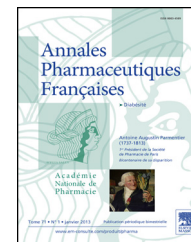




Disponible en ligne sur  
**SciVerse ScienceDirect**  
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France  
**EM|consulte**  
www.em-consulte.com



ARTICLE ORIGINAL

## À la recherche du juste dosage : statistique appliquée à l'analyse de la cocaïne

In search of the true dosage: Statistics applied to the analysis of the cocaine

L. Dujourdy<sup>a,\*</sup>, C. Charvoz<sup>b</sup>, M. Dalmasso<sup>b</sup>,  
A.-B. Dufour<sup>c,d</sup>

<sup>a</sup> Service central des laboratoires, Institut national de police scientifique, 31, avenue Franklin-Roosevelt, 69134 Ecully cedex, France

<sup>b</sup> Laboratoire de police scientifique de Lyon, Institut national de police scientifique, 31, avenue Franklin-Roosevelt, 69134 Ecully cedex, France

<sup>c</sup> Université de Lyon, 69000 Lyon, France

<sup>d</sup> Laboratoire de biométrie et biologie évolutive, université Lyon-1, CNRS, UMR CNRS 5558, 69622 Villeurbanne, France

Reçu le 9 novembre 2012 ; accepté le 31 janvier 2013

Disponible sur Internet le 6 avril 2013

### MOTS CLÉS

Validation statistique ;  
Cocaïne ;  
Régression linéaire pondérée ;  
Dosage ;  
GC-FID

**Résumé** Une méthode de séparation par chromatographie gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (CPG-FID) a été mise au point pour le dosage de la cocaïne dans des poudres issues de saisies policières. La méthode a été validée en étudiant les paramètres d'étalonnage, de justesse, de fidélité en se basant sur l'estimation de l'erreur de justesse (ou biais systématique) et de l'erreur aléatoire dont la combinaison (l'erreur totale) permet de vérifier si la méthode remplit les objectifs fixés par l'analyste. Pour cela, le profil d'exactitude s'avère être un outil de décision efficace. Les résultats obtenus avec un modèle de régression pondérée permettent de conclure que la méthode peut être appliquée au dosage de la cocaïne dans les poudres sur un domaine de concentrations (m/m) allant de 2 à 100 % pour des limites d'acceptation de 10 % avec un risque de 5 %.

© 2013 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

### KEYWORDS

Statistical validation;  
Cocaine;

**Summary** A method of separation by gas chromatography with a flame ionization detector was developed for quantifying cocaine in powders seized by the police. The method was validated by studying parameters of calibration, trueness, precision based on trueness error (or systematic

\* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : laurence.dujourdy@interieur.gouv.fr (L. Dujourdy).

Weighted linear regression;  
Dosage;  
GC-FID

bias) and random error. Total error, which is the combination of these errors, is used to confirm the method adequacy with the objectives fixed by the analyst. Accuracy profile is an efficient decision tool to do it. Results obtained with weighted regression model allow concluding that the method fits quantitation of heroin and cocaine in powders on 2 to 100% concentration (w/w) domain with 10% limits of acceptance and a risk of 5%.

© 2013 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

## Introduction

Des méthodes d'analyse fiables sont requises pour assurer la conformité avec les réglementations nationales et internationales dans tous les domaines d'analyse. Le domaine de la criminalistique qui est l'analyse des traces et indices retrouvés sur une scène d'infraction n'échappe donc pas à la règle et un laboratoire de police scientifique doit prendre les dispositions appropriées pour s'assurer qu'il est en mesure de fournir des données du niveau de qualité requis. Ces dispositions comprennent notamment la réalisation des essais selon des modes opératoires précis, l'utilisation de procédures de contrôle interne de qualité, de méthodes d'analyse validées, la qualification du matériel utilisé, la participation à des programmes d'essai d'aptitude technique et l'obtention d'une accréditation selon une norme internationale, généralement ISO/CEI 17025 garantissant la traçabilité.

Le choix d'une méthode analytique doit être fait en fonction du problème posé. Dans les laboratoires de police scientifique (LPS) de l'institut national de police scientifique (INPS), les sections stupéfiants ont pour mission principale de déterminer la présence de produits stupéfiants dans les saisies réalisées par les services de police et de gendarmerie dans le cadre de l'infraction à la législation sur les stupéfiants (loi n° 70-1320 du 31 décembre 1970), dont les dispositions ont été intégrées dans le Code pénal (art. 222-34 à 222-41, 227-18 et 227-18-1), le Code des douanes (art. 414 et 415) et le Code de la santé publique (art. L. 3411-1 et suivants).

Leur travail ne s'arrête pas là. En effet, d'autres informations utiles non seulement aux services répressifs mais également aux services sanitaires peuvent être apportées comme la détermination de la pureté en pourcentage massique du/des stupéfiant(s) présent(s) dans l'échantillon et des principaux produits de coupage. Le terme concentration sera également utilisé par la suite dans la mesure où l'échantillon est solubilisé dans un mélange de solvants.

