

Zeitschrift:	Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchungen und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
Herausgeber:	Bundesamt für Gesundheit
Band:	91 (2000)
Heft:	2
Artikel:	Dosage HPLC des résidus de spiramycine, tilmicosine et tylosine dans les denrées alimentaires d'origine animale
Autor:	Edder, Patrick / Cominoli, André / Corvi, Claude
DOI:	https://doi.org/10.5169/seals-981863

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 12.01.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Dosage HPLC des résidus de spiramycine, tilmicosine et tylosine dans les denrées alimentaires d'origine animale

Patrick Edder, André Cominoli et Claude Corvi, Service de protection de la consommation, Genève

Présenté le 21 décembre 1999, accepté le 24 février 2000

Introduction

La spiramycine (SPI), la tilmicosine (TIL) et la tylosine (TYL) appartiennent à la classe des macrolides, antibiotiques largement utilisés en médecine vétérinaire et humaine. La structure chimique de ces composés est constituée d'une lactone macrocyclique attachée à un ou plusieurs sucres aminés (1). La figure 1 présente les structures chimiques de ces trois macrolides.

Les macrolides sont considérés comme des antibiotiques à spectre moyen, fortement actifs contre une large gamme de bactéries gram-positives, mais avec une activité limitée face aux bactéries gram-négatives. Ces substances sont bien absorbées après une administration orale et sont distribuées de manière importante dans les tissus, particulièrement dans les poumons, le foie et les reins (1,2). Ils se concentrent également dans la bile et surtout dans le lait. De plus, ces antibiotiques montrent généralement une faible toxicité aiguë (2,3). Toutes ces caractéristiques font des macrolides des antibiotiques très appropriés pour le traitement d'une gamme étendue d'infections. C'est pourquoi la spiramycine, la tylosine et la tilmicosine sont très fréquemment utilisés comme médicaments vétérinaires et, par conséquence, des résidus peuvent être retrouvés dans la viande, les abats (foie et rognons), les œufs et le lait. De plus, les délais d'attente pour la viande, les abats, ainsi que le lait sont relativement longs: 21 jours pour la viande et 36–72 heures pour le lait après traitement à la tylosine, et même 28 jours pour la viande et 96 heures pour le lait après traitement à la tilmicosine (2).

Chez l'homme, les réactions indésirées suite à un traitement aux macrolides sont rares, et consistent le plus généralement en de faibles dérèglements gastro-intesti-

