et transferts futurs.

La conclusion sur la réussite du transfert doit être rapportée sur le document ANSES/PR3/7/03-01.

Il est également recommandé de réaliser des enquêtes de satisfaction sur les activités de transfert auprès des laboratoires receveurs.

## Annexe 1 Membres du groupe GT TMA

### Animateur :

Michel LAURENTIE, Laboratoire de Fougères, responsable de la plateforme PAS

### Membres experts :

Céline BAHUON, Laboratoire de Santé Animale de Maisons-Alfort

Aude CHABIRAND, Laboratoire de la Santé des Végétaux (La Réunion)

Rachida CHEKRI, Laboratoire de Sécurité des Aliments de Maisons-Alfort

Martine CHERBONNEL, Laboratoire de Ploufragan-Plouzane

Estelle DUBREIL, Laboratoire de Fougères

Sylvie HENAULT, Laboratoire de Santé Animale de Maisons-Alfort

Sandra LACOTE, Laboratoire de Lyon

Bertrand LOMBARD, Laboratoire de Sécurité des Aliments de Maisons-Alfort

Agnès PERRIN, Laboratoire de Fougères

Mathieu ROLLAND, Laboratoire de la Santé des Végétaux (Angers)

Christophe ROSIN, Laboratoire d'hydrologie de Nancy

### Représentante de la direction de la qualité et de l'audit interne :

Catherine de MÈREDIEU

### Représentantes de la Direction de la Stratégie et des Programmes du Pôle Recherche et Référence :

Véronique DA-RIZ

Barbara GOUGET

## Annexe 2 Références bibliographiques

- 1 - Commission SFSTP, 2002 : Transfert des méthodes analytiques : Méthodologie – In « STP Pharma Pratiques, 12(6), 337-343 ».
- 2 – WHO, 2011: Annex 7 - WHO guidelines on transfer of technology in pharmaceutical manufacturing – In “- WHO Technical Report Series, No. 961, 285-309 ”.
- 3 - Rozet E. et Hubert P., 2010 : Transfert des méthodes analytiques - Service de Chimie Analytique, Département des Sciences Pharmaceutiques - Faculté de Médecine - Université de Liège.
- 4 – USP 37, General Information 1224: Transfer of analytical procedure.
- 5 - Règlement (UE) 2017/625 du 15 mars 2017 concernant les contrôles officiels et les autres activités officielles servant à assurer le respect de la législation alimentaire et de la législation relative aux aliments pour animaux ainsi que des règles relatives à la santé et au bien-être des animaux, à la santé des végétaux et aux produits phytopharmaceutiques.
- 6 - Décret n°2006-7 du 4 janvier 2006 relatif aux laboratoires nationaux de référence, ainsi qu'à l'agrément et à la reconnaissance des laboratoires d'analyses dans le domaine de la santé publique vétérinaire et de la protection des végétaux et modifiant le code rural.
- 9 - Décret n°2007-311 du 5 mars 2007 relatif au contrôle de conformité des réactifs destinés aux analyses réalisées dans les domaines de la santé publique vétérinaire et de la protection des végétaux et modifiant le code rural.
- 10 – Rodriguez-Diaz R., Bullock K., Durban S., Sullivan t., Common practices for analytical method transfert., (2010), Pharmaceutical Outsourcing, 11 (4), 1-6.
- 11-.ThompsonM., Ellison S.L.R., Wood R. The International harmonized protocol for the proficiency testing of analytical chemistry laboratories (IUPAC technical report). (2006) Pure Applied Chemistry 78(1), 145-196.
- 12- KrinkleR., Khan-MalekR., Snikeris F., Munden P., Agut C., Bauer M., A unified approach for design and analysis of transfer studies for analytical methods., (2001), Drug Information journal, 35, 1271-1288.
- 13 – Rozet E., Dewé W., Ziemons E., Bouklouze A., Boulanger B., Hubert Ph. Methodologies for the transfert of analytical methods: a review, (2009), Journal of Chromatography B, 877, 2214-2223.
- 14 – Dewé W., Govaerts B., Boulanger B., Rozet E., Chiap P., Hubert Ph. Using total error as decision criterion in analytical method transfer, (2007), Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems 85, 262-268.
- 15 – Mee R.W.,  $\beta$  expectation and  $\beta$  content tolerance limits for balanced one-way ANOVA random Model. (1984). Technometrics, 26(3), 251-254.
- 16 – Satterthwaite F.E. An approximation distribution of estimates of variance components. (1946) Biometrics Bulletin., 2, 110-114.

## Annexe 3 Approches statistiques

### Introduction

La description de l'approche statistique repose sur la série de normes NF ISO 5725 1 à 6 et sur un ensemble de publication [1], [12], [13].