Des statistiques annuelles sur les produits sont réalisées permettant une cartographie de ce qui circule sur le territoire national à un instant donné mais aussi le suivi de l'évolution de certains types de produits. L'INPS dispose d'une base de données nationale dédiée à cette collecte d'information : STUPS<sup>®</sup> pour système de traitement uniformisé des produits stupéfiants (fichier à accès restreint). Elle apporte en outre une meilleure connaissance du niveau de trafic de la drogue saisie (rue, importation directe) [1–3]. La détermination de la pureté permet de mieux interpréter les cas de décès présumé par surdosage.

Pour l'analyse de stupéfiants qui sont souvent des mélanges (substance illicite et produits de coupage), des

techniques de séparation sont nécessaires. Elles peuvent être divisées en deux étapes : une analyse qualitative (identification des molécules présentes dans le mélange, mise en évidence d'éventuels nouveaux produits) qui est réalisée en chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse et la seconde qui est l'analyse quantitative.

La chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (CPG-FID) a l'avantage d'être facile à mettre en œuvre et relativement économique (comparée au couplage spectromètre de masse par exemple) pour réaliser le dosage de certaines molécules classées comme stupéfiants en routine. Elle est la plus couramment employée pour la quantification des stupéfiants par les laboratoires membres du réseau européen des instituts de criminalistique (European Network of Forensic Science Institutes, synthèses des résultats des tests de compétences réalisés par les laboratoires du groupe de travail tous les ans) et est mentionnée dans les manuels internationaux sur les analyses de produits stupéfiants issus de saisies [4–6].

Pour déterminer la concentration d'une substance déterminée dans une solution, il est nécessaire de réaliser un dosage par étalonnage et il arrive fréquemment que la réponse du détecteur ne soit pas parfaitement proportionnelle à la concentration du composé cible, sur la gamme de concentrations choisie. L'utilisation d'un étalon interne permet de s'affranchir de l'imprécision concernant le volume injecté mais aussi de l'instabilité éventuelle de certains paramètres de l'appareil entre plusieurs injections successives. Néanmoins, d'autres variations inhérentes à l'instrument sont observées.

La réponse instrumentale pour une concentration relève des modèles de régression. Le modèle n'est pas la réalité : il existe un écart entre la valeur de la réponse et la valeur du modèle que l'on appelle erreur ou résidu. La nature de cette erreur est fondamentale. Aussi en régression linéaire, les erreurs sont indépendantes, de même distribution symétrique (la loi normale) et ont la même variance [7]. Mais ces conditions idéales ne sont pas toujours vérifiées. Lorsque les résidus ne sont pas distribués selon une loi normale, on procède généralement à une transformation des réponses et/ou des concentrations (i.e. logarithme, racine) pour tenter de rendre symétrique la distribution de l'erreur. Lorsque les variances par concentration ne sont pas constantes, on associe une pondération aux différentes réponses [8]. Dans le modèle classique, tous les points ont le même poids ce qui favorise les valeurs élevées. Dans le modèle pondéré en  $\frac{1}{x^2}$  par exemple, un poids plus grand est donné aux mesures les plus précises, c'est-à-dire celles à petites variances. On introduit ainsi une

« sur-représentation » des petites valeurs. C'est ce dernier modèle de régression que nous avons choisi de présenter. En effet, c'est une méthode efficace sur des petits jeux de données, cas courant dans notre secteur d'activité. Elle fournit différents intervalles statistiques facilement interprétables pour les estimations, les prédictions, les calibrations et l'optimisation [9].

L'objectif de cet article est de présenter la démarche utilisée et les résultats obtenus dans le cadre d'une méthode de dosage accréditée COFRAC en portée flexible (accréditation n° 1-2322, disponible sur [www.cofrac.fr](http://www.cofrac.fr)).

## Matériel et méthodes

### Matériel et réactifs

Le LPS de Lyon a développé une méthode rapide de dosage de la cocaïne par CPG-FID. Les substances psychoactives fréquemment associées à la cocaïne sont également dosées dans le cadre du dispositif système national d'identification des toxiques et substances (SINTES) coordonné par l'Observatoire français des drogues et toxicomanies (OFDT) [10].

Le but est de pouvoir déterminer leur pourcentage massique au sein d'un échantillon lui-même composé de produits de coupage et/ou d'impuretés. Cette méthode s'applique à tous les échantillons sous forme de poudre. Son domaine de validité doit varier de 2 % à 100 % en masse d'échantillon.

Les essais ont été réalisés sur un CPG-FID TraceGC Ultra de marque ThermoFisher® équipé du logiciel Chrom-Card® (version 2.4.1) et comportant un passeur d'échantillons Triplus AS et un équipé d'un injecteur *split/splitless*. Une balance de précision au 1/1000<sup>e</sup> de milligramme vérifiée et étalonnée COFRAC annuellement, une pipette à volume fixe de 1000 µL vérifiée et étalonnée COFRAC, et de la verrerie courante de laboratoire (fiOLE jaugée de classe A de 10 mL) ont été utilisés pour la préparation des échantillons.

La cocaïne, l'éthanol, le chloroforme et l'étalon interne, le tétracosane, sont de qualité analytique de pureté supérieure à 99 %. Les produits composant la matrice peuvent avoir une pureté supérieure ou égale à 98 %.

Les matériaux de référence sont décrits dans le [Tableau 1](#).

