

SECTION 2
TECHNICAL PART

2.4 Confirmation analysis by GC/C/IRMS

LNDD

CONFIDENTIEL

ENREGISTREMENT
(LISTE)

Codification : L-CONF-01

Date : 09/06/2006

1/3

SPECIMEN

LISTE DES CONFIRMATIONS REALISEES AU LABORATOIRE

ASSURANCE QUALITE
LNDD

Produits confirmés	Essai	Instructions	Mod op extraction	Mod op analyse	Type d'analyse
Stimulants(*)	EC08	I-CONF-08	M-EX-01B	M-AN-02	GC/Quad (SCAN)
Méthylamphétamine	EC09F	I-CONF-09F	M-EX-02D	M-AN-42	GC/Quad (SCAN)
Formes L et D de l'Amphétamine et de la Méthylamphétamine	EC57	I-CONF-57	M-EX-57	M-AN-57	GC/Quad (SCAN)
Amines (*) primaires par CS2	EC11	I-CONF-11	M-EX-05	M-AN-12	GC/Quad (SCAN)
Amines (*) primaires par CS2	EC11A	I-CONF-11A	M-EX-05A	M-AN-12B	GC/Quad (SCAN)
Amines (*) primaires par CS2	EC11B	I-CONF-11B	M-EX-05B	M-AN-12B	GC/Quad (SCAN)
Surveillance AMA : Cafeine		I-CONF-12C	M-EX-06	M-AN-02B	GC/Quad (SCAN)
Quali éphédrines	EC13A	I-CONF-13A	M-EX-08A	M-AN-14	GC/Quad (SCAN)
Quantif éphédrines	EC13B	I-CONF-13B	M-EX-08B	M-AN-15	GC/Quad (SIM)
Quantif Noréphédrines	EC13C	I-CONF-13C	M-EX-08A	M-AN-16	GC/Quad (SIM)
Surveillance AMA : Ephedrine	EC13D	I-CONF-13D	M-EX-08A	M-AN-14	GC/Quad (SCAN)
Betabloquants (*)	EC09	I-CONF-09B	M-EX-02B	M-AN-10	GC/Quad (SCAN)
Betabloquants (*) par MBA	EC14A	I-CONF-14A	M-EX-09	M-AN-17	GC/Quad (SCAN)
Bétabloquants (*) par MBA (sans hydrolyse)	EC14B	I-CONF-14B	M-EX-09	M-AN-17	GC/Quad (SCAN)
Atenolol (LC)	EC56B	I-CONF-56B	M-EX-56	M-AN-56	HPLC/MS3 ESI
Stupéfiants (*)	EC09A	I-CONF-09A	M-EX-02B	M-AN-10	GC/Quad (SCAN)
Etiléfrine	EC09C	I-CONF-09C	M-EX-02D	M-AN-10	GC/Quad (SCAN)
Etiléfrine	EC09E	I-CONF-09E	M-EX-02B	M-AN-34B	GC/Trappe (MS2)
Hydromorphone	EC09D	I-CONF-09D	M-EX-02E	M-AN-10	GC/Quad (SCAN)
THC-M	EC25	I-CONF-25	M-EX-18	M-AN-28	GC/Quad (SIM)
Cocaine -M	EC26	I-CONF-26	M-EX-19	M-AN-29	GC/Quad (SCAN)
Qualif morphine	EC27A	I-CONF-27A	M-EX-20	M-AN-30A	GC/Quad (SCAN)
Quantif morphine	EC27B	I-CONF-27B	M-EX-20	M-AN-30B	GC/Quad (SIM)
Semi quantif Morphine : surveillance ministère	EC27C	I-CONF-27C	M-EX-20	M-AN-30A	GC/Quad (SCAN)
Anabolisants (*) SPE	EC10A	I-CONF-10A	M-EX-04D	M-AN-11	GC/Quad (SCAN)
Anabolisants (*) SPE à bas seuil	EC10E	I-CONF-10E	M-EX-04D	M-AN-07B	GC/Trappe (MS2)
Anabolisants (*) SPE (sans hydrolyse)	EC10B	I-CONF-10B	M-EX-04D	M-AN-11	GC/Quad (SCAN)
Anabolisants (*) SPE (sans hydrolyse) à bas seuil	EC10F	I-CONF-10F	M-EX-04D	M-AN-07B	GC/Trappe (MS2)
Anabolisants (*) Hexane	EC19	I-CONF-19D	M-EX-14	M-AN-11	GC/Quad (SCAN)
Clenbuterol	EC18D	I-CONF-18D	M-EX-13B	M-AN-20C	GC/Trappe (MS3)

LNDD	ENREGISTREMENT (LISTE)	Codification : L-CONF-01 Date : 09/06/2006
LISTE DES CONFIRMATIONS REALISEES AU LABORATOIRE		2/3 CONFIDENTIEL

