



Pêches et Océans
Canada

Fisheries and Oceans
Canada

Sciences des écosystèmes
et des océans

Ecosystems and
Oceans Science

Secrétariat canadien de consultation scientifique (SCCS)

Document de recherche 2021/069

Région de la capitale nationale

Techniques d'extraction chimique pour l'analyse des médicaments, des pesticides et des antibiotiques utilisés par l'industrie aquacole

D. Wong¹, S. Egli², M. Beattie³, F. Page¹, D. Hamoutene⁴

¹Pêches et Océans Canada
Station biologique de St. Andrews
125, promenade Marine Science
St. Andrews (Nouveau-Brunswick) E5B 0E4

²Université Memorial de Terre-Neuve
Centre d'analyse chimique, de recherche et de formation (C-CART)
St. John's (Terre-Neuve) A1B 3X7

GIS Gas Infusion Systems Inc.
157, rue Water
St Andrews (Nouveau-Brunswick) E5B 3V9

⁴Pêches et Océans Canada
200, rue Kent
Ottawa (Ontario) K1A 0E6

Avant-propos

La présente série documente les fondements scientifiques des évaluations des ressources et des écosystèmes aquatiques du Canada. Elle traite des problèmes courants selon les échéanciers dictés. Les documents qu'elle contient ne doivent pas être considérés comme des énoncés définitifs sur les sujets traités, mais plutôt comme des rapports d'étape sur les études en cours.

Publié par :

Pêches et Océans Canada
Secrétariat canadien de consultation scientifique
200, rue Kent
Ottawa (Ontario) K1A 0E6

[http://www.dfo-mpo.gc.ca/csas-sccs/
csas-sccs@dfo-mpo.gc.ca](http://www.dfo-mpo.gc.ca/csas-sccs/csas-sccs@dfo-mpo.gc.ca)



© Sa Majesté la Reine du chef du Canada, 2021
ISSN 2292-4272
ISBN 978-0-660-40721-0 N° cat. Fs70-5/2021-069F-PDF

La présente publication doit être citée comme suit :

Wong, D., Egli, S., Beattie, M., Page, F. et Hamoutene, D. 2021. Techniques d'extraction chimique pour l'analyse des médicaments, des pesticides et des antibiotiques utilisés par l'industrie aquacole. Secr. can. de consult. sci. du MPO Doc. de rech. 2021/069. iv + 48 p.

Also available in English:

Wong, D., Egli, S., Beattie, M., Page, F. and Hamoutene, D. 2021. Chemical extraction techniques for the determination of drugs, pesticides and antibiotics used by the aquaculture industry. DFO Can. Sci. Advis. Sec. Res. Doc. 2021/069. iv + 41 p.

TABLE DES MATIÈRES

| | |
|--|----|
| RÉSUMÉ..... | IV |
| 1. INTRODUCTION | 1 |
| 1.1. TRAITEMENTS CHIMIQUES CONTRE LES POUX DE MER | 1 |
| 1.1.1. Salmosan® 50 WP (p.a. azaméthiphos)..... | 2 |
| 1.1.2. Interlox® Paramove® 50 et AquaparoX 50 (p.a. peroxyde d'hydrogène) | 3 |
| 1.1.3. Slice® (p.a. benzoate d'émamectine) | 4 |
| 1.1.4. Calicide® (p.a. téflubenzuron)..... | 5 |
| 1.2. OPTIONS DE TRAITEMENT NON APPROUVÉES CONTRE LES POUX DE MER | 5 |
| 1.2.1. AlphaMax® (p.a. deltaméthrine) | 5 |
| 1.2.2. Excis® (p.a. cyperméthrine)..... | 6 |
| 1.3. AUTRE OPTION DE TRAITEMENT CONTRE LES POUX DE MER | 6 |
| 1.3.1. Imvixa® (p.a. lufénuron)..... | 6 |
| 1.4. ANTIBIOTIQUES UTILISÉS PAR L'INDUSTRIE AQUACOLE | 7 |
| 2. CONSIDÉRATIONS RELATIVES À L'ÉCHANTILLONNAGE | 10 |
| 2.1. PROCÉDURES UNIFORMISÉES..... | 10 |
| 2.2. ÉCHANTILLONNAGE DES SÉDIMENTS..... | 10 |
| 2.3. ÉCHANTILLONNAGE DE L'EAU..... | 11 |
| 2.4. MANIPULATION DES ÉCHANTILLONS | 11 |
| 3. TECHNIQUES D'EXTRACTION CHIMIQUE | 11 |
| 3.1. APERÇU | 11 |
| 3.2. EXTRACTION LIQUIDE-LIQUIDE (ELL) | 13 |
| 3.3. EXTRACTION EN PHASE SOLIDE (EPS) | 14 |
| 3.4. EXTRACTION SOXHLET ET PAR LIQUIDE PRESSURISÉ (ELP)..... | 15 |
| 3.5. RAPIDE, FACILE, BON MARCHÉ, EFFICACE, ROBUSTE ET SÛRE (QUECHERS) .. | 16 |
| 4. IMPORTANCE DE L'ACCREDITATION ET DE LA VALIDATION DES MÉTHODES..... | 22 |
| 4.1. ACCREDITATION SELON LA NORME ISO/CEI 17025..... | 22 |
| 4.2. VALIDATION DE LA MÉTHODE..... | 23 |
| 4.2.1. Poids des sédiments humides par rapport au poids des sédiments secs..... | 26 |
| 4.2.2. Pesticides liés | 27 |
| 5. RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS..... | 29 |
| 6. RÉFÉRENCES CITÉES | 30 |
| 7. ANNEXE | 35 |
| 7.1. ÉLABORATION ET VALIDATION DE LA MÉTHODE PAR UN LABORATOIRE SOUS- TRAITANT DU MPO | 35 |

RÉSUMÉ

L'industrie de la pisciculture utilise un large éventail d'agents chimiothérapeutiques allant des traitements contre les poux de mer aux antibiotiques dans la production de ses produits commercialisés. L'effet de ces composés sur les organismes non ciblés, associé à leur potentiel de persistance dans l'environnement, est une préoccupation majeure et la réduction au maximum de leur utilisation est l'objectif d'un régime de réglementation en cours d'élaboration par Pêches et Océans Canada (MPO). Une quantification précise des concentrations de contaminants est essentielle pour déterminer si les normes de qualité de l'environnement (NQE) ont été dépassées. Généralement, les traitements contre les poux de mer et les antibiotiques utilisés en aquaculture ont été adoptés de pratiques d'élevage terrestre, ce qui se reflète dans le nombre de méthodes d'analyse disponibles pour l'analyse de leurs principes actifs (p.a.) dans le sol et les milieux d'eau douce par rapport au milieu marin. Les méthodes d'extraction traditionnelles utilisent de grands volumes de solvants nocifs pour la santé humaine et l'environnement, nécessitent beaucoup de travail et de temps ou sont coûteuses en raison du coût des instruments. Récemment, une nouvelle technique mise au point, appelée QuEChERS, un acronyme pour « quick, easy, cheap, effective, rugged and safe » (rapide, facile, bon marché, efficace, robuste et sécuritaire), gagne en popularité pour les extractions multiclassées et multirésidus à partir de diverses matrices en raison de sa méthodologie simple. Quelle que soit la méthode d'analyse créée ou sélectionnée pour l'analyse courante des échantillons, elle doit être soumise à une procédure de validation pour démontrer sa robustesse et son adéquation pour l'objectif attendu. Dans les cas de prise de décision et d'application de la réglementation où les résultats d'analyse pourraient être présentés au tribunal dans le cadre d'une poursuite judiciaire, il est essentiel que la méthode d'analyse soit également accréditée selon la norme ISO/CEI 17025, ce qui garantit que les procédures employées par le laboratoire d'analyse respectent un ensemble de directives réglementaires strictes. Si la méthode d'analyse doit être utilisée uniquement à des fins de surveillance, la validation est toujours considérée comme essentielle, mais pas l'accréditation.

1. INTRODUCTION

Le ministère des Pêches et des Océans (MPO) élabore actuellement un régime de réglementation visant à réduire au maximum les effets de l'utilisation de médicaments et de pesticides dans l'aquaculture en parcs en filet sur des organismes non ciblés, comme il s'y est engagé dans le Résumé de l'étude d'impact de la réglementation du *Règlement sur les activités aquacoles* (RAA) de 2015 (Gazette du Canada 2014). À l'instar du régime de RAA déjà en place (qui sera intégré au futur *Règlement général sur l'aquaculture* [RGA]), le cadre de réglementation pour l'évaluation des rejets de pesticides et de médicaments sera axé sur un site aquacole (pas une baie ou un groupe de fermes) et fondé sur les risques, selon le principe actif (p.a.) utilisé. Les documents d'examen préparés et les avis scientifiques générés lors de la réunion du Secrétariat canadien de consultation scientifique (SCCS) éclaireront la conception d'un programme de surveillance des médicaments et des pesticides qui comprendra une évaluation avant incidences (modélisation prédictive), un plan d'échantillonnage après rejet et une évaluation de la conformité. Le présent document donne un aperçu de certaines techniques d'analyse établies disponibles pour l'extraction de pesticides et de substances thérapeutiques actuellement ou précédemment utilisés par l'industrie aquacole à partir d'échantillons de sédiments prélevés autour des sites de cages et aidera à orienter la gestion de l'aquaculture dans les futures exigences en matière d'analyses chimiques.

La demande mondiale croissante de produits de la mer (poissons, mollusques, etc.) a fait en sorte que la production aquacole a dépassé la pêche sauvage en matière d'offre (FAO 2018). Au Canada, environ 45 espèces de poissons et de mollusques sont élevées, les principales étant le saumon de l'Atlantique, la truite arc-en-ciel, l'omble chevalier, les palourdes, les moules et les huîtres (Pêches et Océans Canada 2014). Parmi ces espèces, la plus importante sur le plan financier est le saumon de l'Atlantique (*Salmo salar*), dont la production annuelle dépassait 120 000 tonnes en 2017 (Pêches et Océans Canada 2019). À l'échelle mondiale, le Canada est le quatrième producteur de saumons de l'Atlantique derrière la Norvège, le Chili et l'Écosse, la production se situant principalement dans la région atlantique (Nouveau-Brunswick, Nouvelle-Écosse et Terre-Neuve-et-Labrador) et sur la côte ouest (Colombie-Britannique). Pour répondre à la forte demande de saumon de l'Atlantique sur les marchés intérieurs et d'exportation, la production repose sur un élevage intensif dans des éclosiers en eau douce et des installations de cages en filet en mer. En raison de la biomasse élevée des poissons et des contraintes liées à ces pratiques d'élevage, des pesticides et des antibiotiques sont couramment utilisés pour traiter les poissons contre la prévalence de parasites et de maladies pendant le cycle de production. Tous les agents chimiothérapeutiques utilisés par l'industrie aquacole ont été adoptés de l'agriculture terrestre et de traitements à usage humain et vétérinaire. Par conséquent, des recherches approfondies ont été menées sur leur toxicité, leurs effets sur l'environnement (sol terrestre et eau douce) et leur persistance dans les aliments (fruits et légumes frais et viande d'élevage). Toutefois, peu de recherches ont été menées pour étudier ces paramètres en milieu marin.

1.1. TRAITEMENTS CHIMIQUES CONTRE LES POUX DE MER

Les principaux parasites marins touchant la salmoniculture sont les copépodes parasites externes (poux de mer) *Lepeophtheirus salmonis* et *Caligus elongatus*. Au Canada, au moment de la rédaction, il existait cinq produits chimiques approuvés par Santé Canada qui peuvent être utilisés pour lutter contre ces parasites : Salmosan®, Paramove® 50, Aquaparox 50, Slice® et Calicide®. D'autres produits chimiques sont disponibles. AlphaMax® a obtenu une homologation d'urgence de l'automne 2009 à l'été 2010 dans le sud-ouest du Nouveau-Brunswick, mais cette substance et Excis® ne sont pas encore approuvés au Canada. Imvixa® peut être demandé

pour un usage d'urgence dans le cadre du programme de distribution de médicaments d'urgence (DMU) [Pêches et Océans Canada 2018] ou à des fins d'étude si un chercheur obtient un certificat d'études expérimentales (ACFFA 2019).

Pêches et Océans Canada (MPO) a retenu les services d'un laboratoire (annexe) pour élaborer et valider une méthode d'analyse permettant de quantifier les concentrations de principes actifs des formulations contre les poux de mer ainsi que de certains antibiotiques (tableau 1) dans des échantillons de sédiments marins prélevés.

Tableau 1. Composés d'intérêt connus pour l'élaboration et la validation de la méthode (annexe), ainsi que pour la surveillance après rejet.

| Traitements contre les poux de mer et modes d'application | | Métabolite | Antibiotiques |
|--|--------------------------------------|---|----------------------------|
| En bain | Dans l'alimentation | | |
| Interox® Paramove® 50 et Aquaparox 50 (peroxyde d'hydrogène ⁺) | Slice® (p.a. benzoate d'émamectine*) | Métabolite déméthylé du benzoate d'émamectine | Érythromycine [#] |
| Salmosan® (p.a. azaméthiphos) | Calicide® (p.a. téflubenzuron) | | Florfenicol |
| AlphaMax® (p.a. deltaméthrine) | Imvixa® (p.a. lufénuron) | | Sulfadiazine |
| Excis® (p.a. cyperméthrine) | Abamectine | | Sulfadiméthoxine |
| | Ivermectine | | Triméthoprim |
| | | | Amoxicilline |
| | | | Oxytétracycline |

+ = détermination analytique non effectuée – voir section 1.1.2.

* = détecté et quantifié par le laboratoire sous-traitant (annexe) sous forme d'émamectine (base libre) et non de sel de benzoate

= détectée et quantifiée par le laboratoire sous-traitant (annexe) sous forme d'érythromycine-H₂O (métabolite de l'anhydroérythromycine)

1.1.1. Salmosan® 50 WP (p.a. azaméthiphos)

Le Salmosan® 50 WP (Fish Vet Group, n° d'homologation de l'ARLA 32506) est une formulation en poudre mouillable contenant une concentration de 50 % (p/p) du principe actif azaméthiphos (phosphorothioate de S-[(6-chloro-2-oxo[1,3]oxazolo[4,5-b]pyridin-3(2H)-yl)méthyle] et de O,O-diméthyle; n° CAS 35575-96-3; log K_{oe} = 1,05; figure 1) [BCPC 2018]. L'azaméthiphos est un composé organophosphoré qui agit comme inhibiteur de la cholinestérase. Il a d'abord été élaboré comme un insecticide pour lutter contre les mouches, les moustiques, les mouches tsé-tsé et d'autres parasites (BCPC 2018), mais a depuis été adopté pour l'aquaculture. Le Salmosan® est appliqué comme traitement en bain dans des cages en filets bâchées ou des bateaux viviers à une concentration de 0,1 ppm d'azaméthiphos pendant 30 min ou jusqu'à 60 min (température de l'eau > 10 °C ou < 10 °C, respectivement) [Burrige 2013]. En raison de son faible log K_{oe}, l'azaméthiphos est très soluble dans l'eau et donc plus susceptible de rester dans la colonne d'eau plutôt que de se fixer à la matière organique, comme les sédiments du fond marin. La poudre pour suspension Salmosan Vet® 50 % p/p est une nouvelle formulation (Fish Vet Group 2018) créée par le fabricant, qui permet une plus longue période de traitement à des températures de l'eau plus élevées (1 h jusqu'à 15 °C) à la même concentration (0,1 ppm

d'azaméthiphos). Cette nouvelle formulation a également une durée de conservation accrue pouvant aller jusqu'à 24 mois, mais n'avait pas été homologuée par l'Autorité de réglementation de la lutte antiparasitaire (ARLA) pour une utilisation au Canada au moment de la rédaction du présent document.

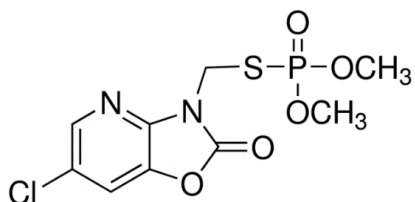
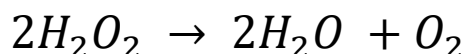


Figure 1. Structure chimique de l'azaméthiphos.

1.1.2. Interox® Paramove® 50 et Aquaparox 50 (p.a. peroxyde d'hydrogène)

L'Interox® Paramove® 50 (Solvay, n° d'homologation de l'ARLA 31393) et l'Aquaparox 50 (Alpha Chemical Ltd., n° d'homologation de l'ARLA 32401) sont des formulations contenant 50 % de peroxyde d'hydrogène (n° CAS 7722-84-1; log K_{oe} = -1,57) [Pesticide Properties DataBase 2018] qui sont appliqués comme traitements en bain dans les bateaux viviers. Le peroxyde d'hydrogène est un agent oxydant puissant utilisé principalement dans l'industrie des pâtes et papiers comme agent de blanchiment, dans la fabrication de détergents comme désinfectant et également comme propergol. En aquaculture, il est utilisé comme traitement fongique dans les écloséries en eau douce et comme traitement contre les poux de mer dans les cages marines. Les traitements contre les poux de mer sont effectués dans des bateaux viviers. Pour l'Interox® Paramove® 50, le régime de traitement recommandé est à une concentration de 1200 à 1800 mg p.a./L pendant un maximum de 40 minutes à une température de l'eau > 10 °C à < 14 °C. Un régime semblable est recommandé pour l'Aquaparox 50, soit une concentration de 1200 à 1800 mg p.a./L pendant un maximum de 30 minutes selon la température de l'eau. Des rapports semblent indiquer que le mode d'action est la formation de bulles d'oxygène dans l'intestin et l'hémolymphe du pou de mer, ce qui entraîne sa paralysie et subséquemment son détachement du saumon (Bruno et Raynard 1994).

Le peroxyde d'hydrogène est très réactif et se décompose facilement pour former de l'eau et de l'oxygène.



Bien que le peroxyde d'hydrogène soit actuellement utilisé comme traitement contre les poux de mer, l'analyse de ce composé dans des échantillons de sédiments prélevés par le laboratoire sous-traitant du MPO (annexe) a été jugée peu pratique en raison des facteurs suivants :

1. une courte demi-vie dans l'eau de mer de 28 jours à 10 °C (Lyons et coll. 2014);
2. un faible log K_{oe} indiquant qu'il demeurera en phase aqueuse et ne sera donc pas persistant dans l'environnement dans les sédiments;
3. la dilution et la dispersion rapides du panache rejeté en raison des courants océaniques;
4. la substance est naturellement présente à de faibles concentrations dans l'environnement en raison de réactions photochimiques avec la matière organique et de la formation biologique (Cooper et coll. 1988).

