

Composés pharmaceutiques à usage vétérinaire

Méthode d'analyse dans les eaux – phase dissoute

Généralités

Nom de la famille de substances	Composés pharmaceutiques à usage vétérinaire
Nom des substances individuelles	Lincomycine, Tylosine, Enilconazole, Sulfathiazole, Erythromycine, Ceftiofur, Dexaméthasone, Sulfaquinoxaline, Sulfaméthazine, Sulfadiméthoxine
Code SANDRE des substances individuelles	6570 – 6523 – 1704 - 6572 – 6522 – 6573 – 6574 – 6575 – 6525 - 6576
Matrice analysée [code SANDRE du (des) support(s)]	Eau : Eau douce de surface [3] Eau souterraine [3]
Principe de la méthode	Extraction sur phase solide et analyse en chromatographie phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en mode tandem (ESI+)
Acronyme	EPS/CL/SM/SM
Domaine d'application	A partir de la limite de quantification, 5 à 10 ng/L selon les molécules
Paramètres à déterminer en parallèle à l'analyse	aucun
Précautions particulières à respecter lors de la mise en œuvre de la méthode	N/A
Interférents (préciser la matrice)	N/A

AVERTISSEMENT : Il convient que l'utilisateur de cette méthode connaisse bien les pratiques courantes de laboratoire. Cette méthode n'a pas pour but de traiter tous les problèmes de sécurité qui sont, le cas échéant, liés à son utilisation. Il incombe à l'utilisateur d'établir des pratiques appropriées en matière d'hygiène et de sécurité et de s'assurer de la conformité à la réglementation nationale en vigueur. Certains des solvants utilisés dans le mode opératoire sont toxiques et dangereux. Les manipuler avec précaution.

Il est absolument essentiel que les essais conduits conformément à cette méthode soient exécutés par du personnel ayant reçu une formation adéquate

Protocole analytique

Prétraitement

Fraction analysée :	Eau : Phase dissoute
Conditionnement et conservation des échantillons - Protocole : - Nature du contenant de stockage :	Conservation à l'obscurité et à 4°C. Prélèvement dans des flacons en verre ambré, à usage unique.

- Lavage du contenant : - Résultats de l'étude de stabilité (durée de stabilité, température,...) :	Aucun, usage unique. Non réalisée
Filtration : - Type de filtre et méthode de nettoyage : - Type de support de filtration :	Filtre en fibre de verre (masse spécifique comprise entre 50 et 100 g/cm ³) ; nettoyage au four à 500°C pendant 2 heures. Fiole à vide (nettoyage détergent et passage au four à 500°C pendant 2 heures.)
Pré-traitement des échantillons liquide ou solide	Ajout d'un agent complexant, EDTA, avant l'extraction pour obtenir une concentration de 1g/L dans l'échantillon. Ajout d'un étalon interne : 1 mL d'une solution de diazépam-d5 à 0,1 mg/L dans le méthanol, soit 0,1 µg/L dans l'échantillon.

Analyse

Volume ou masse de la prise d'essai (mL or mg selon la phase analysée)	1000 mL
Extraction - Liquide / Liquide (préciser la nature et le volume du solvant)	Avant extraction, ajuster l'échantillon à pH=7, par ajout d'acide acétique pur. Extraction automatique sur AutoTrace™ : Cartouche Oasis™ HLB (masse d'adsorbant 500 mg, volume de la cartouche 6 mL, diamètre des particules 60 µm) Conditionnement de la cartouche à 5 mL/min avec 5mL de méthanol qualité HPLC, et 5mL d'eau qualité HPLC gradient grade r à pH7 Chargement de l'échantillon à 10 mL/min Lavage à 5 mL/min avec 2mL du mélange (eau /méthanol 90/10, v/v) Séchage par flux d'azote Elution à 5 mL/min avec 10mL de méthanol Evaporation de l'extrait à sec sous flux d'azote et reprise dans 0,330 mL du mélange eau /méthanol (90/10 v/v) Les solvants utilisés sont de qualité HPLC.
Conservation de l'extrait	Conservation au congélateur (-20°C) avant analyse.
Volume ou masse finale avant analyse :	0,330 mL (eau / méthanol, 90/10, v/v)
Méthode analytique utilisée :	Colonne Atlantis C18 : longueur 150 mm, diamètre 2,1 mm, diamètre des particules 3 µm Température de la colonne : 25°C Volume d'injection : 15 µL Les solvants sont de qualité HPLC gradient grade

Voie A : eau /méthanol 90/10, v/v + acide acétique 0,05%

Voie B : méthanol + acide acétique 0,05%

Débit : 200µL/min

Temps (min)	Composition (%)	Durée (min)
0	90/10 A/B	5
35	40/60 A/B	6
38	100% B	2
42	90/10 A/B	13