Le plan expérimental doit être élaboré en fonction des performances établies pour la méthode analytique (dossier de validation). Le transfert s'effectue en conditions de répétabilité et de fidélité intermédiaire, exceptées si l'une des conditions est négligeable par rapport à l'autre.

Par simulation, Dewé *et al* (14) ont montré que, pour garantir le transfert, sur la base d'un seul niveau, 5 séries et 3 répétitions sont nécessaires. Si plusieurs niveaux sont utilisés, au moins 3 sont nécessaires, avec 5 séries et 2 répétitions. Sur justification (informations issues du dossier de validation : linéarité, fonction de réponse, fidélité intermédiaire, ...) le nombre de séries peut être ramené à 4 ou 3.

Quelle que soit l'approche retenue, la première étape consiste à réaliser une analyse de la variance hiérarchisée (ANOVA) pour estimer les paramètres des caractéristiques de justesse et de fidélité. Sur le plan statistique, cette ANOVA comprend un effet fixe (laboratoire) et un effet aléatoire (la série de laboratoires). Les moyennes de chaque laboratoire ( $\mu_i$ ) sont estimées à partir de l'effet fixe et les variances intra-séries et inter-séries des deux laboratoires ( $\sigma_{w,i}^2$  ;  $\sigma_{B,i}^2$ ) sont évaluées à partir de l'effet aléatoire.

Le modèle ANOVA utilisé est le suivant :

$$x_{i,j,k} = \mu_i + \alpha_{j(i)} + \varepsilon_{i,j,k}$$

- 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  $\sigma_{B,i}^2$  ;
  - $\mu_i + \alpha_{j(i)}$  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  $\sigma_{w,i}^2$  ;
  - $\sigma_{B,i}^2$  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.

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

$$B(\%) = 100 \times \frac{\mu_R - \mu_E}{\mu_E}$$

où  $\mu_R$  correspond au laboratoire émetteur et  $\mu_E$  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 :

$$\sigma_{FI,i}^2 = \sigma_{W,i}^2 + \sigma_{B,i}^2$$

À partir de ces différents paramètres, il est ensuite possible de comparer les résultats du laboratoire émetteur et des laboratoires receveur(s), soit par une approche utilisant l'erreur totale, soit en étudiant caractéristique par caractéristique par l'approche d'équivalence.

### Approche par l'erreur totale

Cette approche est basée sur une conclusion prise à la fois sur la justesse et la fidélité. Sur le plan statistique, la conclusion repose sur les bornes de l'intervalle de tolérance, basé sur la notion d'erreur totale (biais + écart-type) associée à des limites d'acceptation définies *a priori* en fonction de l'objectif de la méthode transférée.

Après avoir réalisé l'ANOVA pour estimer l'effet fixe et l'effet aléatoire, c'est-à-dire respectivement la moyenne de chaque laboratoire ( $\mu_i$ ) et les variances intra-série et inter-séries des deux laboratoires, il convient de construire l'intervalle de confiance de la moyenne du laboratoire émetteur :

$$\left[ \mu_E - Q_i \left( 1 - \frac{\alpha}{2}; n_E - 1 \right) \frac{\sigma_{FI,E}}{\sqrt{n_E}}; \mu_E + Q_i \left( 1 - \frac{\alpha}{2}; n_E - 1 \right) \frac{\sigma_{FI,E}}{\sqrt{n_E}} \right]$$

Dans cette équation

- $\mu_E$  = moyenne des résultats,
- $\frac{\sigma_{FI,E}}{\sqrt{n_E}}$  = erreur standard sur la moyenne de l'émetteur,
- $\sigma_{FI,E} = \sqrt{\sigma_{W,E}^2 + \sigma_{B,E}^2}$  = écart-type de fidélité intermédiaire des observations,
- $n_E$  = nombre total des observations,
- $Q_i \left( 1 - \frac{\alpha}{2}; n_E - 1 \right)$  = 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.

Pour le laboratoire receveur, l'intervalle de tolérance des résultats attendus au niveau  $\beta$  (en anglais «  $\beta$ -expectation tolerance limits ») c'est-à-dire l'intervalle dans lequel il est attendu une proportion  $\beta$  d'observations de l'ensemble de la population des résultats [15] :

$$\left[ \mu_R - Q_i \left( \frac{1 + \beta}{2}; v \right) \sqrt{1 + \frac{1}{J_R + K_R + B_R^2} \sigma_{FI,R}^2}; \mu_R + Q_i \left( \frac{1 + \beta}{2}; v \right) \sqrt{1 + \frac{1}{J_R + K_R + B_R^2} \sigma_{FI,R}^2} \right]$$

Avec

- $\mu_R$  = moyenne des résultats,
- $\sigma_{FI,R}^2 = \sigma_{w,R}^2 + \sigma_{B,R}^2$
- $R_R = \frac{\sigma_{B,R}^2}{\sigma_{w,R}^2}$
- $B_R = \sqrt{\frac{R_R + 1}{K_R R_R + 1}}$
- $J_R$  = nombre de séries,
- $K_R$  = nombre de répétitions par série,
- $v = \frac{(R_R + 1)^2}{\frac{(R_R + \frac{1}{K_R})^2}{J_R - 1} + \frac{1 - \frac{1}{K_R}}{J_R K_R}}$
- $Q_i \left( \frac{1 + \beta}{2}; v \right)$  est le quantile  $\beta$  de la distribution t de Student à  $v$  degrés de libertés,
- $\beta$  = proportions attendues de résultats dans l'intervalle, par exemple 0,95.