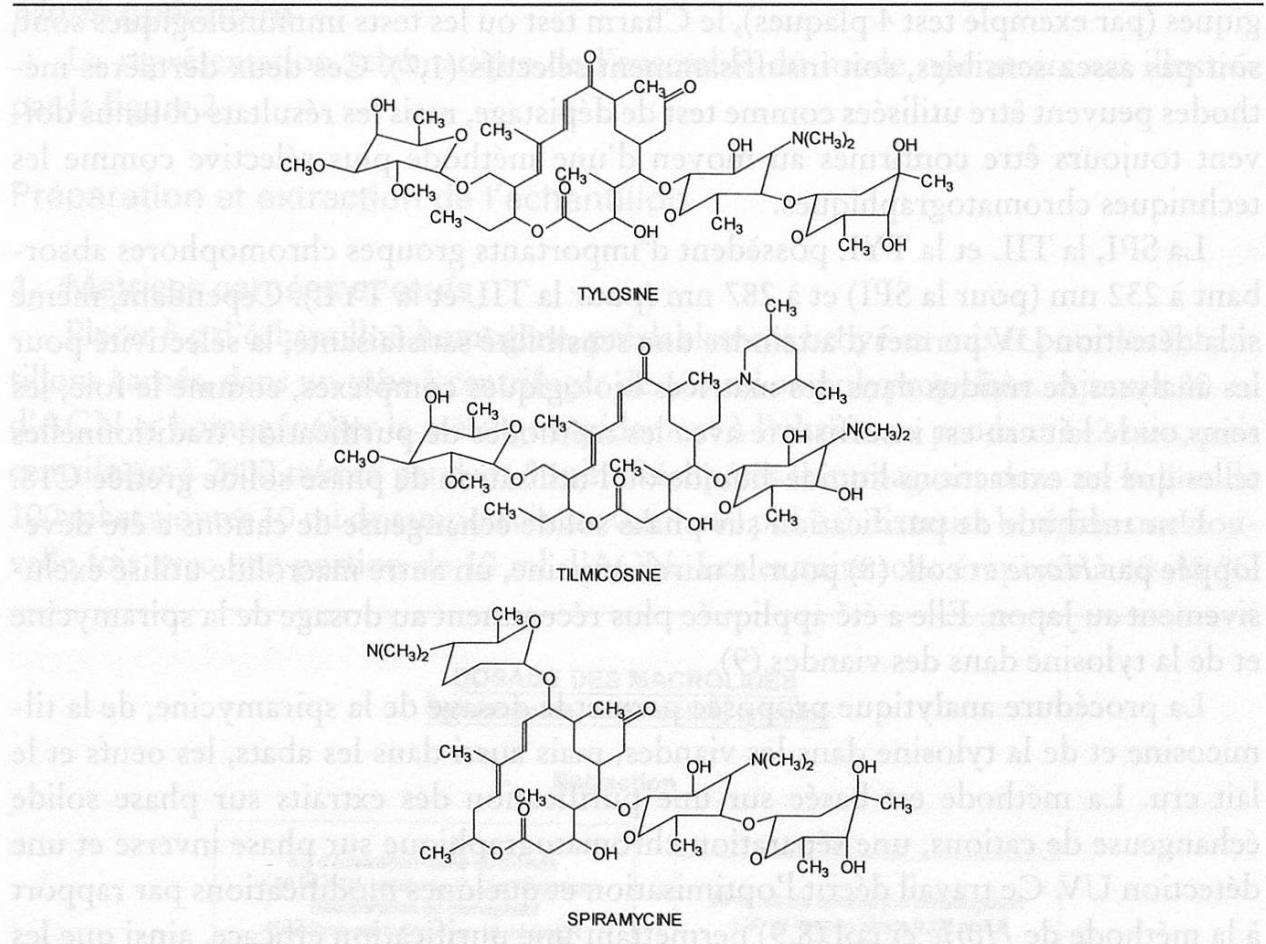


Figure 1 Structure chimique de la spiramycine, tilmicosine et tylosine

naux. Par conséquent, les concentrations en macrolides présentes dans les denrées alimentaires n'ont que très peu d'effets toxiques directs. De plus, aucun cas d'hyper-sensibilité allergique sérieuse, comme il en existe pour les pénicillines, n'a été recensé suite à des utilisations cliniques des ces antibiotiques (3).

L'usage des antibiotiques dans l'agriculture peut causer indirectement des problèmes par l'apparition de bactéries antibio-résistantes. Il a été mis en évidence que la tylosine et la spiramycine peuvent induire des résistances chez des streptocoques, des staphylocoques, des clostridia et des corynebactéries (3-6).

Actuellement, la résistance microbienne aux antibiotiques est en croissance continue et les conséquences sur l'environnement, la chaîne alimentaire et la santé humaine pourraient être considérables. Une surveillance accrue, ainsi qu'une utilisation prudente des antibiotiques, sont une préoccupation majeure de la part des milieux médicaux et vétérinaires. C'est pourquoi, la communauté européenne et la Suisse ont interdit, dès janvier 1999, l'utilisation de la spiramycine et de la tylosine comme promoteur de croissance inclus dans l'alimentation animale.

Pour toutes ces raisons, le contrôle des résidus de spiramycine, de tylosine et de tilmicosine, dans les denrées alimentaires est d'intérêt. Par conséquent, une méthode analytique spécifique, sensible et fiable est nécessaire. Les méthodes microbiolo-

giques (par exemple test 4 plaques), le Charm test ou les tests immunologiques sont, soit pas assez sensibles, soit insuffisamment sélectifs (1,7). Ces deux dernières méthodes peuvent être utilisées comme test de dépistage, mais les résultats obtenus doivent toujours être confirmés au moyen d'une méthode plus sélective comme les techniques chromatographiques.

La SPI, la TIL et la TYL possèdent d'importants groupes chromophores absorbant à 232 nm (pour la SPI) et à 287 nm (pour la TIL et la TYL). Cependant, même si la détection UV permet d'atteindre une sensibilité satisfaisante, la sélectivité pour les analyses de résidus dans des matrices biologiques complexes, comme le foie, les reins ou le lait cru est insuffisante avec les méthodes de purification traditionnelles telles que les extractions liquide-liquide ou l'utilisation de phase solide greffée C18.

Une méthode de purification sur phase solide échangeuse de cations a été développée par *Horie* et coll. (8) pour la mirosamycine, un autre macrolide utilisé exclusivement au Japon. Elle a été appliquée plus récemment au dosage de la spiramycine et de la tylosine dans des viandes (9).

La procédure analytique proposée permet le dosage de la spiramycine, de la tilmicosine et de la tylosine dans les viandes, mais aussi dans les abats, les oeufs et le lait cru. La méthode est basée sur une purification des extraits sur phase solide échangeuse de cations, une séparation chromatographique sur phase inverse et une détection UV. Ce travail décrit l'optimisation et quelques modifications par rapport à la méthode de *Horie* et col (8,9) permettant une purification efficace, ainsi que les caractéristiques qualitatives et quantitatives, telles que la sélectivité, répétabilité, la linéarité, l'exactitude et les limites de détection et de quantification.

Partie expérimentale

Appareillage

- Mixer; tubes à centrifuger de 250 et 125 ml en polypropylène; secoueuse mécanique; centrifugeuses Heraeus Labofuge A et Kontron Centrikon T-124; vortex; pH-mètre; système d'extraction sur phase solide; cartouches SPE SCX, 200 mg (IST, Separtis, Grellingen, CH); flacons à pas de vis, 7 ml, ambrés; HPLC Thermo Separations Products avec détecteurs UV Varian et SSI.

Réactifs

- Méthanol (MeOH), acétonitrile (ACN) pour HPLC (Merck)
- Hexane, pro analysi (SDS)
- Acide orthophosphorique 99 % (Merck)
- Hydrogénophosphate dipotassique tri-hydraté ($K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$), acide citrique monohydraté, citrate trisodique dihydraté (Merck)
- Tylosine tartrate (TYL) (Sigma)
- Spiramycine (SPI) (Sigma)
- Tilmicosine Cis (TIL) (Eli Lilly and Company)

Mode opératoire

La représentation schématique de l'ensemble du mode opératoire est illustrée par la figure 2.