1.1.3. Slice® (p.a. benzoate d'émamectine)

Le Slice® (Intervet International B.V.) est une formulation de prémélange contenant 0,2 % de benzoate d'émamectine (benzoate de (4''R)-4''-désoxy-4''-(méthylamino)avermectine B1, no CAS 155569-91-8; log K_{oe} = 5,0; pH 7; figure 2), qui est incorporée dans les aliments pour poissons. L'application se fait par traitement intégré à l'alimentation à la dose recommandée de 50 µg de benzoate d'émamectine/kg/jour pendant sept jours consécutifs (MSD Animal Health 2012). L'émamectine perturbe la modulation des canaux chlorure glutamate-dépendants (BCPC 2018) et donc l'influx nerveux, ce qui entraîne une paralysie des poux de mer, leur détachement du poisson-hôte et leur mort. L'émamectine est constituée de deux homologues :

- (4''R)-4''-désoxy-4''-(méthylamino)avermectine B1a, ≥ 90 % d'abondance (figure 3a).
- (4''R)-4''-désoxy-4''-(méthylamino)avermectine B1b, ≤ 10 % d'abondance (figure 3 b).

En raison du mode d'application, le principe actif contenu dans tout aliment médicamenteux non consommé déposé sur le fond marin peut avoir un effet sur la faune benthique. Les fèces contenant un composé parent non métabolisé lorsqu'elles se déposent sur le fond marin pourraient également constituer une voie potentielle d'effet sur l'environnement. Le coefficient de partage octanol/eau du benzoate d'émamectine est élevé (log K_{oe} = 5,0, pH 7) (BCPC 2018), ce qui indique qu'il a tendance à se déposer sur la matière organique comme les sédiments et est donc plus persistant dans l'environnement que l'azaméthiphos et le peroxyde d'hydrogène, avec une demi-vie dans les sédiments marins de 164 à 175 jours (Bright et Dionne 2005).

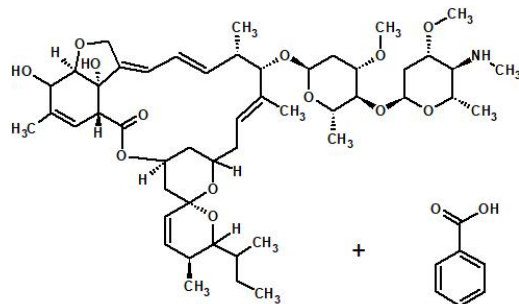


Figure 2. Structure chimique du benzoate d'émamectine.

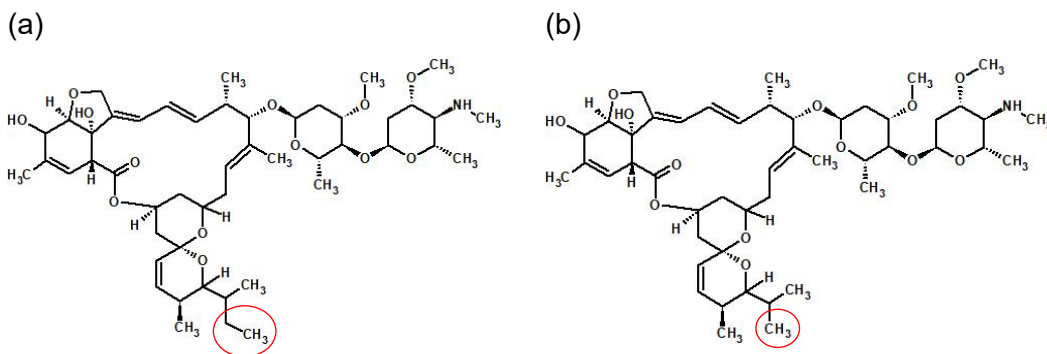


Figure 3. Structures chimiques des homologues de l'émamectine, (a) l'émamectine B1a et (b) l'émamectine B1b.

1.1.4. Calicide® (p.a. téflubenzuron)

Le téflubenzuron (no CAS 83121-18-0, 1-(3,5-Dichloro-2,4-difluorophényl)-3-(2,6-difluorobenzoyl)urée, $\log K_{oe} = 4,98$; pH 5; figure 4) est un inhibiteur de croissance systémique qui cible la synthèse de la chitine et perturbe la mue de l'exosquelette des organismes cibles. Sur terre, il est utilisé pour lutter contre une vaste gamme de ravageurs des cultures, notamment les papillons de nuit, les papillons, les coléoptères, les mouches et les pucerons (BCPC 2018). Au Royaume-Uni, il est approuvé pour la salmoniculture et commercialisé sous le nom de Calicide® à une dose de 10 mg/kg pendant sept jours consécutifs après son incorporation dans les aliments granulés pour poissons (Comité des médicaments vétérinaires 1999). Comme pour le benzoate d'émamectine (Slice®), il est fort possible que le téflubenzuron se lie aux sédiments et persiste dans l'environnement en raison de son mode d'application et de sa valeur élevée de $\log K_{oe}$. Ce traitement ne cible que les premiers stades de vie du pou de mer et doit donc être utilisé en association avec des traitements en bain pour traiter pleinement tous les stades de vie du parasite. En raison de son utilisation limitée par l'industrie, le fabricant ne fournit plus ce produit au Canada atlantique (ACFFA 2019), ce qui fait en sorte que son numéro d'identification du médicament (DIN) est devenu inactif.

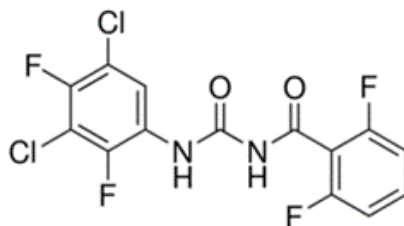


Figure 4. Structure chimique du téflubenzuron.

1.2. OPTIONS DE TRAITEMENT NON APPROUVÉES CONTRE LES POUX DE MER

Deux autres produits chimiques utilisés pour lutter contre les poux de mer sont l'AlphaMax® et l'Excis®, bien que leur utilisation n'était pas approuvée au Canada au moment de la rédaction du présent document. L'AlphaMax® a cependant reçu une homologation d'urgence de l'automne 2009 à l'été 2010 (Burrige et Van Geest 2014) dans le sud-ouest du Nouveau-Brunswick. Ces composés ont été inclus dans le présent rapport à des fins d'information générale, car les autorités de réglementation canadiennes s'y intéressent toujours.

1.2.1. AlphaMax® (p.a. deltaméthrine)

La deltaméthrine (figure 5) est un pyréthroïde synthétique (n° CAS 52918-63-5; (1R,3R)-3-(2,2-Dibromovinyl)-2,2-diméthylcyclopropanecarboxylate de (S)-cyano(3-phénoxyphényl)méthyle; $\log K_{oe} = 4,6$). Il s'agit d'un pesticide non systémique à action par contact et par ingestion qui perturbe les canaux sodiques et empêche ainsi la transmission des signaux nerveux (BCPC 2018). La formulation est un concentré de 10 mg de deltaméthrine/mL qui est utilisé comme traitement en bain à une concentration cible de 2 μg de deltaméthrine/L d'eau de mer dans des cages bâchées pendant 30 minutes. La valeur élevée du $\log K_{oe}$ de la deltaméthrine indique qu'elle a une affinité avec la matière organique; elle risque donc de se lier au milieu sédimentaire et d'y persister après la dispersion et la dilution du panache de traitement.

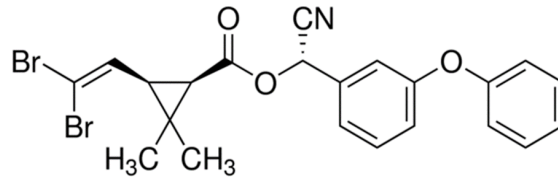


Figure 5. Structure chimique de la deltaméthrine.

1.2.2. Excis® (p.a. cyperméthrine)

La cyperméthrine (figure 6) est un pyréthroïde synthétique (n° CAS 52315-07-8; 3-(2,2-Dichlorovinyl)-2,2-diméthylcyclopropanecarboxylate de cyano(3-phénoxyphényl)méthyle; $\log K_{oe} = 5,55$). Elle est vendue sous la marque Excis® (Norvartis Animal Health, Norvège) et utilisée comme traitement en bain pour lutter contre les poux de mer. L'Excis® n'a jamais été approuvé pour une utilisation dans l'industrie aquacole canadienne. Comme la deltaméthrine, la cyperméthrine est un insecticide non systémique qui agit par contact et par ingestion, mais qui a également un effet antiappétant (BCPC 2018). La valeur du $\log K_{oe}$ de la cyperméthrine est supérieure à celle de la deltaméthrine, ce qui indique qu'elle aura une plus grande affinité pour la matière organique. Il y aurait donc un risque de persistance dans l'environnement dans les sédiments si son utilisation était approuvée au Canada.

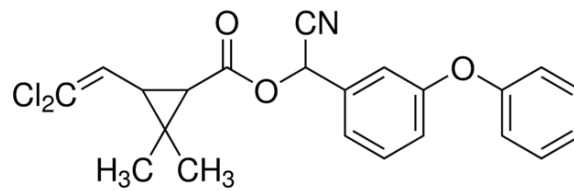


Figure 6. Structure chimique de la cyperméthrine.

1.3. AUTRE OPTION DE TRAITEMENT CONTRE LES POUX DE MER

1.3.1. Imvixa® (p.a. lufénuron)

Le lufénuron (n° CAS 103055-07-8; (RS)-1-[2,5-dichloro-4-(1,1,2,3,3,3-hexafluoropropoxy)phényl]-3-(2,6-difluorobenzoyl)urée; $\log K_{oe} = 5,12$; figure 7) est un composé de benzoylurée qui agit comme un pesticide systémique utilisé pour lutter contre les puces chez les animaux de compagnie, ainsi que les acariens et d'autres parasites. Récemment, il a été mis au point comme traitement pour prévenir et contenir les infestations de poux de mer chez le saumon, et est commercialisé sous le nom d'Imvixa® par Elanco Animal Health (Bâle, Suisse). Il est homologué pour une utilisation commerciale au Chili. Au Canada, il peut être demandé pour une utilisation d'urgence dans le cadre d'une DMU (Pêches et Océans Canada 2018) et a également été utilisé à des fins d'étude de 2017 à 2018 (ACFFA 2019). L'Imvixa® est une formulation de poudre orale à 10 % qui est incorporée dans les aliments commerciaux à une dose de 5 mg de lufénuron/kg/jour pendant sept jours, pour une dose totale de 35 mg/kg. Les saumoneaux sont traités dans des installations d'eau douce, puis dépurés pendant environ sept jours pour excréter toute matière non absorbée avant d'être transférés dans des cages marines. Le mode d'action est semblable à celui du téflubenzuron, en ce sens que le lufénuron inhibe la synthèse de chitine et empêche la mue de l'exosquelette des organismes cibles; il amène aussi ces organismes à cesser de s'alimenter (BCPC 2018). La valeur élevée du $\log K_{oe}$ indique la capacité de bioaccumulation et de répartition dans la matière organique du lufénuron (McHenry 2016). L'étude a également montré que le lufénuron et ses métabolites étaient excrétés par les poissons lorsqu'ils étaient dans les cages marines. Une étude utilisant des saumons post-

saumoneaux, d'un poids corporel compris entre 107 et 185 g, logés dans des réservoirs d'eau de mer et traités avec du [¹⁴C]-lufénuron a montré que les filets et les échantillons fécaux regroupés contenaient du lufénuron 178 jours après le traitement (FAO et OMS, 2018). En raison de son log K_{oe} élevé, le lufénuron devrait rester lié aux matières fécales. Par conséquent, tout risque pour le milieu marin proviendrait principalement des excréments déposés. Tout lufénuron qui se répartit dans les sédiments peut également être persistant. Une étude de toxicité menée par Brock et coll. (2016) a permis de déterminer que le lufénuron était persistant pendant au moins 66 semaines dans les échantillons de sédiments enrichis (118 % des valeurs initiales).

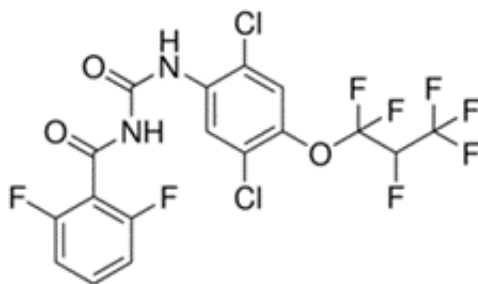


Figure 7. Structure chimique du lufénuron.

1.4. ANTIBIOTIQUES UTILISÉS PAR L'INDUSTRIE AQUACOLE

Outre les traitements contre les poux de mer susmentionnés, les produits chimiques les plus utilisés par l'industrie aquacole sont les antibiotiques administrés dans l'alimentation pour lutter contre les pathogènes bactériens. Les tableaux 1 et 2 et la figure 8 présentent les composés antibactériens actuellement intéressants pour la détermination analytique qui appartiennent aux principales classes des β-lactamines¹, des tétracyclines², des macrolides³, des sulfamides⁴ et des phénicols⁵.

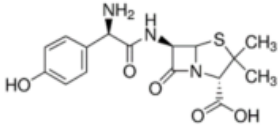
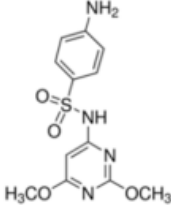
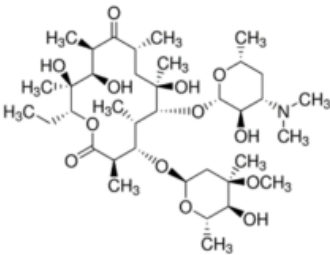
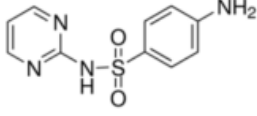
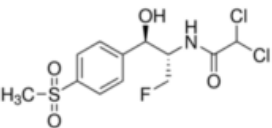
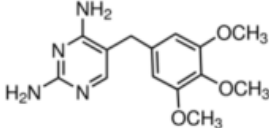
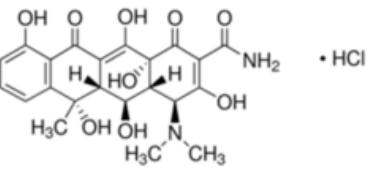
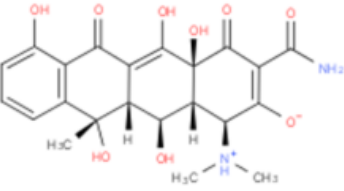
Tableau 2. Antibiotiques d'intérêt analytique actuellement utilisés par l'industrie aquacole canadienne.

| Nom commercial | Principe actif | Classe de composé | Mode d'administration | Traitement (liste non exhaustive) | Mode d'action |
|------------------|---------------------------------|--------------------|-----------------------|--|---|
| Amoxicilline | Amoxicilline | β -lactamine | Alimentation | Peut être utilisé en association avec d'autres antibiotiques pour traiter les ulcères hivernaux, les infections streptococciques, etc. | Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire |
| Terramycin-Aqua® | Oxytétracycline | Tétracycline | Alimentation | Maladie rénale bactérienne, Rickettsies, mycoplasmes et protozoaires | Perturbation de la synthèse des protéines |
| Aquaflor® | Florfenicol | Phénicol | Alimentation | Furonculose (y compris atypique), infections fongiques et ulcères hivernaux <i>Moritella/Vibrio</i> | Inhibiteur de la synthèse des protéines déclenchée par des peptidyltransférases |
| Érythromycine | Érythromycine | Macrolide | Alimentation | Infections streptococciques, maladie rénale bactérienne et certains protozoaires | Inhibition de la synthèse des protéines, principalement par transpeptidation et translocation |
| Romet® 30 | Ormétroprime*/ sulfadiméthoxine | Sulfamide | Alimentation | Furonculose et infections fongiques non résistantes | Inhibition de l'enzyme dihydrofolate synthase |
| Tribrisen® | Triméthoprime/ sulfadiazine | Sulfamide | Alimentation | Furonculose et infections fongiques non résistantes | Inhibition de l'enzyme dihydrofolate synthase |

* = Non désigné pour la détermination analytique.

Chacun des antibiotiques énumérés présente de faibles coefficients de log K_{oe} , semblables à celui de l'azaméthiphos (log K_{oe} = 1,05), à l'exception de l'érythromycine qui a un log K_{oe} = 3,06. Par conséquent, on peut supposer que ces antibiotiques sont très solubles dans l'eau et présenteraient donc une faible adsorption sur la matière organique et une faible persistance dans le milieu sédimentaire. Toutefois, ce n'est pas le cas des tétracyclines, des macrolides et des fluoroquinolones (qui ne sont pas mentionnées dans ce rapport), qui se lient fortement à l'argile et à la matière organique puisqu'elles sont zwitterioniques¹. Le mécanisme de leur adsorption se fait par échange de cations et le degré de cette adsorption dépend du pH. Ces composés peuvent donc être très persistants dans les sédiments, p. ex., l'oxytétracycline dont la demi-vie peut atteindre 150 jours dans les sédiments marins (Brooks et coll. 2008).

