

Méthode : SM/PTC/016 version 1

Septembre 2013

## **METHODE DE DOSAGE ET DE CONFIRMATION DES RESIDUS DE SULFAMIDES DANS LE MUSCLE PAR CL/SM-SM**

---

### **AVERTISSEMENTS ET PRECAUTIONS DE SECURITE**

Cette méthode implique la connaissance par l'opérateur des règles usuelles de manipulation des produits chimiques et des solvants. Elle devra être, autant que possible, mise en œuvre sous hotte ventilée. Toutes les précautions nécessaires devront être prises lors de la manipulation des standards (pesées sous hotte, port de gants...). Il est important de bien vérifier les risques associés à chaque produit avant de les utiliser.

### **1 OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION**

La méthode est applicable au dépistage et à la confirmation des résidus de sulfamides dans le muscle d'animaux de boucherie et de volaille. Les sulfamides sont classés dans le tableau I (substances autorisées) du règlement de la commission (EU) N° 37/2010 du 22/12/2009 et la Limite Maximale en Résidus établie dans le muscle (espèces productrices d'aliments) est de 100 µg/kg pour la somme des différents sulfamides. La méthode intègre les sulfamides suivants :

Sulfaclozine, sulfacétamide, sulfachloropyridazine, sulfadiazine, sulfadimérazine (ou sulfadimidine ou sulfaméthazine), sulfadiméthoxine, sulfadoxine, sulfaguanidine, sulfamérazine, sulfaméthizole, sulfaméthoxazole, sulfaméthoxy-pyridazine, sulfamonométhoxine, sulfaquinoxaline et sulfathiazole.

La quantification couvre la gamme de concentration suivante : 25 µg/kg à 200 µg/kg.

Pour la quantification de ces 15 sulfamides, 5 standards internes (SI) deutérés sont utilisés : la sulfadiméthoxine-D<sub>6</sub>, la sulfadiazine-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>, le sulfathiazole-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>, la sulfadimidine-<sup>13</sup>C<sub>6</sub> et la sulfadoxine-D<sub>3</sub>.

## 2 PRINCIPE

La méthode comporte 4 étapes :

- Extraction par de l'acétonitrile,
- Centrifugation,
- Evaporation à sec du surnageant sous flux d'azote puis reprise du résidu par de l'eau ultra pure,
- Injection dans le système CL-SM/SM.

La chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem avec ionisation par électrospray en mode positif est utilisée pour la détection des sulfamides. Une colonne analytique de type Symmetry C18 est utilisée pour la séparation par chromatographie liquide haute-performance. L'identification est basée sur la recherche de deux transitions par molécule au temps de rétention correspondant à l'analyte.

Cette méthode peut être utilisée comme méthode de dépistage (suspicion de l'identité de l'analyte + semi-quantification) ou comme méthode de confirmation (confirmation de l'identité et quantification). Dans le cas d'une confirmation, il est possible d'utiliser uniquement l'analyte en question pour la préparation des gammes de calibration.

## 3 REACTIFS ET PRODUITS

Au cours de l'analyse, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique et de l'eau ultra pure. Les références sont données à titre indicatif.

### 3.1 Réactifs

- |       |  |                                     |
|-------|--|-------------------------------------|
| 3.1.1 | Acide Heptafluorobutyrique 99,5 % pour analyse (Fluka 52411) | Danger : H314 P 280-305-351-338-310 |
| 3.1.2 | Acétonitrile pour HPLC (Fisher A/0626/17)                    | Danger : H225-302-312-319-332       |
| 3.1.3 | Eau ultra pure (MILLI-Q Millipore)                           | Danger : pas de danger              |

### 3.2 Solutions

- 3.2.1 HFBA 1 mmol/l dans l'eau : entre 60 µl et 65 µl de HFBA pur dans 500 ml d'eau déminéralisée (en fonction de la densité du produit).
- 3.2.2 HFBA 1 mmol/l dans l'acétonitrile : entre 60 µl et 65 µl de HFBA pur dans 500 ml d'acétonitrile (en fonction de la densité du produit).

### 3.3 Substances standards et préparation des solutions mères

Peser la quantité de poudre nécessaire pour obtenir des solutions mères à 0,5 mg/ml en substance active (sous la forme base) dans le méthanol. Passer la fiole aux ultrasons. Les solutions mères seront préparées indépendamment pour chacune des molécules.