SPECIMEN					
Epimethendiol 17Epimethandienone 6betaOHmethandienone Methyltestosterone M1,M2	EC19C	I-CONF-19C	M-EX-04E	M-AN-21E	GC/Trappe (SCAN)
Epioxandrolone, Oxandrolone, Turinabol-M	EC20	I-CONF-20	M-EX-14E	M-AN-11	GC/Quad (SCAN)
3'OH Stanozolol (SI=25ng/mL)	EC21B	I-CONF-21B	M-EX-13B	M-AN-22B	GC/Trappe(MS2)
Zeranol et Taleranol (α et β Zearalanol)	EC39B	I-CONF-39B	M-EX-39	M-AN-39	HPLC/MS3 ESI
Quali 19Nor (SI=100ng/mL)	EC23A	I-CONF-23A	M-EX-14	M-AN-11	GC/Quad (SCAN)
Quali 19Nor (SI=25ng/mL)	EC23B	I-CONF-23B	M-EX-14	M-AN-24B	GC/Trappe (MS2)
Stabilité 19Nor		I-CONF-23E	M-EX-14D	MAN25B	GC/Quad (SCAN)
Quanti 19Nor (SI=100ng/mL)	EC23C	I-CONF-23C	M-EX-14	M-AN-25	GC/Quad (SIM)
Quanti 19Nor (SI=25ng/mL)	EC23D	I-CONF-23D	M-EX-14	M-AN-25	GC/Quad (SIM)
Semi Quanti T/E	EC24D	I-CONF-24D	M-EX-04B	M-AN-27	GC/Quad (SIM)
β-Trenbolone	EC22	I-CONF-22	M-EX-17	M-AN-23	HPLC/MS2 APCI
Anabolisants * LCMS	EC22A	I-CONF-22A	M-EX-03D	M-AN-47	HPLC/MS2 ESI
Anabolisants * LCMS	EC22B	I-CONF-22B	M-EX-03D	M-AN-47	HPLC/MS3 ESI
Analyse C12/C13 des métabolites de la testostérone	EC31	I-CONF-31	M-EX-24	M-AN-52 M-AN-41	GC/MS (SCAN) GC/C/IRMS
Terbutaline	EC18B	I-CONF-18A	M-EX-13A	M-AN-19	GC/Quad (SCAN)
Reproterol, Fenoterol	EC34	I-CONF-34	M-EX-34	M-AN-11	GC/Quad (SCAN)
Salbutamol	EC18B	I-CONF-18B	M-EX-13A	M-AN-19	GC/Quad (SCAN)
Salbutamol en MS2	EC18E	I-CONF-18E	M-EX-13A	M-AN-59	GC/Trappe (MS2)
Quanti Salbutamol >500ng/mL	EC18G	I-CONF-18G	M-EX-13A	M-AN-19C	GC/Quad (SIM)
EPO	ES07	I-CONF-07	M-EX-28 / 28B	M-AN-43	Immunodétection
HES	EC30	I-CONF-30	M-EX-22	M-AN-35	GC/MS (SCAN)
Hormones peptidiques : LH - β-hCG	EC06	I-CONF-06	Inclus dans M-AN-08	- M-AN-08 - M-AN-53	- Immunofluorescence quantitative - Immunochromatographie qualitative
Triamterene	EC40	I-CONF-40	M-EX-40	M-AN-40	GC/Quad (SCAN)
Diurétiques *	EC28A	I-CONF-28A	M-EX-03C	M-AN-33	HPLC/MS2 ESI
Diurétiques *	EC28B	I-CONF-28B	M-EX-03C	M-AN-33	HPLC/MS3 ESI
Thiazides	EC36A	I-CONF-36A	M-EX-36	M-AN-33	HPLC/MS2 ESI
Amiloride	EC33A	I-CONF-33A	M-EX-02A	M-AN-46	HPLC/MS2 ESI

LNDD	ENREGISTREMENT (LISTE)	Codification : L-CONF-01 Date : 09/06/2006 3/3
LISTE DES CONFIRMATIONS REALISEES AU LABORATOIRE		

Exemestane	EC37	I-CONF-37	M-EX-27	M-AN-11	GC/Quad (SCAN)
Tamoxifène-M, Clomiphène-M	EC35	I-CONF-35	M-EX-35	M-AN-11	GC/Quad (SCAN)
Glucocorticoïdes *	EC32A	I-CONF-32A	M-EX-29	M-AN-45	HPLC/MS2 ESI
Glucocorticoïdes *	EC32B	I-CONF-32B	M-EX-29	M-AN-45	HPLC/MS3 ESI

* : Terme générique, pour connaître le détail des molécules concernées consulter l'instruction I-CONF-correspondante