Considérant les bornes inférieures ( $L_E$ ) et supérieures ( $U_E$ ) de l'intervalle de confiance de la moyenne du laboratoire émetteur, et  $L_R$  et  $U_R$  les bornes inférieures et supérieures de l'intervalle de tolérance des résultats attendus au niveau  $\beta$  pour le laboratoire receveur, l'intervalle de décision (ID) est calculé par :

$$ID = [U_E(1-\lambda), L_E(1+\lambda)]$$

L'intervalle de tolérance du receveur est comparé à ID.

Si l'intervalle de tolérance est inclus dans ID, alors il est conclu que le transfert est réussi pour le laboratoire.

Si ce n'est pas le cas, il n'y a pas de garanties suffisantes que le receveur donne des résultats suffisamment proches de ceux donnés par le laboratoire émetteur.

Il est possible d'évaluer le risque d'avoir des résultats, chez le laboratoire receveur, hors des limites d'acceptation. Pour cela, le calcul de la probabilité repose sur :

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

$$= P \left[ Q_i(v) < \frac{(1 - \lambda)U_E - \mu_R}{\sigma_{FI,R} \sqrt{1 + \frac{JR + 1}{N(R + 1)}}} \right] + P \left[ Q_i(v) < \frac{(1 + \lambda)L_E - \mu_R}{\sigma_{FI,R} \sqrt{1 + \frac{JR + 1}{N(R + 1)}}} \right]$$

## Approche par l'équivalence

### 1. Justesse

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

$$H_{01} : \mu_E - \mu_R < \lambda_1$$

$$H_{02} : \mu_E - \mu_R > \lambda_2$$

vs

vs

$$H_{11} : \mu_E - \mu_R \geq \lambda_1$$

$$H_{12} : \mu_E - \mu_R \leq \lambda_2$$

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

Si les deux hypothèses nulles  $H_{01}$  et  $H_{02}$  doivent être rejetées, cela signifie que la moyenne du receveur est probablement située entre  $\lambda_1$  et  $\lambda_2$  et par conséquent peut être considérée comme comparable à celle de l'émetteur.

En pratique, un intervalle de confiance  $(1-2\alpha)$  pour la différence entre les deux moyennes est construit et est comparé aux limites  $\lambda_1$  et  $\lambda_2$  :

$$\left[ (\mu_R - \mu_E) - Q_i(1 - \alpha; v) \sigma_{\mu_R - \mu_E}; (\mu_R - \mu_E) + Q_i(1 - \alpha; v) \sigma_{\mu_R - \mu_E} \right]$$

Avec

- $Q_i(1 - \alpha; v)$  le quantile supérieur  $(1-\alpha)$  de la loi  $t$  de Student à  $v$  degrés de liberté,
- les degrés de liberté sont estimés selon la méthode de Satterthwaite [16] :

$$v = \frac{(a_1 MS_1 + \dots + a_n MS_n)^2}{\frac{(a_1 MS_1^2)}{ddl_1} + \dots + \frac{(a_n MS_n^2)}{ddl_n}}$$

- $MS_i$  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,

- la variance de la différence est calculée par :

$$\sigma_{\mu_R - \mu_E}^2 = \sigma_{\mu_R}^2 + \sigma_{\mu_E}^2 = \left[ \frac{\sigma_{B,R}^2}{J_R} + \frac{\sigma_{W,R}^2}{J_R K_R} \right] + \left[ \frac{\sigma_{B,E}^2}{J_E} + \frac{\sigma_{W,E}^2}{J_E K_E} \right]$$

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 pas être considérées comme équivalentes ;
- sinon les moyennes sont considérées comme équivalentes.

## 2. Fidélité

Dans le cas de cette caractéristique, la borne supérieure de l'intervalle de confiance unilatéral à  $(1-\alpha)$  du coefficient de variation de fidélité intermédiaire du receveur est comparée à une limite d'acceptation  $\lambda$  fixée *a priori*.

