

<b>Zeitschrift:</b>	Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchungen und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
<b>Herausgeber:</b>	Bundesamt für Gesundheit
<b>Band:</b>	94 (2003)
<b>Heft:</b>	6
<b>Artikel:</b>	Potentiel de la LC-ESI-MS/MS pour l'analyse des résidus de médicaments vétérinaires
<b>Autor:</b>	Edder, Patrick / Ortelli, Didier / Corvi, Claude
<b>DOI:</b>	<a href="https://doi.org/10.5169/seals-982004">https://doi.org/10.5169/seals-982004</a>

### **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:** 19.02.2026

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

# Potentiel de la LC-ESI-MS/MS pour l'analyse des résidus de médicaments vétérinaires\*

Patrick Edder, Didier Ortelli et Claude Corvi  
Service de protection de la consommation, Genève, Suisse

## Introduction

Il est aujourd'hui reconnu que les médicaments vétérinaires sont largement employés dans les productions de denrées alimentaires d'origine animale, que ce soit pour des traitements thérapeutiques, préventifs ou alors systématiques pour obtenir un gain de productivité (1, 2). D'une manière générale, on estime que plus de 50 % de la production mondiale des médicaments sont destinés à l'agriculture. Plusieurs types de substances médicamenteuses peuvent être distingués : les antibiotiques comprenant de nombreuses familles (pénicillines, quinolones, tétracyclines, macrolides, etc), les anti-parasitaires, les hormones et les stimulateurs de croissance, les tranquillisants et encore bien d'autres substances à effets divers comme par exemple des anti-inflammatoires, des thyréostatiques, etc. Toutefois, le volume d'utilisation des antibiotiques et des anti-parasitaires est largement supérieur aux autres types de substances médicamenteuses.

La problématique des résidus de ces médicaments vétérinaires dans les denrées alimentaires est un sujet sensible, dont les nombreux scandales de ces dernières années ont été abondamment relayés dans les médias, comme la récente crise des résidus de nitrofuranes dans la volaille et les crustacés d'Asie du Sud-Est et de Chine. Ceci est la conséquence, d'une part de contrôles accrus effectués par les autorités de surveillance au cours de ces dernières années et d'autre part d'un renforcement de la législation en la matière, comme l'établissement de valeur de résidus maximales (MRL) plus sévères, ainsi que par l'interdiction en Suisse et dans l'Union Européenne des modes de production utilisant des hormones et des stimulateurs de croissance anti-microbiens.

\*Conférence présentée le 12 septembre 2003 à Berne lors de la 115<sup>e</sup> assemblée annuelle de la Société suisse de chimie alimentaire et environnementale

Les méthodes d'analyses des résidus de médicaments vétérinaires dans les denrées alimentaires d'origine animale doivent posséder aujourd'hui une grande sensibilité et surtout une très importante sélectivité. En effet, certaines substances actives ou métabolites sont limités dans la législation actuelle au niveau du  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , ce qui nécessite des techniques de détection très sensibles. Cependant le point le plus important concerne la sélectivité. Cette dernière est généralement difficile à obtenir au moyen des méthodes classiques par chromatographie liquide (LC) avec détection UV ou fluorimétrique, car les matrices d'intérêts sont extrêmement complexes, variées et contiennent de nombreuses substances endogènes susceptibles d'interférer lors de l'analyse. Ceci engendre des procédures analytiques longues, complexes, généralement spécifiques à une ou plusieurs substances de la même famille de médicaments (2, 6-7).

De plus, comme le démontre la nouvelle directive européenne EC/657/2002 (16), des exigences de plus en plus sévères au sujet des performances des méthodes analytiques et l'interprétation des résultats pour les analyses de résidus dans les produits d'origine animale apparaissent aujourd'hui. Ces exigences concernent surtout l'aspect de la sélectivité des analyses et impliquent généralement l'utilisation d'une ou plusieurs techniques complémentaires ou de la spectrométrie de masse assortie de conditions bien précises quant au nombre de ions ou de transitions MS/MS nécessaires.

Depuis quelques années, le couplage de la chromatographie en phase liquide avec la spectrométrie de masse, et plus particulièrement l'avènement des détecteurs avec triple quadrupôles, est devenu un outil incontournable pour l'analyse des résidus de médicaments vétérinaires (3-5). La chromatographie liquide couplée avec une interface d'ionisation électrospray et détection par spectrométrie de masse tandem (LC-ESI-MS/MS) de par sa grande sensibilité et surtout sa très grande sélectivité offre alors des perspectives particulièrement intéressantes dans ce domaine d'activité. Cette technique peut être utilisée selon plusieurs modalités: de manière qualitative ou semi-quantitative comme méthode de dépistage ou en tant que confirmation d'une méthode classique LC-UV ou LC-fluorescence; ou alors de manière quantitative comme méthode à part entière.