Préparation et extraction de l'échantillon

1. Matrices carnées et œufs

Placer 5 g d'échantillon homogène, préalablement broyé au mixer pour les échantillons carnés, dans un tube à centrifuger de 125 ml en polypropylène. Ajouter 20 ml d'ACN et homogénéiser le mélange rapidement à l'ultraturax pendant 1-2 min, puis centrifuger à 2800 tr/min pendant 5 min. Récupérer le surnageant dans un ballon de 100 ml et ajouter 10 ml de tampon citrate 0,1 mol/l pH 4,0. Extraire le résidu une nouvelle fois avec une portion de 10 ml d'ACN. Les extraits sont évaporés à 40-45 °C

DOSAGE DES MACROLIDES Spiramycine, tilmicosine, tylosine

Extraction

5 g d'échantillon carné ou d'œufs
+ 20 ml ACN, Ultraturax 2, Centrifugation
Récupération du surnageant
Deuxième extraction avec 10 ml d'ACN
Récupération du surnageant
+ 10 ml de tampon citrate 0,1M pH 4,0
Evaporation à 45 °C sous pression réduite
+ 30 ml tampon citrate 0,1 M pH 4,0
Dégraissage avec 20 ml d'hexane

20 ml lait cru écrémé par centrifugation
+ 20 ml tampon citrate 0,1M pH4,0
+ 20 ml d'hexane
Secouuse mécanique 10 min.
Centrifugation 2'800 tr/min 10'
Prélever délicatement 20 ml phase aqueuse

Purification sur phase solide SCX, 200 mg

Activation : 5 ml tampon citrate 0,1M pH 4,0
Charge de l'échantillon
Lavage 5 ml H₂O, 1 ml MeOH
Sécher 5 min
3 ml tampon phosphate 0,1M pH 9,2
Elution 1,5 ml de MeOH
Evaporation à sec sous azote
Reprise 1 ml de tampon phosphate 0,05M pH 4,5

Analyse

Précolonne Lichospher 100-C18 8 x 4 mm, 5 µm
Colonne Inertsil ODS2 RP18-e 150 x 4 mm, 5 µm
Phase mobile : A : tampon phosphate 0,05M pH 2,5/ ACN 80:20
B : ACN
mode gradient
Débit = 0,7 ml/min, T = amb., Vinj = 200 µl
Détection UV : λ_{SPI} = 320 nm ; λ_{TIL} + TYL = 287 nm

Figure 2 Schéma du mode opératoire

sous pression réduite. Après élimination du solvant, placer la phase aqueuse dans une ampoule à décanter de 125 ml. Rincer le ballon avec 30 ml de tampon citrate 0,1 pH 4,0 qui sont joints à la phase aqueuse précédente. Dégraisser cette solution aqueuse avec 20 ml d'hexane, qui sont écartés.

2. Lait cru

Ecrêmer préalablement 50 à 100 ml de lait cru en centrifugeant pendant 30 min à 5 °C et 10 000 tr/min. Prélever délicatement une aliquote de 20 ml de lait maigre dans un tube à centrifuger de 125 ml en polypropylène. Additionner ensuite 20 ml de tampon citrate 0,1 mol/l pH 4,0 et 20 ml d'hexane. Secouer mécaniquement le flacon pendant 10 min, puis centrifuger le mélange pendant 10 min à 2800 tr/min. Prélever ensuite délicatement 20 ml de phase aqueuse claire (phase inférieure) pour la purification.

Purification

Après conditionnement avec 5 ml de tampon citrate 0,1 mol/l pH 4,0, charger l'extrait sur une cartouche échangeuse de cations à greffons benzenesulfoniques de 200 mg (IST). Après passage de l'extrait à faible débit, laver la cartouche avec 5 ml d'eau, puis 1 ml de MeOH. A ce stade, sécher impérativement la cartouche en tirant au vide pendant 2 min. Avant élution, passer lentement (1-2 min minimum) 3 ml de tampon phosphate 0,1 mol/l pH 9,2 sur la cartouche. Eluer ensuite les macrolides par 1,5 ml de MeOH dans des vials ambrés. Evaporer le MeOH à sec sous azote à 35-40 °C. Reprendre finalement le résidu avec 1 ml de solution tampon phosphate 0,05 mol/l pH 4,5. Doser les macrolides par HPLC. Analyser les extraits le jour même et conserver à l'abri de la lumière

Analyse chromatographique

Les paramètres de l'analyse chromatographique sont précisés ci-dessous:

Précolonne LiChrospher RP-18e, 4 x 4 mm, 5 µm

Colonne Inertsil ODS2, RP-18 150 x 4 mm, 5 µm

Phase mobile A: Tampon phosphate 0,05 mol/l pH 2,5/ACN 80/20 v:v

Phase mobile B: ACN

Gradient d'élution:

Temps (min)	A %	B %
0	100	0
12	80	20
14	80	20
15	100	0
20	100	0

Débit = 0,7 ml/min; Température ambiante; Volume d'injection = 200 µl

Détection en ligne à 287 nm pour la tilmicosine et tylosine, à 232 nm pour la spiramycine au moyen de deux détecteurs UV.