### Préparation de la solution d'étalon interne et des échantillons

Une solution de tétracosane à 0,7 mg/mL dans un mélange éthanol/chloroforme (50/50) (v/v) a été préparée. Les pesées des échantillons sont comprises entre 2,0 et 2,2 mg pour la cocaïne directement dans un flacon chromatographique (vial). Deux prises d'essai pour chaque échantillon à doser sont réalisées. À l'aide de la pipette fixe, 1 mL de solution d'étalon interne est ajouté. Les flacons sont sertis puis placés quelques secondes à l'agitateur vibrant (Vortex).

### Conditions analytiques

Les conditions chromatographiques retenues pour la méthode de dosage sont les suivantes : colonne capillaire de 10 m avec un diamètre interne de 0,18 mm, une épaisseur de film 0,18 µm, la phase stationnaire est apolaire 100 % polydiméthylsiloxane (de type DB-1). La température de l'injecteur est de 280 °C (température adaptée aux produits analysés) et le programme de température démarre à 200 °C pendant 1,5 minutes, puis une rampe de 26 °C/minute est appliquée jusqu'à 300 °C pendant 1,06 minute. Le débit de la colonne est fixé à 0,6 mL/minute avec un *split ratio* de 100. La durée d'analyse est de 6,5 minutes.

Les données utilisées correspondent aux rapports d'aires des pics chromatographiques de la cocaïne et du tétracosane.

Avec ces conditions, aucune dégradation de la cocaïne n'a été observée dans nos échantillons.

## Validation de la méthode de dosage

### Protocole de validation

Un protocole expérimental adapté en fonction des contraintes ou des spécificités liées à la procédure de dosage (effet matrice, niveau d'étalonnage...) a été sélectionné d'après le logigramme proposé par la commission SFSTP sur la « validation des procédures analytiques quantitatives – harmonisation des démarches » [11–14].

Le protocole V4 a été appliqué pour la validation. Trois séries avec des standards d'étalonnage dans et hors matrice ont été préparées pour trois niveaux de concentration et

**Tableau 1** liste des matériaux de référence utilisés dans le cadre de la validation du dosage de la cocaïne par chromatographie gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (GC-FID).

*List of the reference materials used within the framework of the validation of the cocaine quantitation by gas chromatography with a flame ionization detector (GC-FID).*

Nom	Description	Pureté (%)	Fournisseur
Cocaïne base	Stupéfiant	> 98,5	Lipomed®
Phénacétine	Analgésique (retirées de la vente dès les années 1980)	≥ 98	Sigma Aldrich VWR®
Lidocaïne	Anesthésique local	≥ 99	Sigma Aldrich®
Caféine	Stimulant	≥ 99	Sigma Aldrich VWR®
Diltiazem	Inhibiteur calcique bradycardisant	≥ 99	Sigma Aldrich®
Lévamisole	Antiparasitaire	> 99	Sigma Aldrich®
Procaïne	Anesthésique local	> 98,5	Lipomed®
Hydroxyzine	Antihistaminique	≥ 98	Sigma Aldrich®
Mannitol	Polyol	Non déterminé	VWR®

deux réplicats par niveau ; trois séries avec des standards de validation dans la matrice ont été préparées pour trois niveaux de concentration et trois réplicats par niveau. Les réplicats par niveau ont été doublés puisqu'en routine, le dosage est calculé à partir de deux prises d'essai. Au total, on dispose de 63 mesures, soit  $2 \times 18$  standards d'étalonnage (dans et hors matrice) et 27 standards de validation (en tenant compte de la moyenne des dosages sur les deux prises d'essai).

Il est utile de connaître certaines caractéristiques de l'étalonnage dès le départ de la validation de la méthode, car elles ont une incidence sur la stratégie à adopter pour la réalisation optimale de la procédure. Dans cette catégorie, il est important de savoir s'il est plausible que la fonction d'étalonnage (a) soit linéaire, (b) passe par l'origine et (c) ne soit pas affectée par la matrice du matériau d'essai (étude de la sélectivité pour s'assurer qu'aucun produit n'interfère avec les pics d'intérêt [cocaïne et tétracosane]). C'est pourquoi une matrice avec les produits de coupage rencontrés le plus fréquemment dans les saisies de cocaïne a été utilisée. Ils ont été choisis en se basant sur l'exploitation statistique de la base de données nationale alimentée par les cinq laboratoires de l'INPS et l'IRGCN [15].

La matrice était composée de phénacétine, de lidocaïne, de lévamisole, de diltiazem, d'hydroxyzine, de caféine, de procaine et de mannitol (Tableau 1). Par ailleurs, une analyse qualitative est réalisée en amont.