SPECIMEN

CONFIDENTIEL

EVOLUTIONS

Date de création	Motif	Date diffusion
A	Création du document.	29/09/2003
B	Ajout colonne des Essais + Mises à jour (I-CONF-19D, I-CONF-19C)	05/04/2004
C	changement d'identification des essais de confirmation ajout des conf LC, IRMS, HES, immuno et EPO	27/09/2004
D	Ajout de la confirmation qualitative reproterol, fenoterol Ajout de la confirmation quali / semi quantitative de la morphine (surveillance ministère) Modification de certains modes opératoires d'analyses suite à la suppression du saturn 2004 Ajout de la confirmation du Clomiphene-M et du Tamoxifène Ajout de la confirmation de l'alpha et bêta trenbolone par LCMS3	14/02/2005
E	Recodification des essais EC09, EC28, EC32, EC22	07/02/2006
F	Ajout de la conf quali GC/MS2 du Salbutamol Ajout de la Conf LC/MS3 pour les métabolites du zéaranolol Ajout de la conf CG /SM des formes L et D de l'amphétamine et de la Methylamphétamine Ajout de la confirmation générale en GC/MS2 des anabolisants	09/06/2006

LNDD	MODE OPÉRATOIRE	Codification : M-EX -24 Version : C Date :17/01/2006 1 / 4
METHODE DE PREPARATION POUR LA CONFIRMATION DE L'ORIGINE DES METABOLITES DE LA TESTOSTERONE PAR GC/C/IRMS		

Documents utilisés : E-TE-03C, I-VOL-01, I-EX-06, I-EX-07, I-EX-08 et I-TRAC-03C

Remplir la fiche de préparation - confirmation / contre expertise en CPG/C/SMRI E-TE-03C

<u>Opérations</u>	<u>Matériel</u>	<u>Réactifs et produits</u>
Prise d'essai selon I-VOL-01 8 ml maximum par tube	Tubes Kimble 16x100 mm Pipette Biohit 1-5ml Cônes Biohit	APPLICABLE le <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; display: inline-block;">19 JAN. 2006</div>
Centrifugation 5 minutes	Centrifugeuse 4000 tr/min	
Transvaser le surnageant dans tube préalablement identifiés (cf I-TRAC-03C)	Tubes Kimble 16x100 mm Pipette Pasteur	CONFIDENTIEL ASSURANCE QUALITÉ LNDD
Extraire sur SPE Rapid Trace selon I-EX-06	Cartouches Bond Elut C18 500mg Tubes Kimbles 16x100 mm	
Evaporation à sec	Bain à sec à 60°C	Azote
Ajouter 1.5 ml de tampon phosphate pH = 6.5	Dispensette	SPECIMEN Tampon Phosphate pH = 6.5 Chambre froide à +4°C (cf M-P-05)
Agiter jusqu'à dissolution complète	Vortex	
Ajouter 2 gouttes de β -glucuronidase	Compte goutte	β -glucuronidase Chambre froide à +4°C
Boucher et agiter 1 seconde	Bouchons Zymarck Vortex	
Hydrolyser 1h00 à 55°C	Etuve	
Centrifugation 5 minutes	Centrifugeuse 4000 tr/min	
Transvaser le surnageant dans tubes préalablement identifiés (cf I-TRAC-03C)	Tubes Kimble 16x100 mm Pipette Pasteur	
Extraire sur SPE Rapid Trace selon I-EX-07	Cartouches Bond Elut C18 200mg Tubes Kimble 13x100 mm	
Evaporation à sec	Bain à sec à 60°C	Azote

LNDD	MODE OPÉRATOIRE	Codification : M-EX -24 Version : C Date :17/01/2006 2 / 4
METHODE DE PREPARATION POUR LA CONFIRMATION DE L'ORIGINE DES METABOLITES DE LA TESTOSTERONE PAR GC/C/IRMS		

Opérations

Matériel

Réactifs et produits

Dissoudre et réunir dans un tube les extraits du même échantillon :
 Mettre de côté un tube sec
 Ajouter 500 µl d'acétonitrile dans les autres tubes et agiter 10s avant de les transvaser dans le tube sec

Pipettman de 1 ml
 Pipette pasteur
 Vortex

Acétonitrile

SPECIMEN

Rincer les tubes transvasés avec 500µl d'acétonitrile

Pipettman de 1 ml
 Pipette pasteur

Acétonitrile

Evaporation à sec

Bain à sec à 60°C

Azote

Ajouter 50 µl de pyridine
 Ajouter 50 µl d'anhydride acétique

Pipettman de 50 µl - Cônes Greiner
 Vortex

Pyridine desséchée
 Anhydride acétique > 99%

Reprendre par rotation légère du tube en position quasi horizontale
 Agiter 5 secondes et boucher

Vortex

CONFIDENTIEL

Dériver le tube bien fermé 1h00 à 60°C ou laisser une nuit à température ambiante

Bain à sec à 60°C
 ou
 Portoir à tubes sous hotte

Evaporation à sec

Bain à sec à 60°C

Azote

Ajouter 1 ml d'acétonitrile
 Agiter 10 secondes
 Ajouter 1 ml d'eau ultrapure
 Agiter 10 secondes

