Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTERE DE L'AGRICULTURE,
DE L'ALIMENTATION, DE LA PECHE ET DES AFFAIRES RURALES

Direction Générale de l'Alimentation

Sous-direction de la santé et de la protection animale
Mission de coordination sanitaire internationale
Sous-direction de la réglementation, de la recherche et de la coordination des contrôles

Bureau de la recherche et des laboratoires d'analyses

Adresse : 251, rue de Vaugirard 75732 Paris cedex 15

Suivi par : Alexandre BLANC-GONNET

Tél : 01 49 55 81 49
Fax : 01 49 55 49 61
Réf. Interne : NS chloramphenicol matrices bio 0804.doc
Réf. Classement : BRLA/ABG/193-04

NOTE DE SERVICE

DGAL/SDSPA/MCSI/SDRRCC/N2004-8214

Date: 17 août 2004

Date de mise en application Immédiate

Annule et remplace : Dispositions correspondantes de la NS DGAL/SDSPA/SDRRCC/N2002-8105 du 22 juillet 2002

Date limite de réponse : sans objet

Nombre d'annexes : 1

Le Ministre de l'agriculture, de l'alimentation,
de la pêche et des affaires rurales

Objet : Méthode de recherche et de confirmation de résidus de chloramphénicol dans les matrices d'origine biologique par chromatographie en phase gazeuse avec détection par spectrométrie de masse et ionisation chimique négative

Bases juridiques : Directive 96/23/CE du Conseil, du 29 avril 1996, relative aux mesures de contrôle à mettre en œuvre à l'égard de certaines substances et de leurs résidus dans les animaux vivants et leurs produits

Résumé : La présente note de service référence la nouvelle méthode d'analyse officielle de recherche et de confirmation de résidus de chloramphénicol dans les matrices d'origine biologique par chromatographie en phase gazeuse avec détection par spectrométrie de masse et ionisation chimique négative.

MOTS-CLES : Méthode d'analyse – résidus - chloramphénicol – matrices d'origine biologique

Destinataires	
Pour exécution : - Directeurs départementaux des services vétérinaires - Vétérinaires responsables des postes d'inspection frontaliers - LERMVD - Laboratoires vétérinaires départementaux	Pour information : - Préfets - Brigade nationale d'enquêtes vétérinaires et phytosanitaires - Directeur de l'Ecole nationale des services vétérinaires - Directeur de l'INFOMA - DGCCRF - AFSSA - Laboratoire vétérinaire de Rungis - COFRAC

J’ai l’honneur de vous faire parvenir les références et le protocole (en annexe) de la nouvelle méthode d’analyse officielle de recherche et de confirmation de résidus de chloramphénicol dans les matrices d’origine biologique par chromatographie en phase gazeuse avec détection par spectrométrie de masse et ionisation chimique négative.

Méthode	Référence	Remplace
Méthode de recherche et de confirmation de résidus de chloramphénicol dans les matrices d’origine biologique par chromatographie en phase gazeuse avec détection par spectrométrie de masse et ionisation chimique négative	LMV/01/01 – version 3	LMV/01/01 version 2

Cette méthode a été développée par le laboratoire national de référence pour le contrôle des médicaments vétérinaires (Agence française de sécurité sanitaire des aliments, Laboratoire d’études et de recherche sur les médicaments vétérinaires et les désinfectants – AFSSA LERMVD, site de Fougères).

La nouvelle version modifie la précédente en ce qui concerne le domaine d’application (paragraphe 2 : extension au miel), les réactifs et produits (paragraphe 4.3.1 : nouvelles solutions pour la supplémentation), les échantillons (paragraphes 6.2 et 6.3 : modifications pour les œufs et l’urine), le mode opératoire (paragraphe 7.1.3, 7.1.4 et 7.1.5 : ajouts du miel, de la gelée royale et des eaux de boisson pour animaux), l’interprétation des résultats (paragraphe 8) et le contrôle qualité (paragraphe 9).

Isabelle CHMITELIN
Directrice Générale Adjointe
C.V.O.