Analytes	Fournisseur	Stabilité solution mère	Danger
Sulfacétamide (SCT)	Sigma,[144-80-9]	1 an à au moins -18°C	Danger : pas de danger identifié
Sulfachloropyridazine (SCP)	Sigma, [80-32-0]	1 an à au moins -18°C	Danger : H317 , P280
Sulfaclozine sodium (SCZ)	Cluzeau, [102-65-8]	1 an à au moins -18°C	Danger : H302-319-335-315-334-317 P261, P305+351+338
Sulfadiazine sodium (SDZ)	Sigma, [547-32-0]	1 an à au moins -18°C	Danger : H302-315-317-319-334-335 P261-280, P305+351+338, P342+311
Sulfadimérazine (SDM)	Sigma, [57-68-1]	1 an à au moins -18°C	Danger : pas de danger identifié
Sulfadiméthoxine (SDT)	Sigma, [122-11-2]	1 an à au moins -18°C	Danger : H315-317-319-335 P261-280, P305+351+338
Sulfadoxine (SDX)	Sigma, [2447-57-6]	1 an à au moins -18°C	Danger : H315-319-335 P261, P305+351+338
Sulfaguandine (SGN)	Sigma, [57-67-0]	1 an à au moins -18°C	Danger : H315-319-335 P261, P305+351+338338
Sulfamérazine (SMR)	Sigma, [127-79-7]	1 an à au moins -18°C	Danger : H315-319-335 P261, P305+351+338
Sulfaméthizole (SMZ)	CIL, [144-82-1]	1 an à au moins -18°C	Danger : H317- P 280
Sulfaméthoxazole (SMX)	CIL, [723-46-6]	1 an à au moins -18°C	Danger : H315-317-319-335 P261-280, P305+351+338
Sulfaméthoxyypyridazine (SMP)	Sigma, [80-35-3]	1 an à au moins -18°C	Danger : H315-318-335 P261-280, P305+351+338
Sulfamonométhoxine (SMNM)	Sigma, [1220-83-3]	1 an à au moins -18°C	Danger : H315-317-319-335 P261-280, P305+351+338
Sulfaquinoxaline sodium (SQX)	Sigma, [967-80-6]	1 an à au moins -18°C	Danger : H302-317, P280
Sulfathiazole (STZ)	Sigma, [72-14-0]	1 an à au moins -18°C	Danger : H315-319-335 P261, P305+351+338
Sulfadimérazine- <sup>13</sup> C <sub>6</sub> (SDM- C <sub>6</sub> )	Witega , [1196157-77-3]	ND	Danger : H315+320-H335 P261-262-281
Sulfadiazine- <sup>13</sup> C <sub>6</sub> (SDZ-C <sub>6</sub> )	Witega, [1189426-16-1]	ND	Danger : H315+320-H335 P261-262-281
Sulfathiazole- <sup>13</sup> C <sub>6</sub> (STZ- C <sub>6</sub> )	Witega, [1196157-72-8]	ND	Danger : H315+320-H335 P261-262-281
Sulfadiméthoxine-D <sub>6</sub> (SDT-D <sub>6</sub> )	Witega, [73068-02-7]	ND	Danger : H315+320-H335 P261-262-281
Sulfadoxine-D <sub>3</sub> (SDX-D <sub>3</sub> )	Witega, [1262770-70-6]	ND	Danger : H315+320-H335 P261-262-281

\* La sulfadiazine sous sa forme base est peu soluble dans le méthanol, il est donc important d'utiliser la forme sodique.

### 3.4 Préparation des solutions intermédiaires

On adaptera les dilutions en fonction de la concentration de la solution mère.

Pour l'étape de confirmation, une solution contenant uniquement l'analyte ou les analytes en question peut être préparée.

- Solution intermédiaire à 50 µg/ml en SCT, SCP, SCZ, SDZ, SDM, SDT, SDX, SGN, SMR, SMZ, SMX, SMP, SMNM, SQX et STZ dans le méthanol :

Pipeter 1 ml des solutions mère à 0,5 mg/ml de SCT, SCP, SCZ, SDZ, SDM, SDT, SDX, SGN, SMR, SMZ, SMX, SMP, SMNM, SQX et STZ dans une fiole de 10 ml et ajuster au trait de jauge avec du méthanol.