¹ Zwitterionique : une molécule comportant deux ou plusieurs groupes fonctionnels, dont au moins un a une charge électrique positive et un autre une charge négative, la charge nette de la molécule étant nulle.

| | |
|--|---|
|  <p>Amoxicilline¹ : Log K_{oe} = 0,87^a</p> |  <p>Sulfadiméthoxine⁴ : Log K_{oe} = 1,63^d</p> |
|  <p>Érythromycine³ : Log K_{oe} = 3,06^b</p> |  <p>Sulfadiazine⁴ : Log K_{oe} = -0,09^d</p> |
|  <p>Florfénicol⁵ : Log K_{oe} = 0,37 (pH 7)^c</p> |  <p>Triméthoprime* : Log K_{oe} = 0,91^e * = utilisé en association avec la sulfadiazine</p> |
|  <p>Oxytétracycline² : Log K_{oe} = -0,9^f</p> |  <p>Zwitterion d'oxytétracycline (principales espèces à un pH de 7,3)^g</p> |

a = PubChem. URL <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/33613>

b = PubMed Abstract. McFarland JW et coll.; J Med Chem 40 : 1340-6 (1997).

c = Environmental Assessment for AquaFlor® for Freshwater-Reared Salmonids. Schering-Plough Animal Health Corp., 1/31/2007.

d = S. Thiele-Bruhn et M.O. Aust. Effects of Pig Slurry on the Sorption of Sulfonamide Antibiotics in Soil. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 47, 31-39 (2004).

e = PubChem. URL <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5578#section=Octanol-Water-Partition-Coefficient>

f = PubChem. URL : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/54675779#section=Octanol-Water-Partition-Coefficient>

g = CHEBI:133011 - oxytetracycline zwitterion. URL : <https://www.ebi.ac.uk/chebi/searchId.do?chebiId=CHEBI%3A133011>

Figure 8. Structures chimiques des antibiotiques utilisés actuellement ou par le passé dans l'aquaculture canadienne.

2. CONSIDÉRATIONS RELATIVES À L'ÉCHANTILLONNAGE

2.1. PROCÉDURES UNIFORMISÉES

Pour obtenir des données précises à partir des échantillons prélevés, il est impératif non seulement d'élaborer et de valider une méthode d'analyse chimique appropriée (section 4.2), mais également de prélever des échantillons de qualité constante pour l'analyse. Peu importe la robustesse de la méthode d'analyse, si les échantillons analysés n'ont pas été prélevés de manière uniforme, les résultats générés seront inexacts et très variables, et ne seront pas représentatifs des lieux échantillonnés. Pour assurer la fiabilité des échantillons prélevés, des procédures de prélèvement et d'analyse uniformisées (PEU) doivent être élaborées pour répondre aux objectifs de l'étude, de concert avec les exigences des laboratoires, avant l'échantillonnage sur le terrain. Les facteurs à prendre en considération comprennent notamment :

1. les types de matrices à prélever (p. ex., eau/sédiment);
2. les types de récipients de stockage d'échantillons requis;
3. les types d'échantillonneurs à utiliser (p. ex., benne, carottier, bouteille Niskin);
4. la profondeur et le volume de l'échantillon de sédiments à prélever à l'aide de la benne ou du carottier;
5. le volume de l'échantillon d'eau requis et la méthode de conservation (le cas échéant);
6. les conditions de stockage des échantillons prélevés (sur le bateau et sur terre);
7. la procédure d'expédition (si les échantillons doivent être analysés par un laboratoire tiers hors site).

Une discussion plus détaillée concernant la planification et la conception de la surveillance après rejet est présentée dans Page et coll. (2021).

2.2. ÉCHANTILLONNAGE DES SÉDIMENTS

En matière d'échantillons physiques à prélever pour l'analyse, les formulations médicamenteuses dans les aliments utilisées pour traiter les poux de mer contiennent des principes actifs lipophiles ($\log K_{oe}$ élevé) qui ont tendance à se lier à la matière organique et donc à persister dans l'environnement après le traitement. Les sédiments constituent donc la matrice la plus intéressante lorsqu'il s'agit de quantifier ces composés chimiques. L'échantillonnage est généralement effectué à l'aide de bennes ou de carottiers, l'aliquote à analyser étant prélevée dans l'échantillon en vrac. Un problème important lié à l'utilisation des bennes est le lessivage de l'échantillon prélevé, qui se produit lorsque les volets ou les mâchoires de la benne ne se ferment pas correctement lors du prélèvement, ce qui se traduit par la perte de sédiments et d'eau de surface, compromettant ainsi l'intégrité de l'échantillon. L'emploi de carottiers réduit ce phénomène, bien que les carottiers aient également leurs propres problèmes. La profondeur à laquelle prélever la sous-aliquote de l'échantillon en vrac aux fins d'analyse doit être déterminée à partir des objectifs de l'étude ou du programme. Idéalement, pour analyser les dépôts chimiques les plus récents, il faudrait échantillonner la couche sédimentaire supérieure (jusqu'à 2 cm de profondeur) [US EPA, Office of Water 2001]. Si l'aliquote est prélevée plus profondément (p. ex., jusqu'à 5 cm ou plus), les échantillons recueillis à une profondeur supérieure à 2 cm risquent de ne pas contenir des concentrations appréciables des composés cibles, ce qui entraînerait une dilution des composés contenus dans les 2 cm supérieurs lors de l'analyse et donnerait lieu à la détermination d'une concentration inférieure à celle qui est réellement présente *in situ*.

2.3. ÉCHANTILLONNAGE DE L'EAU

Les traitements en bain dans les bateaux viviers ou les cages en filets bâchées nécessitent l'utilisation de formulations contenant des principes actifs hydrophiles (faible $\log K_{oe}$). Si l'analyse de ces composés est nécessaire pour confirmer les concentrations du traitement ou après rejet, des échantillons d'eau doivent être prélevés à cette fin. Ces échantillons peuvent être recueillis à l'aide de diverses techniques, les plus utilisées étant les bouteilles Nyskin pour les échantillons à profil vertical ou le pompage péristaltique pour des profondeurs déterminées. La dispersion et le transport des résidus de traitement après le rejet sont très variables et dépendent de nombreux facteurs (Page et coll. 2015). Par conséquent, le principal défi associé à l'échantillonnage de l'eau est que, sans l'aide d'un indicateur visuel comme un colorant à la fluorescéine, il est impossible de suivre la dispersion des résidus avec précision, et donc d'échantillonner avec assurance (Ernst et coll. 2014). Il faut aussi tenir compte du fait que, contrairement aux traitements par l'alimentation qui tombent sur le fond marin et persistent, la dilution et la dispersion des eaux/solutions de traitement en bain se produisent rapidement en raison des courants océaniques. Par conséquent, les échantillons d'eau doivent être prélevés au moment du traitement et dans les quelques heures suivant le rejet, contrairement aux échantillons de sédiments qui peuvent être prélevés jusqu'à quelques mois après l'application, selon la demi-vie du principe actif.

2.4. MANIPULATION DES ÉCHANTILLONS

Outre un échantillonnage précis et constant, il est impératif de bien manipuler les échantillons pour réduire au maximum les effets de biais positifs ou négatifs lors de l'analyse. Le biais positif produit des résultats artificiellement élevés, généralement à la suite d'une contamination croisée lors de la collecte sur le terrain ou de l'extraction et de l'analyse en laboratoire. Le rinçage des bennes ou des carottiers après utilisation à chaque endroit permettrait de limiter la contamination à l'étape de l'échantillonnage. Les récipients d'échantillons peuvent également contribuer à la contamination s'ils n'ont pas été bien nettoyés avant chaque utilisation. Pour éliminer ce problème, il est possible d'acheter des récipients jetables certifiés et pré-nettoyés auprès de fournisseurs de produits chimiques, ce qui élimine la possibilité d'utiliser des récipients sales. Un nettoyage en profondeur des appareils et du matériel de laboratoire est également essentiel pour atténuer la contamination lors de l'analyse. Le biais négatif, quant à lui, entraîne une diminution des concentrations d'analytes, principalement causée par la dégradation des analytes à la suite d'un mauvais stockage ou d'une mauvaise conservation avant l'analyse. Il est possible de limiter ce phénomène en veillant à ce que les échantillons prélevés soient conservés dans des récipients et des conditions de stockage appropriés (US EPA, SESD 2017).

3. TECHNIQUES D'EXTRACTION CHIMIQUE

3.1. APERÇU

Une quantification précise des concentrations des substances chimiques est essentielle pour l'évaluation des risques ou des effets. Au cours des dernières décennies, les méthodes et techniques disponibles pour l'analyse des pesticides, des antibiotiques et d'autres composés chimiques dans des matrices environnementales, agricoles et biologiques (sang, urine, fèces, tissus), pour n'en nommer que quelques-unes, ont connu une croissance et une évolution rapides. Ces progrès ont permis de réduire la complexité de la préparation des échantillons et les délais de traitement, et d'abaisser également les limites de détection tout en améliorant l'exactitude et la précision des analyses.

Les principales étapes de toute méthode d'analyse sont :

1. la préparation de l'échantillon avant l'extraction;
2. l'extraction des composés d'intérêt de la matrice de l'échantillon;
3. le nettoyage de l'extrait pour éliminer tout composé endogène qui pourrait interférer avec la détection des composés d'intérêt;
4. la détection des composés d'intérêt à l'aide d'instruments.

Les points 2 et 3 sont généralement les plus longs en matière de travail et représentent environ les deux tiers ($\frac{2}{3}$) de la méthode d'analyse totale (points 1 à 3). En matière de durée totale, cependant, l'analyse des échantillons (point 4) est normalement l'étape la plus longue en raison du temps de fonctionnement de l'instrument, qui peut être d'une nuit ou plus selon le nombre d'échantillons, et de la durée d'exécution chromatographique par échantillon. Le traitement des données des chromatogrammes et des spectres recueillis est également chronophage pour l'analyste.

L'élaboration et la validation d'une méthode d'analyse permettront d'établir un ensemble de données propre à cette méthode, c.-à-d. la plage linéaire, la sélectivité et la spécificité, les limites de détection (LD) et de quantification (LQ), l'exactitude et la précision, la récupération, etc. (section 4.2). L'ensemble de données découle des solvants d'extraction utilisés, de la technique d'extraction choisie et du type d'instrument d'analyse employé pour la détection et la quantification. Si une méthode ultérieure ciblant les mêmes analytes et le même type de matrice devait être élaborée en utilisant des conditions et des instruments différents, elle produirait des données de validation différentes, car il est rare que deux méthodes très différentes produisent les mêmes résultats.

Pour améliorer considérablement l'exactitude et la précision d'un essai, il est courant d'utiliser des étalons internes qui sont ajoutés en quantité constante aux solutions étalons, aux solutions de contrôle de la qualité et aux échantillons d'essai. Les étalons internes compensent toute perte, variabilité ou amélioration ou suppression du signal du composé cible pendant l'analyse. Pour les applications autres que la spectroscopie de masse, les étalons internes sont généralement des composés ayant des propriétés chimiques similaires (et donc un comportement semblable) à celles des analytes cibles lorsqu'ils sont extraits et analysés. Pour les applications de spectrométrie de masse, les étalons internes sont généralement des versions isotopiquement marquées des analytes cibles. Ils sont habituellement marqués au deutérium, c.-à-d. qu'ils contiennent du deutérium (^2H) au lieu de l'hydrogène (^1H), ou au carbone 13, donc ils contiennent des atomes de ^{13}C au lieu d'atomes de ^{12}C . Les étalons internes isotopiquement marqués se comportent exactement comme leurs analogues non marqués et ont des chromatogrammes très semblables. Le principal inconvénient de l'utilisation d'étalons internes isotopiquement marqués est qu'ils ne sont pas disponibles pour tous les composés et qu'ils peuvent devoir être synthétisés sur mesure.

De nombreuses techniques d'extraction chimique sont disponibles selon les composés d'intérêt et le type de matrices concernés. Les techniques de pointe et celles qui ne sont pas couramment utilisées pour le traitement et l'analyse habituels des échantillons par les laboratoires commerciaux comprennent notamment l'extraction par fluide supercritique (EFS), l'extraction assistée par micro-ondes (EAM) et la dispersion de la matrice en phase solide (DMPS). Ces techniques utilisent des volumes moindres de solvants, sont moins chronophages et présentent également l'avantage d'un taux de récupération des extractions plus élevé par rapport aux techniques plus traditionnelles, ce qui se traduit par des limites de détection plus élevées. Toutefois, les instruments sont coûteux et une étape de nettoyage est généralement nécessaire, comme l'extraction en phase solide (EPS) ou la chromatographie par perméation

sur gel (CPG), avant l'analyse à l'aide d'instruments. Il faut également des analystes qualifiés pour faire fonctionner et entretenir les instruments. En revanche, les techniques utilisées plus couramment, en raison d'un coût de matériel moins élevé et de leur complexité moindre, comprennent l'extraction liquide-liquide (ELL), l'extraction Soxhlet, l'extraction par liquide pressurisé (ELP), également connue sous le nom d'extraction accélérée par solvant (EAS) et l'EPS. Par rapport aux techniques de pointe, l'ELL et l'extraction Soxhlet utilisent des volumes de solvant plus importants, prennent plus de temps et leur efficacité d'extraction est légèrement inférieure. Elles présentent également l'inconvénient d'utiliser de plus grands volumes de solvants dangereux comme le dichlorométhane, l'hexane, l'acétate d'éthyle et l'acétone, qui sont extrêmement nocifs pour l'environnement et la santé humaine. Une méthode relativement récente, d'abord élaborée pour l'analyse des pesticides dans les fruits et légumes, est la méthode QuEChERS (prononcé « catchers »), un acronyme pour **Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe** (rapide, facile, bon marché, efficace, robuste et sécuritaire). Cette méthode gagne désormais en popularité pour l'extraction de différentes classes de substances chimiques à partir d'une grande variété de matrices (p. ex., environnementales et biologiques).

Une fois que les échantillons ont été traités, les extraits sont analysés par séparation chromatographique (soit par chromatographie sur gel [CG] ou par chromatographie liquide à haute performance [CLHP]/à ultra haute performance [CLUHP]) des constituants selon leurs propriétés chimiques, puis détectés à l'aide d'un détecteur approprié. Les détecteurs les plus couramment utilisés pour les systèmes de CG sont le détecteur à ionisation de flamme (DIF), le détecteur azote-phosphore (DAP) et le détecteur à capture d'électrons (DCE). Pour les systèmes CLHP/CLUHP, on utilise généralement un détecteur à réseau de diodes ultraviolettes (DRD-UV), un détecteur de fluorescence (DFL) ou un détecteur à réseau de photodiodes (DRP). Ces types de détecteurs offrent une grande sensibilité et sont relativement peu coûteux en raison de leur nature « simple », mais ont leurs limites lorsqu'il s'agit de détecter des traces ou des ultratracés et d'identifier des composés de plusieurs classes. Dans ces cas, le détecteur le plus approprié est le plus coûteux spectromètre de masse (SM), un instrument extrêmement sensible, exact et précis qui mesure le rapport masse/charge [m/z] des ions. Il existe plusieurs types de spectromètres de masse, allant des spectromètres de masse en tandem aux analyseurs de masse quadripolaire à temps de vol (QTV) et à piège ionique, plus sophistiqués, sensibles et précis.

3.2. EXTRACTION LIQUIDE-LIQUIDE (ELL)

Cette méthode est basée sur la séparation des composés selon leur solubilité relative dans deux solvants immiscibles, généralement l'eau et un solvant organique non polaire. Les analytes de la phase aqueuse sont répartis dans le solvant non polaire par agitation dans des ampoules à décantation (figure 9), puis on laisse les phases se séparer. La couche organique est recueillie et l'extraction est généralement répétée avec l'ajout de solvant frais pour améliorer l'efficacité de récupération des analytes. Les phases organiques sont combinées, puis évaporées et reconstituées pour concentrer les analytes d'intérêt, ce qui augmente la sensibilité lors de l'analyse à l'aide d'instruments. Le problème le plus courant lors de l'utilisation de cette méthode est la formation d'une émulsion pendant l'agitation, qui est généralement attribuable au fait que l'échantillon aqueux contient des concentrations élevées de protéines, d'acides gras libres, de triglycérides, etc., ce qui est plus problématique dans les échantillons biologiques, mais moins dans les échantillons environnementaux. Cette technique (basée sur la méthode USEPA 3510) a été utilisée par Ernst et coll. (2014) pour extraire l'azaméthiphos et la deltaméthrine d'échantillons d'eau prélevés après leur rejet d'une cage bâchée et d'un bateau vivier ayant été exposés à des traitements contre les poux de mer. Les échantillons solides peuvent également être extraits de cette manière en concassant ou en broyant suffisamment l'échantillon en premier lieu, puis en l'extrayant avec un solvant organique approprié et en

effectuant une centrifugation, une purification ou une concentration avant l'analyse. Les avantages et désavantages de cette méthode sont les suivants :

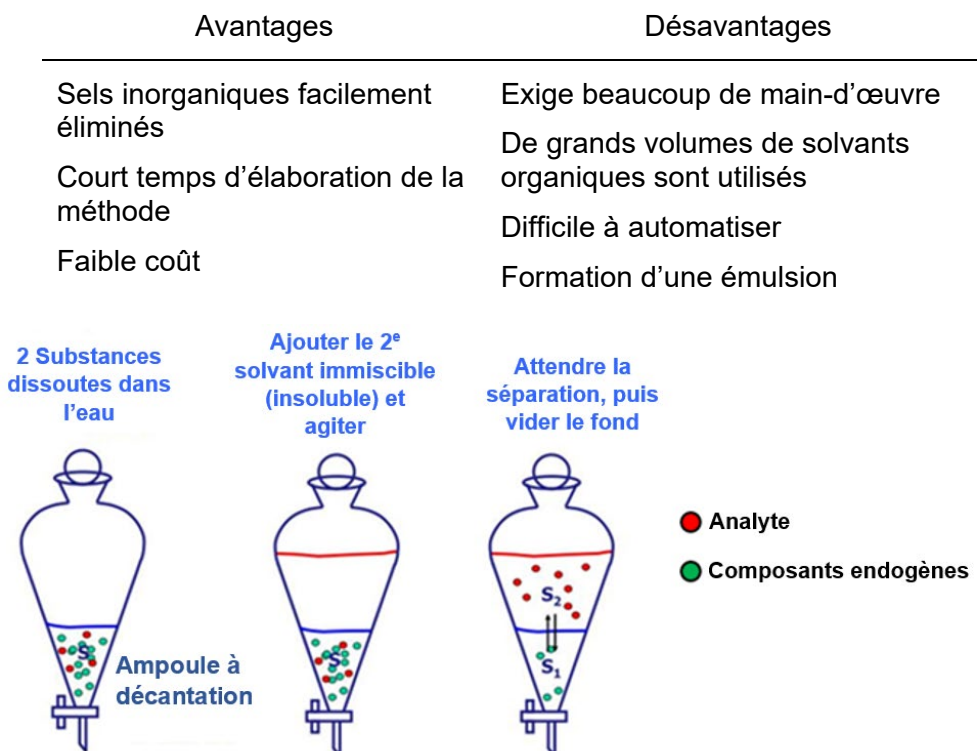


Figure 9. Installation typique d'extraction liquide-liquide.