## De la variabilité expérimentale à l'erreur statistique

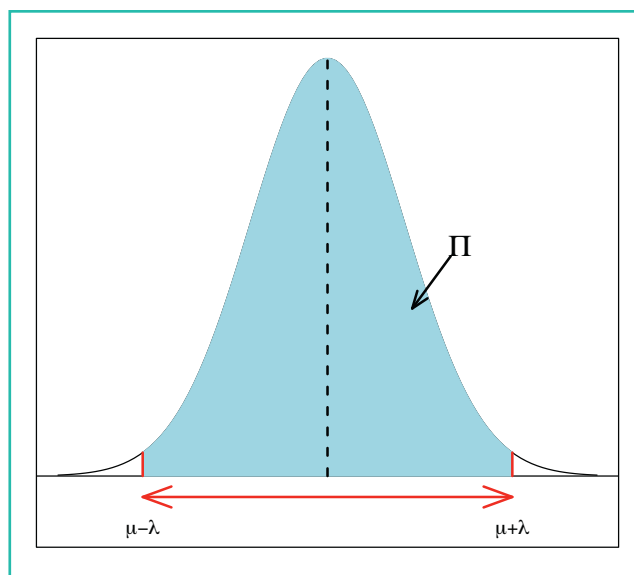
Au laboratoire, la pureté d'un produit à analyser est inconnue. L'objectif d'une méthode analytique quantitative est de déterminer cette pureté de façon la plus exacte possible. Il s'agit de fournir aux services requérant l'analyse ainsi qu'aux autorités, des garanties que chaque futur résultat obtenu en routine sera suffisamment proche de la vraie valeur inconnue de l'analyte dans l'échantillon. Cela se traduit en termes de garanties par une proportion  $\pi$  de résultats obtenus supérieure à une proportion minimum de résultats inclus dans  $\mu \pm \lambda$  ;  $\lambda$  étant la limite d'acceptation prédéfinie, c'est-à-dire la valeur limite de l'écart toléré entre la valeur vraie ( $\mu_T$ ) (inconnue) et les résultats obtenus ( $\mu$  étant la moyenne des résultats) (Fig. 1). Il est à noter que ces limites peuvent être fixées par la personne ayant sollicité l'analyse ou par une obligation réglementaire, parfois en fonction du niveau de concentration.

Usuellement, avec des résultats quantitatifs, les critères de décision portent sur les deux types d'erreur que sont l'erreur systématique ou justesse (biais = distance entre le résultat et la valeur vraie) et l'erreur aléatoire ou fidélité (variance = paramètre statistique chiffrant la dispersion des mesures autour de la moyenne).

Il faut ainsi montrer que :

- en moyenne, les résultats de la méthode sont comparables à ceux fournis par un laboratoire émetteur (justesse) (tests de performance interlaboratoire par exemple) ;
- la variabilité des résultats (fidélité) de la méthode est acceptable.

Rappelons que créer un modèle, c'est expliquer la réponse instrumentale (Y) en fonction de la concentration



**Figure 1.** Illustration d'un point de vue statistique de l'objectif de la validation d'une méthode quantitative. *Illustration in a statistical point of view of the objective of the validation of a quantitative method.*

(X), à l'aide d'une relation mathématique. Le modèle le plus simple est la droite de pente (b) et d'ordonnée à l'origine (a). L'écart entre la réponse et le modèle est appelé erreur ou résidu (E). À ce résidu, est associée une pondération simple égale à 1.

Lorsqu'on introduit des sources de variations environnementales, ce modèle devient plus complexe. Par exemple, soit  $i$  un essai associant une concentration  $x_i$  et une réponse  $y_i$ . À chacun des essais, on introduit la pondération de type :  $w_i = \frac{1}{x_i^2}$  [9]. L'erreur s'écrit donc :

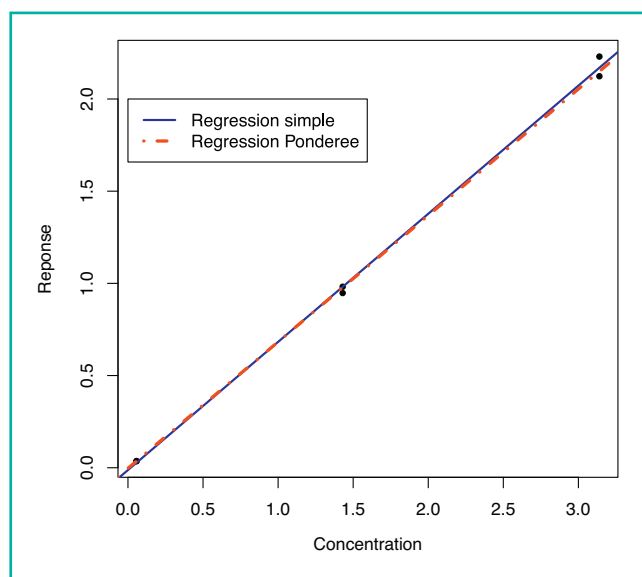
$$e_i = \sqrt{w_i} (y_i - (bx_i + a)) \quad (1)$$

La réponse instrumentale est continue et l'erreur aléatoire ; on se place dans le cadre des modèles de régression. Ces modèles ne prennent sens que si certaines hypothèses sont vérifiées : variance constante, pas de valeurs aberrantes et une distribution symétrique généralement gaussienne [7]. Si on prend, par exemple, les réponses associées aux concentrations de la troisième série d'étalonnage dans la matrice, on observe (Fig. 2) que les variances des réponses semblent augmenter avec la concentration, qu'aucune valeur aberrante n'est présente. La vérification statistique de la normalité ainsi que les deux droites représentées seront étudiées ultérieurement.

## Résultats et discussion

Les calculs ont été réalisés sous R [16] et avec le logiciel e-novat® [17] utilisé classiquement dans nos domaines d'activités. Pour reproduire les calculs, les données sont en annexe. Les commandes R sont disponibles sur demande. Le seuil de décision des tests a été fixé à 5%.