Les solutions intermédiaires sont stables 5 mois à au moins -18°C.

- Solution intermédiaire à 50 µg/ml en SDM-C<sub>6</sub>, SDZ-C<sub>6</sub>, STZ- C<sub>6</sub>, SDT-D<sub>6</sub> et SDX-D<sub>3</sub> :

Pipeter 1 ml des solutions mère à 0,5 mg/ml de SDM-C<sub>6</sub>, SDZ-C<sub>6</sub>, STZ- C<sub>6</sub>, SDT-D<sub>6</sub> et SDX-D<sub>3</sub> dans une fiole de 10 ml et ajuster au trait de jauge avec du méthanol.

### 3.5 Solutions de travail

- ST1 : Solution de travail à 0,5 µg/ml en SCT, SCP, SCZ, SDZ, SDM, SDT, SDX, SGN, SMR, SMZ, SMX,

SMP, SMNM, SQX et STZ dans l'eau ;

Pipeter 100 µl de la solution intermédiaire dans une fiole de 10 ml et ajuster au trait de jauge avec de l'eau.

- ST2 : Solution de travail à 1 µg/ml en SCT, SCP, SCZ, SDZ, SDM, SDT, SDX, SGN, SMR, SMZ, SMX, SMP, SMNM, SQX et STZ dans l'eau ;

Pipeter 200 µl de la solution intermédiaire dans une fiole de 10 ml et ajuster au trait de jauge avec de l'eau.

- ST3 : Solution de travail à 1,5 µg/ml en SCT, SCP, SCZ, SDZ, SDM, SDT, SDX, SGN, SMR, SMZ, SMX, SMP, SMNM, SQX et STZ dans l'eau ;

Pipeter 300 µl de la solution intermédiaire dans une fiole de 10 ml et ajuster au trait de jauge avec de l'eau.

- ST4 : Solution de travail à 2 µg/ml en SCT, SCP, SCZ, SDZ, SDM, SDT, SDX, SGN, SMR, SMZ, SMX, SMP, SMNM, SQX et STZ dans l'eau ;

Pipeter 400 µl de la solution intermédiaire dans une fiole de 10 ml et ajuster au trait de jauge avec de l'eau.

- Standard Interne : solution de travail à 1 µg/ml en SDM-C<sub>6</sub>, SDZ-C<sub>6</sub>, STZ-C<sub>6</sub>, SDT-D<sub>6</sub> et SDX-D<sub>3</sub> ;

Pipeter 200 µl de la solution intermédiaire dans une fiole de 10 ml et ajuster au trait de jauge avec de l'eau.

### 3.6 **Gaz**

3.6.1 Gaz de nébulisation et de séchage : air purifié.

3.6.2 Gaz rideau et de collision : azote de pureté 99,995 % provenant d'une cuve.

## 4 **MATERIEL**

Les références sont données à titre indicatif. Tout matériel équivalent peut être utilisé

### 4.1 **Verrerie**

4.1.1 Tubes à centrifuger de 16 ml en propylène Nalgène (VWR 525-2855) avec obturateurs (VWR 525-2934).

4.1.2 Tubes en verre de volume supérieur à 6 ml.

4.1.3 Fioles jaugées en verre de différentes capacités et bouchons adaptés.

4.1.4 Sabots de pesée.

### 4.2 **Matériel de Laboratoire**

4.2.1 Broyeur

4.2.2 Evaporateur sous flux d'azote (J. Toulemonde).

4.2.3 Distributeurs de solvant à volume variable.

4.2.4 Pipettes automatiques de laboratoire et cônes correspondants.

4.2.5 Agitateur électrique type VORTEX.

4.2.6 Agitateur rotatif type HEIDOLPH "Rheax II".

4.2.7 Balance de précision (résolution 0,01 mg).

4.2.8 Balance de laboratoire (résolution 0,01 g).

4.2.9 Ultracentrifugeuse réfrigérée MR23i (Jouan).

4.2.10 Filtres 0,45 µm diamètre 13 mm type Millex HV PVDF (Millipore) et seringues 1 ml pour filtration.

4.2.11 Vial à injection en polypropylène de 500 µl (Interchim, CH963290).

### **4.3 Matériel de chromatographie**

- 4.3.1 Pompe CLHP type LC20ADxr (Shimadzu) ou équivalent.
- 4.3.2 Injecteur automatique type SIL20ACXR (Shimadzu) ou équivalent.
- 4.3.3 Station informatique avec logiciel ANALYST.
- 4.3.4 Security Guard C18, 4,0 x 2,0 mm (Phenomenex).
- 4.3.5 Colonne analytique Symmetry C18, 3,5 µm, 100 X 2,1 mm (Waters).

