



SOP DHA/ANA304 v01

Détection et confirmation d'Antibiotiques dans les fientes de volaille par LC-MS/MS (D,I)

DOSSIER DE VALIDATION

Mise en fonction : 24/06/2016

Pages : 7

Annexes : 1

	Nom, fonction	Date	Signature
Rédaction :	Robert Christelle Responsable méthode		

Toute reproduction interdite

Vérification : JL Beudart (RQ)

Mise en fonction : 24.06.2016

1 / 7

Plan de la validation

Méthode d'analyse	Détection/identification d'aminoglycosides dans les fientes de volaille par LC-MS/MS
Technique	Chromatographie Liquide couplée à la spectrométrie de masse (HPLC-MS/MS)
Matrice	fientes de volaille
Validation	Validation principale, méthode de confirmation qualitative

Destinataires : Département Santé / labo LC-MS/MS

Opérateurs

Pierre-Yves BRASSEUR
Christelle ROBERT

Responsable

Christelle ROBERT

Sommaire

1.	<i>Introduction</i>	4
2.	<i>Champ d'application</i>	4
2.1.	Matrice	4
2.2.	Gamme de concentration.....	4
2.3.	Statut de la méthode.....	4
2.4.	Analytes	4
3.	<i>Schéma de la validation et performances de la méthode</i>	4
3.1.	Limite de décision (CC α), capacité de détection (CC β).....	5
3.2.	Selectivité-spécificité	5
3.3.	Robustesse.....	5
4.	<i>Conclusions</i>	6
5.	<i>Références</i>	6
<i>ANNEXE 1. Données Brutes, vérification des performances de la méthode et détermination du CCα7</i>		

1. Introduction

La méthode ANA304 a été établie pour la détection et l'identification d'antimicrobiens dans les fientes de volailles.

2. Champ d'application

2.1. MATRICE

La méthode s'applique aux échantillons de fientes de volailles.

2.2. GAMME DE CONCENTRATION

Les composés ont été validés à 50 µg/kg.

2.3. STATUT DE LA METHODE

La méthode d'analyse ANA 304 est une méthode de confirmation qualitative (D/I).

2.4. ANALYTES

Les composés concernés par ce dossier de validation ANA304 sont repris dans le tableau repris au § 3. Conclusions.

3. Schéma de la validation et performances de la méthode

La méthode ANA305 qualitative a été validée de manière principale en 2016, soit sur 1 jour d'analyse avec 20 échantillons blancs et 20 échantillons blancs supplémentés au CCβ.

Ces diverses analyses ont permis de répondre aux exigences de la Décision de la Commission 2002/657/EC.

La méthode était initialement appliquée sur un système HPLC-MS/MS de type XEVO-TQ MS (Waters). Ces diverses analyses ont permis de répondre aux exigences de la Décision de la Commission 2002/657/EC.

Method		CCB Detection limit	CCα Decision limit	Trueness/ recovery	Precision	Selectivity/ specificity	Applicability/ ruggedness/ stability
Qualitative	S	+	-	-	-	+	+
	C	+	+	-	-	+	+
Quantitative	S	+	-	-	+	+	+
	C	+	+	+	+	+	+

S = Screening C= Confirmatory += mandatory

3.1. LIMITE DE DECISION (CC α), CAPACITE DE DETECTION (CC β)

Dans le cas des substances non autorisées, le CC β correspond à la plus basse concentration à laquelle la méthode peut correctement détecter avec une certitude statistique de 1- β . Le CC α est calculé sur base de la variabilité observée lors de la validation (où Ss = l'écart-type au CC β).

$$CC\alpha \leq CC\beta - 1,64 \times Ss$$

3.2. SELECTIVITE-SPECIFICITE

La **sélectivité** de la méthode LC-MS/MS a été démontrée par la présence d'au moins 2 transitions diagnostiques MRM lors du monitoring en MS/MS, par la détermination du temps de rétention relatif (tolérance de $\pm 2.5\%$), et la détermination des abondances ioniques relatives (dans les tolérances admises).

La **spécificité** a été démontrée par l'absence de pic d'intensité significative dans les échantillons blancs. (réponse inférieure à 50% de la réponse au CC β) au temps de rétention des composés recherchés dans les échantillons de fientes blanches.

3.3. ROBUSTESSE

La robustesse avait été testée lors de la validation principale en utilisant divers types des fientes de volailles : fraîches/conservées à 4°C, contenant de la litière ou sans litière.

4. Conclusions

La méthode peut être déclarée validée pour les composés suivants :

Nom	CCα (ppb)	CCβ (ppb)	Date validation (+) ou de retrait (-)
Spectinomycine	37.6	50	24/06/2016

5. Références

- Décision 2002/657/CE de la Commission européenne portant modalités d'application de la directive 96/23/CE du Conseil concernant les performances des méthodes d'analyse et l'interprétation des résultats.
- Arrêté royal modifiant l'arrêté royal du 27 avril 2007 relatif à la lutte contre les salmonelles chez les volailles

ANNEXE 1. Données Brutes, vérification des performances de la méthode et détermination du CC α

Table with columns: Name, Std. Conc, RT, RRT, Area, 1° Area, Height, 1° Ht, 1° Ratio (Actual), IS Area, Response, Trace, 1° Trace, IS#, IS Height. Contains 42 rows of peak data for Doxycycline.

Feces-pos v2.xls/Positif

DOC.QAGEN19-4-Val-Confli-quali-v06
Mise en fonction 2016-06-21

Compound 57: Doxycycline

Large table showing analytical results for Compound 57: Doxycycline. Includes columns for Réponse 1er Trace, Réponse 2nd Trace, Répon. Moy., SD, CV intra-jour (%), CV averse (%), RRT, Ecart/Moy (%), IR, Ecart/Moy (%). Contains multiple rows for QC (Quality Control) and BI (Blind Injections) samples, along with summary statistics for 1ère Trace and 2ème Trace.

Feces-pos v2.xls/Positif

DOC.QAGEN19-4-Val-Confli-quali-v06
Mise en fonction 2016-06-21

Table with columns: Name, Std. Conc, RT, RRT, Area, 1° Area, Height, 1° Ht, 1° Ratio (Actual), IS Area, Response, Trace, 1° Trace, IS#, IS Height. Rows 1-42.

Table with columns: Name, Std. Conc, RT, RRT, Area, 1° Area, Height, 1° Ht, 1° Ratio (Actual), IS Area, Response, Trace, 1° Trace, IS#, IS Height. Rows 23-42.

Feces-pos v2.xls/Postif

DOC.QAGEN19-4-Val-Conf-q-quali-v06
Mise en fonction 2016-06-21

Compound 161: Tylosine. Analysis table with columns: Répon. Moy., SD, CV norme (%), RRT, Ecart/Moy (%), IR, Ecart/Moy (%). Includes QC 1-20, BI 1-20, and summary statistics for 1ère Trace and 2ème Trace.

Feces-pos v2.xls/Postif

DOC.QAGEN19-4-Val-Conf-q-quali-v06
Mise en fonction 2016-06-21