Pipette Biohit 1-5 ml
 Cônes Biohit
 Vortex

Acétonitrile
 Eau ultrapure

Extraire sur SPE Rapid Trace selon I-EX-08

Cartouches Baker C18 500 mg
 Tubes kimble 13x100 mm

Evaporation à sec des fractions
 F1 (environ 2h00)
 F2 (environ 1h30)
 F3 (environ 45min)

Bain à sec à 80°C

Azote

LNDD	MODE OPÉRATOIRE	Codification : M-EX -24 Version : C Date :17/01/2006 3 / 4
METHODE DE PREPARATION POUR LA CONFIRMATION DE L'ORIGINE DES METABOLITES DE LA TESTOSTERONE PAR GC/C/IRMS		

Traitement des fractions F₂ et F₃

SPECIMEN

Opérations

Matériel

Réactifs et produits

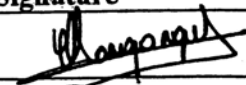

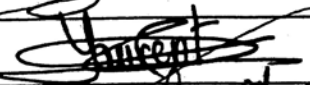
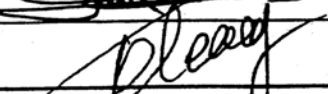
Ajouter le SI selon I-VOL-01	Seringue Hamilton de 50 µl ou de 100 µl selon le volume ajouté	Androstanol acétate H67 200 ng/µl
Ajouter 200 µl d'acétonitrile	Pipettman réglable de 200 µl Cônes Greiner	Acétonitrile
Reprendre par rotation légère du tube en position quasi horizontale		
Centrifugation 5 minutes	Centrifugeuse 4000 tr/min	
Transférer dans les vials préalablement identifiés selon I-TRAC-03C	Vials en verre avec insert 300 µl ou vials en verre de 1.5ml selon le volume	
Evaporation à sec	Bain à sec à 60°C	Azote
Reprendre dans de l'hexane selon I-VOL-01	Pipettman réglable de 200 µl ou 1ml	Hexane
Sertir et Agiter 10 secondes	Capsules à sertir - Vortex	

CONFIDENTIEL

Après analyse GC/MS :

Réajustement du SI si nécessaire (Cf. I-VOL-01) Agiter 10 secondes	Seringue Hamilton de 50 µl ou de 100 µl selon le volume ajouté	Androstanol acétate H67 0.2mg/ml
Evaporation à sec	Bain à sec à 60°C	Azote
Reprendre dans de l'hexane (Cf I-VOL-01)	Pipettman réglable de 200 µl ou 1ml	Hexane
Sertir et Agiter 10 secondes	Capsules à sertir - Vortex	

LNDD	MODE OPÉRATOIRE	Codification : M-EX -24 Version : C Date :17/01/2006 4 / 4
SPECIMEN METHODE DE PREPARATION POUR LA DETERMINATION DE L'ORIGINE DES METABOLITES DE LA TESTOSTERONE PAR GC/C/IRMS		

Action	Personne concernée	Date	Signature
rédigé par	Cynthia MONGONGU	16/01/2006	
vérifié par	Corinne BUISSON	16/01/2006	
vérifié par	Aurélie LAURENT	17/01/2006	
approuvé par	Jacques DE CEARRIZ	17/01/2006	

EVOLUTIONS

N° Version	Motif	Date
1	Création du document.	03/06/2002
2	Modification des quantités de SI et d'ACN, ajout d'une remarque sur l'importance de la rotation des tubes	14/10/2002
A	A --> Passage de projet en document validé : modification temps/température acétylation	04/02/2004
B	changement de cartouche pour la première extraction addition d'une nouvelle fraction d'analyse réunion des aliquots d'un meme échantillon avant dérivation l'évaporation des phases organiques se fait maintenant sous azote (E-INFO du 10/05/04)	16/07/2004
C	changement de cartouche pour la première extraction addition d'une nouvelle fraction d'analyse réunion des aliquots d'un meme échantillon avant dérivation l'évaporation des phases organiques se fait maintenant sous azote (E-INFO du 10/05/04) changement SE en SI et ajout analyse GC/MS avant GC/C/IRMS	17/01/2006

CONFIDENTIEL

LNDD	INSTRUCTION	Codification : I-EX -06 Version : C Date : 06/02/2006 1 / 3
PREMIERE EXTRACTION SUR PHASE SOLIDE (SPE) POUR LA CONFIRMATION DES METABOLITES DE LA TESTOSTERONE PAR GC/C/IRMS		

**ASSURANCE QUALITÉ
LNDD**

Application :	Irms0.spe
Durée d'extraction pour un tube:	13.30min
Tube utilisé:	Kimble 16x100mm
Type de cartouche utilisée:	Bond Elut C18 Varian 500mg/3ml

Documents utilisés: I-M-02, I-N-02

1. DISPOSITION DES SOLVANTS :

- Voie 1 : Méthanol
- Voie 2 : Eau ultrapure
- Voie 3 : Acétonitrile
- Voie 4 : Rien
- Voie 5 : Rien
- Voie 6 : Rien
- Voie 7 : Rien
- Voie 8 : Rien

Les voies 4, 5, 6, 7 et 8 restent à l'air libre

2. LANCEMENT DE L'EXTRACTION :

Effectuer les puges eau, air et/ou solvant. Voir I-M-02.