D'un point de vue statistique, la stratégie de validation répond aux besoins des analystes quant à la prise de décision en rapport avec les résultats fournis et en considérant des



**Figure 2.** Exemple de résultats de la régression linéaire pour le niveau 3.  
Example of linear regression results for level 3.

limites d'acceptation prédéfinies ainsi que le risque relatif à l'usage futur de la méthode.

En effet, les critères d'acceptation permettent d'assurer qu'une certaine proportion élevée des futurs résultats sera comprise dans des limites acceptables avec un degré de confiance élevé. Le risque du « client », service requérant dans notre cas, (c'est-à-dire le pourcentage de faux négatifs) est défini comme étant le risque d'accepter des résultats mauvais et par contre le risque du fournisseur, ici le laboratoire (c'est-à-dire le pourcentage de faux positifs) est celui de rejeter des résultats corrects [18].

L'étape d'analyse de la fonction de réponse et de la sélection du modèle de régression approprié est l'une des plus importantes, la fiabilité des résultats de validation obtenus dépendant du modèle sélectionné. Il est à noter que les fonctions de réponse d'un appareil analytique dépendent de sa nature (appareils de séparation, appareils de spectrophotométrie d'absorption, etc.) et que le modèle est choisi après avoir réalisé les essais de validation. Dans le cas de notre appareil de chromatographie en phase CPG-FID, les fonctions de réponses disponibles sont des régressions linéaires sans transformation [19].

La fonction de réponse a été évaluée au moyen de trois courbes d'étalonnage construites à partir des standards d'étalonnage avec et sans matrice et utilisant trois niveaux de concentration (cf. section Protocole de validation).

Plusieurs modèles de régression ont été ajustés au moyen du logiciel utilisé en vue de (i) analyser la relation entre la concentration en cocaïne (mg/mL) et la réponse analytique (rapport de surfaces entre le pic de la cocaïne et celui du tétracosane EI) et (ii) décider lequel est le plus approprié.

Pour cette méthode de dosage, en se basant sur notre expérience de l'analyse de ces produits, nous avons considéré une variabilité de 10 % (limites d'acceptation  $\lambda = \pm 10\%$ ) avec un risque de 5 % (95 % des résultats seront compris dans les limites  $\lambda$ ). La sélection du modèle est réalisée de façon à ce qu'il rencontre les objectifs de la méthode et qu'il cor-

**Tableau 2** Normalité de la réponse de l'appareil dans le cas de la régression linéaire pondérée.  
Normality of the instrument response in the case of the weighted linear regression.

Série	Statistique de Shapiro-Wilks	Valeur de $p$
1	0,9767	0,9338
2	0,8955	0,3479
3	0,9858	0,9764

responde à l'analyse en routine. Le logiciel e-noval<sup>®</sup> propose un rapport de sélection de dix modèles (régressions linéaires simple ou pondérées [ $\frac{1}{x^2}$  et  $\frac{1}{x}$ ], régression linéaire après transformation logarithmique ou racine carrée, régressions quadratiques simple ou pondérées) basée sur trois indices : l'intervalle de dosage, la justesse et l'exactitude. Nous avons retenu, pour cette étude, le modèle présentant le meilleur indice d'intervalle de dosage (1), le meilleur indice de justesse (0,9815), et un indice d'exactitude correct (0,7711) : la régression pondérée en  $\frac{1}{x^2}$  dans la matrice. À titre d'exemple, pour une régression linéaire simple, on obtient un indice d'intervalle de dosage égal à 0,9613 et les deux indices de justesse et d'exactitude égaux à 0. Les résultats des modèles hors matrice ont été rejetés puisque la cocaïne analysée n'est jamais pure (il reste toujours des impuretés issues de sa fabrication illicite).

Les données ainsi que les résultats des autres modèles peuvent être mis à disposition sur demande.

Dans le cadre des modèles linéaires, la réponse est supposée gaussienne. Malgré les effectifs ( $n=6$ ), nous avons réalisé un test de Shapiro-Wilks [7] au sein de chaque série pour vérifier cette hypothèse (Tableau 2).

Les valeurs de  $p$  pour les trois séries sont suffisamment grandes ( $> 0,05$ ) par rapport au risque que nous avons fixé en début d'analyse pour ne pas rejeter l'hypothèse d'une réponse gaussienne.

## Régression linéaire pondérée

La recherche des paramètres d'une régression est la minimisation de la somme des carrés des résidus, c'est-à-dire la minimisation de l'équation (2) :

$$\sum_{i=1}^6 e_i^2 = \sum_{i=1}^6 (\sqrt{w_i}y_i - \sqrt{w_i}(bx_i + a))^2 \quad (2)$$

Avec  $e_i$  l'erreur ou résidu associée à un essai  $i$  (cf. équation (1)).

L'équation de la régression pondérée pour la série 3 est :  $\hat{y}_i = 0,6764x_i - 0,0029$  (Tableau 3) où  $\hat{y}_i$  représente la valeur du modèle pour la réponse  $i$ .

Une analyse de la décomposition de la variance (Anova à un facteur [7]) a été réalisée et les résultats sont décrits dans le Tableau 4.