### **4.4 Spectrométrie de masse**

- 4.4.1 Vanne de dérivation Valco ou équivalent.
- 4.4.2 Spectromètre de masse triple quadripôle (API 4000, Applied-BioSystems) avec interface « turboionspray » et station informatique avec logiciel ANALYST ou système équivalent.

## **5 MODE OPERATOIRE**

### **5.1 Stratégie analytique**

- 5.1.1 Dépistage : extraction d'un échantillon blanc témoin, d'un échantillon supplémenté au niveau de la LMR et des échantillons à analyser. La concentration des échantillons suspectés positifs pourra être estimée par rapport au blanc et à l'échantillon supplémenté. Le seuil pour l'envoi en confirmation correspond à la ½ LMR.
- 5.1.2 Confirmation : extraction d'une gamme de supplémentés dans la matrice concernée (5 niveaux avec l'échantillon blanc témoin) et des échantillons à confirmer en double. Dosage des échantillons par rapport à la gamme de supplémentés.

### **5.2 Préparation des standards d'étalonnage**

On utilisera pour préparer les standards d'étalonnage un matériau le plus proche possible du matériau à analyser. Les standards d'étalonnage permettent d'établir la droite de calibration pour la quantification et sont utilisés comme référence pour l'identification.

- Préparer 5 tubes contenant chacun  $2 \pm 0,04$  g de muscle broyé exempt de sulfamide.
- Ajouter 200  $\mu$ l de solution de travail de standard interne à 1  $\mu$ g/ml à chacun des tubes.
- Ajouter 200  $\mu$ l d'eau au premier tube pour obtenir le témoin (SE0) puis 200  $\mu$ l de chacune des solutions de travail ST1, ST2, ST3 et ST4 aux autres tubes afin d'obtenir des échantillons supplémentés à 50, 100, 150 et 200  $\mu$ g/kg en SCT, SCP, SCZ, SDZ, SDM, SDT, SDX, SGN, SMR, SMZ, SMX, SMP, SMNM, SQX et STZ (SE1, SE2, SE3 et SE4).
- Agiter au vortex et laisser 10 minutes en contact à l'obscurité.

### 5.3 Préparation des échantillons à analyser

- Décongeler l'échantillon de muscle à analyser et broyer une portion. Peser deux fois  $2 \pm 0,04$  g de muscle broyé dans deux tubes différents s'il s'agit d'une confirmation.
- Ajouter 200  $\mu$ l de solution de travail de standard interne à 1  $\mu$ g/ml à chacun des tubes.
- Ajouter 200  $\mu$ l d'eau à chacun des tubes.
- Agiter au vortex et laisser 10 minutes en contact à l'obscurité.

### 5.4 Extraction

- Ajouter 8 ml d'acétonitrile.
- Boucher les tubes et agiter 10 min à l'agitateur rotatif à 100 tours/min.
- Centrifuger 5 minutes à 14000 g à environ 4°C.
- Transférer 6 ml du surnageant dans un autre tube.
- Evaporer à sec sous flux d'azote à environ 50°C.
- Dissoudre le résidu dans 1 ml d'eau.
- Agiter au vortex.
- Filtrer les extraits à l'aide de filtres 0,45  $\mu$ m.
- Injecter.

## 6 ANALYSE ET DETECTION PAR CL-SM/SM

### 6.1 Conditions chromatographiques

Ces conditions peuvent être adaptées en fonction du type de pompe utilisé et des volumes morts associés.