Positionner à droite les tubes à extraire et à gauche les tubes de recueil et placer les cartouches .

L'ordre de passage est le suivant:

- Blanc urinaire 1
- Echantillon 1
- Blanc urinaire 2
- Echantillon 2
- ...

Pour lancer l'extraction, voir I-N-02.

SPECIMEN

CONFIDENTIEL

LNDD	INSTRUCTION	Codification : I-EX -06 Version : C Date : 06/02/2006 2 / 3
PREMIERE EXTRACTION SUR PHASE SOLIDE (SPE) POUR LA CONFIRMATION DES METABOLITES DE LA TESTOSTERONE PAR GC/C/IRMS		

3. DESCRIPTION DES PRINCIPALES ETAPES DE L'EXTRACTION :

Etape	Source	Recueil	Volume (ml)	Débit (ml/min)
Conditionnement colonne	Méthanol	Poubelle	3	10
Conditionnement colonne	Eau ultrapure	Poubelle	3	10
Chargement échantillon	Echantillon	Poubelle	8.5	4
Lavage	Eau ultrapure	Poubelle	4	10
Séchage	1 minute			
Elution	Méthanol	Fraction 1	6	2
Rinçage canule	Eau ultrapure	Canule	2	20
Rinçage canule	Méthanol	Canule	2	20

SPECIMEN

CONFIDENTIEL

LNDD	INSTRUCTION	Codification : I-EX -06 Version : C Date : 06/02/2006 3 / 3
PREMIERE EXTRACTION SUR PHASE SOLIDE (SPE) POUR LA CONFIRMATION DES METABOLITES DE LA TESTOSTERONE PAR GC/C/IRMS		

Action	Personne concernée	Date	Signature
rédigé par	Cynthia MONGONGU	06/02/2006	<i>[Signature]</i>
vérifié par	Corinne BUISSON	06/02/2006	<i>[Signature]</i>
approuvé par	Jacques DE CEARRIZ	06/02/2006	<i>[Signature]</i>

EVOLUTIONS

N° Version	Motif	Date
1	Création du document.	30/04/2002
A	Acceptation du projet passage en version A	24/10/2002
B	Révision biennale changement de cartouche d'extraction et des volumes de lavage et d'élution	31/08/2004
C	Révision biennale changement de cartouche d'extraction et des volumes de lavage et d'élution homogénéisation titre , ajout I-M-02 et I-N-02	06/02/2006

SPECIMEN

CONFIDENTIEL

LNDD	INSTRUCTION	Codification : I-EX -07 Version : D Date : 06/02/2006 1 / 3
DEUXIEME EXTRACTION SUR PHASE SOLIDE (SPE) POUR LA CONFIRMATION DE L'ORIGINE DES METABOLITES DE LA TESTOSTERONE PAR GC/C/IRMS		

Application :	Irms1te.spe
Durée d'extraction par tube :	16.30 min
Tube utilisé de recueil utilisé :	Kimble 13x100 mm
Type de cartouche utilisée :	Bond Elut C₁₈ Varian - 200 mg / 3 ml

Documents utilisés : I-M-02, I-N-02

**ASSURANCE QUALITÉ
LNDD**

1. DISPOSITION DES SOLVANTS :

Voie 1 : Méthanol
 Voie 2 : Eau ultrapure
 Voie 3 : Acétonitrile
 Voie 4 : Rien
 Voie 5 : Rien
 Voie 6 : Rien
 Voie 7 : Rien
 Voie 8 : Rien

Les voies 4, 5, 6, 7 et 8 restent à l'air libre.

CONFIDENTIEL

2. LANCEMENT DE L'EXTRACTION :

Effectuer les purges eau, air et solvant si nécessaire. Voir I-M-02.

Positionner à droite les tubes à extraire et disposer au niveau des recueils les tubes 13x100mm insérés dans les tubes 16x100mm.

L'ordre de passage est le suivant :

Blanc urinaire 1 tube 1
 Blanc urinaire 1 tube 2
 Blanc urinaire 1
 Echantillon 1 tube 1
 Echantillon 1 tube 2
 Echantillon 1
 Blanc urinaire 2 tube 1
 Blanc urinaire 2 tube 2
 Blanc urinaire 2

SPECIMEN

LNDD	INSTRUCTION	Codification : I-EX -07 Version : D Date : 06/02/2006 2 / 3
DEUXIEME EXTRACTION SUR PHASE SOLIDE (SPE) POUR LA CONFIRMATION DE L'ORIGINE DES METABOLITES DE LA TESTOSTERONE PAR GC/IRMS		

Echantillon 2 tube 1
 Echantillon 2 tube 2
 Echantillon 2

Placer les cartouches et lancer l'extraction selon I-N-02.