Afin de ne pas alourdir l'exposé des résultats, seules les variances liées au modèle et les variances résiduelles, ont été reproduites, au sein de chaque série. Ces deux variances permettent de réaliser le test de Fisher définissant si le modèle retenu est pertinent ou non. Les probabilités critiques (valeurs de  $p$ ) étant très faibles, cela signifie que nous rejetons le modèle « neutre » (pas d'effet de la variable  $x$  sur

**Tableau 3** Paramètres estimés liés à la régression pondérée avec entre parenthèses l'erreur standard absolue de l'estimation.

*Estimated parameters linked to the weighted regression with in brackets the absolute standard deviation from the estimation.*

Série	Pente	Ordonnée à l'origine
1	0,6858 (0,0099)	-0,0033 (0,0010)
2	0,6944 (0,0091)	-0,0044 (0,0009)
3	0,6764 (0,0152)	-0,0029 (0,0015)

la réponse) et nous acceptons donc le modèle pondérée en  $\frac{1}{x_i}$ . Sur la Fig. 2, la différence entre les droites de régression linéaire simple et pondérée paraît négligeable mais elle est suffisante pour mieux ajuster les données.

Enfin, le modèle ayant été sélectionné et retenu, il n'est validé que si les résidus sont gaussiens et de même variance par niveau au sein d'une même série (Tableau 5).

Les résultats montrent que nous ne pouvons rejeter ni la normalité des résidus, ni l'égalité des variances car les probabilités critiques (valeurs de  $p$ ) sont toutes supérieures au risque fixé en début d'analyse.

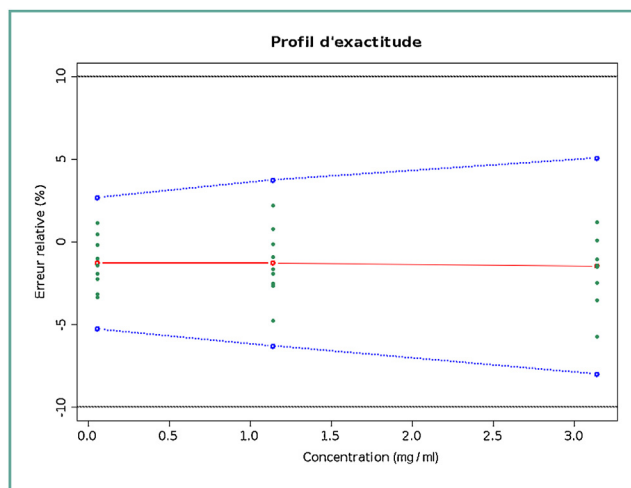
### Profil d'exactitude

Le choix du modèle étant assuré du point de vue de la théorie statistique, on vérifie sa cohérence avec les objectifs expérimentaux notamment en termes d'intervalle de dosage et d'exactitude.

Les concentrations des standards de validation ont été calculées à partir de la courbe obtenue, permettant d'obtenir pour chaque niveau de concentration le biais relatif moyen, les limites de tolérance supérieures et inférieures des valeurs attendues au niveau  $\beta$  (fixé à 5%) en considérant l'écart-type pour la fidélité intermédiaire. Ensuite, le profil d'exactitude a été construit à partir de ces données (Fig. 3) [18].

La méthode GC-FID de dosage de la cocaïne proposée est exacte puisque à chaque niveau de concentration, les différentes limites de tolérance des résultats restent incluses dans les limites d'acceptation de  $\pm 10\%$ .

La limite de quantification (LQ) a été obtenue en calculant la plus petite concentration en dessous de laquelle les limites d'exactitude ou les limites de tolérance sont en dehors des limites d'acceptation. Comme le profil d'exactitude obtenu avec le modèle de régression sélectionné est inclus dans les limites d'acceptation, le premier niveau de concentration (correspondant à 0,04 mg/mL de cocaïne) qui est le niveau le plus bas considéré correspond à la limite de quantification.



**Figure 3.** Profil d'exactitude pour le modèle de régression pondérée dans la matrice. Les lignes en pointillés noirs délimitent l'intervalle d'acceptabilité; les segments en pointillés bleus délimitent l'intervalle de tolérance calculé à partir des écarts-types de fidélité intermédiaire pour chaque niveau. La ligne rouge représente l'erreur relative moyenne.

*Accuracy profile for the weighted regression model in the matrix. Lines in black dotted lines bound the interval of acceptance; segments in blue dotted lines bound the interval of tolerance calculated from the standard deviations of intermediate standard deviation for every level. The red line represents the average relative error.*

**Tableau 5** Tests finaux sur la normalité des résidus (Shapiro-Wilks) et l'égalité des variances (Bartlett [1]). La première valeur donne la statistique du test; la valeur entre parenthèses la valeur de  $p$ .