LABORATOIRE D'ETUDES ET DE RECHERCHES SUR LES MEDICAMENTS VETERINAIRES ET LES DESINFECTANTS
LABORATOIRE NATIONAL DE REFERENCE
B.P.90203 - 35302 FOUGERES Cédex
La Haute-Marche - JAVENE - 35133 FOUGERES (France)

Tél : 02 99 94 78 78
Fax : 02 99 94 78 80

Réf. : LMV/01/01 - version 3 Janvier 2004

Recherche et développement méthodologique :
J.P. Abjean, S. Gautier, M. Juhel-Gaugain
Responsables scientifiques: J.P. Abjean ; M. Juhel-Gaugain

RECHERCHE ET CONFIRMATION DE RESIDUS DE CHLORAMPHENICOL DANS LES MATRICES D'ORIGINE BIOLOGIQUE PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE AVEC DETECTION PAR SPECTROMETRIE DE MASSE ET IONISATION CHIMIQUE NEGATIVE

AVERTISSEMENTS ET PRECAUTIONS DE SECURITE

Cette méthode implique la connaissance par l'opérateur des règles usuelles de manipulation des produits chimiques et des solvants. Elle devra être, autant que possible, mise en œuvre sous hotte ventilée.
Toutes les précautions nécessaires devront être prises pour éviter les contaminations lors de la manipulation de standards et tout au long des opérations d'extraction et de purification.

1 - INTRODUCTION

Le chloramphénicol est inscrit en annexe IV du règlement 2377/90 CEE, son utilisation dans le domaine vétérinaire est, par conséquent, interdite. La preuve de son utilisation peut être faite dans toute matrice d'origine biologique, dans l'alimentation ou l'eau de boisson destinée à des animaux de rente. Les critères à respecter pour une identification univoque de cet analyte sont définies dans la décision de la commission 2002/657/CE. La Limite de Performance Minimale Requise (LPMR) pour les méthodes d'analyse a été fixée à 0,3 µg/kg par la décision 2003/181/CE pour les matrices suivantes : viande, œuf, lait, urine, produits d'aquaculture et miel.

2 - OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION

Cette méthode permet de mettre en évidence la présence de chloramphénicol dans les matrices suivantes : muscle de bovin, porcin, ovin, volaille, poisson, œuf (jaune et coule d'œuf), miel, gelée royale, lait, urine, boyaux lavés ou saumurés (humides) et eaux de boisson. Pour garantir les performances de la méthode, un standard interne, le chloramphénicol penta-deutéré, est utilisé.

Les limites de décision (α = 1 %) ont été calculées, lors de la validation, en prenant pour référence l'ion minoritaire, ce par matrice et par jour. Les limites de décision calculées (sur l'ion M/Z 378) sont comprises entre 0,28 et 1,1 µg/kg. Ce protocole permet la confirmation de la présence de chloramphénicol au niveau de la MRPL au moins dans les viandes et les produits d'aquaculture. Il permet aussi de confirmer la présence de chloramphénicol à partir de 0,5 et 1 µg/kg suivant les autres matrices (miel, œuf, urine…). Si du chloramphénicol est suspecté dans certains échantillons (présence au temps de rétention du chloramphénicol d'un signal des ions majoritaires M/Z 466 ; 468…) mais que les critères de confirmation définis dans la décision 2002/657/CE ne sont pas réunis, une confirmation par LC/MS/MS devra être effectuée.

Ce protocole est adapté pour le dépistage du chloramphénicol dans toutes les matrices puisque la limite de détection calculée sur l'ion majoritaire (M/Z 466) est systématiquement inférieure à la LPMR (de 0,08 à 0,26 µg/kg suivant la matrice).

3 - PRINCIPE

La méthode comprend six étapes principales :
- Supplémentation de la prise d'essai avec une solution de chloramphénicol D_5.
- Extraction par un solvant organique.
- Purification de l'extrait sur une colonne de gel de silice.
- Dérivation de l'extrait.
- Chromatographie en phase gazeuse.
- Détection par spectrométrie de masse en mode ionisation chimique négative.

Remarque *: Les références des réactifs et matériels indiqués ci–après sont données* ***à titre indicatif*** *et peuvent être remplacés par des réactifs et matériels de spécifications équivalentes. Toutefois, il conviendra de s'assurer au préalable que le(s) remplacement(s) ne compromet(tent) pas la fiabilité de l'essai.*

4 - REACTIFS ET PRODUITS

4.1. Réactifs

Sauf indication contraire, tous les réactifs suivants sont de qualité analytique.