Deux cas de figure se présentent :

- Le carré moyen obtenu chez le receveur est inférieur au carré moyen du laboratoire émetteur

$$MSE_R < MSM_R,$$

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 ;

La borne supérieure de l'écart-type  $L_{U, \sigma_{FI,R}^2}$  est calculée par :

$$L_{U, \sigma_{FI,R}^2} = \sigma_{FI,R}^2 + \sqrt{\left[ \frac{J-1}{Q_{\chi^2}(\alpha; J-1)} - 1 \right]^2 + \left[ \frac{MSM_R}{K} \right]^2 + \left[ \frac{J(K-1)}{Q_{\chi^2}(\alpha; J(K-1))} - 1 \right]^2 + \left[ 1 - \frac{1}{K} \right]^2 MSE_R^2}$$

Avec

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

- Dans le cas où le carré moyen obtenu chez le receveur est supérieure ou égale au carré moyen du laboratoire émetteur :

$$MSE_R \geq MSM_R$$

$$L_{U, \sigma_{FI,R}^2} = \frac{(JK-1)\sigma_{FI,R}^2}{Q_{\chi^2}(\alpha; JK-1)}$$

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

Si cette relation est appliquée au CV nous obtenons la limite supérieure du CV :

$$L_{U,CV_{FI,R}} = 100 \times \frac{\sqrt{L_{U,\sigma_{\hat{\mu}}^2}}}{\mu_R}$$

Si la borne supérieure  $L_{U,CV_{FI,R}} < \lambda$ , alors il peut être conclu que le transfert est réussi pour la caractéristique de fidélité.

## Annexe 4 Exemples

### Homogénéité et stabilité

#### Exemple pour évaluer l'homogénéité et la stabilité.

#### Homogénéité

Cet exemple est adapté d'après les données issues de la norme NF ISO 13528 annexe E, exemple E2, tableau E2.

N° ordre	Identification du flacon	Essai 1	Essai 2
1	3	0.185	0.194
2	111	0.187	0.189
3	201	0.182	0.186
4	330	0.188	0.196
5	405	0.191	0.181
6	481	0.188	0.18
7	599	0.187	0.196
8	704	0.177	0.186
9	766	0.179	0.187
10	858	0.188	0.196

Analyse de la variance à 1 facteur (facteur Temps), réalisée sous Excel.

#### ANALYSE DE VARIANCE

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité p	Valeur critique pour F
Effet temps	0.00007605	1	0.00007605	2.64011572	0.12157685	4.41387342
Résiduelle	0.0005185	18	2.8806E-05			
Total	0.00059455	19				

#### DÉCISION

La probabilité p est > 0.05 donc il est conclu à l'homogénéité des échantillons.

Note : sous Excel la source de variation « Effet temps » est dénommée « entre groupe » et la résiduelle est dénommée « A l'intérieur des groupes ».

## Stabilité

Cet exemple est adapté d'après les données issues de la norme NF ISO 13528 annexe E, exemple E2, tableau E3.

N° ordre	Identification du flacon	Essai 1	Essai 2
1	164	0.191	0.198
2	732	0.190	0.196

La moyenne des ESET de stabilité est comparée à la moyenne obtenue pour les ESET d'homogénéité par un test de Student. Au préalable un test de Fisher est réalisé pour s'assurer que les variances sont statistiquement homogènes. Les analyses sont réalisées sous Excel.

Respectivement la moyenne globale et son écart-type pour les essais d'homogénéité est de  $0.18715 \pm 0.003979$ , et de  $0.19375 \pm 0.547438$  pour les essais de stabilité.

### Test de Fisher

Test d'égalité des variances (F-Test)

	$ESET_S$	$ESET_H$
Moyenne	0.18715	0.19375
Variance	1.5836E-05	1.125E-06
Observations	10	2
Degré de liberté	9	1
F	14.0765432	
P(F<=f) unilatéral	0.20416564	
Valeur critique pour F (unilatéral)	240.543255	

$ESET_S$  : issus des essais de stabilité,  $ESET_H$  : issus des essais d'homogénéité.

<b>DÉCISION</b>	La probabilité P est > 0.05 donc il est conclu à l'homogénéité (égalité) des variances.
-----------------	---

## Comparaison des moyennes par test de Student

Test d'égalité des espérances (moyennes) : deux observations de variances égales

	$ESET_S$	$ESET_H$
Moyenne	0.19375	0.18715
Variance	1.125E-06	1.5836E-05
Observations	2	10
Variance pondérée	1.4365E-05	
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	10	
Statistique t	2.24809932	
P(T<=t) unilatéral	0.02416767	
Valeur critique de t (unilatéral)	1.81246112	
P(T<=t) bilatéral	0.04833534	
Valeur critique de t (bilatéral)	2.22813885	

### DÉCISION

La probabilité P bilatéral est de 0.048 et donc  $< 0.05$ , il est conclu à une non stabilité des ESET. Cependant, vu que le risque est de 0.048 l'analyse pour le transfert pourrait être réalisée en considérant une incertitude plus élevée.