3.3. EXTRACTION EN PHASE SOLIDE (EPS)

Cette technique de préparation des échantillons est la plus utilisée. Elle comporte la séparation des composants au sein d'un échantillon par leur interaction chimique avec un matériau sorbant chromatographique (généralement contenu dans une cartouche de seringue). Il existe un grand choix de matériaux sorbants d'EPS permettant d'extraire d'innombrables composés de différents échantillons, p. ex., environnementaux, biologiques et alimentaires. Les quatre principaux types de phases disponibles pour l'EPS sont la phase inversée, la phase normale, l'échange d'ions (anion et cation) et l'adsorption. Ces phases comprennent notamment le C18, le C8, l'échange d'anions forts (SAX), l'échange de cations forts (SCX), le cyano (CN), l'échange d'anions (AX) et l'échange de cations (CX). Le choix du type de phase dépendra du type d'échantillon, de la polarité et des caractéristiques chimiques des composés à extraire. L'EPS permet de surmonter de nombreux problèmes liés à l'ELL, comme la séparation incomplète des phases, la formation d'émulsion et les faibles taux de récupération. Elle est beaucoup plus rapide que l'ELL, car elle offre une plus grande capacité de traitement des échantillons et utilise de plus petits volumes de solvants. Les composés non volatils ou semi-volatils peuvent être extraits d'échantillons liquides ou purifiés à partir d'échantillons solides qui ont été pré-extraits dans un solvant. Les étapes de base de l'EPS sont présentées à la figure 10.

Étape 1) Pré-conditionnement du sorbant avec un solvant organique ou de l'eau (ou un tampon aqueux) qui mouille le sorbant.

- Étape 2) Chargement de l'échantillon – tout composant non retenu passera à travers le sorbant.
- Étape 3) Lavage du sorbant pour éliminer les impuretés retenues avec un solvant approprié. Les impuretés sont éliminées par lavage avec un solvant assez puissant pour les éliminer, mais assez faible pour conserver les composés d'intérêt.
- Étape 4) Séchage du sorbant – généralement sous vide.
- Étape 5) Éluion des analytes retenus avec un solvant approprié.
- Étape 6) Évaporation et reconstitution de l'échantillon séché avec un solvant approprié aux fins d'analyse.

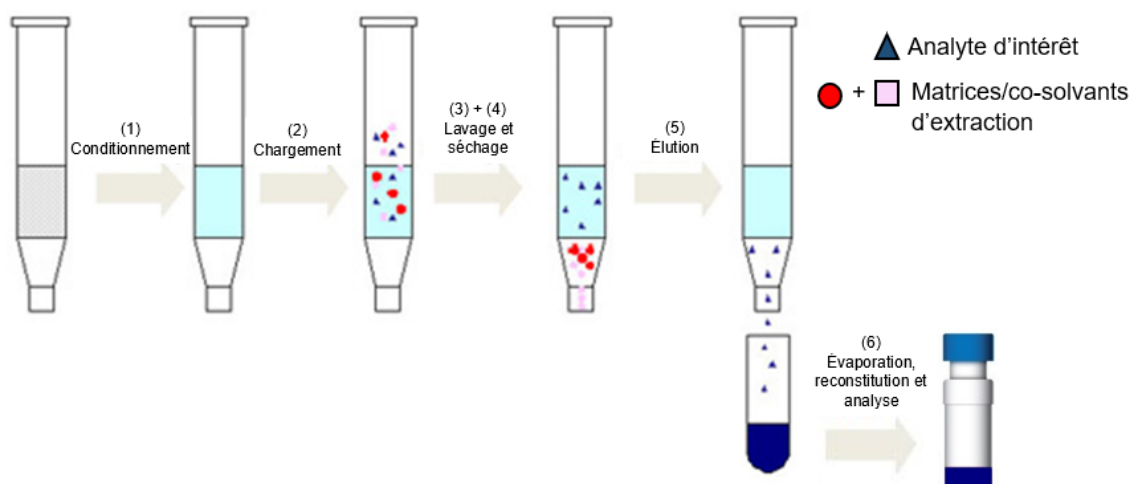


Figure 10. Procédure d'extraction en phase solide représentative.

Lyytikäinen et coll. (2003) ont utilisé cette technique pour extraire diverses classes de pesticides à partir d'échantillons d'eau de référence reconstitués, puis effectué une analyse par CG-DCE/DAP qui a produit des taux de récupération typiques dans la plage de 66 % à 124 %. Stevens et Jones (2010) ont énuméré les avantages et les désavantages de cette technique :

| Avantages | Désavantages |
|---------------------------------------|--|
| Très sélective | Plus grande complexité/difficile à maîtriser |
| Efficace avec une variété de matrices | Longue élaboration de la méthode |
| Effet de concentration | Dispendieux |
| Taux de récupération élevés | Nombreux choix de sorbants |
| Reproductibilité élevée | |

3.4. EXTRACTION SOXHLET ET PAR LIQUIDE PRESSURISÉ (ELP)

L'extraction Soxhlet (figure 11a) a été inventée en 1879 par Franz von Soxhlet pour extraire les matières grasses des solides du lait (Jensen 2007), mais a depuis été améliorée et adaptée à un large éventail de matrices solides. En pratique, l'échantillon solide préparé est placé dans un

support à cartouche et extrait par un solvant organique approprié qui est continuellement bouilli et condensé en remplissant le support, puis siphonné dans le solvant en vrac dans le ballon de distillation lorsqu'il atteint un certain niveau. Ce procédé est répété jusqu'à ce que les analytes d'intérêt aient été extraits de l'échantillon. En raison de la méthode d'extraction par étapes (remplissage et vidage de l'enceinte d'échantillonnage), cette technique est très longue. Une fois l'extraction terminée, le solvant est concentré à un certain volume, généralement par évaporation rotative, puis analysé à l'aide d'un système chromatographique approprié. Akoto et coll. (2016) ont utilisé cette méthode pour analyser les résidus de pesticides organochlorés (POC) dans des sédiments fluviaux, puis effectué une analyse par CG-DCE.

L'extraction par liquide pressurisé (ELP), également appelée « extraction accélérée par solvant » (EAS; figure 11b), est la version automatisée moderne de l'extracteur Soxhlet et nécessite moins de solvant pour extraire les échantillons. Selon la méthode d'ELP, les échantillons sont rassemblés dans des cellules en acier et extraits avec un solvant à températures et pressions élevées, ce qui accroît la solubilité des analytes et la viscosité du solvant d'extraction, augmentant ainsi la diffusion des analytes dans le solvant et l'efficacité de l'extraction tout en réduisant la durée de traitement. Selon l'instrument utilisé, jusqu'à 24 échantillons peuvent être extraits de manière séquentielle avec une plus faible empreinte par rapport au système Soxhlet traditionnel pour le même nombre d'échantillons. Cette technique a été évaluée pour l'extraction des pesticides dans le sol et offrait un meilleur rendement que la méthode Soxhlet traditionnelle (Gan et coll. 1999).

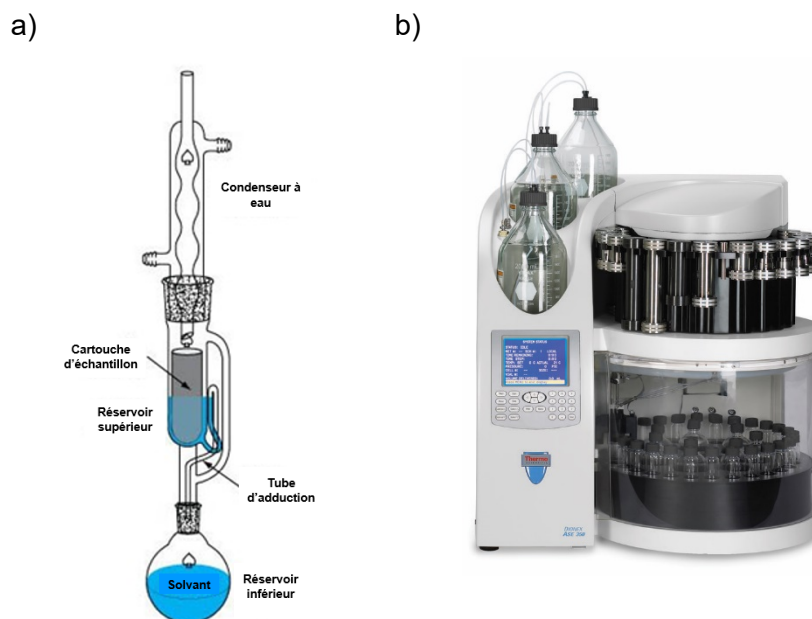


Figure 11. Schéma représentatif a) d'un extracteur Soxhlet et b) d'un appareil d'extraction accélérée par solvant.

3.5. RAPIDE, FACILE, BON MARCHÉ, EFFICACE, ROBUSTE ET SÛRE (QUECHERS)

Les techniques d'extraction traditionnelles décrites ci-dessus ont leurs avantages, mais également leurs inconvénients, notamment l'utilisation de grands volumes de solvants dangereux, la complexité de l'élaboration des méthodes et le coût des systèmes automatisés.

Dans l'espoir d'améliorer l'efficacité, la rentabilité et la sécurité, Anastassiades et coll. (2003) ont élaboré une nouvelle technique d'extraction pour analyser les résidus de pesticides dans les fruits et les légumes (tableau 3). Cette technique a été nommée par l'acronyme QuEChERS (prononcé « catchers »), qui signifie « Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe » (rapide, facile, bon marché, efficace, robuste et sécuritaire).

Les auteurs ont basé la méthode sur l'extraction liquide d'échantillons homogénéisés à l'aide d'acétonitrile, un solvant organique miscible à l'eau largement utilisé pour l'extraction multirésidus de pesticides des aliments. L'acétonitrile est l'un des solvants les plus largement utilisés pour les extractions selon la méthode QuEChERS, car il permet d'extraire un large éventail de pesticides polaires et non polaires avec le moins de co-solvants d'extraction (Zhang et coll. 2012). Une légère modification, comme l'acidification de l'acétonitrile, est parfois nécessaire pour améliorer l'efficacité de l'extraction selon les propriétés chimiques des composés à extraire. Comme l'acétonitrile est miscible à l'eau, il peut être séparé de la phase aqueuse par l'ajout de sel lors d'un procédé appelé « relargage », qui augmente également la récupération des composés polaires – le sulfate de magnésium et le chlorure de sodium ont été sélectionnés pour l'absorption d'eau et le partage entre deux phases liquides. L'étape de nettoyage a été réalisée par extraction en phase solide dispersive (EPS-d), lors de laquelle un sous-échantillon de la phase d'acétonitrile a été ajouté à des amines primaires et secondaires (APS) – des matériaux sorbants d'EPS – avec le sulfate de magnésium. Les APS visent à éliminer les interférences comme les acides gras, les lipides ioniques et les sucres, tandis que le sulfate de magnésium absorbe toute eau encore présente dans la phase organique. Bien que les APS soient les matériaux sorbants les plus couramment utilisés pour les EPS-d, d'autres matériaux comme le C₁₈ et le noir de carbone graphité (NCG) peuvent être ajoutés au mélange de sulfate de magnésium et d'APS pour améliorer davantage l'étape de nettoyage au besoin. Après le nettoyage par EPS-d, l'extrait peut être analysé sans autre préparation, bien que certaines méthodes comprennent une étape supplémentaire de nettoyage ou de concentration. La méthode élaborée a été entièrement éprouvée, mais n'a pas été validée pour déterminer la robustesse des procédures. Le seul paramètre de validation étudié a été des essais de récupération visant une grande variété de pesticides enrichis dans des échantillons de laitues et de fraises. Les résultats ont montré que la méthode présentait un bon taux de récupération, respectivement de 86 % (écart-type relatif [ETR] = 2,7) à 102 % (ETR = 2,8) et de 87 % (ETR = 3,0) à 102 % (ETR = 3,4). La deltaméthrine a présenté des taux de récupération de 97 % (ETR = 2,9) pour la laitue et de 94 % (ETR = 3,1 %) pour la fraise.

L'Association of Official Agricultural Chemists (AOAC International) a publié une méthode validée (tableau 3) après avoir mené une étude collaborative interlaboratoires (Lehotay 2007) ayant eu recours à 13 laboratoires pour étudier 20 insecticides, fongicides et herbicides dans les raisins, la laitue et les oranges, qui a permis de déterminer une LQ < 10 ng/g. Une deuxième méthode QuEChERS validée est la méthode européenne EN 15662, qui sert également à analyser les différents pesticides présents dans les fruits et légumes (tableau 3).

Tableau 3. Comparaison de différentes méthodes QuEChERS.

| Auteur | Anastassiades et coll. (2003) | AOAC (2007) | Méthode européenne EN 15662 | Estil et coll. (2016) | Brondi et coll. (2011) | Berlizo-Barbier et coll. (2014) | Laboratoire soustrait du MPO | SEPA (2018) |
|---------------------------------------|---|--|---|--|--|---|---|---|
| Matrice | Fruits et légumes | Fruits et légumes | Aliments d'origine végétale | Sédiments marins | Eau douce et sédiments | Sédiments d'eau douce | Sédiments marins | Sédiments marins |
| Classes de produits chimiques | Pesticides | Pesticides | Pesticides | Pesticides – Pyréthroïdes | Pesticides | Produits pharmaceutiques, hormones, pesticides, plastifiants | Pesticides, médicaments et antibiotiques | Pesticide (benzoate d'émamectine) |
| Taille de l'échantillon | 10 g Homogénéisé | 15 g Homogénéisé | 5 à 10 g Homogénéisé Ajouter de l'eau pour obtenir un poids de 10 g | 2 g – sec Enrichir avec l'étalon interne (EI) | 10 g – sec | 2 g – sec | 5 g – humide Enrichi avec un mélange de substituts et d'étalons | Sédiment humide pesé pour donner : Champ proche – 2 g équivalent sec. Champ lointain – 20 g équivalent sec. |
| Solvant d'extraction | Acétonitrile (10 mL) | Acide acétique 1 % dans acétonitrile (15 mL) | • Acétonitrile (10 mL) • Enrichir avec l'EI | • Ajouter H ₂ O déionisé (10 mL) • Ajouter de l'acide acétique 1 % dans l'acétonitrile (10 mL) | Acétonitrile (10 mL) | • Ajouter de l'eau (10 mL) • Ajouter de l'acétonitrile (10 mL) | • Ajouter H ₂ O déionisé (5 mL) • Ajouter de l'acétonitrile (10 mL) | • Acétonitrile (50 mL) |
| Agitation | Vortex, 1 min | Non | Agiter, 1 min (ou plus) | Vortex après chaque étape ci-dessus | Non | Non | Agiter 1 min, laisser reposer 5 min | Agiter – 200 cycles/min pendant 20 min |
| Partage | 4 g MgSO ₄ anh. + 1 g NaCl et enrichir avec l'étalon interne (EI) | 1,5 g NaAc anh. + 6 g MgSO ₄ anh. et enrichir avec l'EI | 4 g MgSO ₄ + 1 g NaCl + 1 g Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ + 0,5 g C ₁₂ H ₁₈ Na ₄ O ₁₇ | 1,5 g NaAc + 2 g MgSO ₄ | 4 g MgSO ₄ anh. + 1 g de NaCl | 1,5 g NaAc anh. + 6 g MgSO ₄ anh. (pH = 4,8) | 1,5 g NaAc anh. + 6 g MgSO ₄ anh. | 4 g ± 0,5 g de MgSO ₄ |
| Agitation et centrifugation | • Mélanger au vortex, 1 min • Ajouter EI • Mélanger au vortex, 30 s • 5000 tr/min, 5 min | • Agiter vigoureusement 1 min • 1500 rcf, 1 min | • Agiter, 1 min • Centrifuger 3000 g, 5 min | • Vortex, 1 min • 4000 tr/min, 1 min • Congeler l'échantillon | • Pas d'agitation mentionnée • 3000 tr/min, 1 min | • Agitation manuelle, puis au vortex (30 s) • 5000 tr/min, 5 min | • Mélange au vortex, 1,5 min • 4100 tr/min, 5 min | • Agiter manuellement 30 ± 10 s. • Agiter – 200 cycles/min pendant 20 min • Laisser le surageant se déposer |
| Vol. de la sous-aliquote du surageant | 1 mL | 1 à 8 mL | • 8 mL, congeler pendant la nuit, puis • 6 mL pour l'EPS-d | 8 à 9 mL | 5 mL | 6 mL | 1 mL | Autant que possible et ajouter un volume équivalent d'eau acidifiée |
| Nettoyage par EPS-d | 150 mg MgSO ₄ anh. + 25 mg d'APS par mL d'extrait | 150 mg MgSO ₄ anh. + 25 mg d'APS par mL d'extrait | • 900 mg MgSO ₄ + 150 mg APS ou • 900 mg NCG:MgSO ₄ (1:59) + 150 mg APS ou | Utiliser le tube de nettoyage par EPS-d roQ QuEChERS (pièce n° KS0-8926) | Cartouche d'EPS contenant 330 mg d'APS, 330 mg de C ₁₈ et une couche de 1 cm de MgSO ₄ | APS/NCG | • 150 mg MgSO ₄ + 50 mg C ₁₈ . • Enrichir avec l'EI | • Nettoyage par EPS avec CX (100 mg/6 mL). • Fonctionnement par gravité/pression atmosphérique. |

| Auteur | Anastassiades et coll. (2003) | AOAC (2007) | Méthode européenne EN 15662 | Estil et coll. (2016) | Brondi et coll. (2011) | Berlitz-Barbier et coll. (2014) | Laboratoire sous-traitant du MPO | SEPA (2018) |
|---|--|---|---|--|---|---|--|---|
| | | | <ul style="list-style-type: none"> 900 mg NCG:MgSO₄ (1:19) + 150 mg APS | | (conditionnée avec 3 mL d'acétonitrile) | (900 mg MgSO ₄ , 150 mg APS, 15 mg NCG) | | mais un léger vide peut être appliqué au besoin. |
| Agitation et centrifugation | <ul style="list-style-type: none"> Agiter à la main ou mélanger au vortex, 30 s 6000 tr/min, 1 min | Centrifuger 1500 g rcf, 1 min | <ul style="list-style-type: none"> Agiter, 30 s Centrifuger 3000 g, 5 min | <ul style="list-style-type: none"> Vortex, 1 min Centrifuger 3000 tr/min, 1 min | Aucune, car la cartouche d'EPS a été utilisée pour le nettoyage | <ul style="list-style-type: none"> Agitation manuelle, puis au vortex (30 s) Centrifuger 5000 tr/min, 5 min | <ul style="list-style-type: none"> Vortex 1 min Centrifuger 4100 tr/min, 5 min | S.O. |
| Concentration de l'échantillon avant analyse? | Non | Non <ul style="list-style-type: none"> Options disponibles pour différents scénarios Avant l'analyse, l'échantillon est centrifugé (1500 rcf, 1 min) avant d'être transféré dans le flacon de l'échantillonneur automatique | Non 5 mL + 50 µL d'acide formique (5 %) | Oui <ul style="list-style-type: none"> Filtrer (filtre de seringue de 0,2 µm), 5 mL de l'aliquote et sécher Reconstitué avec 50 µL d'acétone + 950 µL de H₂O:méthanol (1:1) | Non | Oui <ul style="list-style-type: none"> Aliquote de 55 mL séchée sous N₂ à 40 °C Reconstitué avec de l'acétonitrile (500 µL) Dilué une aliquote de 100 µL 10 fois avec de l'eau:acétonitrile (89:11) | Non Surnageant filtré (filtre en nylon de 0,2 µm) avant l'analyse | <ul style="list-style-type: none"> Concentré à l'étape de l'EPS. Étalon interne ajouté à l'extrait. Stable pendant 24 jours à 5 °C ± 3 °C. |
| Détection | CG-SM | CG-SM et chromatographie liquide et spectrométrie de masse en tandem (CL-SM/SM) | CG-SM ou CL-SM/SM | CL-SM/SM | CG-SM | CL-SM/SM | CL-SM/SM | CL-SM (SMHR – spectrométrie de masse à haute résolution) |
| Méthode validée | Non | Oui | Oui | Non | Oui | Oui | Oui (non terminé) | Oui |