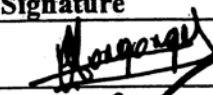
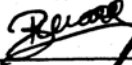
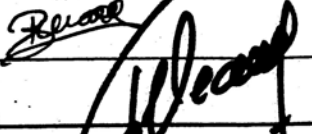
3. DESCRIPTION DES PRINCIPALES ETAPES DE L'EXTRACTION :

Etape	Source	Recueil	Volume (ml)	Débit (ml/min)
Conditionnement colonne	Méthanol	Poubelle	4	10
Conditionnement colonne	Eau ultrapure	Poubelle	4	10
Chargement échantillon	Echantillon	Poubelle	2	4
Préparation du mélange 20%	Acétonitrile / Eau ultrapure	Mixer	0.8 / 3.2	30
Lavage	Acétonitrile / Eau ultrapure 20/80	Poubelle	4	2
Préparation du mélange 30%	Acétonitrile / Eau ultrapure	Mixer	0.6 / 1.4	30
Lavage	Acétonitrile / Eau ultrapure 30/70	Poubelle	2	2
Séchage	1 minute			
Elution	Acétonitrile	Fraction 1	4	2
Rinçage canule	Eau ultrapure	Canule	4	20
Rinçage canule	Méthanol	Canule	4	20

CONFIDENTIEL

SPECIMEN

LNDD	INSTRUCTION	Codification : I-EX -07 Version : D Date : 06/02/2006 3 / 3
DEUXIEME EXTRACTION SUR PHASE SOLIDE (SPE) POUR LA CONFIRMATION DE L'ORIGINE DES METABOLITES DE LA TESTOSTERONE PAR GC/C/IRMS		

Action	Personne concernée	Date	Signature
rédigé par	Cynthia MONGONGU	06/02/2006	
vérifié par	Corinne BUISSON	06/02/2006	
approuvé par	Jacques DE CEARRIZ	06/02/2006	

EVOLUTIONS

N° Version	Motif	Date
1	Création du document.	30/04/2002
A	Acceptation du projet passage en version A	24/10/2002
B	Révision biennale changement des volumes de lavage et d'élution	31/08/2004
C	Réajustement de l'extraction	22/04/2005
D	Réajustement de l'extraction D:homogénéisation du titre, ajout I-M-02 et I-N-02	06/02/2006

CONFIDENTIEL

SPECIMEN

LNDD	INSTRUCTION	Codification : I-EX -08 Version : C Date : 08/09/2005 1 / 3
TROISIEME EXTRACTION SUR PHASE SOLIDE (SPE) POUR LA CONFIRMATION DE L'ORIGINE DES METABOLITES DE LA TESTOSTERONE PAR GC/C/IRMS		

Application :	irms2te.spe
Durée d'extraction pour un tube :	41,3 min
Tube utilisé :	Kimble 13x100 mm
Type de cartouche utilisée :	Baker C ₁₈
Volume de la cartouche :	500 mg / 3 ml

ASSURANCE QUALITÉ
LNDD

APPLICABLE le
08 SEP. 2005

1 - DISPOSITION DES SOLVANTS :

- Voie 1 : Méthanol
- Voie 2: H₂O (ultrapure)
- Voie 3: Acétonitrile
- Voie 4: Rien
- Voie 5: Rien
- Voie 6: Rien
- Voie 7 : Rien
- Voie 8 : Rien

Les voies 4, 5, 6, 7 et 8 restent à l'air libre.

CONFIDENTIEL

2 - LANCEMENT DE LA SEQUENCE D'ANALYSE :

Effectuer les purges eau, air et solvant si nécessaire (cf I-M-02)
Lancer l'extraction selon I-N-02

Positionner à droite les tubes à extraire et à gauche les tubes éluats.
Utiliser le gros rack, disposer au niveau des receuils les tubes 13x100 mm insérés dans des tubes 16x100 mm et placer les échantillons dans l'ordre suivant :

SPECIMEN

LNDD	INSTRUCTION	Codification : I-EX -08
		Version : C Date : 08/09/2005 2 / 3
TROISIEME EXTRACTION SUR PHASE SOLIDE (SPE) POUR LA CONFIRMATION DE L'ORIGINE DES METABOLITES DE LA TESTOSTERONE PAR GC/C/IRMS		

Tubes des échantillons	Tubes des recueils
Blanc urinaire 1	Blanc urinaire 1 fraction F1 (métabolites de la cortisone et du cortisol)
Espace libre	Blanc urinaire 1 fraction F2 (Keto)
Espace libre	Blanc urinaire 1 fraction F3 (Diol)
Echantillon 1	Echantillon 1 fraction F1 (métabolites de la cortisone et du cortisol)
Espace libre	Echantillon 1 Fraction F2 (Kéto)
Espace libre	Echantillon 1 Fraction F3 (Diol)
...	...

