

Allergène ciblé M-444

Cette méthode décrit l'analyse de la (des) substance(s) : **Allergène ciblé** par UHPLC-MS/MS dans les **gants**.

Numéro de la méthode _____ M-444

Substances

Informations générales

Nom	
Allergènes	
Substance	données de validation
Allergènes	Validation_348

Famille de substances

- ALLERGENES

Principe et informations

Cette méthode permet la recherche d'un allergène ciblé dans un gant. Elle a été validée pour l'une ou l'autre des 43 substances dont la liste se trouve dans les données de validation.

La méthode nécessite la maîtrise d'un logiciel de traitement de données (MassLynx® WATERS™ ou équivalent).

Elle repose sur l'extraction du gant au solvant, l'injection d'un étalon (solution-fille) de l'allergène pur recherché dans les conditions (MS/MS) optimisées pour cet allergène et l'injection de l'extrait dans les mêmes conditions.

La préparation de la solution-fille et les conditions d'analyse (MS/MS 1 à 7) sont décrites dans les données de validation.

Principe de prélèvement et d'analyse

Etat physique _____	Solide
Type de prélèvements _____	Produit massif
Technique analytique _____	CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE ULTRA HAUTE PERFORMANCE
Injecteur _____	PASSEUR AUTOMATIQUE
Détecteur _____	SPECTROMETRE MS/MS

Liste des réactifs

- ACETONE
- ACETONITRILE
- ACIDE ACETIQUE
- EAU ULTRAPURE
- METHANOL
- SULFATE DE ZINC
- TETRAHYDROFURANE

consignes de sécurité pour les manipulations en laboratoire ¹

¹ <https://www.inrs.fr/media.html?refINRS=ED%20953>

Méthode d'analyse

Préparation de l'analyse

Commentaires sur les étapes :

- Découpe du gant
- Mise en solution de l'échantillon
- Extraction des allergènes aux ultra-sons
- Filtration de la solution extraite avant analyse

Conditions de conservation testée et validée pour les échantillons préparés :

L'analyse doit être immédiate.

3 étapes de préparation :

Etape de préparation n° 1

Type de préparation _____ ■ Découpe

Commentaires :

Découper le gant en morceaux de 2 à 3 mm, puis en peser une masse $m = 0,5$ g.

Etape de préparation n° 2

Solvant ou solution _____ ■ METHANOL

Type de préparation _____ ■ Mise en solution

Volume _____ 5 mL

Commentaires :

Pour quelques allergènes, le solvant de la solution mère est différent. Voir les données de validation.

Etape de préparation n° 3

Type de préparation _____ ■ Extraction

Commentaires :

L'extraction se fait aux ultra-sons pendant 15 minutes à température ambiante.

Filtrer ensuite une partie aliquote sur un filtre en PTFE de 0,2 μ m. Transférer dans un un flacon de 2 mL pour l'injection.

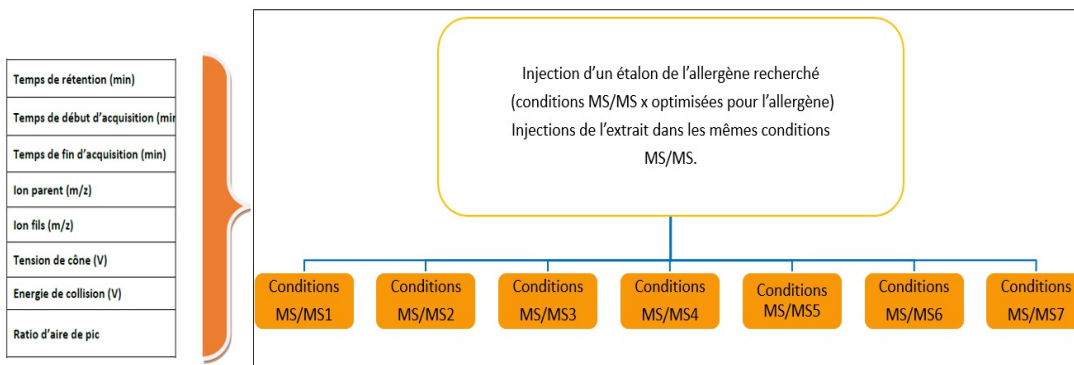
1 condition analytique :

Condition analytique n° 1

Les conditions analytiques utilisées lors du développement de la méthode sont fournies avec les données de validation.

Technique analytique _____	▪ CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE ULTRA HAUTE PERFORMANCE
Injecteur _____	▪ PASSEUR AUTOMATIQUE
Colonne _____	▪ En PEEK ▪ PHASE INVERSE
Détecteur _____	▪ SPECTROMETRE MS/MS
Phase mobile _____	▪ ACETONITRILE ▪ ACIDE ACETIQUE ▪ SULFATE DE ZINC ▪ EAU ULTRAPURE

Commentaires, conseils ou conditions particulières :



En dehors de la recherche des dithiocarbamates de zinc (ZBEC, ZDBC, ZDEC, ZDEC), l'utilisation d'une colonne en PEEK n'est pas obligatoire, ni la saturation de l'éluant à l'aide de sulfate de zinc.

Etalonnage et expression des résultats

La comparaison entre les spectres obtenus pour l'échantillon extrait et la réponse de l'allergène étalon, permet la confirmation, ou non, de sa présence, l'identification et le dosage semi-quantitatif de l'allergène extrait du gant.