Résultats et discussion

Développement de la méthode

Extraction et purification

La solution d'extraction a été choisie de manière à obtenir une bonne extraction des macrolides, une élimination efficace des protéines et de la matière grasse. L'utilisation de solutions tampon à pH 4,0 ou 9,0 n'a pas permis d'éliminer les protéines de manière satisfaisante. La stabilité des macrolides ne permet pas de travailler à des pH plus acides. Par contre, l'ACN a conduit à d'excellents résultats, mais doit, cependant, être éliminé avant l'étape de purification sur phase échangeuse de cations. Toutefois, cette délicate étape ne constitue pas un problème si des conditions douces d'évaporation sont utilisées (40–45 °C sous pression réduite), permettant d'éviter les pertes par formation de mousses (surtout pour les extraits d'abats), et si une solution tampon est ajoutée de manière à éviter une évaporation à sec.

Les extractions liquide-liquide ou sur phase solide sont souvent utilisées pour purifier les extraits biologiques avant une analyse quantitative. Des procédures de purification par extraction liquide-liquide avec du dichlorométhane ont été utilisées pour la spiramycine et la tylosine dans la viande (1,10), mais cette technique s'est révélée inadaptée pour le foie ou les reins du fait de formation d'émulsions trop stables.

L'extraction sur phase solide greffée C18 a également été testée avec de bons résultats pour les échantillons de viande. Cependant, la purification était insuffisante pour les échantillons de foies et de reins, l'extrait final contenant trop de contaminants provenant de la matrice (protéines, acides aminés et lipides). Cette approche n'a pas été satisfaisante même avec des étapes de lavage de la cartouche au moyen de solutions tampon ou de solvants organiques avant l'élution des macrolides.

C'est pourquoi, par analogie avec la procédure déjà développée dans notre laboratoire pour la streptomycine (antibiotique de la famille des aminoglycosides) dans les mêmes matrices (11) ainsi que des travaux de Horie et coll. (8,9), nous avons considéré une autre méthode de purification au moyen d'une cartouche échangeuse de cations (acide benzenesulfonique). La rétention des trois macrolides en milieu tampon citrate 0,1 mol/l pH 4,0 sur des cartouches contenant 200 mg de silice greffée acide benzenesulfonique est complète pour des volumes jusqu'à 50 ml. Pour des volumes supérieurs, on observe de légères pertes de tylosine.

Concernant l'élution, nous avons essayé, dans un premier temps, d'éluer les macrolides avec des solutions tampon acides (jusqu'à pH 2,0) ou basiques (jusqu'à pH 9,0) afin d'éviter une étape supplémentaire d'évaporation. Malheureusement, nous avons observé soit des pertes dues vraisemblablement à des phénomènes de dégradation (surtout pour la spiramycine), soit une faible, voire très faible élution. Afin d'éluer les macrolides de la cartouche, il est en fait nécessaire de les neutraliser au préalable avec un tampon phosphate 0,1 mol/l pH 9,2, puis de les éluer avec du mé-

thanol. Cette neutralisation est une étape prépondérante pour obtenir de bons recouvrements et est effectuée avec 3 ml de solution tampon. De plus faibles volumes mènent à de faibles rendements. Des volumes plus importants ne permettent en fait pas d'améliorer significativement ces derniers. Par contre, passer la solution très lentement à travers la cartouche et laisser agir 1-2 min permet de meilleurs résultats. L'élution est quantitative avec un volume 1,5 ml de méthanol. Cependant, cette étape est également primordiale et il est nécessaire de procéder à cette élution lentement (débit 1 goutte toutes les 1-2 secondes). Ce faible volume d'élution permet de racourcir l'étape suivante, l'évaporation à sec, qui doit être effectuée sous atmosphère d'azote. Comme les premiers extraits de foies et de laits montraient plusieurs pics parasites gênant le dosage chromatographique, nous avons ajouté une étape de lavage de la cartouche avant l'étape de neutralisation au moyen de 1 ml MeOH. Aucune perte significatives en macrolides n'a été constatée lors de cette étape. Par contre, il est absolument nécessaire de sécher la cartouche pendant 5 min en tirant au vide avant de procéder à l'étape de neutralisation. Cette étape supplémentaire de lavage par rapport à la méthode de Horie nous permet d'obtenir des extraits très propres.

Après l'élution et l'évaporation du MeOH, le résidu est repris par 1 ml de tampon phosphate 0,05 mol/l, mais à pH 4,5 pour favoriser la stabilité des macrolides. Une reprise au moyen de la phase mobile (pH 2,5) conduisait en effet à une dégradation rapide de la spiramycine et de la tylosine.

Chromatographie

Les macrolides sont des composés de nature basique possédant un ou plusieurs sucres aminés dans leur molécule et sont de ce fait fortement affectés par les groupes silanols résiduels présents dans les phases des colonnes chromatographiques traditionnelles. C'est pourquoi, afin d'obtenir une forme de pic satisfaisante et limiter la traînée de pic, la colonne analytique qui a été retenue est une phase inverse resilanisée (endcapped ODS). Le choix des conditions adéquates pour la séparation HPLC est principalement dirigé par les groupes ionisables des trois macrolides, à savoir les sucres aminés. L'asymétrie des pics et leurs temps de rétention augmentent avec l'élévation du pH de la phase mobile. Des conditions satisfaisantes sont observées à pH 2,5. Après optimisation dans les diverses matrices, la meilleure phase mobile initiale permettant une bonne séparation de la spiramycine est une solution comprenant 80 % de tampon phosphate 0,05 mol/l à pH 2,5 et 20 % d'ACN. La tilmicosine et la tylosine sont élues avec de bonnes performances chromatographiques en appliquant un gradient d'élution par augmentation du pourcentage d'ACN dans la phase mobile. Ce gradient d'élution permet également d'éliminer des pics endogènes aux matrices éluant plus tardivement. Généralement, les antibiotiques de la famille des macrolides ne sont pas stables en milieu acide, mais aucune dégradation significative de la SPI, TIL ou TYL n'a été observée durant la chromatographie.