Ces trois aspects et leur potentiel pour le contrôle des résidus de médicaments vétérinaires dans les denrées alimentaires seront discutés en distinguant non seulement les avantages qu'apportent la LC-ESI-MS/MS, mais aussi les limitations que cette technique comporte.

## **Méthodes d'analyses classiques des résidus de médicaments vétérinaires**

D'une manière générale, l'analyse des résidus de médicaments vétérinaires pose trois problèmes majeurs. Premièrement, les différentes familles de substances médicamenteuses possèdent des structures chimiques très variées. Certaines familles sont constituées de molécules de taille moyenne ( $\sim 300 \text{ g/mol}$ ), d'autres des molécules de taille beaucoup plus importante ( $\sim 700-1000 \text{ g/mol}$ ). Certaines substances ont des

propriétés basiques, d'autres acides, voire les deux (amphotères). Mis à part les hormones, leur seul trait commun réside dans le fait que toutes ces molécules sont très polaires. Leur dosage ne peut donc pas être aisément effectué par chromatographie en phase gazeuse, en tout cas pas sans dérivatisation préalable des fonctions polaires. La méthode séparative de choix est donc généralement la chromatographie en phase liquide. Malheureusement, certaines molécules ne possèdent pas de chromophores (par exemple l'érythromycine), ou leur absorbance n'est pas assez importante et/ou spécifique (par exemple les aminoglycosides) pour permettre une détection sensible dans l'UV ou par fluorescence sans dérivatisation, ce qui implique des méthodes spécifiques à certaines molécules. Le dosage de résidus par une méthode d'analyse unique est donc impossible et les seules méthodes multi-résidus concernent des substances appartenant à une même famille, et sont souvent déjà difficiles à réaliser. Deuxièmement, les matrices d'intérêt sont complexes et variées, comme les viandes, les abats (foie et reins), les œufs, le lait ou encore le miel. Les méthodes doivent donc être très sélectives et si possible applicables à toutes ces matrices. Finalement, les méthodes doivent être également quantitatives, car les teneurs maximales en résidus sont réglementées. De plus, les valeurs de tolérance ou limite fixées par la législation varient énormément selon les substances et les matrices. Les sensibilités requises peuvent donc être très différentes. Les méthodes d'analyse classiques sont donc dans la plupart des cas complexes, longues avec des étapes de purification et parfois de dérivatisation très spécifiques à une famille (2, 6-7).

## **Méthodes LC-ESI-MS/MS et leurs avantages et limitations**

### *Principe de la détection ESI-MS/MS*

Pour être détectable par MS/MS, les molécules doivent être susceptibles de se ioniser, que ce soit positivement ou négativement, et doivent avoir la capacité de donner des fragments représentatifs et abondants. Aucune autre exigence structurale n'est nécessaire, comme par exemple la présence de chromophores, et la grande majorité des médicaments vétérinaires satisfont à ces critères.

La LC-ESI-MS/MS permet de s'affranchir d'un certain nombre des difficultés liées aux méthodes classiques. Un dosage simultané de molécules de structures très différentes est parfaitement réalisable du moment qu'il est possible de les séparer par chromatographie et qu'elles se ionisent dans les mêmes conditions. Dans cet ordre d'idée, certains laboratoires ont développé une méthode permettant l'analyse simultanée d'antibiotiques appartenant à des familles différentes, comme par exemple l'analyse des tétracyclines et des sulfonamides dans le miel (8). Il devient donc possible de développer des méthodes propres à certaines matrices plutôt qu'à chaque famille de substances. La présence de chromophores n'étant plus indispensables à la détection, les étapes de dérivatisation ne sont plus forcément nécessaires. Ceci permet une simplification importante des procédures, une diminution des risques

