

A l'attention de Mme Frédérique Barbosa

Saclay, le 26/10/2018

N/Réf : DRF/JOLIOT/SPI

Objet : Compte-rendu des expériences réalisées à la demande de l'ANSM pour l'analyse d'échantillons

Nous vous prions de bien vouloir trouver ci-après les résultats des expériences réalisées sur les échantillons transmis au CEA le 25/09/18.

Bien cordialement,

A handwritten signature in red ink, appearing to be 'F. Barbosa', is located in the lower right quadrant of the page.

Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives

Centre de Saclay 191191 Gif-sur-Yvette Cedex

@cea.fr

Etablissement public à caractère industriel et commercial
RCS Paris B 775 685 019

Direction de la Recherche Fondamentale

Institut des sciences du vivant Frédéric Joliot

Service de Pharmacologie et d'Immunologie

REPARATION DES ECHANTILLONS

Les échantillons ont été réceptionnés le 25/09/2018 au CEA.

QUANTITE	DENOMINATION	N° ENREGISTREMENT INTERNE	COLIS
2	DMU HAEMONETICS NEUFS		Colis CRT03 (≤50 litres) +2°C/+8°C
1	POCHE DE PLASMA RECUPEREES AU COURS D'UNE APHERESE (EFS AUVERGNE RHONE ALPES)	18-03524-03957	Colis CRT03 (≤50 litres) +2°C/+8°C
1	POCHE DE PLASMA RECUPEREES AU COURS D'UNE APHERESE INCIDENT DU 24/08/2018 (TARBES) - <i>entamée</i>	18-03409-03829	Poolbox de 4 litres -20°C/-30°C
1 TUBE + LE TUBE D'ORIGINE (VIDE)	PARTICULES RECUPEREES SUR L'AUTOMATE D'APHERESE INCIDENT DU 24/08/2018 (TARBES)	18-03410-03830	Colis CRT03 (≤50 litres) +2°C/+8°C
1	POCHE DE PLASMA ISSUE APHERESE (EFS ILE DE France)	18D03528-03961	Colis CRT03 (≤50 litres) +2°C/+8°C

L'envoi contenait :

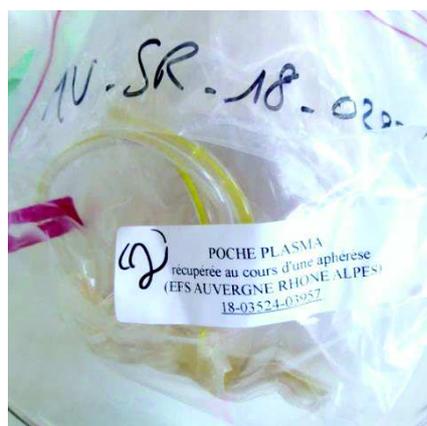
- Une poche de plasma N° ANSM **18-03409-03829** appelée **échantillon N° 1 au CEA** qui était congelé
- Deux autres poches de plasmas expédiées à 4°C :
- N° ANSM **18-03524-03957** appelé **échantillon N° 2**
- N° ANSM **18D03528-03961** appelé **échantillon N° 3**
- Un tube à hémolyse contenant des particules : **échantillon N°4**
- Deux kits neufs DMU

Traitement des trois plasmas humains

Plasma numéro 1



Plasma numéro 2



Plasma numéro 3



La poche reçue congelée, a été décongelée à température ambiante.

La poche présentant une fuite du plasma due à une des tubulures déjà ouverte, il a été décidé de transférer le contenu de la poche dans un flacon millipore de 500ml stérile.

25ml de plasma ont été filtrés (écoulement passif) sur un filtre de nylon (porosité 70µm)

On observe de gros agrégats probablement formés lors de la congélation ainsi que des particules noires piégées ou non dans ces agrégats (photo n°1).

L'ensemble a été rincé avec 10ml d'eau ultrapure (milliQ) stérile.

