

## Famille d'allergènes M-443

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

Numéro de la méthode \_\_\_\_\_ M-443

### Substances

#### Informations générales

Nom
Allergènes
données de validation
Validation_347

#### Famille de substances

- ALLERGENES

#### Principe et informations

Cette méthode permet la recherche d'une famille d'allergènes dans un gant. Elle a été validée pour les familles 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 individuelle des étalons (solutions-filles) pour les allergènes appartenant à la famille recherchée, dans les conditions (MS/MS x) optimisées pour cette famille, et l'injection de l'extrait dans les mêmes conditions (MS/MS x).

La composition des solutions-filles et les conditions d'analyses (MS/MS 1 à 7) recommandées pour la famille recherchée 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
- THF

consignes de sécurité pour les manipulations en laboratoire <sup>1</sup>

<sup>1</sup> <https://www.inrs.fr/media.html?ref=INRS=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  $\mu$ m. Transférer dans un flacon de 2 mL pour l'injection.

**1 condition analytique :**

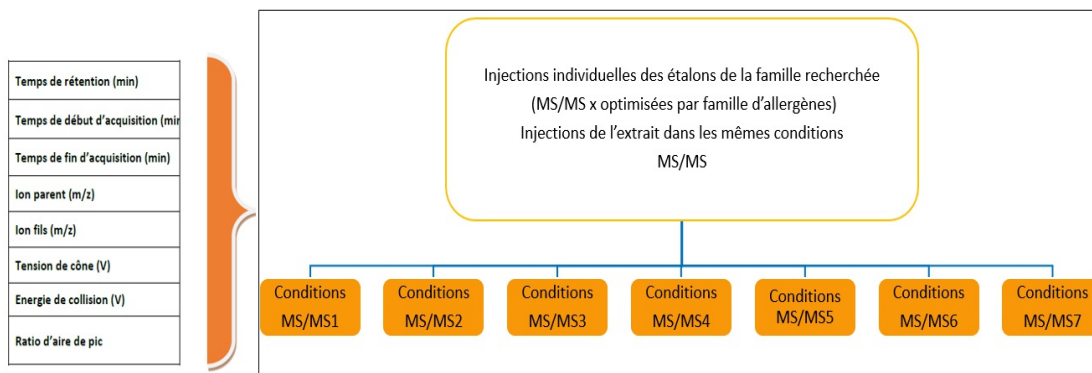
Condition analytique n° 1

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

<b>Technique analytique</b> _____	▪ CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE ULTRA HAUTE PERFORMANCE
<b>Injecteur</b> _____	▪ PASSEUR AUTOMATIQUE
<b>Colonne</b> _____	▪ En PEEK ▪ PHASE INVERSE
<b>Détecteur</b> _____	▪ SPECTROMETRE MS/MS
<b>Phase mobile</b> _____	▪ 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).

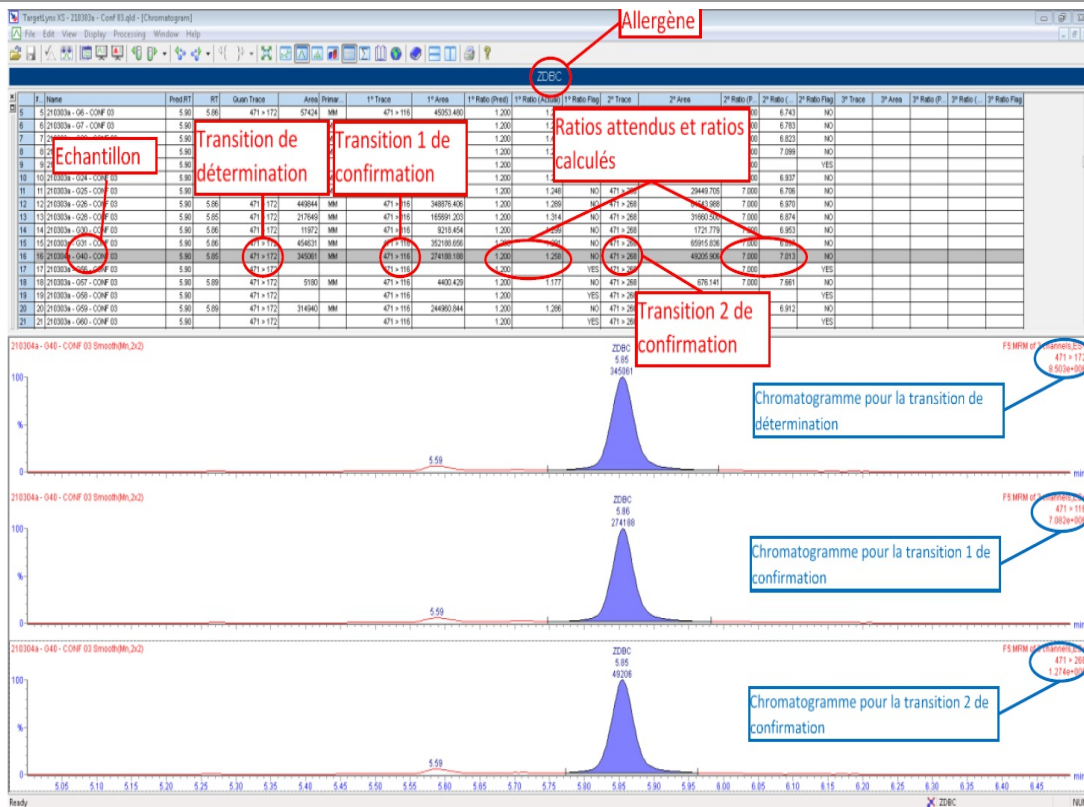
Masse mono-isotopique = 474 g/mol

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<sub>471>172</sub> est l'aire du pic pour la transition 471>172,
- A<sub>471>116</sub> est l'aire du pic pour la transition 471>116,
- A<sub>471>268</sub> 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.

## Contacts

metropol@inrs.fr

## Bibliographie

## Historique

version	Date	Modification(s) faisant l'objet de la nouvelle version
M-443 V/01	Décembre 2021	Création de la méthode