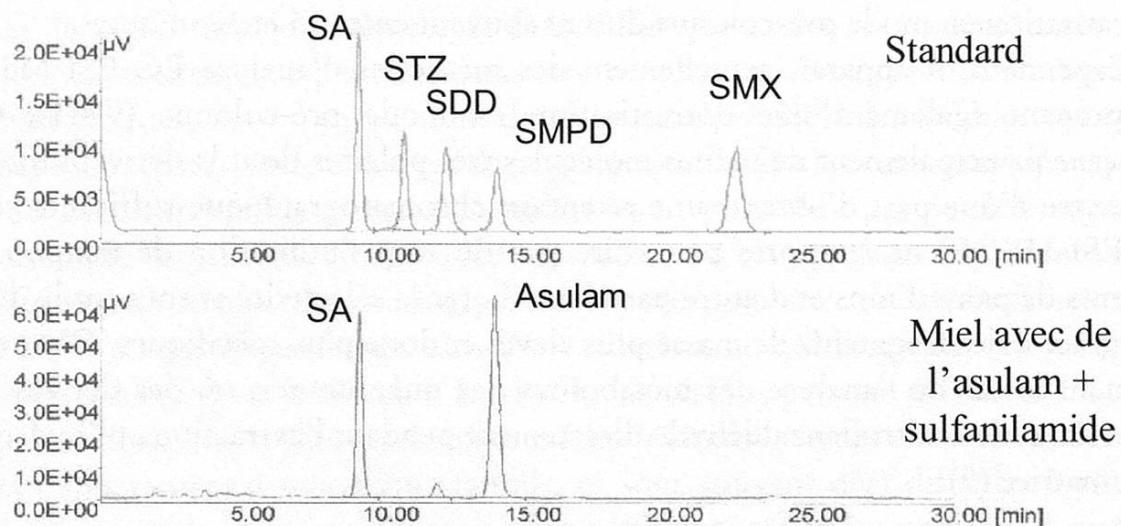
d'erreur et parfois un gain en temps d'analyse important, car certaines réactions de dérivatisation en mode pré-colonne durent souvent entre 15 et 30 minutes.

Cependant, il apparaît actuellement des méthodes d'analyse LC-ESI-MS/MS comprenant également une dérivatisation en mode pré-colonne (9-11). Ceci concerne principalement de petites molécules très polaires dont la dérivatisation va permettre d'une part d'obtenir une rétention chromatographique suffisante car la LC-ESI-MS/MS ne supporte peu voire pas du tout l'utilisation de tampons ou d'agents de paire d'ions et d'autre part d'améliorer la sélectivité et souvent la détection grâce à des fragments de masse plus élevés et donc plus spécifiques. C'est typiquement le cas de l'analyse des métabolites des nitrofuranes, où des dérivés sont formés avec le 2-nitrobenzaldéhyde directement pendant l'extraction et l'hydrolyse de la matrice (9).

### *Sélectivité de la détection MS/MS*

Par définition, la LC-ESI-MS/MS permet d'obtenir une sélectivité très élevée, surtout si l'on travaille en mode MRM (multiple reaction monitoring). Ceci va permettre d'une part de satisfaire aux exigences des nouvelles directives concernant les performances des méthodes d'analyse de résidus et d'autre part de réduire les étapes de préparation des échantillons, les étapes de purification et/ou de dérivatisation qui sont souvent très complexes et coûteuses en temps.

La directive européenne EC/657/2002 donne des critères très précis à respecter pour que l'identification de résidus dans les matrices d'origine animale soit fiable. Si l'on utilise des méthodes d'analyse classique, il est nécessaire de confirmer la présence de la substance par une ou plusieurs méthodes complémentaires basées sur des modes de séparation et/ou de détection différents. Comme vu précédemment, ces méthodes classiques sont généralement très difficiles à mettre au point et à réaliser, l'utilisation d'une deuxième technique classique est donc peu réaliste. Par ailleurs, même l'utilisation de deux techniques d'analyse très différentes peut s'avérer insuffisante et provoquer des erreurs. Un exemple typique est l'analyse des sulfonamides dans le miel. La présence de sulfonamides dans le miel est mise en évidence par de nombreux laboratoire au moyen du Charm II test (11), qui est un test de compétition répondant à la plupart des sulfonamides et couramment utilisé comme méthode de dépistage. Chaque échantillon positif est alors analysé par une méthode classique comprenant une dérivatisation en mode pré-colonne, une séparation par chromatographie liquide et une détection fluorimétrique. La figure 1 présente les chromatogrammes obtenus pour l'injection d'un mélange standard de sulfonamides et d'un extrait de miel positif au Charm II test. Sans une confirmation supplémentaire au moyen de la LC-ESI-MS/MS, on peut conclure que ce miel est contaminé par de la sulfanilamide et de la sulfamethoxypyridazine, or cet échantillon contient en fait de l'asulam, qui est un herbicide autorisé pour le traitement de certains champs et dont le produit de dégradation majeur est la sulfanilamide. L'asulam a une structure de type « sulfonamide », répond donc au Charm II test et à la méthode fluorimétrique