Depuis sa création, la méthode QuEChERS a surtout été utilisée pour analyser les pesticides dans les fruits et légumes. Toutefois, ces derniers temps, davantage d'études ont été menées pour l'analyse d'autres classes de composés comme les médicaments à usage vétérinaire, les antibiotiques, les produits pharmaceutiques, les médicaments, les contaminants environnementaux, etc. présents dans une grande variété de matrices. Une analyse documentaire a été réalisée concernant l'extraction de divers composés chimiques de nombreux types de sols terrestres à l'aide de la méthode QuEChERS et de ses variations (Vera et coll. 2013). Toutefois, peu d'études ont été réalisées en utilisant des sédiments marins comme matrice d'essai. Une méthode QuEChERS suivie d'une analyse par CG-SM a été évaluée pour l'analyse de l'atrazine, du fipronil et des pesticides α - et β -endosulfan dans l'eau douce et les sédiments (Brondi et coll. 2011 et tableau 3). La validation de leur méthode a démontré la détermination d'un coefficient (R^2) de 0,9964 à 0,9972 et de 0,9835 à 0,9993 pour chacun des analytes dans l'eau et les sédiments, respectivement, les échantillons d'eau présentant le meilleur coefficient de détermination. Les limites de détection (LD) pour chaque matrice étaient semblables, soit environ 0,003 mg/L (mg/kg pour les sédiments), bien que la LD de l'atrazine dans les sédiments ait été 10 fois plus élevée, à 0,02 mg/kg. La limite de quantification (LQ) était deux fois plus élevée pour l'atrazine dans l'eau (0,01 mg/L) que pour les α - et β -endosulfans (0,005 mg/L), tandis que dans les sédiments, la LQ de l'atrazine (0,05 mg/kg) était cinq fois plus élevée que pour le fipronil et les α - et β -endosulfane (0,01 mg/kg). La méthode d'extraction utilisée était semblable à celle d'Anastassiades et coll. (2003), sauf qu'un extrait d'acétonitrile de 5 mL a été purifié à l'aide d'une cartouche d'EPS commerciale contenant des APS, du C_{18} et du sulfate de magnésium anhydre.

La Scottish Environmental Protection Agency (SEPA) a publié une méthode détaillée pour l'analyse du benzoate d'émamectine dans les sédiments marins (SEPA 2018), qui est en fait une méthode QuEChERS modifiée avec une extraction réalisée à l'aide d'acétonitrile et une séparation effectuée avec du sulfate de magnésium (tableau 3). L'étape de nettoyage est réalisée à l'aide de cartouches d'EPS contenant un sorbant d'échange de cations et suivie d'une concentration de l'éluant avant l'analyse. La méthode utilise différents poids d'échantillons (2 g – champ proche, jusqu'à 25 m de la cage, et 20 g – champ lointain, de 25 à 100 m ou > 100 m si la mesure à 100 m se situe dans la zone d'effet admissible [ZEA]) et a permis d'obtenir des limites de détection de la méthode (LDM) de 33,7 ng/kg et de 3,4 ng/kg (poids sec), respectivement.

Les fournisseurs de matériel chromatographique constituent une bonne source de notes d'application pour les méthodes de préparation des échantillons. Estil et coll. (2016) ont publié une note technique pour l'extraction et l'analyse de plusieurs pyréthroides de sédiments marins (tableau 3), fondées sur une méthode QuEChERS modifiée. Il n'est pas certain que cette méthode a été validée pour vérifier son rendement, mais elle présente une récupération et une précision élevées pour les analytes analysés (taux de récupération de 87 % à 108 %, ETR de 2 % à 8 %).

Berlioz-Barbier et coll. (2014) ont enrichi des sédiments d'eau douce témoins avec des produits pharmaceutiques, des pesticides, un métabolite de pesticide et un plastifiant, puis extrait les échantillons à l'aide d'une méthode QuEChERS modifiée (tableau 3), suivie d'une analyse par CL-SM/SM. Ils n'ont pas utilisé le milieu d'extraction original de la méthode QuEChERS, mais ont comparé ceux décrits dans les lignes directrices de la méthode de l'AOAC (tampon acétate) et de la méthode européenne (tampon citrate). Les auteurs ont conclu que le tampon acétate permettait une meilleure récupération des composés analysés. Ils ont également évalué le matériau original de nettoyage par EPS-d par rapport à d'autres combinaisons et conclu qu'un mélange d'APS et de NCG donnait les meilleurs résultats globaux. Leur méthode a aussi été

validée en matière de linéarité, de LQ, de récupération et de précision intraquotidienne et interquotidienne.

D'après le nombre d'études disponibles, il a été démontré que la méthode QuEChERS est une excellente technique pour l'extraction de nombreuses classes de composés des aliments et d'autres matrices. Toutefois, comme la méthode QuEChERS est considérée comme une méthode multirésidus, c.-à-d., qu'elle extrait de nombreux composants de classes chimiques et de propriétés variées, elle compromet l'efficacité de l'extraction et donc la sensibilité de détection de chaque analyte analysé. Les méthodes d'extraction sur mesure qui ciblent une classe particulière de composés, comme les organophosphates, les pyréthroïdes ou les macrolides, ou un seul analyte permettraient d'obtenir de plus faibles limites de détection, et donc, de plus faibles limites de quantification pour la détection des ultra-traces. La figure 12 montre les étapes représentatives de l'extraction des sédiments à l'aide de la méthode QuEChERS. Les principaux avantages et désavantages sont les suivants :

| Avantages | Désavantages |
|--|---|
| Utilisation minimale de solvants organiques dangereux | Méthode d'extraction multirésidus, donc il peut être difficile d'obtenir des taux de récupération appropriés pour tous les analytes ciblés |
| Exige peu de main-d'œuvre | |
| Peu coûteux par rapport à d'autres méthodes | Des méthodes d'extraction adaptées à des classes particulières de composés pourraient permettre d'atteindre des limites de détection plus basses. |
| Extractions multirésidus | Extraits d'échantillons plus sales entraînant un entretien accru des instruments d'analyse. |
| Capacité de traitement des échantillons relativement élevée | |
| Un équipement de pointe ou spécialisé n'est pas requis pour la phase d'extraction. | |

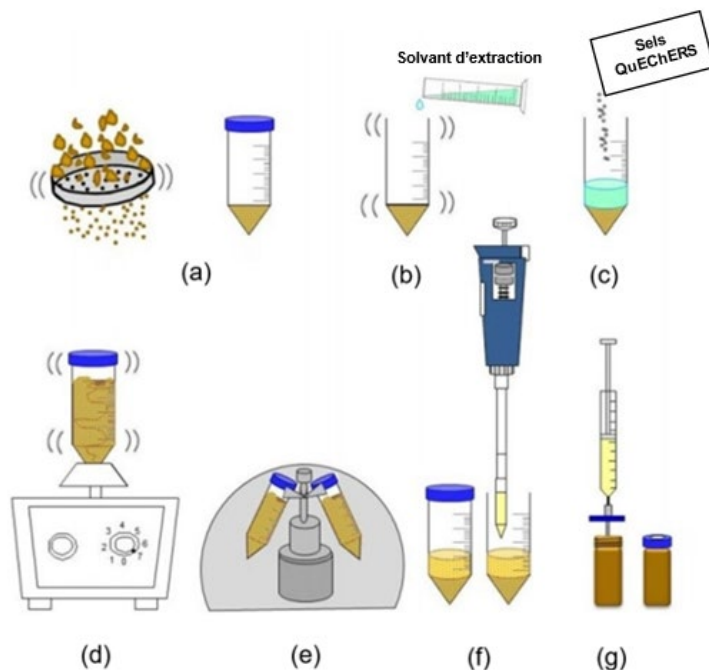


Figure 12. Procédés représentatifs de l'analyse de sédiments par la méthode QuEChERS, (a) prétraitement et pesée des échantillons; (b) ajout d'un solvant d'extraction et agitation; (c) ajout de sels QuEChERS; (d) mélange au vortex; (e) centrifugation; (f) prélèvement de la sous-aliquote du surnageant; (g) filtrage et analyse.

4. IMPORTANCE DE L'ACCREDITATION ET DE LA VALIDATION DES METHODES

4.1. ACCREDITATION SELON LA NORME ISO/CEI 17025

L'accréditation démontre que le système de gestion de la qualité et la compétence technique d'une installation d'essai ont satisfait ou dépassé les lignes directrices d'évaluation strictes définies par l'organisme compétent, ce qui assure au client que l'installation d'essai est compétente pour réaliser des types précis d'essais et de mesures, et lui donne un haut degré de confiance dans les données générées. Selon les exigences du client, les activités de conformité d'application, de présentation réglementaire ou de surveillance dépendent de l'exigence ou non d'une accréditation. La principale norme pour les laboratoires d'essai et d'étalonnage est la norme ISO/CEI 17025, une norme reconnue à l'échelle internationale et publiée conjointement par l'Organisation internationale de normalisation (ISO) et la Commission électrotechnique internationale (CEI). Au Canada, l'accréditation des installations d'essai selon la norme ISO/CEI 17025 peut être effectuée par la Canadian Association for Laboratory Accreditation (CALA) ou le Conseil canadien des normes (CCN). Pour obtenir une accréditation, un laboratoire doit présenter à un organisme d'accréditation un dossier de demande comprenant des renseignements sur ses activités ainsi que des documents généraux et techniques :

1. une copie de la norme ISO/CEI 17025:2017;
2. les documents sur le système de gestion de la qualité (politiques, procédures, processus documentés);
3. les méthodes d'essai et les procédures d'exploitation uniformisées (PEU) à l'appui;

-
4. les données de validation des méthodes;
 5. les dossiers d'audits internes;
 6. les rapports d'examen de la gestion;
 7. la démonstration d'une participation satisfaisante aux essais d'aptitude (un minimum d'une série d'essais réussis est nécessaire pour obtenir l'accréditation).

La demande doit également comprendre sa portée d'accréditation, c.-à-d. les méthodes pour lesquelles le laboratoire demande l'accréditation.

Lors de l'inspection de l'installation par l'organisme d'accréditation, les documents portant notamment sur les aspects suivants doivent être disponibles aux fins d'inspection :

1. les exigences relatives aux compétences pour chaque poste;
2. la liste des participations aux essais d'aptitude et les rapports des fournisseurs de services d'essais d'aptitude;
3. les contrôles internes de la qualité et des documents;
4. la gestion des échantillons;
5. la formation du personnel;
6. le nettoyage de la verrerie de laboratoire;
7. la vérification et la validation des méthodes et les dossiers de validation;
8. la confidentialité;
9. l'entretien du matériel et les registres d'entretien du matériel;
10. les dossiers de préparation des réactifs;
11. les certificats d'étalonnage;
12. les rapports d'essais;
13. les plaintes.

Toute lacune relevée par les inspecteurs lors de l'inspection de l'installation sera consignée dans leur rapport et le laboratoire aura la possibilité d'y remédier dans un délai déterminé. Lorsque toutes les lacunes ont été résolues à la satisfaction de l'organisme d'accréditation, celui-ci prend la décision définitive quant à l'accréditation du laboratoire. Les laboratoires accrédités sont régulièrement inspectés pour maintenir leur statut.

4.2. VALIDATION DE LA MÉTHODE

Une fois qu'une méthode préliminaire a été mise au point et qu'elle répond aux exigences de l'analyste ou du client, son rendement doit être entièrement mis à l'essai pour s'assurer qu'elle est adaptée à l'objectif attendu et qu'elle produit des données scientifiques valides et fiables selon un niveau de confiance donné. La validation vise à vérifier la pertinence de la méthode mise au point ainsi que la capacité des analystes et du laboratoire (Rambla-Alegre et coll. 2012). Le tableau 2 de l'annexe présente des données provenant d'études choisies dont les méthodes d'analyse respectives ont été validées. La figure 13 montre la progression typique du processus de validation.

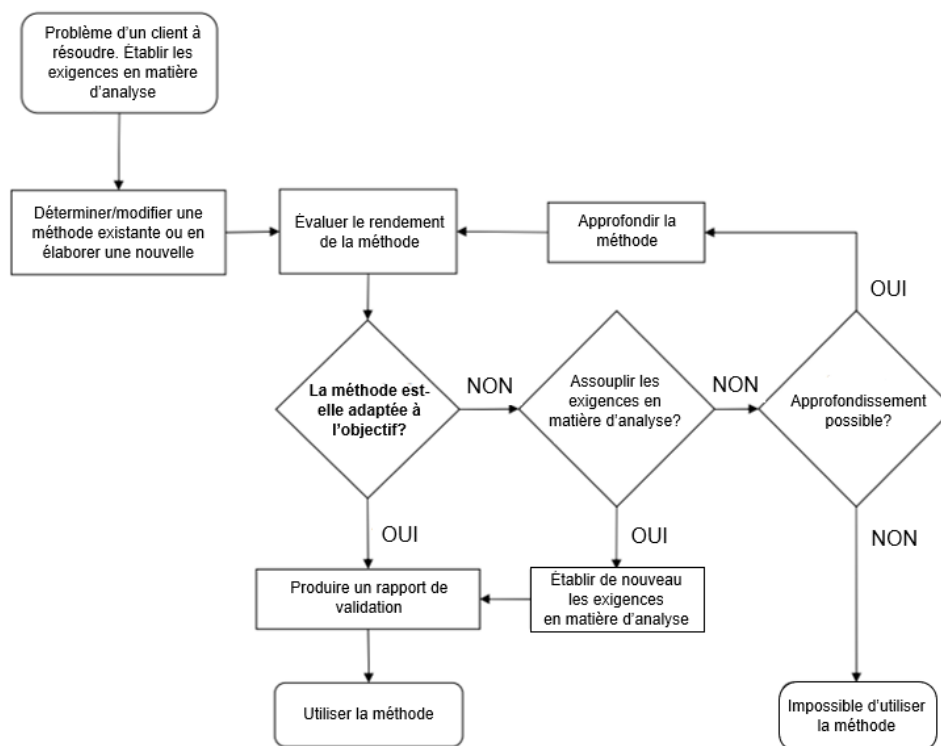


Figure 13. Progression du processus de validation des méthodes, « The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and related topics » (Eurachem 2014).

Ces essais prennent la forme d'une étude de validation de la méthode lors de laquelle la méthode mise au point est évaluée pour déterminer si elle fournit des résultats reproductibles et précis selon un ensemble de critères donné. Les lignes directrices publiées par la Food and Drug Administration (FDA), le Conseil international de l'harmonisation (ICH), l'Agence européenne des médicaments (EMA), l'Association of Analytical Chemists (AOAC) et l'Organisation internationale de normalisation (ISO) précisent les paramètres à prendre en compte dans le cadre du processus de validation. Il appartient au client et au laboratoire d'essai de décider de l'étendue de la validation requise pour la méthode proposée. Les paramètres d'essai, avec leurs définitions, qui doivent être pris en compte selon le document (ICH 2005) sont les suivants :

1. **Admissibilité du système** : Les essais sont basés sur le concept selon lequel le matériel, les systèmes électroniques, les procédures d'analyse et les échantillons à analyser constituent un système intégral qui peut être évalué comme tel.
2. **Spécificité** : La capacité d'évaluer sans équivoque l'analyte en présence de composants attendus – impuretés, produits de dégradation, matrice, etc.
3. **Limite de détection (LD)** : La plus petite quantité d'analyte dans un échantillon qui peut être détectée, mais pas nécessairement mesurée comme une valeur exacte.
4. **Limite de quantification (LQ)** : La plus petite quantité d'analyte dans un échantillon qui peut être analysée quantitativement selon une exactitude et une précision appropriées.
5. **Linéarité** : La capacité (dans une plage donnée) d'obtenir des résultats d'essai qui sont directement proportionnels à la concentration de l'analyte dans l'échantillon.