Les agrégats (fibrinogène ?) sont dissociés par aspiration/refoulement au pipetman 1000 par ajout de 15ml d'eau ultrapure supplémentaire pour en extraire les particules Le volume total de rinçage est donc de 25ml.

Une partie de la suspension a été transférée du filtre nylon sur le filtre de fibre de verre (3) placée sur un papier (Tork premium soft), de manière à évacuer l'eau en surplus. Le reste de la suspension est restée sur le filtre nylon (photo n°2)



Plasma numéro 2 et Plasma numéro 3

Les deux poches ont été reçues et conservées à 4°C. Le contenu de chaque poche a été transféré de la même façon que pour le plasma n°1 dans un flacon millipore de 500ml stérile.

Les plasmas sont homogènes, ne présentent pas d'agrégats ni de particules noires visibles à l'œil nu.

Les deux plasmas ont été traités de la même manière que le plasma N°1.

A l'issue de la préparation des échantillons, les filtres nylon et de fibre de verre pour chacun des trois plasmas ainsi que le tube hémolyse contenant les particules noires (échantillon N°3) et les deux DMU ont été transférés le jour même (26/092018) pour analyses complémentaires par MEB/EDX.

Cinquante millilitres de chacun des trois plasmas (non traités) ont été expédiés le mardi 02/10/18 à Marcoule, qui les a réceptionnés le jeudi 04/10/18.

ETUDE EN MICROSCOPIE OPTIQUE DES PARTICULES PRESENTES DANS LES PLASMAS FOURNIS PAR L'ANSM

Ces expériences ont été réalisées au CEA de Marcoule, laboratoire Li2D (dirigé par le 12/10/2018

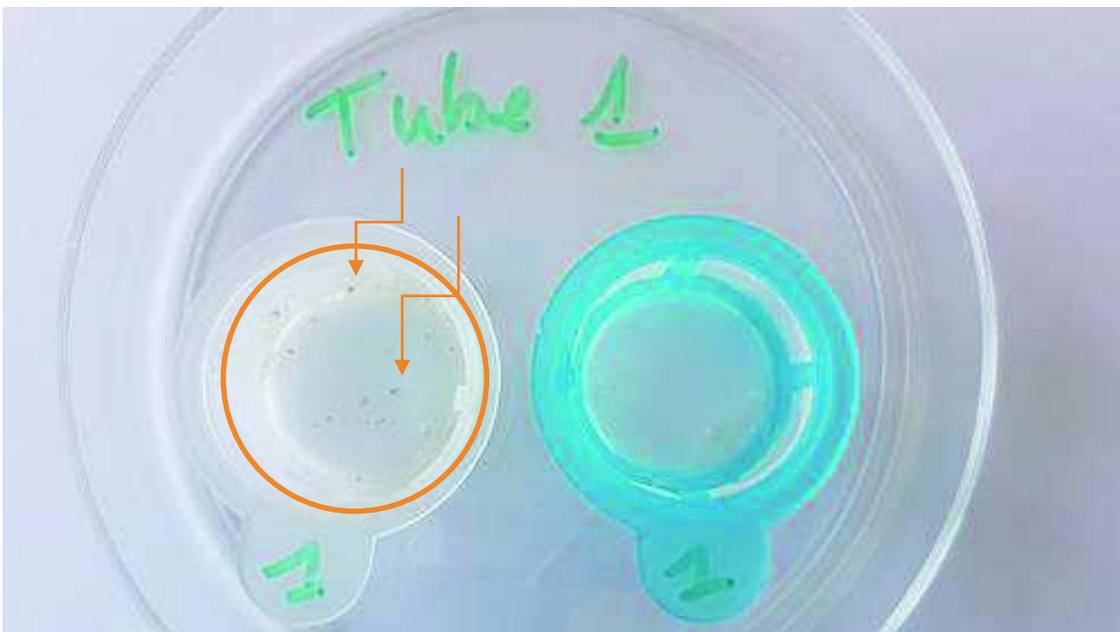
Echantillon n° 1

A 4°C, le plasma présente un aspect trouble avec un fort précipité de type « coagulat » et des particules noires visibles.