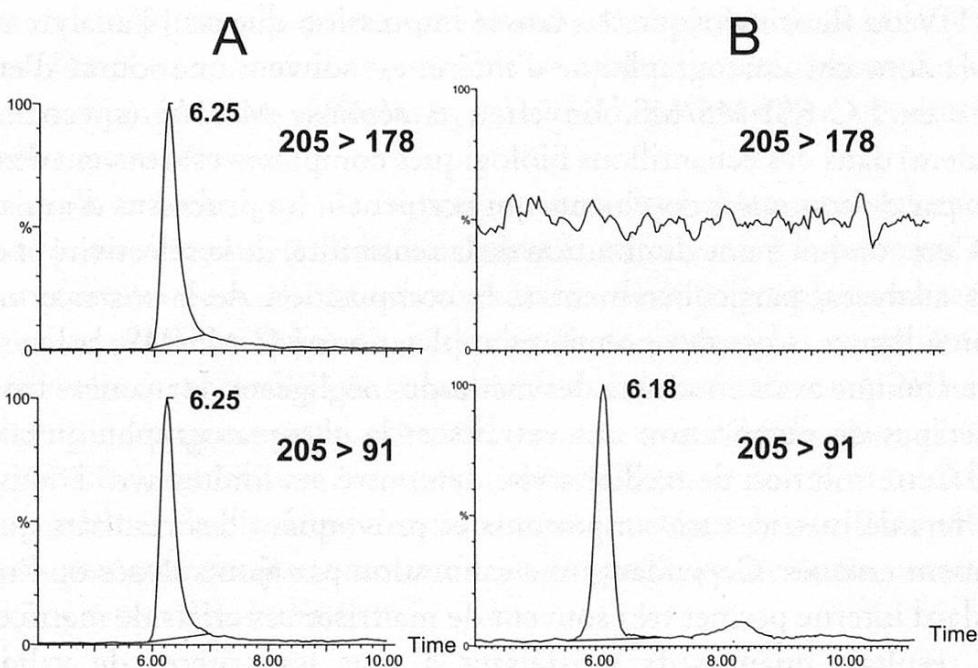


**Figure 1 Chromatogrammes de standard et d'un extrait de miel pour l'analyse des sulfonamides**

Méthode: classique LC-fluorescence avec hydrolyse en milieu acide et purification par extraction liquide-liquide, dérivation en mode pré-colonne au moyen de fluram.

classique, deux techniques complètement différentes. En fait, dans de nombreux cas, les méthodes classiques donnent des résultats très satisfaisants, surtout au niveau quantitatif, mais souffrent d'un certain déficit de sélectivité. Il est donc utile de confirmer sans ambiguïté la présence de la substance suspectée par LC-ESI-MS/MS afin de s'assurer qu'il n'y ait pas d'artefact.

Dans le cas d'une analyse directe par LC-ESI-MS/MS, la sélectivité doit également être assurée par des critères de détection précis, clairement décrits dans la directive EC/657/2002. Cette directive introduit le principe des points d'identification. Un certain nombre de points est donné pour chaque ion ou transitions et selon le type de détecteur utilisé (basse ou haute résolution). Pour garantir l'identification d'une substance autorisée, il faudra un minimum de trois points, et pour une substance interdite un minimum de quatre points. Ceci implique qu'au moyen d'un système LC-ESI-MS/MS basse résolution, il est nécessaire d'observer un signal sur au moins deux transitions complètes pour pouvoir conclure à la présence de la molécule. La figure 2 illustre parfaitement ce problème en présentant les chromatogrammes obtenus sur deux transitions pour l'analyse de l'anti-parasitaire lévamisole par LC-ESI-MS/MS dans un échantillon de viande d'agneau. Un résultat clairement positif est obtenu pour une des transitions, avec un temps de rétention correspondant à celui du lévamisole, toutefois aucun signal n'est observé pour la deuxième transition, qui est d'ailleurs la plus spécifique avec un fragment plus important. D'une manière plus générale, il est important de choisir avec précaution les paires de ions MRM. Fréquemment, l'utilisation de faibles énergies de collision dans les ins-



**Figure 2 Chromatogrammes de standard de lévamisole 0,2 mg/kg (A) et d'un extrait de viande d'agneau (B) pour l'analyse du lévamisole par LC-ESI-MS/MS**

Méthode: extraction à l'acétate d'éthyle après alcalinisation de la matrice, purification par extraction liquide-liquide et analyse LC-ESI-MS/MS. Acquisition sur deux transitions en mode électrospray positif.

truments à triple quadrupôles induisent sur de nombreux composés des pertes non spécifiques d'eau ou de dioxyde de carbone (11). L'utilisation en MRM de ions non spécifiques pour des analyses de matrices biologiques complexe aura comme conséquence de produire des cas de faux positifs et d'augmenter le bruit de fond, donc de diminuer la sensibilité. Dans notre cas, la présence de lévamisole ne peut donc pas être confirmée dans cet échantillon. Il convient toutefois d'être prudent avec ce genre de résultats et de rechercher la présence d'éventuels métabolites.