Principe d'étalonnage _____ externe

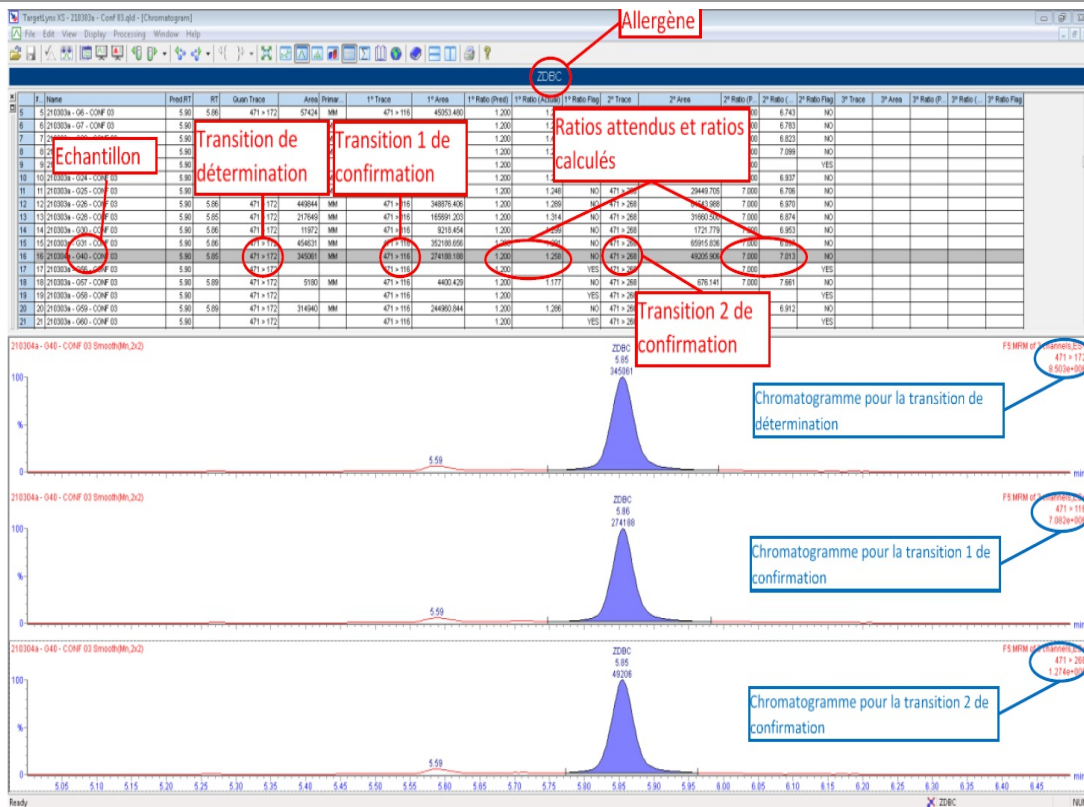
Commentaires :

- Préparation d'une solution mère (environ 2,5 mg/mL) de la substance pure dans un solvant adapté* ;
- Dilution dans le méthanol (ou un solvant plus adapté*) : solution-fille de l'allergène recherché ;
- Analyse de l'échantillon et de la solution-fille étalon dans des conditions strictement identiques*.
- * Les conditions opératoires optimisées et les solvants recommandés sont indiqués dans les données de validation.

Exemple fourni pour le bis-dibutyldithiocarbamate de zinc (ZDBC)

Masse mono-isotopique = 474 g/mol
 Mode de détection ES+
 Ion parent : m/z=471
 Ion fils : m/z = 116, m/z = 172 et m/z = 268.

La fenêtre TargetLynx® de fin d'analyse du ZDBC est la suivante



La transition 471>172 est la transition de détection et de quantification,
 Les transitions 471>116 et 471>268 sont des transitions de confirmation.
 A 471>172 est l'aire du pic pour la transition 471>172,
 A 471>116 est l'aire du pic pour la transition 471>116,
 A 471>268 est l'aire du pic pour la transition 471>268,

La confirmation de l'identité de l'allergène dans l'extrait nécessite la comparaison des ratios de réponse pour chaque transition avec ceux obtenus pour la substance pure analysée dans les mêmes conditions :

- les ratios attendus (obtenus pour ZDBC étalon) sont les suivants :

$$R1 = \frac{A_{471>172}}{A_{471>116}} = 1,200$$

$$R2 = \frac{A_{471>172}}{A_{471>268}} = 7,000$$

- les ratios calculés pour le ZDBC dans l'échantillon confirment l'identité de la molécule extraite :

$$R1 \text{ ech} = \frac{A_{471>172}}{A_{471>116}} = 1,258$$

$$R2 \text{ ech} = \frac{A_{471>172}}{A_{471>268}} = 7,013$$

- Le dosage du ZDBC (en µg/g) repose classiquement sur le calcul suivant :

$$[(A_{ech}/A_{ref}) * C] * v / m$$

avec :

A ech = aire du pic (pour la transition de quantification) obtenu pour l'échantillon extrait

A ref = aire du pic (pour la transition de quantification) obtenu pour la solution-fille de référence

C = concentration de la solution-fille de référence µg/mL

V = volume de la solution d'extraction du gant mL

m = masse (g) de l'échantillon gant soumis à l'extraction.

Calcul de la concentration atmosphérique²

²<http://www.inrs.fr/dms/inrs/PDF/metropol-resultat-calcul-concentration.pdf>

Contacts

metropol@inrs.fr

Bibliographie

Historique

Version	Date	Modification(s) faisant l'objet de la nouvelle version
M-444 V/01	Décembre 2021	Création