## Variables Qualitatives

### Exemple de confirmation des performances de PCR (NF U47 600-1)

La confirmation est effectuée à l'aide des contrôles et/ou témoins positifs fournis ou fabriqués en interne pour constituer un « matériel de référence interne ».

Elle est effectuée à  $3 \text{ LOD}_{\text{PCR}}$  ou au niveau exigé de détection afin de limiter le nombre d'essais à réaliser et de faciliter l'exploitation des résultats (cf. Tableau a).

**Tableau a – Domaine d'application des étapes de confirmation des performances d'une PCR**

	PCR qualitative	PCR quantitative
<b>3 <math>\text{LOD}_{\text{PCR}}</math> ou le niveau exigé de détection du fournisseur ou du LNR</b>	Oui	Oui
<b><math>\text{LOQ}_{\text{PCR}}</math></b>	Non	Oui
<b>Linéarité - Efficacité</b>	Non	Oui

#### Délectabilité attendue

Elle est réalisée pour les PCR qualitatives et les PCR quantitatives.

Le point « $3 \text{ LOD}_{\text{PCR}}$ » ou «le Niveau exigé de détection» est distribué au moins 3 fois dans un même essai (cf. Tableau b).

**Tableau b - Plan d'expérience pour la confirmation de la  $\text{LOD}_{\text{PCR}}$**

Nombre minimal de séances indépendantes par thermocycleur	Nombre minimal de séances indépendantes sur l'ensemble du parc de thermocycleurs	Nombre minimal d'opérateurs	Nombre minimal de répliques
1	2	1	3

**Acceptabilité** : à l'issue de ces essais, le laboratoire doit obtenir 100 % de résultats positifs.

### PCR Quantitative : Plan d'expérience pour l'évaluation de la droite d'étalonnage

Au minimum 1 séance doit être réalisée sur chaque thermocycleur utilisé en routine (cf. Tableau c).

**Tableau c - Plan d'expérience pour l'évaluation de la droite d'étalonnage**

Nombre de séance ( <i>I</i> )	Nombre d'opérateur	Nombre de gammes d'étalonnage ( <i>p</i> )	Nombre minimal de dilutions testées par gamme ( <i>k</i> )	Nombre de répliques par dilution testée ( <i>J</i> )
1	1	1	4 (dont 1 à la $\text{LOQ}_{\text{PCR}}$ )	1

Définir l'équation de la droite d'étalonnage, valider sa linéarité (vérification visuelle de l'alignement, et  $R^2$  supérieur ou égal à 0,9).

### Confirmation des performances de la méthode complète que l'on soit en qualitatif ou quantitatif

L'aptitude du laboratoire à fournir avec la méthode un résultat attendu doit être confirmée pour chaque matrice, mélange de matrices ou matrice compatible pouvant être soumises au processus analytique (exemples : sérum, sang, fèces, lait, écouvillon, organes, ...).

### En présence de matériau de référence caractérisé

**Tableau d – Domaine d'application des étapes de confirmation des performances de la méthode**

	PCR qualitative	PCR quantitative
<b>LOD<sub>METHODE</sub> (niveau exigé de détection)</b>	Oui	Oui
<b>LOQ<sub>METHODE</sub></b>	Non	Oui
<b>Fidélité au seuil d'interprétation</b>	Non	Non

### Confirmation de la limite de détection de la méthode ou du niveau exigé de détection

Le laboratoire doit prouver qu'une quantité minimale de cible biologique présente initialement dans l'ESET est détectée (cf. Tableau e).

**Tableau e — Plan d'expérience pour la confirmation de la LOD<sub>METHODE</sub>**

	Nombre de séances indépendantes	Nombre d'opérateur minimal	Nombre de répétitions de l'ESET de référence
1 à 10 LOD <sub>METHODE</sub> ou le Niveau exigé de détection du fournisseur/ ou du LNR	2	1	2

**Acceptabilité** : les 4 résultats doivent être positifs.

### Confirmation de la limite de quantification de la méthode LOQ<sub>METHODE</sub> ou du niveau exigé de quantification

Celle-ci permet de prouver qu'une quantité minimale de cible biologique présente initialement dans l'ESET est détectée et quantifiée avec le niveau de confiance annoncé dans le dossier de caractérisation et validation de la méthode (cf. Tableau f).

**Tableau f — Plan d'expérience pour la confirmation de la LOQ<sub>METHODE</sub>**

	Nombre de séances	Nombre d'opérateurs minimal	Nombre de répétitions de l'ESET de référence
1 à 10 LOQ <sub>METHODE</sub> ou le niveau exigé de quantification du fournisseur/ ou du LNR	2	1	2

**Acceptabilité :** les 4 résultats doivent être positifs et quantifiés avec une dispersion des valeurs mesurées en adéquation avec les performances annoncées dans le dossier de caractérisation et validation de la méthode.