La remarque précédente permet d'aborder une des limitations de la technique. En effet, à cause de sa très haute sélectivité, seules les substances recherchées spécifiquement seront observées. En effet, comme la détection repose une transition préalablement sélectionnée, la LC-ESI-MS/MS ne permet pas de mettre en évidence des métabolites inconnus ou l'utilisation de nouvelles substances. Par conséquent, il est nécessaire de posséder une connaissance plus approfondie du domaine d'activité, des nouveaux produits thérapeutiques commercialisés et de leurs éventuels domaines d'utilisation par les producteurs de denrées animales. La majeure limitation de cette technique est également liée à sa très haute sélectivité. C'est en quelque sorte le revers de la médaille. En effet, en s'affranchissant des signaux provenant des substances endogènes présentes dans les échantillons, les effets de matrice n'appa-

raissent pas de manière aussi évidente que lors de l'utilisation de méthodes LC avec détection UV ou fluorimétrique. La fausse impression que seul l'analyte recherché élue dans la zone chromatographique d'intérêt est souvent une source d'erreur très importante en LC-ESI-MS/MS. En effet, la réponse MS/MS (spectrométrie de masse tandem) dans des échantillons biologiques complexes est souvent directement influencée par de composés co-éluants qui perturbent les processus d'ionisation des analytes. Ceci conduit à une diminution de la sensibilité, de la sélectivité et de l'exactitude des analyses, particulièrement si la composition de la matrice varie d'un échantillon à l'autre. Lors des premières applications LC-MS/MS, la haute sélectivité de la technique avait conduit à des méthodes négligeant de manière trop importante les étapes de purification des extraits et la chromatographie préalable à la détection. Cette solution de facilité a vite démontré ses limites avec la mise en évidence d'effets de matrices très importants et provoquant des résultats quantitatifs complètement erronés. Cependant, une calibration par ajouts dosés ou l'utilisation d'un standard interne permet très souvent de maîtriser ces effets de matrice et d'obtenir des résultats quantitatifs satisfaisant à tous les critères de validation de méthode. L'usage de standards deutérés est idéal, mais malheureusement ils sont rarement commercialisés et leurs prix sont souvent prohibitifs.

D'une manière plus générale, l'utilisation de la LC-ESI-MS/MS peut simplifier quelque peu les procédures analytiques quant aux étapes de purification, de détection et au niveau de la séparation chromatographique. Toutefois simplifier ne signifie pas qu'il est possible de les éliminer complètement, car les effets de matrices deviennent alors trop importants et aléatoires pour garantir des résultats quantitatifs.

### *Sensibilité de la détection MS/MS*

En fait, la sensibilité de la technique est fortement liée à la capacité d'ionisation des analytes et de la très grande sélectivité. En effet, grâce à un abaissement considérable du bruit de fond, le rapport signal/bruit est souvent très grand comparé à d'autres techniques de détection.

Pour des molécules démontrant une grande sensibilité, il est possible d'utiliser la LC-ESI-MS/MS également comme technique de dépistage. En effet, pour une détermination semi-quantitative, il est possible de réduire de manière importante les étapes de préparation d'échantillons, donc de simplifier considérablement les procédures. Par conséquent, les temps d'analyse vont diminuer et permettre donc de contrôler rapidement de grandes séries d'échantillons. Une application typique actuelle de LC-ESI-MS/MS comme technique de dépistage est la recherche de résidus de quinolones: acide oxolinique, fluméquine, enrofloxacine, danofloxacine, etc. Cette famille d'antibiotique ne répond que très faiblement aux tests de dépistages microbiologiques comme le test quatre plaques, qui demeure le test officiel pour la plupart des instances de contrôle gouvernementales. Il existe quelques test commercialisés type ELISA ou le ROSA test, mais ces derniers sont généralement spécifiques à une ou deux substances comme par exemple l'enrofloxacine et ne

répondent pas aux autres quinolones. Dans ce cas, la LC-ESI-MS/MS constitue une alternative de choix, car elle peut permettre de dépister rapidement la présence de quinolones. De plus, comme il est possible de cibler simultanément des molécules de structures chimiques très différentes, la méthode pourrait être étendue à d'autres types de substances d'intérêt.