- Volume d'injection : 10  $\mu$ l
- Gradient d'élution :

T (min)	Débit (ml/min)	HFBA 1mM/eau	HFBA 1mM /ACN
0	0,250	90	10
4	0,250	70	30
5	0,250	70	30
7	0,250	30	70
9	0,250	30	70
9.1	0,250	90	10
12	0,250	90	10

Vanne de dérivation :

La vanne est réglée pour laisser passer la phase mobile dans la source de 1,3 à 9,0 minutes. Conditions de détection spectrométriques (API 4000)

**6.1.1** Conditions de source

- Type de scan : MRM (Multiple Reaction Monitoring)
- Ionisation : turbo Spray, mode positif
- Hauteur de l'électrode : 3 mm
- Température de source : 650°C
- Curtain gas : 20
- GS1 : 25
- GS2 : 30
- IS : 4000
- CAD : 3

**6.1.2** MRM-Scheduled

- MRM detection Window : 40 sec
- Target scan time : 0,7 sec

**6.1.3** Transitions recherchées et temps de rétention

6.1.4 <u>Molécule</u>	DP	Transition 1	CE	Transition 2	CE	TR
Sulfaclozine (SCZ)	61	285,0/130,0	29	285,0/92,1	39	7,58
Sulfacétamide (SCT)	61	215,5/156,0	13	215,5/108,2	31	3,33
Sulfachloropyridazine (SCP)	66	284,9/156,1	19	284,9/108,2	37	5,99
Sulfadiazine (SDZ)	53	251,0/156,0	22	251,0/108,0	30	3,58
Sulfadimérazine (SDM)	50	279,1/156,0	25	279,1/108,0	36	4,75
Sulfadiméthoxine (SDT)	60	311,0/156,0	25	311,0/108,0	40	7,61
Sulfadoxine (SDX)	60	311,0/156,0	25	311,0/108,0	40	6,15
Sulfaguanidine (SGN)	20	215,1/155,9	20	215,1/108	30	1,74
Sulfamérazine (SMR)	66	265,1/156,0	23	265,1/108,2	39	4,27
Sulfaméthizole (SMZ)	56	271,2/156,0	21	271,2/108,2	37	5,03
Sulfaméthoxazole (SMX)	66	254,0/156,1	23	254,0/108,2	33	6,52
Sulfaméthoxypyridazine (SMP)	60	281,0/156,0	25	281/108,0	35	5,03
Sulfamonométoxine (SMNM)	60	281,0/156,0	25	281/108,0	35	5,66
Sulfaquinoxaline sodium (SQX)	50	301,0/156,0	23	301/108,0	40	7,61
Sulfathiazole (STZ)	53	256,0/156,0	20	256,0/108,0	34	3,99
Sulfadiazine- <sup>13</sup> C <sub>6</sub> (SDZ- <sup>13</sup> C <sub>6</sub> )	53	257,0/162,0	22			3,42
Sulfadimérazine- <sup>13</sup> C <sub>6</sub> (SDM- <sup>13</sup> C <sub>6</sub> )	50	285,1/162,0	25			4,75
Sulfadiméthoxine-D <sub>6</sub> (SDT-D <sub>6</sub> )	60	317,0/156,0	25			7,56
Sulfadoxine-D <sub>3</sub> (SDX-D <sub>3</sub> )	60	314,0/156,0	25			6,10
Sulfathiazole- <sup>13</sup> C <sub>6</sub> (STZ- <sup>13</sup> C <sub>6</sub> )	53	262,0/162,0	20			3,99

## 6.2 Séquence d'acquisition

Lors d'analyses de routine, les échantillons sont analysés de préférence de la façon suivante :

- Echantillon Blanc témoin
- Echantillon(s) supplémenté(s)
- Eau/ACN (50/50)
- Echantillon(s) à analyser
- Eau/ACN (50/50)
- Echantillon Blanc témoin
- Echantillon(s) supplémenté(s)

Un standard peut être éventuellement injecté en début et fin de série.

## 7 RESULTATS ET INTERPRETATION

### 7.1 Validité de l'analyse

- Vérifier la présence des standards internes (SI) dans chaque échantillon.
- Vérifier que les pics chromatographiques pris en compte ont un rapport Signal/bruit  $\geq 3$ .