4.1.1. Acétate d'éthyle (Fisher E/0900).
4.1.2. Acétonitrile (Fischer A/0626).
4.1.3. Iso-hexane (Fisher H/0411).
4.1.4. Toluène (Fisher T2300).
4.1.5. Ether diéthylique (Fisher A4801101).
4.1.6. Ethanol (Fisher A4800672).
4.1.7. Sylon HTP : mélange hexaméthyldisilazane + Triméthylchlorosilane + pyridine, 3 : 1 : 9 (Supelco 3-3039).
4.1.8. Chloramphénicol D_5 (Cambridge isotope laboratories *via* Promochem).
4.1.9. Chloramphénicol (Sigma C 0378).
4.1.10. Sodium acétate (Fisher A4889358).
4.1.11. Acide acétique (Fisher A4701901).
4.1.12. β Glucuronidase Arylsulfatase de *helix-pomatia* (Sigma G 0876).
4.1.13. Ammoniaque 25 % (Merck 1.05432)
4.1.14. Eau ultrapure.

4.2. Gaz

4.2.1. Hélium C (Air Liquide).
4.2.2. Méthane N45 (Air Liquide).

4.3. Solutions

Les solutions mères de chloramphénicol D_5 et H_5 sont préparées dans l'éthanol.

4.3.1. Solutions pour la supplémentation :

Solution A : solution de standard interne, chloramphénicol D_5 à 1 ng/ml dans l'eau.
Solution B : chloramphénicol à 0,25 ng/ml et chloramphénicol D_5 à 1 ng/ml dans l'eau.
Solution C : chloramphénicol à 0,5 ng/ml et chloramphénicol D_5 à 1 ng/ml dans l'eau.
Solution D : chloramphénicol à 0,75 ng/ml et chloramphénicol D_5 à 1 ng/ml dans l'eau.
Solution E : chloramphénicol à 1 ng/ml et chloramphénicol D_5 à 1 ng/ml dans l'eau.
(Les solutions A, B, C, D et E servent pour toutes les matrices sauf pour l'urine et le lait lors de l'extraction sur extrelut. Dans ce cas, des solutions A', B', C', D' et E' dont la concentration en chloramphénicol et en chloramphénicol D_5 sont 4 fois supérieures sont utilisées).

4.3.2. Solution tampon pH 4,8 : Peser 16,4 g d'acétate de sodium, dissoudre dans environ 900 ml d'eau ultrapure, ajuster le pH à 4,8 avec de l'acide acétique, compléter à 1000 ml.

5 - MATERIEL

5.1. Verrerie

5.1.1. Tubes 16x100 mm.
5.1.2. Fioles jaugées.
5.1.3. Tubes à centrifuger à col rodé de 40 ou 75 ml environ.
5.1.4. Tubes en polypropylène 12x75 mm.
5.1.5. Eprouvettes de 200 ml.

5.2. Autres matériels

5.2.1. Pipettes automatiques de laboratoire et cônes correspondants Gilson.
5.2.2. Pipettes automatiques Multipette et réservoirs correspondants Eppendorf.
5.2.3. Distributeurs de solvants 1-10 ml : Dispensette Brandt.
5.2.4. Agitateur électrique « vortex » Top Mix Bioblock.
5.2.5. Balance de précision A 120 S Sartorius (précision au 0,1 mg).
5.2.6. Balance de laboratoire E 200 Mettler (précision à 10 mg).
5.2.7. Evaporateur sous flux d'azote Prolabo.
5.2.8. Centrifugeuse réfrigérée GR 412 Jouan.
5.2.9. Fioles à dérivation en polypropylène de 500 µl (Interchrom CH 963290).
5.2.10. Capsules pour flacons polypropylène (Interchrom).
5.2.11. Cuve pour extraction en phase solide.
5.2.12. Cartouches d'extraction en phase solide Sep-Pak silica 3 cc (Waters 020810).
5.2.13. Cartouches d'extraction liquide-liquide Extrelut NT 3 cc (Merck).
5.2.14. Cuve à ultra sons.

5.3. Equipement CG-SM

5.3.1. Chromatographe en phase gazeuse équipé d'un injecteur split/splitless, four à température programmable jusqu'à 300°C (Hewlett-Packard 6973) et d'un injecteur automatique (Hewlett-Packard 7683).
5.3.2. Colonne capillaire 5 % phényl, 95 % methylsiloxane, longueur 30 m, diamètre interne 0,25 mm, épaisseur du film 0,25 µm.
5.3.3. Spectromètre de masse quadripolaire (Hewlett-Packard MSD 5973), mode d'ionisation chimique négative ; gaz réactant : méthane N45.
5.3.4. Station de travail type Chemstation.
5.3.5. Imprimante.