L'utilisation de techniques de dépistage rapides et fiables est absolument nécessaire afin de pouvoir contrôler simultanément et efficacement la présence de résidus de plusieurs familles de médicaments vétérinaires dans de grands nombres d'échantillons. Il existe plusieurs types de méthodes de dépistage plus ou moins adaptés à certaines substances ou familles de substances et certaines matrices (12). La LC-ESI-MS/MS a certainement un grand potentiel pour ce type d'application, d'autant plus que les kits ELISA ou Charm test restent très coûteux. Il convient toutefois d'être conscient que le fait de diminuer drastiquement les étapes de purification conduit à des résultats peu quantitatifs et surtout vont exiger du praticien un entretien beaucoup plus important du système.

#### *Rapidité du développement d'une méthode LC-ESI-MS/MS*

Cette technique présente un autre avantage très important et pourtant peut souvent abordé dans les ouvrages de référence : un gain considérable sur le temps dévolu au développement de méthode, ce qui permet une très grande réactivité des laboratoires de contrôle face aux crises alimentaires toujours plus fréquentes mais généralement limitées dans le temps. Comme il est souvent relativement aisé d'obtenir un signal avec une sélectivité satisfaisante, il est possible de développer très rapidement une méthode afin de pouvoir estimer l'ampleur d'un problème et décider, le cas échéant, s'il est utile de mettre en œuvre des procédures d'optimisation et de validation. Cette capacité de réaction permet aux laboratoires de contrôle un meilleur ciblage des méthodes à développer et de pouvoir également répondre rapidement aux pressions des médias et/ou de sa hiérarchie.

#### **Méthodes LC-ESI-MS/MS appliquées en routine**

Comme décrit précédemment, la LC-ESI-MS/MS peut donc être mise en œuvre avec différents objectifs, en tant que méthode de dépistage, de confirmation ou comme méthode d'analyse quantitative à part entière. Afin d'illustrer ce propos, le tableau 1 présente les méthodes LC-ESI-MS/MS utilisées actuellement dans notre laboratoire, leur type d'utilisation ainsi que les limitations que présentaient les techniques classiques correspondantes.

Les techniques classiques d'analyses de sulfonamides, de streptomycine et des tétracyclines donnent d'excellents résultats, mais comme décrit dans le chapitre traitant de la sélectivité, ne permettent pas d'exclure certaines interférences sans une confirmation supplémentaire par LC-ESI-MS/MS. Concernant les tétracyclines, la recherche de ces dernières dans le miel posait de tels problèmes de sélectivité, qu'une méthode d'analyse quantitative à part entière a été développée pour cette application.

Tableau 1

**Limitations des techniques classiques (LC-UV ou LC-fluorescence) d'analyses de médicaments vétérinaires utilisées, et objectifs des méthodes LC-ESI-MS/MS développées en remplacement ou en complément**

Substances	Méthodes classiques	Méthode LC-ESI-MS/MS
Sulfonamides	Manque de sélectivité	Confirmation
Tétracyclines	Manque de sélectivité	Confirmation Analyse quantitative (miel)
Quinolones	Plusieurs méthodes Pas de test de dépistage	Screening Confirmation
Macrolides	Plusieurs méthodes Pas de chromophore pour certaines	Analyse quantitative
Streptomycine	Manque de sélectivité (abats)	Confirmation
Chloramphénicol	Manque de sensibilité et de sélectivité	Analyse quantitative
Nitrofuranes	Manque de sensibilité et de sélectivité	Analyse quantitative
Benzimidazoles et Lévamisole	Plusieurs méthodes Manque de sélectivité et de fidélité	Analyse quantitative
Triphénylméthanes	Problème d'identification	Confirmation

Les quinolones étaient analysées au moyen de deux méthodes distinctes, une pour l'acide oxolinique et la fluméquine, et l'autre pour sept autres fluoroquinolones. La recherche des quinolones dans de grandes séries d'échantillons représentait un travail très long et fastidieux, d'autant plus qu'il n'existe pas de méthode de dépistage. Nous avons donc développé une technique LC-ESI-MS/MS rapide et semi-quantitative qui permet de déterminer les échantillons positifs auxquels nous appliquons ensuite une méthode LC classique.

Les macrolides comprennent des substances avec des chromophores et d'autres comme l'érythromycine et l'oléandomycine qui n'en contiennent pas. Deux méthodes classiques différentes, dont une très complexe, devaient être mises en œuvre pour couvrir l'ensemble des macrolides (13, 14). La LC-ESI-MS/MS ne nécessitant pas la présence de chromophores, une seule méthode est actuellement appliquée pour ce travail.