### En absence de matériau de référence caractérisé

Dans ce cas, le laboratoire ne peut pas confirmer une limite de détection de méthode mais doit vérifier la fidélité de la méthode. Pour ce faire, le laboratoire travaillera selon une des trois méthodologies suivantes :

- A partir d'une matrice contenant naturellement l'agent biologique cible (méthodologie 1) ;
- A défaut, à partir d'une matrice dopée par l'agent biologique (méthodologie 2) ;
- En dernier recours, à partir d'une matrice dopée par un acide nucléique cible (méthodologie 3).

À partir d'une « ESET contenant une quantité importante de cible », réaliser au moins 3 points de dilution dans la même matrice (mais ne contenant pas la cible recherchée), afin d'obtenir trois niveaux exploitables de positivité.

**Tableau g — Plan d'expérience pour l'évaluation de la fidélité de la méthode**

Nombre de séances (I) indépendantes	Nombre d'opérateur minimal	Nombre minimum de dilutions (K)	Nombre d'extraction par niveau (J)
2	1	3	4

**Acceptabilité :** à l'issue de ces essais l'ensemble des résultats devra être conforme à ceux attendus.

D'éventuels essais complémentaires peuvent être jugés nécessaires par le laboratoire.

## Exemple de recherche de la dilution proche de la LOD<sub>METHODE</sub> et modalités d'adoption de la méthode

Réaliser des dilutions de raison 10 dans du sang (= même matrice) ne contenant pas de génome détectable de virus BVD (Bovine Viral Diarrhea/ Diarrhée Virale Bovine).

Prévoir une quantité suffisante pour chaque niveau afin de réaliser une seconde séance. Effectuer au minimum 4 essais par niveau de positivité et par séance.

### Jour N° 1

	Pur	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>
Extraction 1 : résultat PCR cible	+	+	+	+	+	-
Extraction 2 : résultat PCR cible	+	+	+	+	-	-
Extraction 3 : résultat PCR cible	+	+	+	+	-	-
Extraction 4 : résultat PCR cible	+	+	+	+	+	-

### Jour N° 2

Dans les conditions de fidélité intermédiaire du laboratoire (exemple : changement d'opérateur), refaire une seconde fois l'essai décrit ci-dessus.

Utilisation des dilutions permettant d'avoir un signal « précoce » (pur), « intermédiaire » (10<sup>-1</sup>) « tardif » (10<sup>-3</sup>)

	Pur	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-3</sup>
Extraction 5 : résultat PCR cible	+	+	+
Extraction 6 : résultat PCR cible	+	+	+
Extraction 7 : résultat PCR cible	+	+	+
Extraction 8 : résultat PCR cible	+	+	+

La méthode est adoptée si les résultats obtenus le second jour sont conformes à ceux obtenus le premier jour.

La dilution du matériau de référence interne qui permet d'obtenir un signal « tardif » reproductible peut être utilisée pour élaborer une « sentinelle », utilisable en routine en tant que « témoin de processus analytique ».

## Exemple de transfert en santé végétale

**Méthode à transférer** : Détection du *Citrus tritessa* virus (CTV) sur plantes hôtes de la famille des Rutacées par la technique sérologique ELISA (MA 029 Version 1)

**Données du dossier de validation importantes à considérer pour le transfert :**

- une bonne inclusivité (sensibilité diagnostique) des différents kits sérologiques testés, en revanche une mauvaise exclusivité (spécificité diagnostique) de certains kits sérologiques amenant à ne pas préconiser l'usage de ces kits ;
- des risques de faux positifs liés au bruit de fond généré par la matrice végétale (variabilité importante liée à la diversité des espèces de Citrus et autres Rutacées potentiellement hôtes du virus) ;
- un NED déterminé à 1/50 de la solution-mère pour des ESET présentant une absorbance saturante > 3 en solution-mère ;
- des tests interlaboratoires qui ne laissent pas présager de difficultés de transfert de la méthode, à la condition d'utiliser un kit validé.

**Modalités du transfert :** réalisation des essais de transfert avec l'utilisation d'un des kits sérologiques validés et à partir d'ESET, en partie fournis par le laboratoire émetteur (nouvelle méthode).