Spectrométrie de masse :

Mode ionisation ESI+

Analyseur : trappe ionique (MS²)

Composés	Ion précurseur (m/z)	Ions fils de quantification (m/z)	Ions fils de confirmation (m/z)
Lyncomycine	407	126+359+389	
Tylosine	916	772	
Enilconazole	297	255	201+159+176
Sulfathiazole	256	156+108+92	
Erythromycine	734	576+716+698	522+540+558
Céftiofur	524	241+396+285	
Dexaméthasone	393	373+355	337
Sulfaquinoxaline	301	156+108+92	
Sulfaméthazine	279	204+186+124	156+174+218
Sulfadiméthoxine	311	156+218+245	108
Diazépam d-5	290	227+233+262	
Oxazépam d-5	292	246+274	

**Equipements ¹
(modèles utilisés) :**

Equipement Thermo-Fisher :

- Autosampler AS2000®
- Pompe HPLC Surveyo®r MS
- Trappe d'ion LCQ Deca XP+®

Type d'étalonnage

Interne

Modèle utilisé

Etalonnage linéaire

Etalons / Traceurs utilisés

Etalon interne : oxazépam d-5, ajouté avant l'injection

Traceur : Diazépam d-5

Domaine de concentration

Domaine de la gamme d'étalonnage :

Lincomycine, Sulfathiazole, Erythromycine, Dexaméthasone, Sulfaquinoxaline, Sulfaméthazine : 5 à 300 µg/L ;

Tylosine, Enilconazole, Céftiofur, Fluméquine, Sulfadiméthoxine : 15 à 300 µg/L.

¹ Les matériels cités ici constituent des exemples d'application satisfaisante. Ces mentions ne constituent pas une recommandation exclusive, ni un engagement quelconque de la part du rédacteur ou d'AQUAREF

Méthode de calcul des résultats

Utilisation du rendement : correction du résultat avec le rendement moyen obtenu sur l'ensemble de la gamme
 Eau de source, suivant toute la procédure.
 Soustraction du blanc : non
 Critère : inférieur à la LQ

Blancs**Références de la méthode****La méthode est dérivée de la publication suivante**

/

Norme dont est tirée la méthode

/

Niveau de validation selon Norman

Niveau 1

Paramètres de validation de la méthode**Norme utilisée**

XP T90-210 (décembre 1999)

Domaine de validation

2 à 100 ng/L ou 5 à 100 ng/L selon les molécules

Matériaux de référence utilisés

Pas de matériau de référence disponible

Blancs analytiques (concentration ou résultat maximum acceptable)

Doit être inférieur à la limite de quantification

Rendement

Matrice : eau de source embouteillée
 Détermination du rendement moyen par dopage à 6 niveaux de concentration (10 à 100 ng/L)

Composé	R % (n= 6)
Lyncomycine	80 ± 7
Tylosine	80 ± 4
Enilconazole	100 ± 11
Sulfathiazole	91 ± 4
Erythromycine	75 ± 10
Ceftiofur	71 ± 13
Dexaméthasone	93 ± 8
Sulfaquinoxaline	89 ± 6
Sulfaméthazine	89 ± 17
Sulfadiméthoxine	98 ± 3

**Limite de quantification(LQ)
Limite de détection (LD)**

Les limites de quantification ont été vérifiées selon XP T 90-201 (décembre 1999), par dopage d'une eau de source.

Composés	LQ (ng/L)	LD (ng/L)
Lyncomycine	5	1,6
Tylosine	10	3
Enilconazole	10	3
Sulfathiazole	5	1,6
Erythromycine	5	1,6
Ceftiofur	10	3
Dexaméthasone	5	1,6
Sulfaquinoxaline	5	1,6
Sulfaméthazine	5	1,6
Sulfadiméthoxine	10	3

Incertitudes (%) sur les résultats

Méthode d'évaluation suivant la méthode GUM. Les incertitudes liées à la courbe d'étalonnage et à l'extraction (fidélité et justesse) sont prises en compte, les incertitudes sur les pesées (échantillon, étalon interne...) et la préparation de la gamme d'étalonnage sont négligeables

Facteur d'élargissement : $k = 2$

Composés	LQ	≤ 50 ng/L	> 50 ng/L
Lyncomycine	25%	20%	20%
Tylosine	40%	35%	30%
Enilconazole	60%	40%	40%
Sulfathiazole	30%	20%	15%
Erythromycine	60%	50%	40%
Ceftiofur	60%	50%	40%
Dexaméthasone	70%	70%	70%
Sulfaquinoxaline	30%	25%	25%
Sulfaméthazine	25%	25%	20%
Sulfadiméthoxine	20%	20%	20%

Contacts

Auteurs	Sébastien BRISTEAU
Institut	BRGM
Contact	s.bristeau@brgm.fr