6. **Plage** : L'intervalle entre la concentration inférieure et supérieure de l'analyte dans l'échantillon pour lequel il a été démontré que la procédure d'analyse présente un degré approprié de précision, d'exactitude et de linéarité.
7. **Exactitude** : Exprime le degré de concordance entre la valeur acceptée en tant que valeur conventionnellement vraie ou valeur de référence acceptée et la valeur observée.
8. **Précision** : Exprime le degré de concordance (degré de dispersion) entre une série de mesures obtenues d'un échantillonnage multiple du même échantillon homogène dans des conditions prescrites.
 - a. **Répétabilité** : Exprime la précision dans les mêmes conditions de fonctionnement durant un temps court – également appelée précision intra-essais.
 - b. **Précision intermédiaire** : Exprime les variations intra-laboratoires : différentes journées, différents analystes, différent matériel, etc.
 - c. **Reproductibilité** : Exprime la précision entre les laboratoires (études collaboratives).
9. **Robustesse** : Mesure de la capacité d'une procédure d'analyse à demeurer valide malgré des variations faibles, mais intentionnelles, des paramètres de la méthode; donne une indication de sa fiabilité dans des conditions normales d'utilisation.

L'étude de validation ne doit pas englober tous les paramètres susmentionnés, mais devrait être aussi étendue que nécessaire pour montrer que la méthode est adaptée à l'objectif prévu. Par exemple, si la méthode est conçue comme une méthode de dépistage qualitatif, il n'y aura pas d'exigence en matière de LQ ou d'essai de validation de la linéarité. Toutefois, si la stabilité de l'analyte dans la matrice est remise en question, d'autres essais comme la stabilité au stockage doivent être intégrés au protocole de validation. La figure 14 présente une liste de paramètres de validation recommandés par diverses organisations.

| Paramètre | Organisation |
|----------------------------------|--|
| Spécificité | ICH, USP |
| Sélectivité | FDA, ISO 17025, IUPAC |
| Exactitude | FDA, ICH, ISO 17025, USP |
| Précision | USP, ICH, FDA, IUPAC |
| Répétabilité | ICH, ISO 17025 |
| Précision intermédiaire | ICH |
| Reproductibilité | ICH, correspond à la robustesse dans l'USP, ISO 17025, FDA |
| Justesse | IUPAC |
| Linéarité | ICH, ISO 17025, IUPAC, USP |
| Plage | ICH, USP |
| Limite de détection | FDA, ICH, ISO 17025, IUPAC, USP |
| Limite de quantification | ICH, ISO 17025, IUPAC, USP |
| Robustesse | FDA, inclus dans l'ICH en tant qu'activité d'élaboration de méthodes, ISO, USP |
| Robustesse | IUPAC, USP, correspond à la reproductibilité dans l'ICH |
| Sensibilité | FDA |
| Récupération | FDA, IUPAC |
| Applicabilité | IUPAC |
| Incertitude relative à la mesure | IUPAC |
| Stabilité | FDA |

Figure 14. Résumé des paramètres de validation de diverses organisations, Ramabla-Alegre et coll. (2012).

Si des modifications importantes sont apportées à la méthode validée, celle-ci doit être revalidée, ou du moins vérifiée à l'aide de paramètres sélectionnés pour démontrer qu'elle est toujours adaptée à l'objectif prévu. Les exemples de changements importants sont notamment :

1. l'extraction de différents types de matrices d'échantillons;
2. l'analyse d'analytes supplémentaires;
3. des modifications à la procédure d'extraction;
4. la substitution d'instruments (en tout ou en partie);
5. la modification de la plage de quantification;
6. des modifications aux conditions relatives aux instruments.

Si la méthode validée est destinée à un seul laboratoire, les essais inter-laboratoires peuvent ne pas être nécessaires. En outre, si un laboratoire d'essai met au point une méthode qu'il considère comme sa propriété intellectuelle, il peut refuser de procéder à des essais inter-laboratoires pour empêcher des concurrents d'obtenir la méthode. Ce type d'essai est toutefois un outil précieux pour démontrer la robustesse de la méthode d'analyse mise au point et la compétence du personnel à la reconstituer. Les essais peuvent être aussi informels qu'un essai comparatif inter-laboratoire où des échantillons de concentration connue sont préparés par le client par exemple, puis envoyés à divers laboratoires indépendants (y compris le laboratoire ayant conçu la méthode) où ils seront traités en utilisant la même méthodologie, mais possiblement du matériel différent. Les résultats obtenus par chaque installation seront ensuite analysés pour en déterminer l'exactitude et la précision afin d'évaluer la robustesse de la méthode.

La Scottish Environmental Protection Agency (SEPA), accréditée pour la norme ISO/CEI 17025:2005 par l'United Kingdom Accreditation Service (UKAS), a publié un document interne complet (SEPA 2017) qui décrit les procédures requises pour la validation des différents essais chimiques qu'elle effectue.

4.2.1. Poids des sédiments humides par rapport au poids des sédiments secs

L'analyse des sédiments pour le dosage de pesticides, de médicaments et d'antibiotiques peut être effectuée en utilisant des sédiments humides ou séchés, comme décrit dans de nombreuses études et méthodes d'analyse. Il convient de noter que si les concentrations sont déterminées en fonction de valeurs « humides » ou « telles quelles », les données seront moins biaisées que si elles étaient calculées en utilisant le poids « sec » (Environmental Chemistry Consulting Services 2011). Le laboratoire sous-traitant a utilisé les poids humides des sédiments pour valider et déclarer les concentrations en se basant sur la méthode QuEChERS élaborée. Tous les calculs étaient donc faussés vers le bas, car le pourcentage d'humidité des matrices témoins utilisées pour enrichir les échantillons d'étalonnage et de contrôle de la qualité n'a pas été pris en compte. Par exemple, la LQ calculée pour l'émamectine était de 0,21 ng/g humide. Donc, si la teneur en humidité de l'échantillon était, p. ex., de 20 %, alors la LQ basée sur le poids sec est en fait de 0,2625 ng/g. Ainsi, si les données de validation et les données échantillonnées sur le terrain doivent être normalisées, il faudrait alors déterminer le pourcentage d'humidité et recalculer les valeurs en conséquence. Au moment de la rédaction du présent document, le laboratoire sous-traitant a confirmé que cela serait fait pour tous les échantillons précédents et nouveaux.

En outre, les normes de qualité de l'environnement (NQE) dans le cadre de la surveillance après rejet seront calculées selon les concentrations en poids sec des sédiments. Il est donc essentiel d'utiliser des unités normalisées pour garantir l'exactitude des calculs.

L'utilisation du poids sec permettrait également d'assurer une uniformité dans les déclarations, car le pourcentage d'humidité des échantillons prélevés varierait d'un endroit à l'autre.

4.2.2. Pesticides liés

Les pesticides et les antibiotiques utilisés dans l'industrie aquacole sont chimiquement différents et auront des comportements et un devenir différents une fois rejetés dans l'environnement. Certains composés peuvent se dissoudre facilement dans l'eau, demeurer biodisponibles et être métabolisés avec le temps, tandis que d'autres peuvent s'adsorber rapidement sur les particules en suspension et les sédiments, et se bioaccumuler. Les sédiments constituent le réservoir final de tous les composés de traitement rejetés dans le milieu aquatique. Il est donc essentiel de comprendre la biodisponibilité et la bioaccumulation de ces composés pour décrire leur devenir et prévoir leur potentiel de toxicité.

Une gamme de facteurs influence la répartition d'un composé entre les particules en suspension et les sédiments et l'eau, mais le plus important est de loin leur lipophilie, exprimée par le coefficient de partage octanol-eau ($\log K_{oe}$). Les composés ayant un faible $\log K_{oe}$ sont hydrosolubles, comme l'azaméthiphos, avec un $\log K_{oe} = 1,05$ (BCPC, 2018), et le peroxyde d'hydrogène, avec $\log K_{oe} = -1,57$ (Pesticide Properties DataBase, 2018), restent biodisponibles et ne risquent pas de s'accumuler dans les tissus ou les sédiments. Lorsqu'il est rejeté en milieu aqueux, l'azaméthiphos se disperse très rapidement et se répartit par dispersion par les courants océaniques. Doté d'une demi-vie de 8,9 jours, l'azaméthiphos est dégradé par photolyse et hydrolyse, le principal produit étant le 6-chloro-oxazolo[4,5-b]pyridin-2(3H)-one, qui ne devrait pas se lier aux sédiments (PMRA 2016). De façon semblable, le peroxyde d'hydrogène se décompose rapidement en oxygène et en eau, avec une demi-vie estimée à environ sept jours. La vitesse de cette réaction augmente en présence de matière organique et de métaux (Burrige et coll. 2010).

D'autres pesticides et antibiotiques utilisés en aquaculture et dotés d'un $\log K_{oe} > 3$ ont une réduite solubilité dans l'eau et ont tendance à s'adsorber sur la matière organique, les tissus animaux ou les particules en suspension et les sédiments. Les sédiments constituent le réservoir final de bioaccumulation, de sorte qu'il faut comprendre les interactions entre ces composés et les sédiments ainsi que les facteurs y contribuant. La deltaméthrine ($\log K_{oe} = 4,6$) et le benzoate d'émamectine ($\log K_{oe} = 5,0$) (BCPC, 2018) sont deux agents chimiothérapeutiques utilisés dans l'industrie aquacole qui présentent un coefficient de partage octanol-eau élevé et sont très probablement bioaccumulables par adsorption dans les couches lipidiques des organismes ainsi que dans la matière organique et les particules de sédiments présentes dans l'eau.

Les interactions établies au sein des sédiments varient de faibles forces de Van der Waals et du partage hydrophobe aux liaisons covalentes et à la séquestration, et ne se limitent pas à un seul type d'interaction. La gamme complète des interactions possibles entre les pesticides et le sol ou les sédiments est bien documentée par Gevao et coll. (2000). Ces interactions déterminent, dans une certaine mesure, la biodisponibilité ou la bioaccumulation d'un composé et leur degré. Kümmerer (2009) a constaté que la composition des sédiments ou du sol détermine le caractère et la force des interactions d'adsorption. Li et coll. (2017) ont observé que la teneur, le type et les caractéristiques du carbone organique présent déterminent la force de l'adsorption ainsi que la structure et l'hydrophobie des composés eux-mêmes. Pour étayer ce point, Palmquist et coll. (2012) donnent l'exemple des pesticides pyréthroïdes, qui, en raison de leur caractère hydrophobe, devraient se bioaccumuler dans les espèces aquatiques. Au lieu de cela, plus de 97 % des pesticides pyréthroïdes totaux introduits en milieu aquatique interagissent avec le carbone organique dissous et sont adsorbés sur la matière organique en suspension, le sol, les sédiments et l'argile, ce qui réduit leur biodisponibilité.

Ainsi, une variété d'autres facteurs tributaires de la matrice ont une incidence sur les interactions entre les pesticides et les sédiments. Ces facteurs vont de la concentration et de la composition du carbone organique total à la distribution granulométrique dans les sédiments (qui favorise la zone de sorption active), aux processus de sorption et de désorption des particules et, en particulier, à la teneur en matière organique dissoute. Le pH du sol est également important, car l'adsorption augmente avec la diminution du pH du sol pour les pesticides ionisables comme le 2,4-D, le 2,4,5-T, le piclorame et l'atrazine (Hatzinger et Alexander 1995). Les processus abiotiques sont prédominants en conditions réductrices lorsque le taux d'enrichissement est important (Tribovillard et coll. 2006). Ces processus peuvent conduire à l'appauvrissement du sol ou à la formation de complexes, lesquels pourraient faire varier l'efficacité de l'extraction. Le vieillissement des sols (le moment d'application par rapport au moment de réalisation des analyses chimiques) pourrait également avoir une incidence sur la formation de complexes, le potentiel de dégradation diminuant avec le temps (Hatzinger et Alexander 1995) et pouvant influencer sur l'efficacité des méthodes d'extraction. Ces points sont particulièrement pertinents pour l'aquaculture étant donné que des sédiments très enrichis seront probablement échantillonnés autour des sites (Widenfalk 2002; Li et coll. 2017; Rain-Franco et coll. 2018; Vryzas 2018).

Comme abordé précédemment, il existe un large éventail d'interactions qui régissent la répartition d'un pesticide ou d'un agent chimiothérapeutique précis entre l'eau et les sédiments ou d'autres particules. Lorsqu'un composé est fortement retenu à la surface des sédiments, sa biodisponibilité est considérablement réduite, tout comme sa toxicité pour les organismes vivants (Widenfalk 2002; Palmquist et coll. 2012). La toxicité varie également d'un organisme vivant à l'autre. Par exemple, l'espèce épibenthique *Hyalella azteca*, qui vit à l'interface eau-sédiment, est touchée différemment d'un invertébré vivant dans les sédiments, comme le *Chironomus dilutus*, qui se nourrit activement de particules sédimentaires en raison des différentes voies d'exposition (Li et coll. 2017). Certains chercheurs avancent que la biodisponibilité est un meilleur indicateur que la quantité totale chimiquement extractible lorsqu'on évalue l'exposition d'un organisme à un composé en milieu aquatique (Kümmerer 2009; Palmquist et coll. 2012). La gamme des interactions varie de faibles forces électrostatiques de Van der Waals à des liaisons covalentes, de sorte que, si les conditions du milieu aqueux devaient changer, certains pesticides adsorbés à la surface des sédiments par des interactions plus faibles pourraient facilement être libérés et deviendraient biodisponibles. Des techniques exhaustives permettant d'obtenir le composé total extractible sont utilisées pour évaluer le potentiel de toxicité, bien qu'il soit encore difficile de prédire le rejet et l'accessibilité de ces pesticides à long terme (Burridge et coll. 2010). Un autre facteur à prendre en compte est l'interaction des composés, notamment des pesticides, avec les récipients d'échantillons pendant le stockage. Sharom et Solomon (1981) ont évalué l'adsorption et la désorption du pesticide perméthrine en solution sur divers matériaux de récipients (polyéthylène, polychlorure de vinyle, verre et téflon). Ils ont constaté que l'agitation des récipients réduisait le temps nécessaire pour que l'adsorption atteigne un plateau comparativement aux échantillons statiques. La température constituait également un facteur, les taux d'adsorption les plus faibles étant observés à -17 °C et les plus élevés à 34 °C pour chaque matériau. La désorption de la perméthrine depuis chaque récipient a été évaluée en agitant les récipients avec de l'eau doublement distillée. Les résultats ont révélé que la perméthrine était facilement désorbée d'abord du verre, puis du téflon, du polyéthylène et du chlorure de polyvinyle. Pour réduire au maximum l'adsorption, les récipients d'échantillons et la verrerie associée peuvent être silanisés pour recouvrir leur surface de molécules d'alcoxy silane organofonctionnel. Lors d'une étude menée par Harrison et coll. (2013), une procédure de silanisation utilisant du diméthylchlorosilane a été effectuée sur l'ensemble de la verrerie associée à la procédure d'extraction pour réduire tout effet d'adsorption. Les résultats ont montré que la récupération de

tous les composés analysés était de 81 % ± 22 % pour la verrerie silylée, contre 45 % ± 3 % pour la verrerie non traitée.

Par conséquent, lors du choix de la méthode la plus appropriée pour mesurer les concentrations de composés dans les sédiments, il faut prendre en compte de nombreux aspects, allant du récipient de stockage aux propriétés chimiques des pesticides et à la complexité de la matrice. Ces derniers facteurs sont particulièrement importants pour le choix d'une technique d'extraction appropriée. Pour les composés biodisponibles, une extraction liquide-liquide (ELL) pourrait suffire, tandis que pour les pesticides qui interagissent plus fortement avec les particules du milieu aquatique, des techniques d'extraction plus complètes pourraient être nécessaires, comme l'extraction Soxhlet, l'extraction accélérée par solvant (EAS), l'extraction par fluide supercritique, l'extraction assistée par micro-ondes ou la distillation à haute température. Di et coll. (2015) ont évalué l'efficacité d'extraction de dix pesticides organochlorés de sédiments préparés à l'aide de quatre techniques d'extraction complètes : extraction accélérée par solvant (EAS), extraction assistée par micro-ondes (EAM), méthode QuEChERS et extraction par solvant et ultrasons (ESU). La récupération la plus élevée a été obtenue en traitant les échantillons à l'aide de l'EAM et de la méthode QuEChERS, tandis que l'EAM a montré une meilleure reproductibilité avec de faibles valeurs d'ETR. Đurović-Pejčev et coll. 2018 ont évalué la méthode QuEChERS, l'extraction solide-liquide (ESL) et l'extraction Soxhlet pour l'analyse de douze pesticides appartenant à différentes classes chimiques dans les sols. La récupération la plus élevée a été obtenue en utilisant la méthode QuEChERS, suivie de l'ESL et de l'extraction Soxhlet, tandis que les limites détectables les plus basses ont été obtenues avec l'extraction Soxhlet, la méthode QuEChERS et l'ESL. Les trois méthodes se sont révélées reproductibles avec des valeurs d'ETR < 19 %.

5. RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Il existe de nombreuses techniques manuelles ou automatisées pour l'extraction de substances chimiques des matrices d'échantillons, bien que toutes les techniques comportent une certaine composante manuelle pour la préparation des échantillons avant l'extraction. Les méthodes instrumentales tendent à être plus coûteuses en raison du coût initial du matériel, mais sont moins exigeantes en main-d'œuvre, ce qui se traduit par une capacité de traitement des échantillons plus élevée, laquelle est essentielle pour les analyses courantes. L'inverse est vrai pour les techniques manuelles. L'extraction d'un seul analyte ou de plusieurs analytes de la même classe chimique dans un échantillon peut donner des taux de récupération très élevés, car la méthode d'extraction peut être adaptée à ces analytes précis. L'extraction multi-résidus d'analytes de différentes classes chimiques à partir d'un seul échantillon exige toutefois un compromis en matière de récupération, car chaque analyte réagira différemment avec les solvants d'extraction choisis, ce qui entraîne des limites de détection réduites. D'autre part, l'amélioration des méthodes d'extraction et de la sensibilité des instruments abaisse continuellement les limites de détection des composés chimiques.

La validation des méthodes d'analyse mises au point est essentielle pour démontrer leurs capacités et leur robustesse avant leur utilisation courante, notamment pour la prise de décisions réglementaires et l'application de la réglementation. Si la mise au point de la méthode, sa validation et l'analyse des échantillons sont confiées à un laboratoire tiers, il est recommandé que celui-ci puisse accréditer la méthode selon la norme ISO/CEI 17025. Cela donnera au client l'assurance que le travail a été effectué conformément à un ensemble précis de lignes directrices visant à garantir la qualité et l'intégrité des données communiquées, en particulier si les données générées peuvent être utilisées dans une poursuite à des fins d'application de la réglementation.

