

Liste des substances utilisant cette analyse

Nom

Allergènes

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°

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°

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°

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 $0,2 \mu\text{m}$. Transférer dans un un flacon de 2 mL pour l'injection.

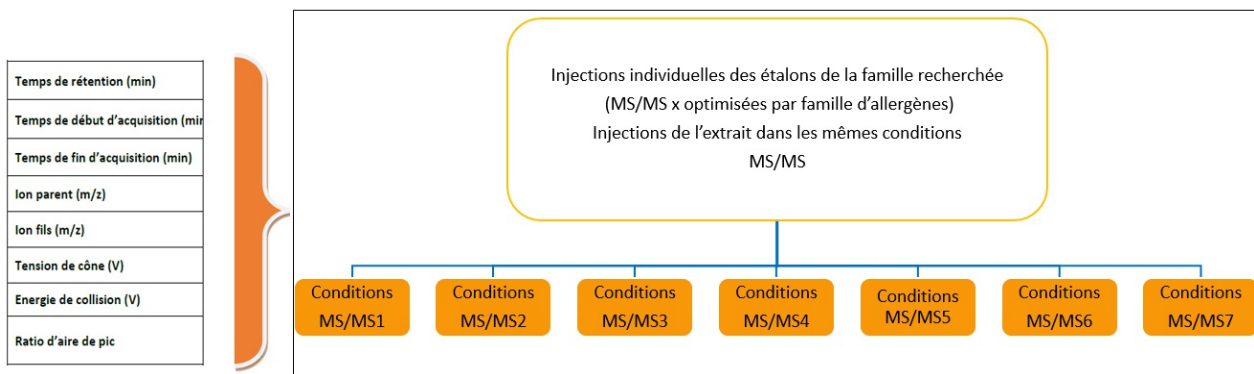
Condition analytique n°

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

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

Commentaires, conseils ou conditions particulières :

En dehors de la recherche de la famille "Dithiocarbamates de zinc", l'utilisation d'une colonne en PEEK et la saturation de l'éluant à l'aide de sulfate de zinc ne sont pas obligatoires.



En dehors des familles Dithiocarbamates et Thiurames, qui nécessitent une attention particulière (voir Données de validation), cette méthode repose sur le même principe que M-444 pour la Recherche d'un allergène ciblé, avec le traitement individuel de chacun des allergènes de la famille concernée.

Etalonnage et expression des résultats

La comparaison entre les spectres obtenus pour l'échantillon extrait et la réponse des allergènes étalons, permet la confirmation, ou non, de leur présence, l'identification et le dosage semi-quantitatif des allergènes extraits du gant.

Principe d'étalonnage _____ externe

Commentaires :

Préparation d'une solution mère (environ 2,5 mg/mL) de chaque substance pure dans un solvant adapté * ;

Dilution dans le méthanol (ou un solvant plus adapté*) : solution-fille des allergènes recherchés.

Analyse de l'échantillon et des étalons dans des conditions strictement identiques*.

* Les conditions opératoires optimisées et les solvants recommandés sont indiqués dans les données de validation.

Exemple fourni pour la famille Dithiocarbamates

L'exploitation des résultats sera identique pour chacun des allergènes (de la famille) analysé individuellement (voir exemple fourni pour ZDBC ci-dessous).

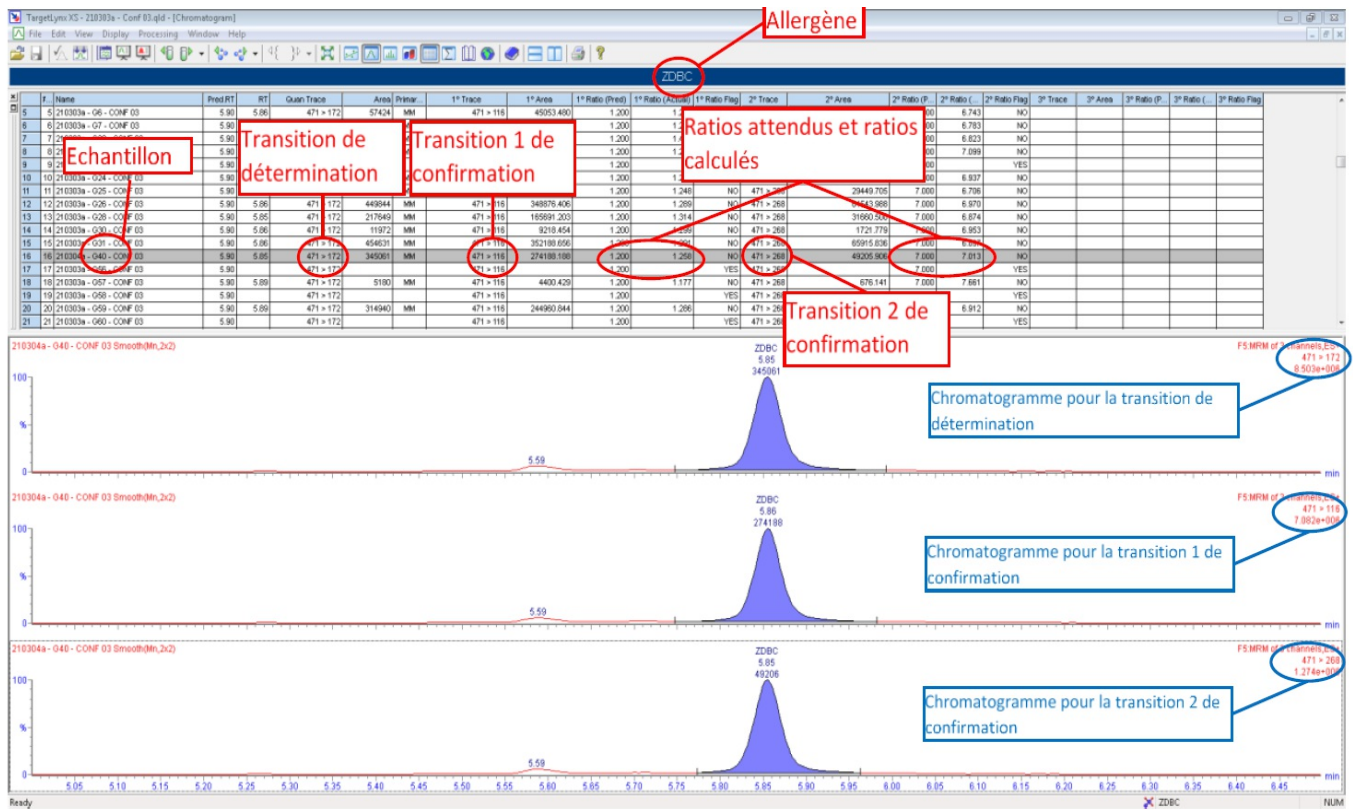
Masse mono-isotopique = 474 g/mol

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.

Compléments :