6 - ECHANTILLONS

6.1. Les échantillons sont stockés avec une identification propre au laboratoire.

6.2. Les œufs sont préparés dès que possible après leur arrivée au laboratoire. Pour ce faire, les œufs sont cassés et agités vigoureusement dans un pot fermé puis congelés.

6.3. Urine : décongeler, laisser décanter si nécessaire. Prélever 20 ± 0,2 ml d'urine. Ajuster le pH à 4,8 ± 0,3 (acide acétique), compléter à 25 ml avec le tampon pH 4,8. Prélever 2 ± 0,1 ml dans un tube à centrifuger. Ajouter 50 µl de glucuronidase, mélanger. Incuber 1 nuit à une température de 37°C environ. Congeler si nécessaire l'urine préparée ainsi que le reste du prélèvement.

6.4. Les autres échantillons biologiques sont stockés au congélateur ou au réfrigérateur (miel, gelée royale, eau) jusqu'à analyse.

7 - MODE OPERATOIRE

7.1. Extraction

7.1.1. Œuf

7.1.1.1. Peser 4 ± 0,1 g de coule d'œuf.

7.1.1.2. Ajouter 4,0 ± 0,05 ml de solution A contenant le standard interne afin d'assurer la qualité des essais. Agiter au vortex.

7.1.1.3. Pour la quantification, préparer une gamme de 5 témoins supplémentés en ajoutant 4 ± 0,05 ml de solution A, B, C, D et E (témoins positifs à 0 ; 0,25 ; 0,5 ; 0,75 et 1 µg/l en chloramphénicol).

7.1.1.4. Ajouter 10 ml d'acétate d'éthyle, agiter le tube au vortex pendant environ1 min.

7.1.1.5. Ajouter 10 ml d'acétonitrile, agiter le tube manuellement.

7.1.1.6. Centrifuger 10 min. à 3000 g. Récupérer la phase organique. L'évaporation de cette phase organique sous flux d'azote à environ 60°C peut commencer avant la ré-extraction car cette étape est relativement longue.

7.1.1.7. Ré-extraire par 10 ml d'acétate d'éthyle, agiter le tube au vortex pendant 1 min.

7.1.1.8. Centrifuger 10 min. à 3000 g.

7.1.1.9. Réunir les phases organiques et évaporer à sec à environ 60°C sous flux d'azote.

7.1.1.10. Reprendre le résidu par 3 ml d'acétonitrile et 2 ml d'hexane.

7.1.1.11. Agiter le tube au vortex pendant 1 min, centrifuger et séparer les deux phases organiques.

7.1.1.12. Récupérer la phase acétonitrile et l'évaporer à sec sous flux d'azote. Poursuivre par la purification.

7.1.2. Urine – Lait

7.1.2.1. Mesurer 2 ± 0,1 ml de prise d'essai.

7.1.2.2. Ajouter 0,5 ± 0,05 ml de solution A' contenant le standard interne afin d'assurer la qualité des essais. Agiter le tube au vortex (pour l'urine en cas de solution trouble il est possible de centrifuger avant transfert).

7.1.2.3. Pour la quantification, préparer une gamme de 5 témoins supplémentés en ajoutant 0,5 ml de solution A', B', C', D' et E' (témoins positifs à 0 ; 0,25 ; 0,5 ; 0,75 et 1µg/l en chloramphénicol).

7.1.2.4. Transférer sur une colonne Extrelut NT 3 cc, laisser équilibrer pendant 15 min.

7.1.2.5. Déposer 3 ml d'acétate d'éthyle sur la colonne et laisser équilibrer pendant 15 min.

7.1.2.6. Déposer 8 ml d'acétate d'éthyle sur la colonne.

7.1.2.7. Récupérer la phase organique et l'évaporer à sec sous flux d'azote. Poursuivre par la purification.

*Pour la **confirmation** de la présence de résidus de chloramphénicol dans le lait, il est possible d'utiliser le même protocole d'extraction que pour le muscle tel que décrit ci-dessous. Celui-ci permet de confirmer la présence de chloramphénicol à des teneurs plus faibles.*

7.1.3. Muscle (volaille, bœuf, porc, poisson…), miel et boyaux

7.1.3.1. Peser 4 ± 0,1 g de muscle broyé, de miel ou de boyaux (humides) finement découpé.

7.1.3.2. Ajouter 4 ± 0,05 ml de solution A contenant le standard interne afin d'assurer la qualité des essais. Agiter le tube au vortex.