La méthode QuEChERS est une nouvelle technique en évolution qui s'est révélée adaptée à l'extraction multi-résidus et multi-classes de composés dans différents types de matrices. Elle permet une analyse rapide et rentable des échantillons comparativement aux méthodes et techniques traditionnelles, ce qui a été démontré par le laboratoire sous-traitant du MPO (non accrédité) dont la méthode QuEChERS combinée à une méthode d'extraction liquide-liquide pour la quantification de divers traitements contre les poux de mer et d'antibiotiques a révélé une exactitude et une précision acceptables pour chaque analyte étudié. Les LQ et LD déterminées étaient également comparables, voire meilleures que les autres méthodes publiées. Toutefois, des travaux supplémentaires doivent être menés pour que la méthode réponde aux besoins d'une méthode entièrement validée et adaptée à un usage courant. Des essais de stabilité doivent être réalisés pour évaluer le degré de dégradation (le cas échéant) de chacun des analytes analysés dans les échantillons de sédiments après leur prélèvement et leur stockage et transport. La robustesse de la méthode doit également être mise à l'essai à l'aide de divers types de substrats (autres que vaseux) susceptibles d'être rencontrés lors d'un échantillonnage sur le terrain, par exemple dans le cadre de projets de surveillance couvrant une vaste zone géographique. Un document méthodologique complet doit également être fourni aux fins d'examen. La biodisponibilité des composés liés pour les populations benthiques constitue une lacune potentielle dans les connaissances. Certaines recherches ont montré que lorsque les pyréthroides sont liés à des sédiments, leur biodisponibilité est réduite. On ne sait pas si c'est le cas pour d'autres composés.

6. RÉFÉRENCES CITÉES

- ACFFA. (2019, March 12). [2018 - New Brunswick Annual Sea Lice Management Report](#).
- Akoto, O., Azuure, A. A., & Adotey, K. D. (2016). Pesticide residues in water, sediment and fish from Tono Reservoir and their health risk implications. *Springerplus*, 5(1), 1849.
- Anastassiades, M., Lehotay, S. J., Stajnbaher, D., & Schenck, F. J. (2003). Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC International*, 86(2), 412 - 31.
- AOAC. (2007). AOAC Official Method 2007.01 [Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate](#).
- BCPC. (2018). The Pesticide Manual, 18th Edition. BCPC (British Crop Protection Council).
- Benskin, J. P., Ikononou, M. G., Surrige, B. D., Dubetz, C., & Klaassen, E. (2016). Biodegradation potential of aquaculture chemotherapeutants in marine sediments. *Aquaculture Research*, 47(2), 482 - 497.
- Berlioz-Barbier, A., Vauchez, A., Wiest, L., Baudot, R., Vulliet, E., & Cren-Olive, C. (2014). Multi-residue analysis of emerging pollutants in sediment using QuEChERS-based extraction followed by LC-MS/MS analysis. *Anal. Bioanal. Chem.*, 406, 1259 - 1266.
- Bright, D. A., & Dionne, S. (2005). Use of Emamectin Benzoate in the Canadian Finfish Aquaculture Industry: a Review of Environmental Fate and Effects. UMA Engineering Ltd.
- Brock, T., Bas, D., Belgers, J., Bibbe, L., Boerwinkle, M., Crum, S., . . . Roessink, I. (2016). Effects of sediment-spiked lufenuron on benthic macroinvertebrates in outdoor microcosms and single-species toxicity tests. *Aquat. Toxicol.*, 177, 464-475.

-
- Brondi, S. H., de Macedo, A. N., Vicente, G. H., & Nogueira, A. R. (2011). Evaluation of the QuEChERS Method and Gas Chromatography-Mass Spectrometry for the Analysis Pesticide Residues in Water and Sediment. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 86(1), 18 - 22.
- Brooks, B. W., Maul, J. D., & Belden, J. B. (2008). Antibiotics in Aquatic and Terrestrial Ecosystems. In *Encyclopedia of Ecology* (pp. 210 - 217). Elsevier B.V.
- Bruno, D. W., & Raynard, R. S. (1994). Studies on the use of hydrogen peroxide as a method for the control of sea lice on Atlantic salmon. *Aquaculture International*, 2, 10 - 18.
- Burrige, L. E. (2013). [A review of potential environmental risks associated with the use of pesticides to treat Atlantic salmon against infestations of sea lice in southwest New Brunswick, Canada](#). DFO Can. Sci. Advis. Sec. Res. Doc. 2013/050. iv + 25 p.
- Burrige, L. E., & Van Geest, J. L. (2014). [A review of potential environmental risks associated with the use of pesticides to treat Atlantic salmon against infestations of sea lice in Canada](#). DFO Can. Sci. Advis. Sec. Res. Doc. 2014/002. vi + 39 p.
- Burrige, L., Weis, J. S., Cabello, F., Pizarro, J., & Bostick, K. (2010). Chemical use in salmon aquaculture: A review of current practises and possible environmental effects. *Aquaculture*, 306(1 - 4), 7 - 23.
- [Canada Gazette](#). (2014).
- Committee for Veterinary Medicinal Products. (1999). [Teflubenzuron - Summary Report \(2\)](#). European Medicines Agency.
- Cooper, W. J., Zika, R. G., Petasne, R. G., & Plane, J. M. (1988). Photochemical formation of H₂O₂ in natural waters exposed to sunlight. *Environ. Sci. Technol.*, 22(10), 1156 – 1160.
- Di, S., Shi, S., Xu, P., Diao, J., & Zhou, Z. (2015). Comparison of Different Extraction Methods for Analysis of 10 Organochlorine Pesticides: Application of MAE-SPE Method in Soil from Beijing. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 95, 67 - 72.
- Dong, B., Zhao, Q., & Hu, J. (2015). Dissipation of emamectin benzoate and lufenuron residues in cabbage grown under field conditions. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187(12), 765.
- Đurović-Pejčev, R. D., Bursić, V. P., & Zeremski, T. M. (2019). Comparison of QuEChERS with Traditional Sample Preparation Methods in the Determination of Multiclass Pesticides in Soil. *J AOAC Int.*, 102(1), 46 - 51.
- Environmental Chemistry Consulting Services. (2011). [Ask the Chemist Vol. 2 - Dry Weight vs. Wet Weight Results](#).
- Ernst, W., Doe, K., Cook, A., Burrige, L., Lalonde, B., Jackman, P., . . . Page, F. (2014). Dispersion and toxicity to non-target crustaceans of azamethiphos and deltamethrin after sea lice treatments on farmed salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture*, 424 - 425, 104 - 112.
- Estil, S., Nelson, E., Trass, M., & Misa, A. (2016). [Rapid Extraction and Analysis of Pyrethroids from Sediments by QuEChERS and LC/MS/MS](#).
- Eurachem. (2014). Eurachem Guide: [The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics](#).
- FAO. (2018). The State of World Fisheries and Aquaculture - Meeting the sustainable development goals.
- FAO and WHO. (2018). Residue evaluation of certain veterinary drugs. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives - 85th Meeting 2017. FAO/WHO.
-

-
- Fiese, E. F., & Steffen, S. H. (1990). Comparison of the acid stability of azithromycin and erythromycin A. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 25(Issue suppl_A), 39 - 47.
- Fish Vet Group. (2018, July). [Salmosan\(R\) Vet.](#)
- Fisheries and Oceans Canada. (2014, August 25). [Farmed species profile.](#)
- Fisheries and Oceans Canada. (2018, October 31). [Substance Glossary.](#)
- Fisheries and Oceans Canada. (2019, November 27). [Aquaculture Production and Value.](#)
- Gan, J., Papiernik, S. K., Koskinen, W. C., & Yates, S. R. (1999). Evaluation of Accelerated Solvent Extraction (ASE) for the Analysis of Pesticide Residues in Soil. *Environ. Sci. Technol.*, 33(18), 3249 - 3253.
- Gevao, B., Semple, K. T., & Jones, K. C. (2000). Bound pesticide residues in soils: a review. *Environmental Pollution*, 108(1), 3 - 14.
- Harrison, R., Bull, I., & Michaelides, K. (2013). A method for the simultaneous extraction of seven pesticides from soil and sediment. *Anal. Methods*, 5, 2053.
- Hatzinger, P. B., & Alexander, M. (1995). Effect of Aging of Chemicals in Soil on Their Biodegradability and Extractability. *Environ. Sci. Technol.*, 29(2), 537 - 545.
- Hladik, M. (2007, December 31). [Methods Development for the Analysis of Pyrethroid Pesticides in Environmental Samples.](#) Recipient Agreement No. ERP-02-P42.
- ICH. (2005, November). [Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2\(R1\).](#)
- Ikonomou, M. G., & Surridge, B. D. (2013). Ultra-trace determination of aquaculture chemotherapeutants and degradation products in environmental matrices by LC-MS/MS. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 93(2), 183 - 198.
- Jensen, W. B. (2007). The Origin of the Soxhlet Extractor. *Journal of Chemical Education - J. Chem. Educ.*, 84(12), 1913.
- Kümmerer, K. (2009). Antibiotics in the aquatic environment - a review - Part I. *Chemosphere*, 75(4), 417 - 434.
- Lehotay, S. J. (2007). Determination of pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 90(2), 485 - 520.
- Leseur, C., Gartner, M., Mentler, A., & Fuerhacker, M. (2008). Comparison of four extraction methods for the analysis of 24 pesticides in soil samples with gas chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-ion trap-mass spectrometry. *Talanta*, 75(1), 284 - 293.
- Li, H., Cheng, F., Wei, Y., Lydy, M. J., & You, J. (2017). Global occurrence of pyrethroid insecticides in sediment and the associated toxicological effects on benthic invertebrates: An overview. *Journal of Hazardous Materials*, 324(Part B), 258 - 271.
- Lyons, M. C., Wong, D., & Page, F. H. (2014). Degradation of hydrogen peroxide in seawater using the anti-sea louse formulation Interlox® Paramove® 50. *Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci.* 3080: v + 19p.
- Lyytikäinen, M., Kukkonen, J. V., & Lydy, M. J. (2003). Analysis of Pesticides in Water and Sediment Under Different Storage Conditions Using Gas Chromatography. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 44, 437 - 444.
-

-
- McArdell, C. S., Molnar, E., Suter, M. J.-F., & Giger, W. (2003). Occurrence and Fate of Macrolide Antibiotics in Wastewater Treatment Plants and in the Glatt Valley Watershed, Switzerland. *Environ. Sci. Technol.*, 37(24), 5479 - 5486.
- McHenry, J. G. (2016). Lufenuron for salmonids - Environmental assessment in support of an import tolerance request. Basel, Switzerland: Elanco Animal Health.
- Moreno-González, R., Rodríguez-Mozaz, S., Gros, M., Barceló, D., & León, V. M. (2015). Seasonal distribution of pharmaceuticals in marine water and sediment from a Mediterranean coastal lagoon (SE Spain). *Environmental Research*, 138, 326 - 344.
- MSD Animal Health. (2012). [SLICE\(R\) Usage Guidelines](#).
- Page, F. H., Haigh, S. P., O'Flaherty-Sproul, M., & Wong, D. Sample Design Considerations for a Post-Deposit Monitoring Program for Pesticides and Drugs Discharged from Salmon Open Net-Pen Operations. DFO Can. Sci. Advis. Sec. Res. Doc. En press.
- Page, F., Losier, R., Haigh, S., Bakker, J., Chang, B., McCurdy, P., . . . Bartlett, G. (2015). [Transport and dispersal of sea lice bath therapeutants from salmon farm net-pens and well-boats](#). DFO Can. Sci. Advis. Sec. Res. Doc. 2015/064. xviii +148 p.
- Palmquist, K., Salatas, J., & Fairbrother, A. (2012). Pyrethroid Insecticides: Use, Environmental Fate, and Ecotoxicology. In *Insecticides - Advances in Integrated Pest Management* (pp. 251 - 278). doi:10.5772/29495
- Pesticide Properties DataBase. (2018, May 23). [Hydrogen peroxide](#).
- PMRA. (2016, September 20). [Azamethiphos - Proposed Registration Decision PRD2016-25](#).
- Radović, T., Grujić, S., Petković, A., Dimkić, M., & Laušević, M. (2015). Determination of pharmaceuticals and pesticides in river sediments and corresponding surface and ground water in the Danube River and Tributaries in Serbia. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187(1), 4092.
- Rain-Franco, A., Rojas, C., & Fernandez, C. (2018). Potential effect of pesticides currently used in salmon farming on photo and chemoautotrophic carbon uptake in central - southern Chile. *Aquaculture*, 486, 271 - 284.
- Rambla-Alegre, M., Esteve-Romero, J., & Carda-Broch, S. (2012). Is it really necessary to validate an analytical method or not? That is the question. *Journal of Chromatography A*, 1232, 101 - 109.
- Salvia, M. V., E, V., Wiest, L., Baudot, R., & Cre-Olivé, C. (2012). Development of a multi-residue method using acetonitrile based extraction followed by liquid chromatography-tandem mass spectroscopy for the analysis of steroids and veterinary and human drug. *Journal of Chromatography A*, 1245, 122 - 133.
- SEPA. (2017, August 21). [Method Validation for Chemical Tests: Procedure ES-VALID-P-009](#).
- SEPA. (2018, June 04). [Determination of Specific Fish Farm Medicine in Marine Sediments by LC-HRAM. Procedure: ES-TORG-P-216](#).
- Sharom, M. S., & Solomon, K. R. (1981). Adsorption and desorption of permethrin and other pesticides on glass and plastic materials used in bioassay procedures. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 38, 199 - 204.
- Shi, H., Yang, Y., Liu, M., Yan, C., Yue, H., & Zhou, J. (2014). Occurrence and distribution of antibiotics in the surface sediments of the Yangtze Estuary and nearby coastal areas. *Marine Pollution Bulletin*, 83(1), 317 - 323.
-

-
- Stevens, J., & Jones, D. (2010, November 23). [QuEChERS 101: The basics and beyond](#).
- Syngenta Crop Protection. (2014, March 19). Analytical method for avermectin B1a, avermectin B1b and 8,9-Z avermectin B1a in soil. Retrieved from
- Thompson, M., Ellison, S. L., & Wood, R. (2002). [Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis \(IUPAC Technical Report\)](#). Pure Appl. Chem., 74(5), 835 - 855.
- Tribouillard, N., Algeo, T. J., Lyons, T., & Riboulleau, A. (2006). Trace metals as paleoredox and paleoproductivity proxies: An update. Chemical Geology, 232(1 - 2), 12 - 32.
- US EPA, Office of Water. (2001, October). [Methods for Collection, Storage and Manipulation of Sediments for Chemical and Toxicological Analyses: Technical Manual. EPA 823-B-01-002](#).
- US EPA, SESD. (2017, April 26). [Field Sampling Quality Control](#).
- Vera, J., Correia-Sá, L., Paiga, P., Braganca, I., Fernandes, V. C., Domingues, V. F., & Delerue-Matos, C. (2013). QuEChERS and soil analysis. An Overview. Sample Preparation, 1(2013), 54 - 77.
- Vryzas, Z. (2018). Pesticide fate in soil-sediment-water environment in relation to contamination preventing actions. Current Opinion in Environmental Science & Health, 4, 5 - 9.
- Widenfalk, A. (2002). [Pesticide bioavailability in aquatic sediments - a literature review](#).
- Yang, X. B., Ying, G. G., & Kookana, R. S. (2010). Rapid multiresidue determination for currently used pesticides in agricultural drainage waters and soils using gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Environmental Science and Health, 45(2), 152 - 161.
- Zhang, L., Liu, S., Cui, X., Pan, C., Zhang, A., & Chen, F. (2012). A review of sample preparation methods for the pesticide residue analysis in foods. Cent. Eur. J. Chem., 10(3), 900 - 925.

7. ANNEXE

7.1. ÉLABORATION ET VALIDATION DE LA MÉTHODE PAR UN LABORATOIRE SOUS-TRAITANT DU MPO

INTRODUCTION

Des recherches approfondies ont été menées pour étudier les effets et le devenir de résidus de pesticides, de médicaments et d'antibiotiques dans les sols agricoles et les sédiments d'eau douce, mais peu de travaux ont porté sur les sédiments marins. Pêches et Océans Canada a retenu les services d'un laboratoire tiers pour élaborer et valider une méthode d'analyse pour la quantification de ces classes chimiques dans les sédiments marins prélevés par échantillonnage spatial autour de sites de salmoniculture, dans le cadre d'un programme national de surveillance proposé. Les composés d'intérêt désignés avant le début de l'étude sont énumérés dans le tableau 1. Il ne s'agit pas d'une liste exhaustive, car d'autres substances chimiques peuvent être ajoutées à l'avenir si elles sont jugées pertinentes. Le cas échéant, le laboratoire sous-traitant devra revalider ou vérifier sa méthode mise au point ou adapter son protocole pour ajouter d'autres composés tout en s'assurant que les LQ sont pertinentes pour l'application des seuils réglementaires.

Au départ, le laboratoire sous-traitant a mis à l'essai la méthode QuEChERS basée sur les méthodes d'Ikonomou et Surrige (2013), de Benskin et coll. (2016), AOAC 2007.01 et EN 15662 pour extraire simultanément tous les composés répertoriés d'un seul échantillon de sédiments à l'aide d'une détection par chromatographie liquide à haute performance et spectrométrie de masse en tandem (CLHP-MS/MS). Toutefois, selon les données préliminaires, les analystes ont conclu que les antibiotiques amoxicilline et chlorhydrate d'oxytétracycline ne pouvaient être extraits efficacement par cette seule méthode et ont donc utilisé une extraction par solution tampon de McIlvaine-EDTA pour ces deux composés (tableau 3). La robustesse des deux méthodes d'extraction a été démontrée en validant la linéarité, l'exactitude et la précision, les effets de matrice, la limite de détection de la méthode (LDM), la LQ et la récupération pour chacun des composés répertoriés. La matrice témoin utilisée pour la préparation des échantillons enrichis était composée d'échantillons de sédiments prélevés dans des stations de référence situées loin des sites de cages à saumon dans le sud-ouest du Nouveau-Brunswick. Ces échantillons témoins ont été examinés pour détecter la présence de résidus dans le cadre de l'étude de validation. Les résultats fournis par le laboratoire sous-traitant ont montré que les deux méthodes d'extraction répondaient aux critères d'acceptation pour chacun des paramètres de validation (tableau A1) comme définis par le plan d'étude.