Les méthodes d'analyses classiques du chloramphénicol et des nitrofuranes souffraient d'un grand manque de sélectivité et de sensibilité que la LC-ESI-MS/MS a pu combler.

Une méthode d'analyse simultanée de huit benzimidazoles, de trois de leurs métabolites et de la lévamisole a été développée par LC-ESI-MS/MS. Ceci a été rendu possible grâce à une simplification des procédures de purification des extraits, indispensables à l'obtention de chromatogrammes propres avec une détection UV,

mais présentant de nombreux problèmes, notamment au niveau des recouvrements et de la fidélité des résultats.

Finalement, pour l'analyse des triphénylméthanes (avec comme cible principale le vert de malachite), la présence de résidus de cristal violet et de vert brillant a été mise en évidence dans quelques échantillons au moyen de la technique classique (15). Ces résultats devaient être confirmés car peu courants.

Bien entendu, le champ d'applications de la LC-ESI-MS/MS est en constante progression et d'autres méthodes seront prochainement développées.

## Conclusions

La LC-ESI-MS/MS est une technique présentant de très nombreux avantages par rapport aux méthodes classiques. Elle permet grâce à sa haute sélectivité de répondre aux critères de performance actuellement exigés pour les analyses de résidus dans les denrées alimentaires d'origine animale.

La LC-ESI-MS/MS peut être utilisée selon divers modes, soit de manière semi-quantitative pour le dépistage ou comme confirmation d'un résultat obtenu par une autre méthode, soit de manière quantitative comme méthode d'analyse à part entière. Dans le premier cas, il sera possible de diminuer de manière importante les étapes de préparation d'échantillons et/ou le soin apporté à la chromatographie, alors que dans le second ces mêmes points, même s'ils peuvent être simplifiés par rapport aux techniques classiques, ne doivent pas être négligés sous peine d'être confrontés à de nombreux problèmes au niveau de l'analyse quantitative avec des effets de matrices importants.

## Résumé

Les méthodes d'analyses des résidus de médicaments vétérinaires dans les denrées alimentaires d'origine animale doivent répondre à de nombreuses exigences: une grande sensibilité et surtout une très importante sélectivité. Cette sélectivité est généralement difficile à obtenir au moyen des méthodes classiques, ce qui engendre des procédures longues, complexes, et généralement spécifiques à quelques substances. De plus, des impératifs de plus en plus sévères au sujet des performances des méthodes analytiques et l'interprétation des résultats pour les analyses de résidus dans les produits d'origine animale apparaissent aujourd'hui. La LC-ESI-MS/MS offre alors des perspectives particulièrement intéressantes dans ce domaine d'activité. Cette technique peut être utilisée selon plusieurs modalités: de manière qualitative ou semi-quantitative comme méthode de dépistage ou en tant que confirmation d'une méthode classique; ou alors de manière quantitative comme méthode à part entière. Ces trois aspects et leur potentiel pour le contrôle des résidus de médicaments vétérinaires dans les denrées alimentaires sont discutés en distinguant non seulement les avantages qu'apportent la LC-ESI-MS/MS, mais aussi les limitations que cette technique comporte.

## **Zusammenfassung**

An die Rückstandsuntersuchungen von Tierarzneimitteln in Lebensmitteln tierischen Ursprungs werden hohe Anforderungen gestellt: wichtig sind eine hohe Empfindlichkeit und vor allem eine sehr gute Selektivität. Mit klassischen Methoden ist diese Selektivität normalerweise nur schwierig zu erreichen, was für einige Substanzen lange, komplexe und spezifische Prozeduren erfordert. Auch werden heute die Vorschriften betreffend Leistungsfähigkeit der analytischen Methoden und der Interpretation der Resultate für Rückstandsanalysen von tierischen Produkten immer strenger. In diesem Arbeitsbereich bietet die LC-ESI-MS/MS besonders interessante Perspektiven. Diese Technik kann als qualitativer oder semi-qualitativer Nachweis, zur Bestätigung einer klassischen Methode oder auch als vollständige quantitative Methode eingesetzt werden. Diese drei Aspekte werden im Hinblick auf ihre Anwendungsmöglichkeit in der Rückstandskontrolle der Tierarzneimittel in Lebensmitteln diskutiert, und dabei nicht nur die Vorteile sondern auch die Grenzen der LC-ESI-MS/MS-Methoden diskutiert.