7.1.3.3. Pour la quantification, préparer une gamme de 5 témoins supplémentés en ajoutant 4 ± 0,05 ml de solution A, B, C, D et E (témoins positifs à 0 ; 0,25 ; 0,5 ; 0,75 et 1 µg/kg en chloramphénicol).

7.1.3.4. Ajouter 10 ml d'acétate d'éthyle, agiter au vortex jusqu'à obtention d'une pâte homogène (1 min. environ).

7.1.3.5. Centrifuger 10 min. à 3000 g.

7.1.3.6. Récupérer la phase organique. L'évaporation de cette phase organique sous flux d'azote à environ 60°C peut être démarrée avant la ré-extraction.

7.1.3.7. Ré-extraire par 10 ml d'acétate d'éthyle

7.1.3.8. Centrifuger 10 min. à 3000 g.

7.1.3.9. Combiner les phases organiques et poursuivre l'évaporation à sec sous flux d'azote.

7.1.3.10. Reprendre le résidu par 3 ml d'acétonitrile et 2 ml d'hexane.

7.1.3.11. Agiter au vortex pendant 1 min, centrifuger 5 min. à 3000 g et séparer les deux phases organiques.

7.1.3.12. Récupérer la phase acétonitrile et l'évaporer à sec sous flux d'azote. Poursuivre par la purification.

7.1.4. Gelée royale

Procéder comme pour le muscle en ajoutant 200 µl d'ammoniaque concentré après les 10 ml d'acétate d'éthyle lors de l'extraction.

7.1.5. Eaux de boisson pour animaux

Si du chloramphénicol est ajouté volontairement à des eaux de boisson pour animaux, il est ajouté, pour des problèmes d'appétence, sous forme de palmitate de chloramphénicol et à des concentrations élevées (de l'ordre de 500 mg/l). Néanmoins, une partie du chloramphénicol est sous forme libre en

solution dans l'eau. Les concentrations en chloramphénicol sont susceptibles d'être assez élevées. Il est

possible, afin d'éviter des problèmes de contamination liés à des injections de fortes concentrations, d'injecter dans un premier temps les extraits après une dilution préalable au 1/10.000ème. Ensuite, si la présence de chloramphénicol n'a pas été mise en évidence, les extraits peuvent être ré-analysés sans dilution préalable.

7.1.5.1. Mesurer 2 ± 0,1 ml de prise d'essai.

7.1.5.2. Ajouter 2 ml ± 0,05 ml de solution A contenant le standard interne afin d'assurer la qualité des essais. Agiter le tube au vortex.

7.1.5.3. Pour la quantification, préparer une gamme de 5 témoins supplémentés en ajoutant 2 ml de solution A, B, C, D et E (témoins positifs à 0 ; 0,25 ; 0,5 ; 0,75 et 1 µg/l en chloramphénicol).

7.1.5.4. Ajouter 5 ml d'acétate d'éthyle, agiter au vortex.

7.1.5.5. Agiter à l'Heidolph 5 minutes à vitesse minimale.

7.1.5.6. Centrifuger 10 minutes à 3000 g.

7.1.5.7. Transférer le surnageant dans un autre tube.

7.1.5.8. Ré-extraire par 5 ml d'acétate d'éthyle.

7.1.5.9. Centrifuger 10 min. à 3000 g. Combiner les phases organiques et évaporer à sec sous flux d'azote à environ 60°C.

7.1.5.10. Reprendre le résidu par 0,3 ml d'éther diéthylique, transférer en fiole de dérivation en polypropylène. Evaporer à sec sous flux d'azote à environ 60°C. Les extraits seront ensuite directement dérivés sans phase de purification.

7.2. Purification

7.2.1. Reprendre par 3 fois 1 ml de toluène, déposer successivement ces volumes sur une cartouche Si 500 mg.

7.2.2. Rincer la cartouche par 2 ml de toluène.

7.2.3. Rincer par 4,5 ml d'un mélange Toluène/acétone 80/20 (v/v).

7.2.4. Eluer par 2,5 ml d'un mélange Toluène/acétone 60/40 (v/v) dans des tubes en polypropylène.

7.2.5. Evaporer à sec sous flux d'azote.

7.2.6. Reprendre le résidu par 0,3 ml d'éther diéthylique, transférer en fiole de dérivation en polypropylène.

7.2.7. Evaporer à sec sous flux d'azote.

Note : il est possible de stopper l'essai à ce stade en laissant les extraits, en solution dans l'éther, au réfrigérateur pour la nuit ou le week-end.