Tableau A1. Critères d'acceptation des paramètres de validation comme définis par le laboratoire sous-traitant.

| Paramètre | Mesuré comme | Critère d'acceptation |
|--------------------------|----------------------------|-----------------------|
| Exactitude | Taux de récupération moyen | 80 - 120 % |
| Précision | ETR | < 20 % |
| Sélectivité | Rapport MRM* | Moins de 30 % |
| Plage linéaire | R ² | > 0,995 |
| Effet de matrice / biais | Écart | < 50 % |

* = surveillance des réactions multiples

Les coefficients de détermination (R²) pour chacun des analytes étaient > 0,995 avec des LQ dans la plage de 0,14 ng/g à 12,16 ng/g et des limites de détection de la méthode (LDM) dans la plage de 0,02 ng/g à 3,82 ng/g. L'exactitude de la méthode a également satisfait au critère d'acceptation (plage réelle de 81,4 % à 118,3 %). Par conséquent, la méthode mise au point s'est révélée viable et robuste pour l'extraction et la quantification des substances chimiques répertoriées dans les sédiments marins. L'aptitude d'une méthode d'analyse peut être mesurée par ses limites de détection et de quantification, essentielles lorsque l'on tente de doser les résidus d'analytes à l'état de traces ou d'ultra-traces dans des échantillons, ce qui pourrait être capital pour l'application des normes de qualité de l'environnement (NQE). Le tableau A2 présente les données relatives à la limite de détection (LD) et à la limite de quantification (LQ) pour divers pesticides et antibiotiques extraits du sol ou de sédiments à l'aide de différentes techniques d'extraction avec détection par CG-SM/SM ou CL-SM/SM. Toutes les techniques produisent des valeurs différentes de LD et de LQ lorsqu'elles sont comparées, comme prévu, mais pour chaque méthode, les LQ étaient généralement environ trois fois plus élevées que les LD correspondantes. Il est donc évident que différentes techniques d'extraction d'échantillons (et possiblement différents analystes, installations ou matériel) et conditions relatives aux instruments donnent des efficacités d'extraction différentes.

Selon les données de validation, la méthode décrite par le laboratoire sous-traitant est prometteuse pour la quantification des pesticides, médicaments et antibiotiques répertoriés. Elle a ensuite été mise à l'essai pour l'analyse d'échantillons de sédiments prélevés dans le cadre d'un projet scientifique de Pêches et Océans Canada visant à éclairer la conception d'un programme de surveillance après rejet et l'actuel Programme de surveillance et de modélisation de l'aquaculture (PSMA) national.

Tableau A2. LD et LQ déterminées à partir d'études représentatives.

| | | | | | | | | | |
|-------------------------------|--|--|---|---------------------------|----------------------|--|---|---|---|
| Auteur | Laboratoire sous-traitant du MPO | Salvia et coll. (2012) | Leseur et coll. (2008) | Yang et coll. (2010) | Dong et coll. (2015) | Radović et coll. (2015) | Shi et coll. (2014) | Moreno-González et coll. (2015) | Syngenta (2014) |
| Matrice analysée | Sédiments marins (humides) | Sol terrestre | Sol terrestre (séché) | Sol agricole (lyophilisé) | Sol agricole | Sédiments de rivière (séché) | Sédiments de surface (humides) | Sédiments marins (lyophilisés) | Sol agricole |
| Classes de produits chimiques | Pesticides, médicaments et antibiotiques | Stéroïdes, médicaments à usage humain et vétérinaire | Pesticides | Pesticides | Pesticides | Produits pharmaceutiques et pesticides | Antibiotiques | Produits pharmaceutiques | Pesticides |
| Méthodes d'extraction | Méthode QuEChERS ¹ et Mcllvaine-EDTA ² | Méthode QuEChERS | ESU ³ ; ELP ⁴ Méthode européenne DIN 12393 ⁵ Méthode QuEChERS ⁶ | Méthode QuEChERS | Méthode QuEChERS | Extraction par solvant et ultrasons | Extraction par solvant et ultrasons | Extraction par liquide pressurisé | Extraction liquide avec nettoyage par EPS |
| Détection | CLHP-SM/SM | CL-SM/SM | CG-SM | CG-SM | CLUHP-SM/SM | CL-SM/SM | CLUHP-SM/SM | CLUHP-SM/SM | CL-SM/SM |
| Méthode validée | Oui (mais incomplet) | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Partiellement (récupération, LD et LQ uniquement) | Partiellement (récupération, LD et LQ uniquement) | Oui |

| Auteur | Laboratoire sous-traitant du MPO | Salvia et coll. (2012) | Leseur et coll. (2008) | Yang et coll. (2010) | Dong et coll. (2015) | Radović et coll. (2015) | Shi et coll. (2014) | Moreno-González et coll. (2015) | Syngenta (2014) |
|---|--|------------------------|------------------------|----------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------|---------------------------------|-------------------------|
| Composés étudiés présentant un intérêt pour l'aquaculture (LD ^a ; LQ) ^a | ¹ Abamectine (B1a) | | | | | | | | |
| | (0,437; 1,397) | | | | | | | | |
| | ¹ Azaméthiphos | | | | | | | | |
| | (0,050; 0,163) | | | | | | | | |
| | ¹ Cyperméthrine | | | | | | | | |
| | (1,763; 5,607) | | | | | | | | |
| | ¹ Deltaméthrine | | | | | | | | |
| | (1,003; 3,197) | | | | | | | | |
| | ¹ Métabolite diméthylé du benzoate d'émamectine | Érythromycine | | | | | | | |
| | (0,054; 0,170) | (0,700; 2,140) | | | | | Érythromycine | | |
| | ¹ Émamectine | Florfenicol | Deltaméthrine | | | | | | |
| | (0,063; 0,203) | (0,004; 0,013) | ³ (8; 25) | | Cyperméthrine | Benzoate d'émamectine | Amoxicilline | (0,08; 0,03) | |
| | | | | | | (4,65 × 10 ⁻⁵ mg/L; | (3; 10) | Florfenicol | Abamectine comprenant : |
| | ¹ Érythromycine-H ₂ O | Sulfadiazine | ⁴ (3,8; 13) | | (6,2; 20,7) | 0,01 mg/kg) | Érythromycine | (0,02; 0,25) | Érythromycine |
| | (0,253; 0,803) | (0,020; 0,055) | ⁵ (6; 20) | | | | (1; 3) | Oxytétracycline | (0,45; 1,49) |
| | Sulfadiméthoxine | ⁶ (14; 47) | | (9,5; 31,8) | (2,4 × 10 ⁻⁴ mg/L; | Triméthoprim | (0,05; 0,19) | Triméthoprim | |
| ¹ Florfenicol | (0,009; 0,026) | | | | 0,05 mg/kg) | (1; 3) | Sulfadiazine | (1,15; 3,83) | |
| (0,117; 0,367) | Triméthoprim | | | | | | (0,21; 0,41) | (0,2; 0,5) | |
| ¹ Ivermectine | (0,006; 0,019) | | | | | | | | |
| (1,233; 3,927) | | | | | | | | | |
| ¹ Lufénuron | | | | | | | | | |
| (0,067; 0,217) | | | | | | | | | |
| ¹ Sulfadiazine | | | | | | | | | |
| (0,060; 0,177) | | | | | | | | | |
| ¹ Sulfadiméthoxine | | | | | | | | | |
| (0,060; 0,187) | | | | | | | | | |
| ¹ Téflubenzuron | | | | | | | | | |
| (1,220; 3,880) | | | | | | | | | |
| ¹ Triméthoprim | | | | | | | | | |
| (0,067; 0,207) | | | | | | | | | |

| Auteur | Laboratoire sous-traitant du MPO | Salvia et coll. (2012) | Leseur et coll. (2008) | Yang et coll. (2010) | Dong et coll. (2015) | Radović et coll. (2015) | Shi et coll. (2014) | Moreno-González et coll. (2015) | Syngenta (2014) |
|--------|--|------------------------|------------------------|----------------------|----------------------|-------------------------|---------------------|---------------------------------|-----------------|
| | ² Amoxicilline (1,597; 5,093) | | | | | | | | |
| | ² Oxytétracycline (0,217; 0,677) | | | | | | | | |

| Calculs des LDM ⁺ , LD et LQ | LDM = $t_{(n-1, 1-\alpha = 0,99)}(S)$ où t = 3,143 LQ = 10 × ET du bruit de référence | LD = concentration de l'analyte donnant 3 × le bruit de fond LQ = concentration de l'analyte donnant 10 × le bruit de fond | Concentrations correspondant à un rapport signal/bruit (S/B) de 3 (LD) et 10 (LQ) | LD = 3 × ET du bruit de fond d'un échantillon de sol enrichi LQ = 10 × ET du bruit de fond d'un échantillon de sol enrichi | LD = 3 × ET du bruit de fond LQ = plus faible concentration d'un échantillon enrichi | Concentrations correspondant à un rapport S/B de 3 (LD) et 10 (LQ) | Concentrations correspondant à un rapport S/B de 3 (LD) et 10 (LQ) | Concentrations correspondant à un rapport S/B de 3 (LD) et 10 (LQ) | LD = 4 × bruit de fond d'un échantillon témoin LQ = échantillon enrichi le plus faible (récupération 70 - 120 %, ETR ≤ 20 %) |
|---|---|---|---|---|---|--|--|--|---|
|---|---|---|---|---|---|--|--|--|---|

+ = LDM (limite de détection de la méthode) déclarée par le laboratoire sous-traitant du MPO au lieu de la LD

LACUNES EN MATIÈRE DE CONNAISSANCES

Bien que la méthode élaborée par le laboratoire sous-traitant du MPO ait montré un potentiel pour l'analyse des composés répertoriés, certains points doivent être étudiés et des travaux supplémentaires doivent être menés pour démontrer sa robustesse.

Document sur les méthodes d'analyse

Un document méthodologique complet détaillant les méthodes d'analyse et d'extraction pour doser les pesticides, les médicaments et les antibiotiques dans les sédiments marins n'a pas encore été préparé par le laboratoire sous-traitant aux fins d'examen. À l'heure actuelle, la méthode fournie est une brève description par étapes de la procédure d'extraction. Elle ne contient pas suffisamment de renseignements pour permettre à un laboratoire tiers de reconstituer entièrement la méthode. Un tel document devrait notamment décrire :

1. le contrôle des documents (date de publication, numéro de version, signature d'approbation);
2. les substances chimiques utilisées (fournisseurs et qualités);
3. la liste de matériel;
4. la préparation des réactifs (solvants d'extraction, phases mobiles, etc.);
5. la préparation des étalons (préparation de la solution de réserve, schéma de dilution, etc.);
6. la préparation des étalons internes (préparation de la solution de réserve, schéma de dilution, etc.);
7. la préparation d'étalons de remplacement (préparation de la solution de réserve, schéma de dilution, etc.);
8. les procédures d'enrichissement des échantillons;
9. la préparation des échantillons avant les analyses;
10. les procédures d'extraction détaillées;
11. les conditions relatives aux instruments (y compris le logiciel et le numéro de version utilisés pour le traitement des données);
12. les équations utilisées pour quantifier les données;
13. des chromatogrammes représentatifs pour les composés déterminés.

La procédure ES-TOEG-P-216 (SEPA 2018) est un exemple de document complet sur les méthodes d'analyse qui contient suffisamment de renseignements pour reconstituer entièrement la méthode pour le benzoate d'émamectine dans des échantillons de sédiments marins.

Accréditation

Comme décrit à la section 3.1, l'accréditation donne au client un certain degré de confiance quant aux résultats obtenus et au fait que le travail est effectué conformément à une norme déterminée par l'organisme émetteur. La validation et l'analyse décrites ici ont été effectuées par un laboratoire accrédité par le programme EDQA du ministère de l'Environnement de la

Colombie-Britannique, le ministère de la Santé de la Colombie-Britannique, Services publics et Approvisionnement Canada et le programme Elite Legionella des Centers for Disease Control and Prevention (CDC) des États-Unis. Toutefois, le laboratoire n'a pas encore reçu l'accréditation à la norme ISO/CEI 17025 (la principale norme pour les laboratoires d'essai et d'étalonnage) – au moment d'écrire ces lignes, l'accréditation est en cours selon son site Web.

Stabilité de stockage des pesticides, médicaments et antibiotiques dans des échantillons prélevés

Les échantillons de sédiments traités par le laboratoire sous-traitant ont été prélevés par le MPO au moyen de bennes ou de carottiers manipulés par des plongeurs, et la couche supérieure de 1 ou 2 cm a été sous-échantillonnée dans des bouteilles ambrées certifiées I-Chem 200 Series. Les échantillons ont ensuite été stockés à l'état congelé à environ -20 °C jusqu'à leur expédition au laboratoire sous-traitant dans des boîtes d'expédition isolées contenant des blocs de gel réfrigérant. À leur réception, les échantillons ont été maintenus congelés jusqu'à leur décongélation en vue du prélèvement d'un aliquote avant l'analyse, et le reste des échantillons a été remis en stockage à l'état congelé. La stabilité chimique des composés de l'échantillonnage à l'analyse demeure incertaine, et donc, l'évaluation de la stabilité de stockage et de la stabilité de gel-dégel fournira de précieux renseignements. Cette stabilité n'avait pas été évaluée au moment de la rédaction du présent document. Il est donc recommandé de poursuivre les travaux pour déterminer si une dégradation se produit et, le cas échéant, dans quelle mesure.

L'examen de la documentation disponible a montré que très peu de recherches ont été réalisées pour étudier la stabilité de ces classes de substances chimiques dans les sédiments marins. Les travaux menés par Lyytikäinen et coll. (2003) ont porté sur cette question en lien avec certains pesticides organophosphorés, organochlorés, pyréthroïdes, à base de triazine et à base de carbamate, mais visaient les sédiments terrestres et aucun des pesticides énumérés dans le présent document. Les sédiments ont été enrichis avec un mélange de pesticides dans la plage de 0,03 à 1,2 µg/g, et la sous-aliquote (n = 3) d'un échantillon a été prélevée et analysée immédiatement pour déterminer la concentration de référence. Le reste a été stocké à -17 °C ou à +3 °C pendant au plus 28 jours et analysé à des moments précis. Les résultats ont révélé que tous les pesticides sauf un étaient stables lorsqu'ils étaient stockés à -17 °C, alors que la dégradation était plus évidente dans les échantillons stockés à +3 °C, ce qui signifie que la température est un facteur dont il faut tenir compte lors du stockage des échantillons. Une étude menée par l'U.S. Geological Survey, le California Department of Fish and Game's Water Pollution Control Laboratory et le Department of Pesticide Regulation de la Californie (Hladik 2007) n'a pas permis de valider la stabilité de stockage. Des analyses réalisées dans le cadre des travaux ont toutefois révélé que des échantillons de sédiments enrichis avec un mélange de pyréthroïdes étaient stables pendant un mois. En outre, des échantillons prélevés contenant des pyréthroïdes et stockés sur une période d'un an ont présenté une variation de moins de 10 % des concentrations quantifiées.

Des échantillons de sédiments d'eau douce et de sol enrichis de cinq classes de pesticides (triazines, organophosphates, composés organochlorés, pyréthroïdes et carbamates), puis stockés à -17 °C et à +3 °C pendant au plus 28 jours ont montré une stabilité pour tous les composés analysés à l'exception du lindane (composé organochloré) à -17 °C. Les échantillons stockés à +3 °C se sont dégradés jusqu'à 10 % en 8 à 13 jours de stockage, alors que le malathion (organophosphate) a mis un jour pour se dégrader dans les mêmes conditions (Lyytikäinen et coll. 2003).

Il existe peu de travaux de recherche portant sur la stabilité de stockage à long terme ou les effets de gel-dégel des pesticides et des antibiotiques dans les sédiments.

Quantification de l'anhydroérythromycine (érythromycine-H₂O)

L'érythromycine, un antibiotique macrolide, a été désignée aux fins d'étude dans la liste originale des composés pour lesquels la méthode a été mise au point. Plutôt que de valider la méthode pour l'érythromycine, on a évalué son métabolite anhydroérythromycine (érythromycine-H₂O), qui se forme dans des conditions acides et entraîne l'élimination de l'eau (-H₂O) de la molécule d'origine. Le métabolite possède également une faible activité antibactérienne par rapport au composé d'origine (Fiese et Steffen 1990, McArdell et coll. 2003). Comme ce médicament est administré dans l'alimentation et que son log K_{oe} est de 3,06, il devrait s'adsorber sur les solides organiques et pourrait persister dans l'environnement, dans les sédiments. Par conséquent, la validation de la méthode pour le médicament d'origine devrait possiblement être effectuée aussi, un bon exemple étant la validation de la méthode pour le benzoate d'émamectine et son métabolite déméthylé.

Effet de différents types de sédiments

La validation de la méthode d'extraction par le laboratoire sous-traitant a été effectuée avec des sédiments de référence prélevés dans le sud-ouest du Nouveau-Brunswick, qui peuvent être classés dans la catégorie de substrat vaseux. De même, les échantillons contaminés prélevés aux fins d'analyse provenaient du milieu environnant, c.-à-d. du même type de substrat que les sédiments de référence. Par conséquent, la procédure d'extraction s'est révélée adaptée aux types de sédiments vaseux (à forte teneur en matière organique), mais son rendement demeure inconnu pour les autres types de substrat (p. ex., sableux). Les LQ et LDM déterminées par le laboratoire sous-traitant ont été établies à l'aide d'un substrat vaseux (pas d'argile, de sable, ni de gravier). Par conséquent, il faut fournir des détails pour s'assurer que les procédures d'exploitation uniformisées sont suffisamment précises pour constituer la base d'un programme de surveillance. Ainsi, la procédure d'analyse doit être revérifiée en utilisant les autres types de substrats disponibles. La validation de la méthode n'a pas besoin d'être entièrement répétée; il serait recommandé de procéder minimalement à de nouveaux essais avec le nouveau type de substrat pour les paramètres suivants (Thompson et coll. 2002) :

1. la spécificité/la sélectivité et la LD si la matrice de l'échantillon diffère de celle utilisée dans l'élaboration de la méthode;
2. l'exactitude (biais) – dans des conditions de répétabilité ou de reproductibilité;
3. la précision – dans des conditions de répétabilité ou de reproductibilité.