La figure 3a présente un chromatogramme typique provenant de l'injection d'un standard contenant 1 mg/kg de SPI et 250 mg/kg de TIL et TYL.

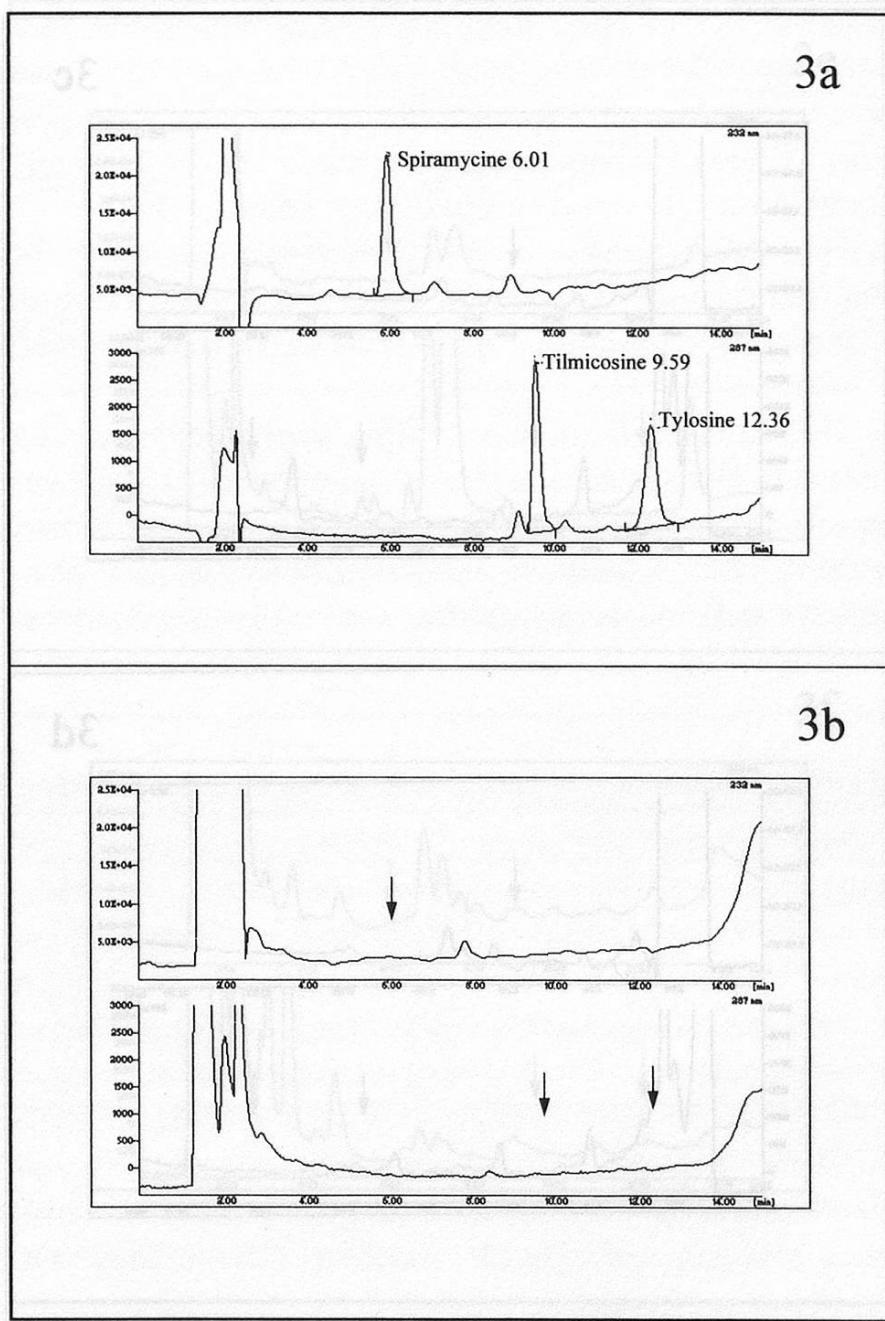


Figure 3 Chromatogrammes d'un standard des trois macrolides a), et d'échantillons sans résidus d'antibiotiques: de viande b), de reins de porc c), de foie de veau d), d'œufs e), et de lait cru f)

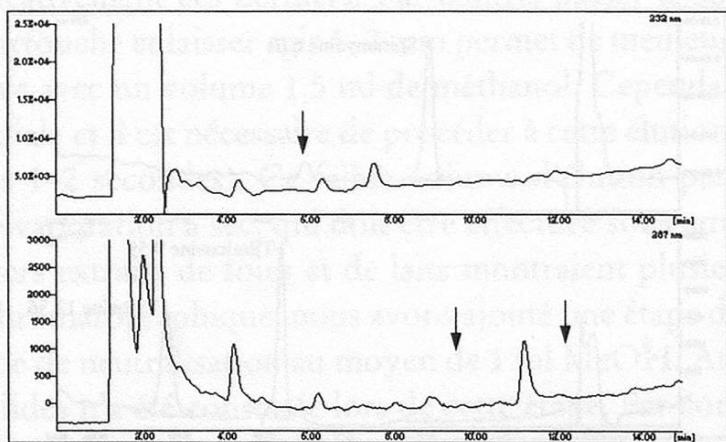
Validation de la méthode

La méthode HPLC a été validée selon les directives du Manuel suisse des denrées alimentaires du 25 avril 1996 (12).