**Plan expérimental et critères d'acceptation**

Type d'essais	Caractéristique à vérifier	Modalités	Critère d'acceptation/ Spécification
Essais d'exactitude	Sensibilité	5 ESET cibles différentes à un niveau de contamination supérieur au seuil de détection de la méthode ELISA : ESET positive Réunion, ESET positive Martinique, ESET positive Espagne fournies par le laboratoire émetteur, témoin positif commercial fournisseur 1, témoin positif commercial fournisseur 2	100% des ESET cibles détectés
	Spécificité	5 ESET non-cibles relevant de différents hôtes de la famille des Rutacées : Citron ( <i>C. Limon</i> ), Pomelo ( <i>C. paradisi</i> ), Orange ( <i>C. sinensis</i> ), Mandarine ( <i>C. reticulata</i> ), Kumquat ( <i>Fortunella</i> sp.) : ESET fournis par le laboratoire émetteur	100% des ESET non-cibles non détectés
Essais limites	Seuil de détection	1 ESET cible à absorbance élevée en solution-mère (Abs>3), gamme à 5 niveaux de dilution : SM, 1/20, 1/50, 1/100, 1/500 + 0 * 2 répétitions * 2 séries indépendantes	NED estimé ≤ 1/50.SM

**Résultats du laboratoire receveur :**

Types d'essais	Échantillons	Laboratoire émetteur	Laboratoire receveur	
		Valeur assignée	Série 1 : Opérateur 1,	Série 2 : Opérateur 2,

			Jour 1	Jour 2
<b>Essais d'exactitude</b>	<i>Citrus</i> sp. contaminé (origine Réunion)	+	+	+
	<i>Citrus</i> sp. contaminé (origine Martinique)	+	+	+
	<i>Citrus</i> sp. contaminé (origine Espagne)	+	+	+
	Témoin positif commercial fournisseur 1	+	+	+
	Témoin positif commercial fournisseur 2	+	+	+
	Citron ( <i>C. Limon</i> )	-	-	-
	Pomelo ( <i>C. paradisi</i> )	-	-	-
	Orange ( <i>C. sinensis</i> )	-	-	-
	Mandarine ( <i>C. reticulata</i> )	-	-	-
Kumquat ( <i>Fortunella</i> sp.)	-	-	-	
<b>Essais limites</b>	<i>Citrus</i> sp. contaminé (origine Réunion) - SM	+	++	++
	<i>Citrus</i> sp. contaminé (origine Réunion) - 1/20	+	++	++
	<i>Citrus</i> sp. contaminé (origine Réunion) - 1/50	+	++	++
	<i>Citrus</i> sp. contaminé (origine Réunion) - 1/100	+ / - / i	+ -	+ i
	<i>Citrus</i> sp. contaminé (origine Réunion) - 1/500	+ / - / i	--	--
	<i>Citrus</i> sp. sain utilisé comme diluant pour les dilutions	-	--	--

Conformité du laboratoire receveur :

Type d'essais	Caractéristique à vérifier	Critère d'acceptation	Valeur obtenue par le laboratoire receveur	Conformité du laboratoire receveur
<b>Essais d'exactitude</b>	Sensibilité	100% des ESET cibles détectés	100% des ESET cibles détectés	Conforme
	Spécificité	100% des ESET non-cibles non détectés	100% des ESET cibles détectés	Conforme
<b>Essais limites</b>	Seuil de détection	NED estimé $\leq$ 1/50.SM	NED estimé $\leq$ 1/50.SM LOD <sub>50</sub> estimée =1/100	Conforme

<b>DÉCISION</b>	Le laboratoire receveur a obtenu des résultats conformes aux spécifications, le transfert est réussi.
-----------------	---

## Variables quantitatives

### Exemple de transfert pour des variables quantitatives

Cet exemple a été publié par Dewé *et al.* dans *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* (2007) [13].

Il s'agit du transfert d'une méthode permettant l'analyse d'une substance active par une méthode chromatographique associée à une détection UV.

Le dossier de validation réalisé par l'émetteur montre que la variabilité inter-série est négligeable vis-à-vis de la répétabilité (variabilité intra-série). De ce fait l'émetteur ne considère qu'un seul niveau avec 6 répétitions.

Le plan expérimental choisi par l'émetteur pour évaluer la justesse et la fidélité chez le receveur est le suivant : 4 séries (J) sont réalisées avec 6 répétitions (K) par série soit un total de 24 mesures (N).

Le tableau A résume les résultats obtenus chez l'émetteur et chez le receveur.

**Tableau A : Valeurs obtenues par le receveur et l'émetteur.**

Émetteur	Receveur			
Série 1	Série 1	Série 2	Série 3	Série 4
98.2920	95.9405	97.1505	97.5631	96.5967
97.9907	95.4435	97.47	97.785	98.0785
98.5038	95.704	97.7624	96.9037	97.4675
98.7941	96.0694	97.4871	96.2137	95.3636
98.4291	96.474	97.4456	97.6896	97.8144
98.8387	96.228	96.9378	96.8481	97.6808

#### 1) Anova Hiérarchisée

Le modèle ANOVA utilisé est le suivant :

$$x_{i,j,k} = \mu_i + \alpha_{j(i)} + \varepsilon_{i,j,k}$$

- 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  $\sigma_{B,i}^2$  ;
  - $\mu_i + \alpha_{j(i)}$  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  $\sigma_{w,i}^2$  ;
- $\sigma_{B,i}^2$  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.