*Final tests on the normality of residues (Shapiro-Wilks) and the identity of variances (Bartlett [1]). The first value gives the statistics of the test; the value in brackets gives the P value.*

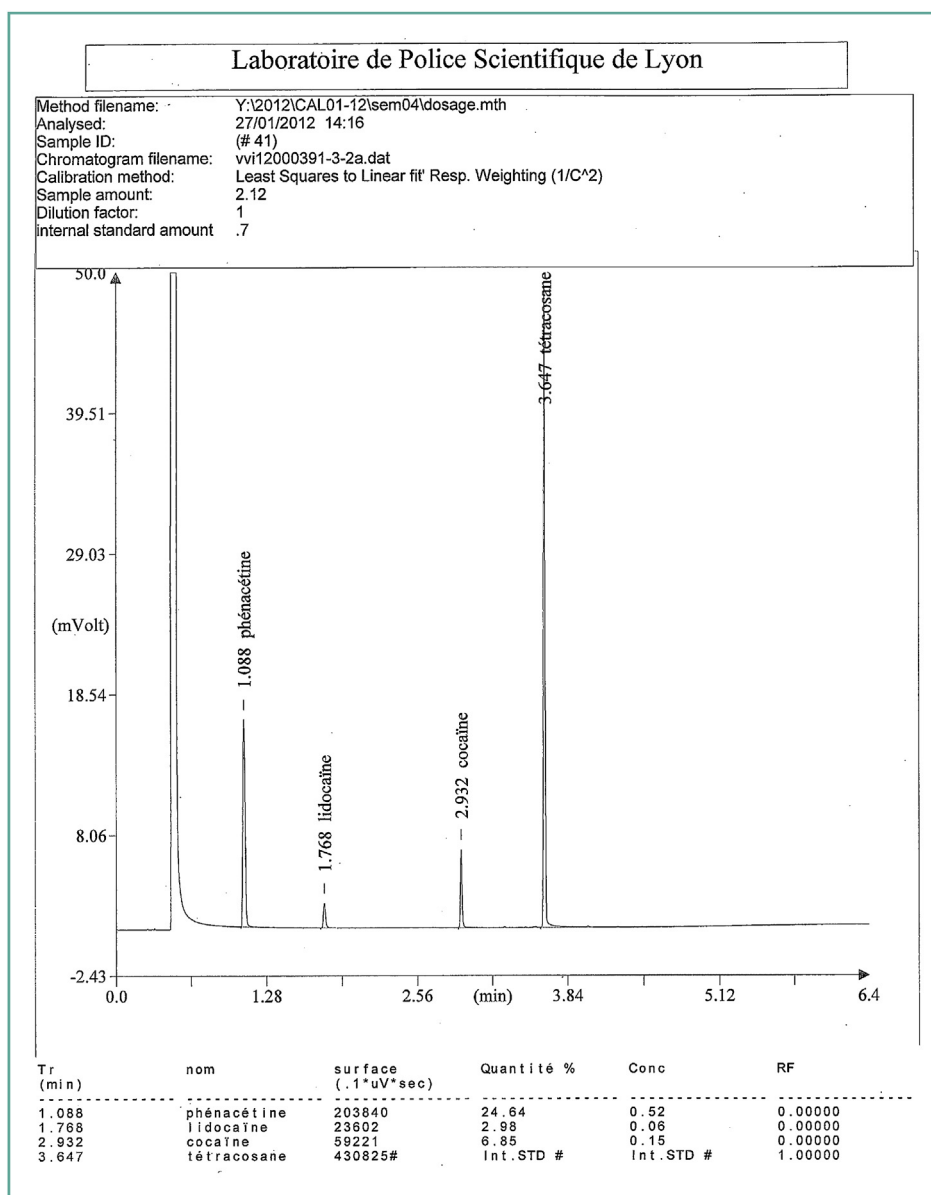
Série	Normalité des résidus	Égalité des variances
1	0,7997 (0,0584)	0,7810 (0,6767)
2	0,8429 (0,1377)	0,5203 (0,7709)
3	0,8374 (0,1241)	0,0254 (0,9874)

Le modèle de régression linéaire pondérée en  $\frac{1}{x_i}$  est par conséquent adéquat, de plus, il garantit que 95 fois sur 100 les futures mesures seront incluses dans les limites d'acceptation. Le domaine de linéarité couvre un intervalle de concentration allant de 0,04 à 2,2 mg/mL, soit entre 1,8 et 100% (m/m) conformément aux résultats attendus (prise d'essai de 2,2 mg). La Fig. 4 montre un chromatogramme de dosage de la cocaïne en routine et aucune

**Tableau 4** Résultats de la décomposition de la variance de la réponse.

*Results of the decomposition of response variance.*

Série	Variance du modèle estimée (ddl = 1)	Variance résiduelle estimée (ddl = 4)	Statistique de Fisher	Valeur de $p$
1	1,7709	0,0004	4829,4	2,6 E-07
2	1,8055	0,0003	5767,7	1,8 E-07
3	1,7229	0,0009	1975,7	1,5 E-06



**Figure 4.** Exemple d'un chromatogramme de dosage d'une cocaïne de « rue » en utilisant le modèle de régression pondérée dans la matrice. La pureté en pourcentage massique de la cocaïne est de 6,85 %. Elle est coupée avec de la phénacétine à 24,64 % et de la lidocaïne à 2,98 %. Elle a également été diluée avec du glucose et du lactose (non dosés). Le tétracosane est le standard interne.  
*Example of a quantitation of "street" cocaine chromatogram using a weighted regression model in the matrix. Purity in weight percentage of the cocaine is 6.85%. It was cut with phenacetin in 24.64% and lidocaine in 2.98%. It was also diluted with glucose and lactose (not quantitated). Tetracosane is internal standard.*

interaction n'est constatée entre le stupéfiant, l'étalon interne, les produits de coupage. La méthode est bien sélective.