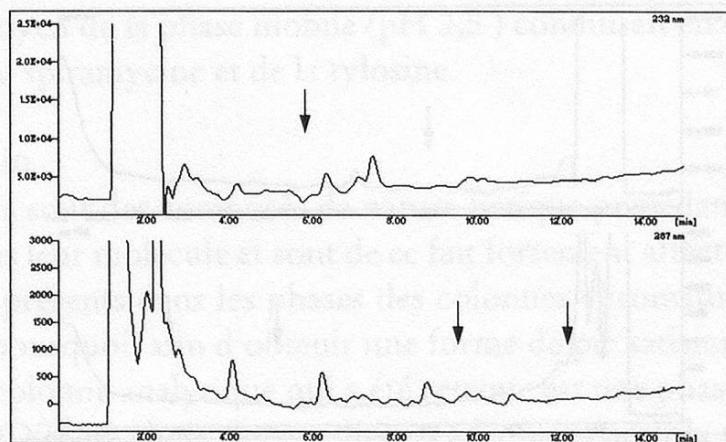
Sélectivité, limites de détection et de quantification

Les figures 3b à 3f présentent les chromatogrammes typiques obtenus pour des échantillons de viande de porc, de reins de porc, de foie de veau, d'œufs et de lait cru.

3c



3d



Les limites de détection et surtout de quantification ont été principalement définies sous l'angle de la sélectivité de la méthode. Le tableau 1 présente les valeurs limites admises pour les macrolides dans les diverses matrices selon l'Ordonnance fédérale sur les substances étrangères et les composants (OSEC), les limites de détection (LD) et de quantification (LQ) de la méthode. Il est à remarquer qu'il n'existe pour l'instant, en Suisse, aucune norme concernant les œufs. L'utilisation des macrolides pour le traitement des poules pondeuses est par ailleurs rigoureusement interdite dans la Communauté européenne.