## **Summary "Potential of LC-ESI-MS/MS for veterinary drug residues analysis"**

Methods for the analysis of veterinary drug residues in food of animal origin must fulfil numerous requirements: a high sensitivity and mainly a high selectivity. This selectivity is generally difficult to achieve with classical analytical methods. Therefore analytical procedures are often complex, time consuming and specific to some substances. Moreover, important requirements concerning the performance of analytical methods and interpretation guidelines of results relative to residues analysis in products of animal origin appear now. LC-ESI-MS/MS gives particularly interesting outlooks for this field of activity. This technique can be used as qualitative or semi-quantitative screening test, as a quantitative method or in order to confirm results obtained with classical methods. These three aspects of the LC-ESI-MS/MS uses, their advantages and also their limitations are discussed in regard to their potential for the survey of veterinary drug residues in food.

## **Key words**

LC-ESI-MS/MS, tandem mass spectrometry, veterinary drug residues, food analysis

## **Bibliographie**

- 1 *Crawford L.M. and Franco D.A.*: Animal drugs and human health. Technomic Publishing Company, Basel (Suisse) 1994
- 2 *Oka H., Nakazawa H., Harada K. and McNeil J.D.*: Chemical analysis for antibiotics used in agriculture. AOAC Int., Edition Arlington (USA) 1995
- 3 *Kennedy D.G., McCracken R.J., Cannavan A. and Hewitt S.A.*: Use of liquid chromatography – mass spectrometry in the analysis of residues of antibiotics in meat and milk. *J. Chromatogr. A* **812**, 77–98 (1998)

- 4 *Niessen W.M.A.*: Analysis of antibiotics by liquid chromatography – mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **812**, 53–75 (1998)
- 5 *Di Corcia A. and Nazzari M.*: Liquid chromatographic – mass spectrometric methods for analyzing antibiotic and antibacterial agents in animal food products. *J. Chromatogr. A* **974**, 53–89 (2002)
- 6 *Bobbitt D.R. and Ng K.W.*: Chromatographic analysis of antibiotic material in food. *J. Chromatogr. A* **624**, 153–170 (1992)
- 7 *Shaikh B. and Moats W.A.*: Liquid chromatographic analysis of antibacterial drug residues in food products of animal origin. *J. Chromatogr. A* **643**, 369–378 (1993)
- 8 *Kaufmann A., Roth S., Ryser B., Widmer M. and Guggisberg D.*: Quantitative Determination of sulfonamides and some other antibiotics in honey. *J.A.O.A.C. Int.* **85**, 853–860 (2002)
- 9 *Leitner A., Zoellner P. and Lindner W.*: Determination of the metabolites of nitrofuran antibiotics in animal tissue by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **939**, 49–58 (2001)
- 10 *Vreeken R.J., Specksnijder P., Bobeldijk-Pastorova I. and Noij T.H.M.*: Selective analysis of herbicides glyphosate and aminomethylphosphonic acid in water by on-line solid phase extraction-high performance liquid chromatography-electrospray ionisation mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **794**, 187–199 (1998)
- 11 *Zoellner P., Leitner A., Joldbauer J., Mayer B. and Lindner W.*: Improving LC-MS/MS analyses in complex food matrices, part II – mass spectrometry. *LC-GC Europe* **16**, 354–362 (2003)
- 12 *Edder P. et Corvi C.*: Utilisation du Charm II test pour le dépistage des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale. *Trav. Chim. Aliment. Hyg.* **92**, 218–228 (2001)
- 13 *Edder P., Cominoli A. et Corvi C.*: Dosage HPLC des résidus de spiramycine, tilmicosine et tylosine dans les denrées alimentaires d'origine animale. *Trav. Chim. Aliment. Hyg.* **91**, 172–185 (2000)
- 14 *Edder P., Coppex L., Cominoli A. and Corvi C.*: Analysis of erythromycin and oleandomycin residues in food by high-performance liquid chromatography with fluorometric detection. *Food Additives Contaminants* **19**, 232–240 (2002)
- 15 *Edder P., Cominoli A. et Corvi C.*: Dosage de résidus de vert de malachite dans les poissons d'élevage par chromatographie de paires d'ions et oxydation en ligne du métabolite leuco-base. *Trav. Chim. Aliment. Hyg.* **88**, 293–304 (1997)
- 16 Commission Decision 2002/657/EC implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results. *Official Journal of the European Communities* **L221**, 8–36 (2002)

Adresse du correspondant : Dr Patrick Edder, Service de protection de la consommation, 22 Quai Ernest-Ansermet, CH-1211 Genève 4, [patrick.edder@etat.ge.ch](mailto:patrick.edder@etat.ge.ch)