#### **Critères liés aux résultats de validation et internes au laboratoire :**

- Vérifier que le coefficient de détermination de la droite de calibration est supérieur à 0,97 (transition majoritaire).
- Vérifier que le CCalpha calculé à partir de la transition de quantification (soit majoritaire) est inférieur au CCalpha max, c'est-à-dire à 145  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

### 7.2 Identification

La présence de sulfamide dans un échantillon est confirmée si les critères suivants sont respectés :

- Les deux transitions spécifiques à chaque analyte doivent être présentes avec un rapport signal sur bruit  $>3$ .
- Les abondances relatives des transitions dans les échantillons analysés doivent être les mêmes que celles obtenues dans les standards d'étalonnage (dans la même gamme de concentration) avec la tolérance décrite dans la décision 2002/657/CE.
- Le temps de rétention relatif de l'analyte dans les échantillons à analyser doit correspondre au temps de rétention relatif des standards d'étalonnage avec une tolérance de  $\pm 2,5 \%$  en CL.



### 7.3 Détermination de la concentration

#### 7.3.1 Standards internes utilisés

Les standards de SDZ-C<sub>6</sub>, SDM-C<sub>6</sub>, SDT-D<sub>6</sub>, SDX-D<sub>3</sub> et STZ- C<sub>6</sub> seront utilisés comme standards internes pour quantifier les 15 sulfamides :

Analyte	Standard interne
<b>Sulfaclozine (SCZ)</b>	Sulfadiméthoxine-D <sub>6</sub> (SDT-D <sub>6</sub> )
<b>Sulfacétamide (SCT)</b>	Sulfadiazine- <sup>13</sup> C <sub>6</sub> (SDZ-C <sub>6</sub> )
<b>Sulfachloropyridazine (SCP)</b>	Sulfadoxine-D <sub>3</sub> (SDX-D <sub>3</sub> )
<b>Sulfadiazine (SDZ)</b>	Sulfadiazine- <sup>13</sup> C <sub>6</sub> (SDZ-C <sub>6</sub> )
<b>Sulfadimérazine (SDM)</b>	Sulfadimérazine- <sup>13</sup> C <sub>6</sub> (SDM-C <sub>6</sub> )
<b>Sulfadiméthoxine (SDT)</b>	Sulfadiméthoxine-D <sub>6</sub> (SDT-D <sub>6</sub> )
<b>Sulfadoxine (SDX)</b>	Sulfadoxine-D <sub>3</sub> (SDX-D <sub>3</sub> )
<b>Sulfaguanidine (SGN)</b>	Sulfadiazine- <sup>13</sup> C <sub>6</sub> (SDZ-C <sub>6</sub> )
<b>Sulfamérazine (SMR)</b>	Sulfathiazole- <sup>13</sup> C <sub>6</sub> (STZ-C <sub>6</sub> )
<b>Sulfaméthizole (SMZ)</b>	Sulfadimérazine- <sup>13</sup> C <sub>6</sub> (SDM-C <sub>6</sub> )
<b>Sulfaméthoxazole (SMX)</b>	Sulfadoxine-D <sub>3</sub> (SDX-D <sub>3</sub> )
<b>Sulfaméthoxy-pyridazine (SMP)</b>	Sulfadimérazine- <sup>13</sup> C <sub>6</sub> (SDM-C <sub>6</sub> )
<b>Sulfamonométhoxine (SMNM)</b>	Sulfadoxine-D <sub>3</sub> (SDX-D <sub>3</sub> )
<b>Sulfaquinoxaline sodium (SQX)</b>	Sulfadiméthoxine-D <sub>6</sub> (SDT-D <sub>6</sub> )
<b>Sulfathiazole (STZ)</b>	Sulfathiazole- <sup>13</sup> C <sub>6</sub> (STZ-C <sub>6</sub> )

#### 7.3.2 Droite de calibration

A partir des standards d'étalonnage (SE) et en intégrant le blanc (SE0), on établit la droite de régression :

$$Y = ax + b$$

Où : y = rapport de la surface de l'analyte / surface du standard interne

x = concentration en analyte ajouté à l'échantillon

a : la pente de la droite

b : l'ordonnée à l'origine

#### 7.3.3 Calcul des concentrations

Après identification, la teneur en sulfamide (µg/kg) est calculée à partir de l'équation de la droite de régression établie ci-dessus. En pratique, le logiciel de traitement de données est utilisé pour créer une méthode de quantification automatique.

### 7.4 Décision

L'échantillon est déclaré non conforme si tous les critères d'identification sont respectés et si la concentration estimée dans l'échantillon est supérieure à la limite de décision (CC alpha) calculée à partir de la norme ISO 11843. Le CC alpha de la transition majoritaire (utilisée pour la quantification) correspond à la limite de décision.