7.3. Dérivation

7.3.1. Evaporer si nécessaire l'éther.

7.3.2. Ajouter 50 µl de la solution de dérivation, agiter la fiole au vortex. Placer 1 h dans une enceinte à environ 60°C. Evaporer à sec sous flux d'azote.

Note : évaporer à température ambiante.

7.3.3. Reprendre par 100 µl d'hexane, boucher, agiter au vortex.

7.4. Chromatographie

7.4.1. Conditions chromatographiques

7.4.1.1 Gaz vecteur : hélium

Pression : environ 11,5 psi

Purge : 50 ml/min., 1 min.

Gaz saver : 20 ml/min., 7 min

7.4.1.2. Injection

Mode pulsed splitless (pulse 25 psi, 1 min.)

Volume injecté : 2 µl

Séquence : témoin et supplémentés à 0,25, 0,5, 0,75 , 1 µg/kg puis essais

7.4.1.3 Températures

Injecteur : 280°C

Four : initiale 120°C, rampe 12°C/min. jusqu'à 240°C, plateau 6 min., rampe 25°C/min. jusqu'à 300°C, plateau 5 min.

Ligne de transfert : 300°C.

7.4.2. Conditions spectrométriques (mode SIM)

Gaz réactant : méthane N45

Température du quadripole : 106°C

Température de la source : 150°C

Ions sélectionnés :

Ion m/z	Dwell (en ms)	Molécule concernée
466	50	CAP
468	50	
376	100	
378	100	
471	50	CAP D5

Cycles : 2.33. s^{-1}.

8 - RESULTATS - INTERPRETATION

8.1. Identification

L'interprétation des résultats s'appuie sur les critères définis dans la décision de la commission 2002/657/CE. Pour confirmer la présence de chloramphénicol dans un extrait à analyser, outre les marges de temps de rétention, les critères suivants doivent être réunis :

8.1.1. Les 4 ions caractéristiques du chloramphénicol doivent être détectés avec un rapport signal / bruit ≥ à 3 pour chacun (rapport signal/bruit pic/pic).

8.1.2. Les intensités ioniques relatives pour ces 4 ions doivent être contrôlées et correspondre (après correction du bruit de fond) aux valeurs moyennes obtenues pour les témoins supplémentés dans une marge de ± 20 %, ± 25 % et ± 30 % en fonction de l'abondance relative de l'ion comme indiqué dans la décision de la commission 2002/657/CE.

Rappel : Lorsque ces critères de positivité ne sont pas tous remplis, mais que la présence de chloramphénicol est néanmoins suspectée, du fait par exemple de la présence de 1 à 3 ions diagnostiques au temps de rétention du chloramphénicol, une confirmation par CL/SM-SM devra être effectuée.

8.2. Quantification

La quantification sera faite à partir de l'ion majoritaire 466 en tenant compte du standard interne. Etablir la droite d'étalonnage obtenue avec les échantillons supplémentés et déterminer l'équation de cette droite :

y = ax + b

y = aire du pic ion 466/aire du pic ion 471

x = concentration en chloramphénicol dans l'échantillon injecté (µg/kg)

a = pente de la droite de régression

b = ordonnée à l'origine

La teneur en chloramphénicol dans l'échantillon à analyser sera calculée à partir de l'équation de la droite de régression déterminée ci-dessus (en tenant compte du standard interne).

9 - CONTROLE DE QUALITE

- Vérifier régulièrement le calibrage du détecteur (tune), et ce, au minimum après chaque nettoyage de source.
- Afin de vérifier le bon fonctionnement de l'appareillage et avant de dériver les extraits à analyser, vérifier que l'ion m/z 378 fournisse un rapport signal/bruit (pic-pic) supérieur à 5 pour 2 pg de chloramphénicol dérivé injecté.
- A chaque série, les témoins supplémentés devront permettre de retrouver tant le pic correspondant à l'ion du standard interne que les 4 ions du chloramphénicol (Noter que le chloramphénicol D5 a un temps de rétention légèrement inférieur à celui du chloramphénicol H5). Dans les conditions expérimentales décrites ci dessus, les temps de rétention sont de l'ordre de 15 minutes.
- Dans tous les cas, dans les échantillons à analyser, il est impératif de retrouver le pic du standard interne, faute de quoi l'essai devra être déclaré non valide.