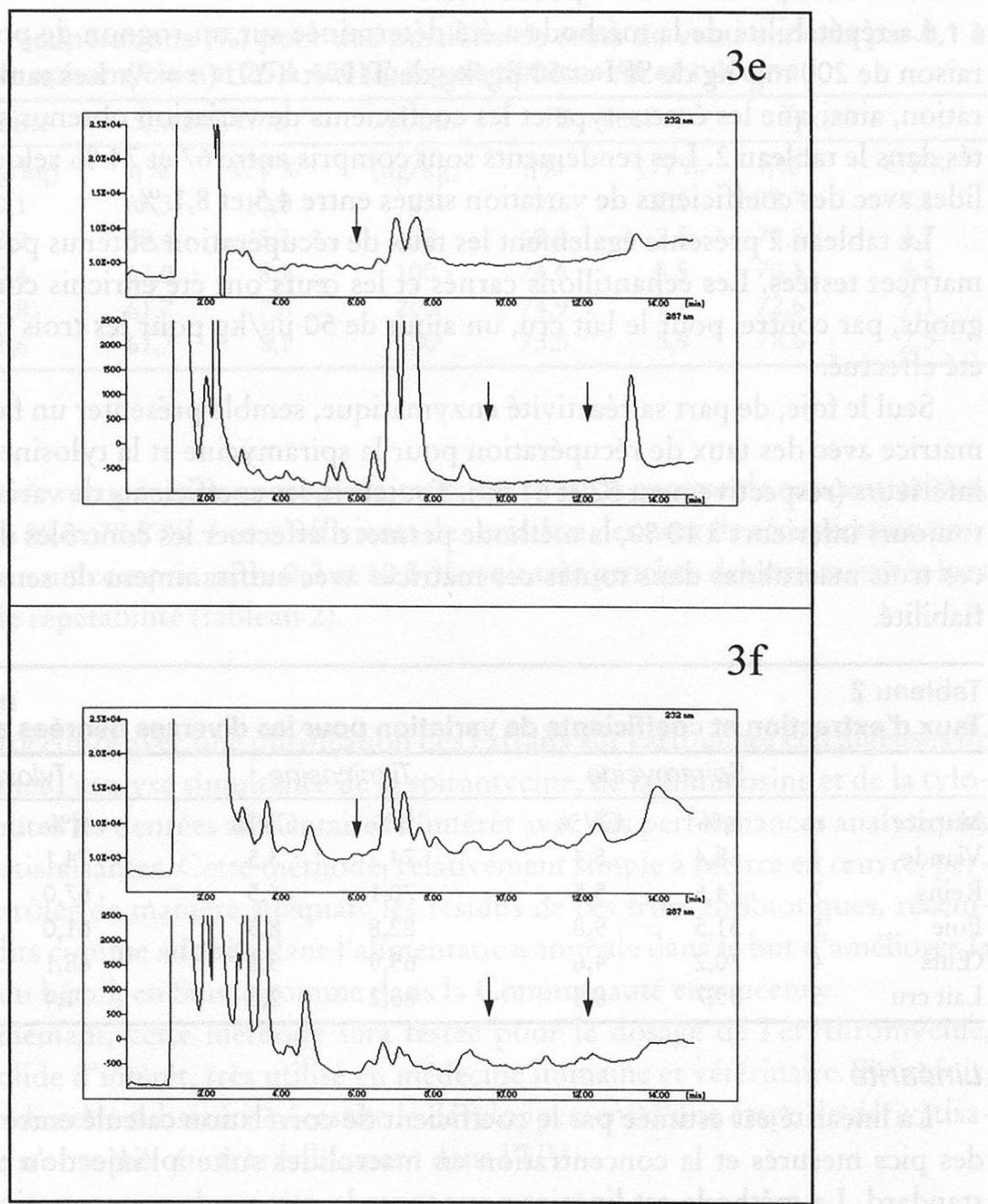


Tableau 1
Valeurs limites admises (VL) pour les résidus de macrolides dans les denrées alimentaires selon l'OSEC, limites de détection (LD) et de quantification (LQ) de la méthode

	Spiramycine ($\mu\text{g/kg}$)			Tilmicosine ($\mu\text{g/kg}$)			Tylosine ($\mu\text{g/kg}$)		
	VL	LD	LQ	VL	LD	LQ	VL	LD	LQ
Viande	300	40	100	50	5	10	100	5	10
Foie	600	40	100	50	10	25	100	10	25
Reins	300	40	100	50	10	25	100	10	25
Œufs	—	40	100	—	10	20	—	10	20
Lait	50	20	40	—	5	10	50	5	10

Taux de récupération et répétabilité

La répétabilité de la méthode a été déterminée sur un rognon de porc enrichi à raison de 200 mg/kg de SPI et 50 µg/kg de TIL et TYL ($n = 7$). Les taux de récupération, ainsi que les écarts-type et les coefficients de variation obtenus sont présentés dans le tableau 2. Les rendements sont compris entre 67 et 74 % selon les macrolides avec des coefficients de variation situés entre 4,5 et 8,1 %.

Le tableau 2 présente également les taux de récupération obtenus pour les autres matrices testées. Les échantillons carnés et les œufs ont été enrichis comme les rognons, par contre, pour le lait cru, un ajout de 50 µg/kg pour les trois macrolides a été effectué.

Seul le foie, de part sa réactivité enzymatique, semble présenter un faible effet de matrice avec des taux de récupération pour la spiramycine et la tylosine légèrement inférieurs (respectivement 52 et 61 %). Toutefois, les coefficients de variation restant toujours inférieurs à 10 %, la méthode permet d'effectuer les contrôles de résidus de ces trois macrolides dans toutes ces matrices avec suffisamment de sensibilité et de fiabilité.

Tableau 2
Taux d'extraction et coefficients de variation pour les diverses denrées alimentaires

Matrice	n	Spiramycine		Tilmicosine		Tylosine	
		η %	CV%	η %	CV%	η %	CV%
Viande	4	68,4	5,4	74,2	3,5	74,1	8,2
Reins	7	74,6	5,5	70,1	4,5	67,0	8,1
Foie	5	51,5	9,8	82,8	8,3	61,0	4,2
Œufs	4	70,2	4,6	65,9	5,6	68,1	5,8
Lait cru	5	59,7	8,8	85,2	2,6	71,4	7,0

Linéarité

La linéarité est estimée par le coefficient de corrélation calculé entre les surfaces des pics mesurés et la concentration en macrolides suite à l'injection de solutions standard. La méthode est linéaire pour toute la gamme de concentrations considérées, c'est-à-dire entre 0,2–4,0 mg/kg de SPI, et 0,05 et 1,0 mg/kg de TIL et TYL. Les coefficients de corrélation obtenus sont bons pour la SPI, TIL et TYL, respectivement de 0,9998, 0,99993, 0,99979. Les tests statistiques montrant l'existence d'une pente significative et une ordonnée à l'origine non significativement différente de 0 sont respectés pour les trois macrolides.

Exactitude

Des portions de 5 g d'un même rognon ont été analysées après enrichissement par des quantités croissantes de macrolides comprises entre 0,1 et 1,6 mg/kg de SPI et 25 et 400 µg/kg de TIL et TYL (tableau 3). L'estimation de l'exactitude est déterminée par le calcul des taux de récupération (concentration mesurée avec une droite d'étalonnage externe par rapport à la concentration théorique) (tableau 3).

Tableau 3

Exactitude: récupérations (%) pour des portions de reins de veau enrichis par 0,1 à 1,6 mg/kg de spiramycine et 25 à 400 µg/kg de tilmicosine et tylosine

n	Ajouts (mg/kg)	Spiramycine		Ajouts (µg/kg)	Tilmicosine		Tylosine	
		η%	CV%		η%	CV%	η%	CV%
3	0,1	63,3	10,5	25	69,3	2,2	78,7	7,1
3	0,2	59,4	5,3	50	69,2	7,5	78,8	3,7
7	0,4	67,0	8,1	100	74,6	5,5	70,1	4,5
3	0,8	61,7	7,6	200	74,9	3,7	72,6	7,1
3	1,6	61,7	8,1	400	73,5	5,9	78,6	7,5

Les taux de récupération sont satisfaisants sur toute la gamme de concentrations, variant entre 59 et 78,8 %. Les coefficients de variation des taux de récupération correspondants sont compris entre 2,2 et 10,5 %, soit très proches de ceux mesurés lors de l'étude de répétabilité (tableau 2).