Le tableau B résume les paramètres statistiques obtenus par l'émetteur et le receveur.

**Tableau B** : estimation des paramètres statistiques résumant l'ensemble des valeurs obtenues.

	Émetteur	Receveur
Moyenne Générale	98.4747	96.9216
Écart-type	0.31706	0.82062
Erreur standard	0.1298	0.3188
Variance intra série $\sigma_{w,i}^2$	/////	0.4085
Variance inter série $\sigma_{B,i}^2$	/////	0.3385

## 2) Approche par l'erreur totale

Après avoir réalisé l'Anova, il convient de construire l'intervalle de confiance autour de la moyenne du receveur et de construire l'intervalle de tolérance pour les résultats fournis par le receveur.

Considérant les bornes inférieures ( $L_E$ ) et supérieures ( $U_E$ ) de l'intervalle de confiance de la moyenne du laboratoire émetteur et  $L_R$  et  $U_R$  les bornes inférieures et supérieures de l'intervalle de tolérance des résultats attendus au niveau  $\beta$  pour le laboratoire receveur, l'intervalle de décision (ID) est calculé par :

$$ID = [U_E(1-\lambda), L_E(1+\lambda)]$$

L'intervalle de tolérance du receveur est comparé à ID.

Si l'intervalle de tolérance est inclus dans ID alors il est conclu que le transfert est réussi pour le laboratoire.

Le niveau  $\beta$  et  $\lambda$  fixé par le laboratoire émetteur sont respectivement de 95 % et 5 % c'est-à-dire que 95 % des résultats du receveur doivent être proche de la valeur vraie avec un risque de 5 %.

L'intervalle de confiance 50 % de la moyenne obtenu par le laboratoire émetteur est :

$$L_E = 98.3805$$

$$U_E = 98.5690$$

De ces bornes il en découle l'intervalle de conclusion :

$$U_E (1 - \lambda) = 98.5690 (1 - 0.05) = 93.6406$$

$$L_E (1 + \lambda) = 98.5690 (1 + 0.05) = 103.2995$$

Soit ID= [93.6406 ; 103.2995]

L'intervalle de tolérance 95 % pour les résultats du receveur est calculé et cet intervalle est [94.8124 ; 99.0307]. Une feuille Excel associée permet de calculer cet intervalle de tolérance.

DÉCISION	Cet intervalle de tolérance est couvert par l'intervalle ID, en conséquence les résultats sont comparables et il est conclu que le transfert est réussi.
----------	--

### 3) Approche par équivalence

#### 3.1) Justesse

Elle repose sur l'utilisation de deux tests unilatéraux.

$$H_{01}: \mu_E - \mu_R < \lambda_1$$

$$H_{02}: \mu_E - \mu_R > \lambda_2$$

vs

vs

$$H_{11}: \mu_E - \mu_R \geq \lambda_1$$

$$H_{12}: \mu_E - \mu_R \leq \lambda_2$$

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

En pratique, un intervalle de confiance  $(1-2\alpha)$  pour la différence entre les deux moyennes est construit et est comparé aux limites  $\lambda_1$  et  $\lambda_2$  :

$$\left[ (\mu_R - \mu_E) - Q_i(1 - \alpha; v)\sigma_{\mu_R - \mu_E}; (\mu_R - \mu_E) + Q_i(1 - \alpha; v)\sigma_{\mu_R - \mu_E} \right]$$

La limite  $\lambda$  est fixée à 3 % ce qui nous donne l'intervalle de [- 3 % ; 3 %].

Le tableau C résume, pour la justesse, les statistiques obtenues :

**Tableau C** : paramètres statistiques pour la comparaison par l'approche d'équivalence.

Paramètre	Différence moyenne	Erreur Standard	Intervalle de confiance 90 %	
			Limite basse	Limite Haute
Justesse (Absolue)	-1.5532	0.3342	-2.2864	-0.8199
Justesse (%)	-1.5772	0.3495	-2.3219	-0.8326

L'intervalle de confiance de la justesse, en valeur relative (%), est compris dans l'intervalle d'acceptabilité de [- 3 % ; 3 %]. Il est conclu que les résultats sont comparables.

### 3.2) Fidélité

Dans le cas de cette caractéristique la borne supérieure de l'intervalle de confiance unilatéral à  $(1-\alpha)$  du coefficient de variation de fidélité intermédiaire du receveur est comparée à une limite d'acceptation  $\lambda$  fixée *a priori*.

L'écart type relatif de la fidélité intermédiaire est estimé à 0.89 % et sa borne supérieure de l'intervalle de confiance 95 % est de 2.01 %. Cette valeur est inférieure à la valeur limite de 3 % et en conséquence les résultats de fidélité intermédiaire sont conformes à ce qui était attendu.

DÉCISION	La justesse et la fidélité sont conformes donc il est conclu que le transfert au laboratoire est réussi
----------	---