## Conclusion

La validation de méthode est essentielle en chimie et elle prend toute sa valeur en particulier en police scientifique. Elle s'appuie sur des méthodes statistiques fondées sur des hypothèses fortes comme la normalité, l'homogénéité des variances. L'interprétation des résultats n'a de sens qu'à

travers une bonne maîtrise à la fois des techniques analytique et statistique.

Cette double démarche a été illustrée sur le dosage de la cocaïne, en conditions réelles (petit jeu de données). Elle a permis de révéler un modèle linéaire particulier : la régression pondérée en s'appuyant sur les critères d'exactitude, de justesse et de fidélité.

La méthode d'analyse par chromatographie CPG-FID est ainsi validée sur l'intervalle de dosage de la cocaïne variant de 1,8 % à 100 %. La même démarche est applicable également pour le dosage de l'héroïne et l'intervalle varie de 1,6 à 100 %.

## Déclaration d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

## Références

- [1] Mura P, Brunet B, Dujourdy L, Paetzold C, Bertrand G, Sera B, et al. Cannabis d'hier et cannabis d'aujourd'hui. Augmentation des teneurs en THC de 1993 à 2004 en France. *Ann Toxicol Anal* 2006;18(1):3–6.
- [2] Dujourdy L, Besacier F. L'héroïne saisie en France. Données statistiques issues de la base nationale des laboratoires de police scientifique. *Ann Pharm Fr* 2010;68(2):127–32.
- [3] Dujourdy L, Besacier F, Ladroue V. La cocaïne saisie en France. Exploitation des données statistiques nationales. *Actualité Chimique* 2010;342–343:29–36.
- [4] European Network of Forensic Science Institutes. Available from: URL: <http://www.enfsi.eu/about-enfsi/structure/working-groups/drugs> [cited 2013 January 11].
- [5] United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC). Méthodes recommandées pour l'identification et l'analyse de la cocaïne contenue dans des substances saisies. Available from: URL: <http://www.unodc.org/unodc/en/scientists/cocaine.html> [cited 2013 January 11].
- [6] United States Department of Justice Drug Enforcement Administration. Scientific Working Group for the analysis of seized drugs (swgdrug) recommendations. 2011-July-7. Available from: URL: [www.swgdrug.org](http://www.swgdrug.org) [cited 2013 January 11].
- [7] Dagnelie P. Statistique théorique et appliquée. T2. Inférence statistique à une et à deux dimensions. Bruxelles: De Boeck; 2011.
- [8] NIST/SEMATECH. e-Handbook of statistical methods. Available from: URL: <http://www.itl.nist.gov/div898/handbook/> [cited 2012 August 15].
- [9] Carroll RJ, Ruppert D. Transformation and weighting in regression. Monographs on Statistics and Applied Probability, 30. New York: Chapman & Hall; 1988.
- [10] Observatoire français des drogues et toxicomanies (OFDT), dispositif SINTES. Available from: URL: <http://www.ofdt.fr/ofdtdev/live/reserve/sintes.html> [cited 2013 January 11].
- [11] Hubert P, Nguyen-Huu JJ, Boulanger B, Chapuzet E, Chiap P, Cohen N, et al. Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures. A SFSTP proposal—Part I. *J Pharm Biomed Anal* 2004;36(3):579–86.
- [12] Hubert P, Nguyen-Huu JJ, Boulanger B, Chapuzet E, Chiap P, Cohen N, et al. Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures. A SFSTP proposal—part II. *J Pharm Biomed Anal* 2007;45(1):70–81.
- [13] Hubert P, Nguyen-Huu JJ, Boulanger B, Chapuzet E, Cohen N, Compagnon PA, et al. Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures. A SFSTP proposal—part III. *J Pharm Biomed Anal* 2007;45(1):82–96.
- [14] Hubert P, Nguyen-Huu JJ, Boulanger B, Chapuzet E, Cohen N, Compagnon PA, et al. Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures: a SFSTP proposal—part IV. Examples of application. *J Pharm Biomed Anal* 2008;48(3):760–71.
- [15] Office central pour la répression du trafic illicite des stupéfiants. STUPS OSIRIS. Rapport interne, OCRTIS, Nanterre: 2011.
- [16] Development Core Team. A language and environment for statistical computing. Foundation for Statistical Computing. Available from: URL <http://www.R-project.org/> [cited 2012 August 15].
- [17] Arlenda e-noval®. Available from: URL <http://www.arlenda.com/> [cited 2012 August 15].
- [18] Feinberg M. Labo-Stat. Guide de validation de méthodes d'analyse. France: Lavoisier TEC & TOC; 2009.
- [19] Thermo Scientific Gas Chromatography Data System. CHROM-CARD S/W for TRACE/FOCUS GCs. Operating Manual PN 317 084 00, revision April 2008. Available from: [http://www.samsi.no/Products/GAS/tmanuals/ChromCard\\_15\\_4-2008book.pdf](http://www.samsi.no/Products/GAS/tmanuals/ChromCard_15_4-2008book.pdf) [cited 2013 January 23].