Conclusion

Cette procédure avec une purification des extraits sur cartouches échangeuses de cations permet l'analyse simultanée de la spiramycine, de la tilmicosine et de la tylosine dans toutes les denrées alimentaires d'intérêt avec des performances analytiques tout à fait satisfaisantes. Cette méthode, relativement simple à mettre en œuvre, permet de contrôler de manière adéquate les résidus de ces trois antibiotiques, récemment interdits comme additifs dans l'alimentation animale dans le but d'améliorer la croissance du bétail, en Suisse comme dans la Communauté européenne.

Prochainement, cette méthode sera testée pour le dosage de l'érythromycine, autre macrolide d'intérêt, très utilisé en médecine humaine et vétérinaire. Toutefois, la détection de cette substance nécessite le développement d'une étape de dérivaturation car elle n'absorbe que très faiblement dans l'UV.

Remerciements

Nous remercions Mme *Christine Riva* pour la partie pratique de certaines analyses.

Résumé

Le présent travail décrit une nouvelle méthode HPLC permettant l'analyse simultanée dans la viande, les abats, les œufs et le lait cru de trois macrolides, la spiramycine, la tilmicosine et la tylosine. Cette procédure comprend, après extraction, une étape de purification sur cartouches échangeuses de cations suivie d'une séparation HPLC sur phase inverse et d'une détection dans l'ultraviolet à 232 et 287 nm. La méthode a été validée quant à sa sélectivité, sa répétabilité, ses taux de récupération, sa linéarité, son exactitude et ses limites de détection et de quantification.

Zusammenfassung

Es wird ein Verfahren für die Bestimmung von Rückständen der drei Makroliden, Spiramycin, Tilmicosin und Tylosin in Leber, Nieren, Fleisch, Eier und Rohmilch beschrieben. Das Verfahren beruht für die Extraktreinigung auf einer Kationenaustauschkartusche und einer HPLC-Trennung und UV-Detektion bei 232 und 287 nm. Die Selektivität, die Wiederfindungsraten, die Nachweis- und Detektionsgrenzen und die relative Wiederholbarkeit wurden bestimmt.

Summary «Analysis by Liquid Chromatography of Spiramycin, Tilmicosin and Tylosin in Food of Animal Origin»

A procedure is presented for the analysis of three macrolides, spiramycin, tilmicosin and tylosin in meat, liver, kidney, eggs and raw milk. The method is based on a cation exchange solid phase extraction clean-up, a separation by liquid chromatography and UV detection at 232 and 287 nm. The procedure is quantitatively characterised and repeatability, linearity, detection and quantification limits are determined.

Key words

Macrolides, Spiramycin, Tilmicosin, Tylosin, Food, HPLC

Bibliographie

- 1 *Horie, M.*: Chemical analysis for antibiotics used in agriculture. In: *Oka, H., Nakazawa, H., Harada, K. and McNeil, J.D.*, AOAC Int., 165–205. Edition Arlington (USA) 1995.
- 2 *Aiello, S.E.*: Merck Veterinary Manual, Eighth Edition, Merck and Co., Inc., 1779–1782. Edition Washington 1998.
- 3 World Health Organization: Thirty-eighth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Technical report series No 815, 31–40, WHO, Geneva 1991.
- 4 *Nicolet, J. et Piguet, A-F.*: La situation de la résistance aux antibiotiques vue de la part du bactériologue. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* **141**, 99–101 (1999).
- 5 *Wilson, R. C.*: Antibiotic residues and the public health. In: *Crawford, L.M. and Franco, D.A.*, Animal drugs and human health, 63–74. Edition Lancaster (USA) 1994.
- 6 *Khachatourians, G.*: Agricultural use of antibiotics and the evolution and transfer of antibiotic-resistant bacteria. *J. Can. Med. Assoc. J.* **159**, 1129–1136 (1998).
- 7 *Kanfer, I., Skinner, M.F. and Walker, R.B.*: Analysis of macrolide antibiotics. *J. Chromatogr. A.* **812**, 255–286 (1998).
- 8 *Horie, M., Saito, K., Nose, N., Oka, H. and Nakazawa, H.*: Determination of mirosamicin in animal tissues by high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. B* **655**, 47–52 (1994).
- 9 *Horie, M., Saito, K., Ishii, R., Yoshida, T., Haramaki Y. and Nakazawa, H.*: Determination of mirosamicin in animal tissues by high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* **812**, 295–302 (1998).
- 10 *Nagata, T. and Saeki, M.*: Comparison of liquid chromatographic and bioassay procedures for determining depletion of intramuscularly injected tylosin. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **68**, 413–416 (1985).

- 11 Edder, P., Cominoli, A. and Corvi, C.: Determination of streptomycin residues in food by solid-phase extraction and liquid chromatography with post-column derivatization and fluorometric detection. *J. Chromatogr. A* **830**, 345–351 (1999).

12 Buxtorf, U.P., Camenzind, R., Gerber, R., Meier, P., Walter, E. und Zürcher, K.: Validierung von Methoden für das Schweizerische Lebensmittelbuch. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* **88**, 202–208 (1997).

Adresse du correspondant: Dr Patrick Edder,
Service de protection de la consommation, 22 Quai Ernest-Ansermet, C.P. 166,
CH-1211 Genève 4, E-mail: patrick.edder@etat-ge.ch