Placer les cartouches en laissant deux intervalles de libre entre chaque cartouche et cliquer ensuite sur RUN MONITOR puis sur RUN du module choisi.

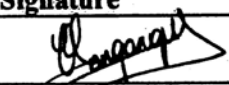
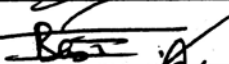
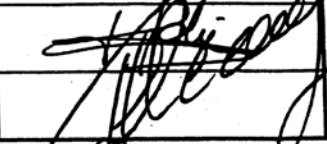
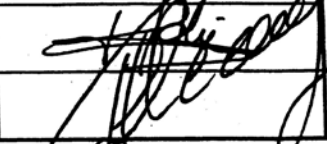
3 - EXTRACTION SUR CARTOUCHE :

Etape	Solvant	Recueil	Volume (ml)	Débit (ml/min)
Conditionnement colonne	MeOH	Poubelle	5	10
Conditionnement colonne	H ₂ O	Poubelle	5	10
Chargement échantillon	Reprise CH ₃ CN-H ₂ O 50/50	Poubelle	2,5	4
Préparation mélange 30 %	CH ₃ CN-H ₂ O	Mixer	1,8 / 4,2	30
Lavage	CH ₃ CN-H ₂ O 30/70	Poubelle	6	2
Préparation mélange 40 %	CH ₃ CN-H ₂ O	Mixer	2,4 / 3,6	30
Lavage	CH ₃ CN-H ₂ O 40/60	Poubelle	6	2
Préparation mélange 50 %	CH ₃ CN-H ₂ O	Mixer	3 / 3	30
Elution F1	CH ₃ CN-H ₂ O 50/50	Fraction 1	6	2
Préparation mélange 50 %	CH ₃ CN-H ₂ O	Mixer	1 / 1	30
Elution F1	CH ₃ CN-H ₂ O 50/50	Fraction 1	2	2
Préparation mélange 75 %	CH ₃ CN-H ₂ O	Mixer	4,5 / 1,5	30
Elution F2	CH ₃ CN-H ₂ O 75/25	Fraction 2	6	2
Préparation mélange 75 %	CH ₃ CN-H ₂ O	Mixer	2,4 / 0,8	30
Lavage	CH ₃ CN-H ₂ O 75/25	Poubelle	3,2	2
Elution F3	CH ₃ CN	Fraction 3	4	2
Rinçage canule	H ₂ O	Canule	2	30
Lavage	MeOH	Poubelle	2	30

SPECIMEN

CONFIDENTIEL

LNDD	INSTRUCTION	Codification : I-EX -08 Version : C Date : 08/09/2005 3 / 3
TROISIEME EXTRACTION SUR PHASE SOLIDE (SPE) POUR LA CONFIRMATION DE L'ORIGINE DES METABOLITES DE LA TESTOSTERONE PAR GC/C/IRMS		

Action	Personne concernée	Date	Signature
rédigé par	Cynthia MONGONGU	08/09/2005	
vérifié par	Caroline BASTIEN	08/09/2005	
vérifié par	Adeline MOLINA	08/09/2005	
approuvé par	Jacques DE CEARRIZ	08/09/2005	

EVOLUTIONS

N° Version	Motif	Date
1	Création du document.	30/04/2002
A	Acceptation du projet passage en version A	02/10/2002
B	Révision biennale analyse d'une troisième fraction	31/08/2004
C	Elimination d'une interférence dans la fraction F1 - Changement titre pour homogénéisation	08/09/2005

CONFIDENTIEL

SPECIMEN

LNDD	ENREGISTREMENT	Codification : E-TE-03C Version : G Date : 17/01/2006 1/4
FICHE DE SUIVI DES ALIQUOTES - CONFIRMATION / CONTRE EXPERTISE EN GC/C/IRMS		

Mode opératoire d'extraction:

M-EX-24

Echantillon : 178/07 995474

Sexe : M F

Mise à l'ambient de l'échantillon : Date : 22/07/06

Heure : 9h05

Prise d'essai: Volume: 3.2 mL

Heure: 11h20

Paraphe: *[Signature]*

	Date	Appareil	Température en °C	Valeur lue	Paraphe
pH	22/07/06	pHmet n° : 7	22,2	5,22	<i>[Signature]</i>
Densité	22/07/06	Refract n° : 2		1,025	<i>[Signature]</i>

Blanc urinaire : Pool 4

Densité : 1,023

Prise d'essai : 16 mL

Paraphe : *[Signature]*

Préparation de l'échantillon

Opération	Date	Heure de début	Récupéré à	Identification du matériel utilisé	Paraphe
Première extraction	22/07/06	11h25		Rapid Trace : RTISC	<i>[Signature]</i>
	22/07/06		12h50		
Stockage à 4°C				Lieu : CH-FR.1	
Evaporation	22/07/06	12h50	13h30	Bain à sec (BSE) : S21	<i>[Signature]</i>
Stockage à 4°C				Lieu : CH-FR.1	
Hydrolyse	22/07/06	13h35		Code du tampon : 7060606-11 DLU* de la βGlu : 22/08/06 Etuve n° : 5	<i>[Signature]</i>
	22/07/06		14h35		
Deuxième extraction	22/07/06	14h45		Rapid Trace : RTISC	<i>[Signature]</i>
	22/07/06		16h30		
Stockage à 4°C				Lieu : CH-FR.1	

*DLU: date limite d'utilisation

LNDD	ENREGISTREMENT	Codification : E-TE-03C Version : G Date : 17/01/2006 2/4
FICHE DE SUIVI DES ALIQUOTES - CONFIRMATION / CONTRE EXPERTISE EN GC/C/IRMS		

Opération	Date	Heure de début	Récupéré à	Identification du matériel utilisé	Paraphe
Evaporation	22/07/06	16h30	17h20	Bain à sec (BSE) : S21	<i>[Signature]</i>
Stockage à 4°C				Lieu : CH-FR.1	
Acétylation	22/07/06	17h25		DLU* Anhydride acétique : 9/1/06 DLU* Pyridine : 10/2006	<i>[Signature]</i>
	22/07/06		19h05	Bain à sec (BSE) : S21 ou Température ambiante	
Evaporation	22/07/06	19h05	19h35	Bain à sec (BSE) : S21	<i>[Signature]</i>
Troisième extraction	22/07/06	19h40		Rapid Trace : RT03D	<i>[Signature]</i>
	23/07/06		9h05		
Stockage à 4°C				Lieu : CH-FR .1	
Evaporation	23/07/06	9h05	10h40	Bain à sec (BSE) : n4	<i>[Signature]</i>
Stockage à 4°C				Lieu : CH-FR .1	
Ajout SI, Mise en vial	23/07/06	10h40		Code du SI (0,2mg/mL) : H67- 003F	<i>[Signature]</i>
			10h45		
Evaporation	23/07/06	10h45		Bain à sec (BSE) : S21	<i>[Signature]</i>
	23/07/06		10h55		
Stockage à +4°C				Lieu : CH-FR .1	

Analyse par CG/MS

	Fraction F1	Fraction F2	Fraction F3
Volume SI (µl)	2	5	30
Volume hexane (µl)	100	100	400

LNDD	ENREGISTREMENT	Codification : E-TE-03C Version : G Date : 17/01/2006 3/4
FICHE DE SUIVI DES ALIQUOTES - CONFIRMATION / CONTRE EXPERTISE EN GC/C/IRMS		

Opération	Date	Heure de début	Récupéré à	Identification du matériel utilisé	Paraphe
Reprise par Hexane	23/07/06	10h55			<i>[Signature]</i>
Injection CG/MS	23/07/06	11h00		MSD <i>dd</i>	<i>[Signature]</i>
	23/07/06		F3: 12h15 F1: 13h20 F2: 14h20		
Ajout du SI si nécessaire	23/07/06	F1: 13h20 F2: 14h25		Code du SI (200ng/μL) : H67-003F	<i>[Signature]</i>
Evaporation	23/07/06	F1: 12h15 F1: 13h20 F2: 14h25	F3: 12h25 F1: 13h30 F2: 14h30	Bain à sec (BSE) : S21	<i>[Signature]</i>
Stockage des vials à 4°C				Lieu : CH-FR.1	

Autres opérations (dilution, réinjection...)

Opération	Date	Heure de début	Récupéré à	Identification du matériel utilisé	Paraphe
injection Gclns F2	23/07/06	14h30	15h00		<i>[Signature]</i>
ajout SI evaporation	23/07/06	15h00	15h10		<i>[Signature]</i>
reprise Hexane	23/07/06	15h10			<i>[Signature]</i>

Analyse par GC/C/IRMS

	Fraction F1	Fraction F2	Fraction F3
Volume total SI prélevé (μl)	10	55	10
Volume final hexane (μl)	50	400	45

LNDD	ENREGISTREMENT	Codification : E-TE-03C Version : G Date : 17/01/2006 4/4
FICHE DE SUIVI DES ALIQUOTES - CONFIRMATION / CONTRE EXPERTISE EN GC/C/IRMS		

Opération	Date	Heure de début	Récupéré à	Identification du matériel utilisé	Paraphe
Reprise par Hexane	23/07/06	F3: 12h15 F1: 13h30 F2: 15h10			
Injection GC/C/IRMS	23/07/06	F3: 12h15 F1: 13h30 F2: 15h10		ISOPRIME 1	

Autres opérations (concentration, dilution, réinjection...)

Opération	Date	Heure de début	Récupéré à	Identification du matériel utilisé	Paraphe

Ecart n° :

Cet enregistrement est à mettre dans le dossier de confirmation de l'échantillon