Après passage à 37°C, le fort précipité s'est solubilisé, il ne reste visible que les particules noires.

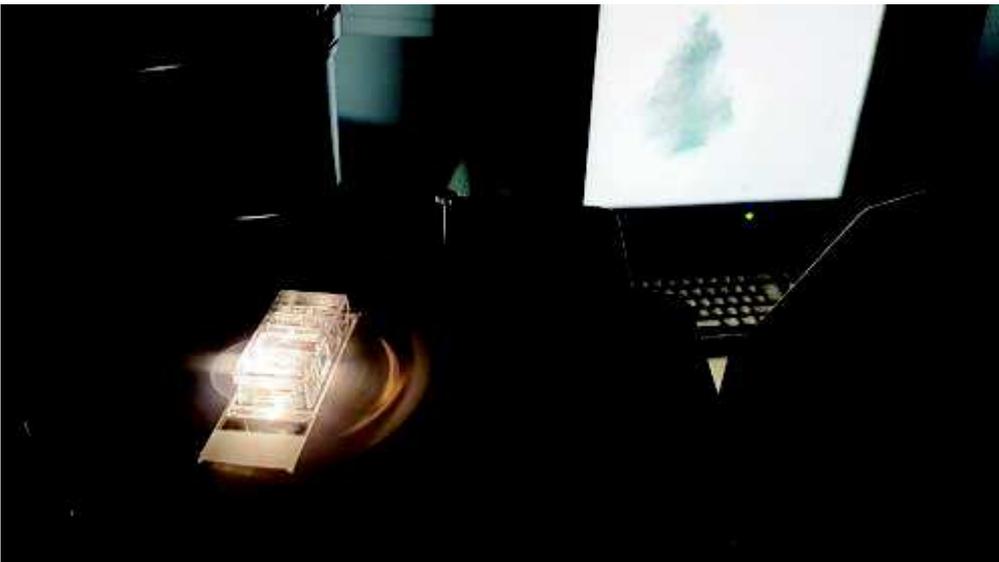
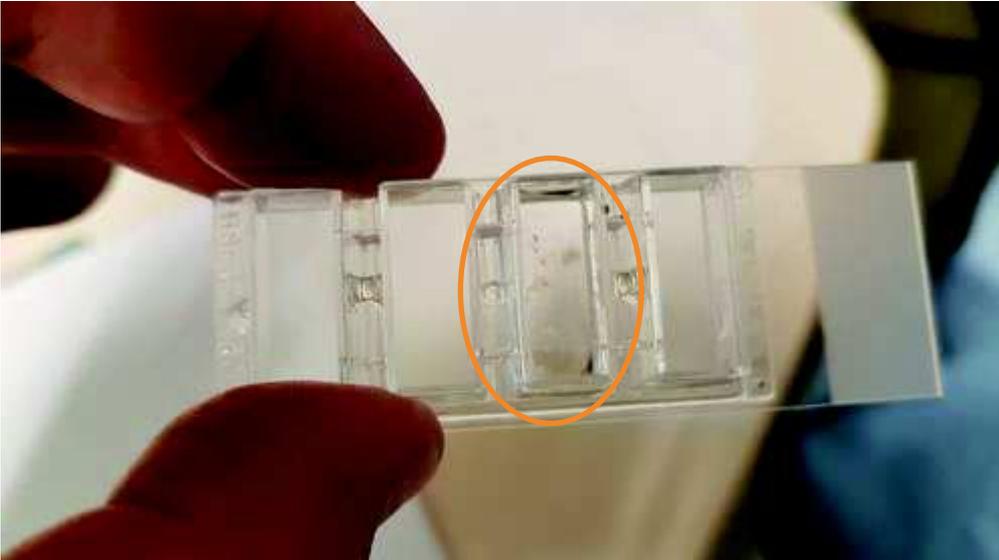
Cette observation signe probablement le fait que ce plasma a été congelé au préalable.

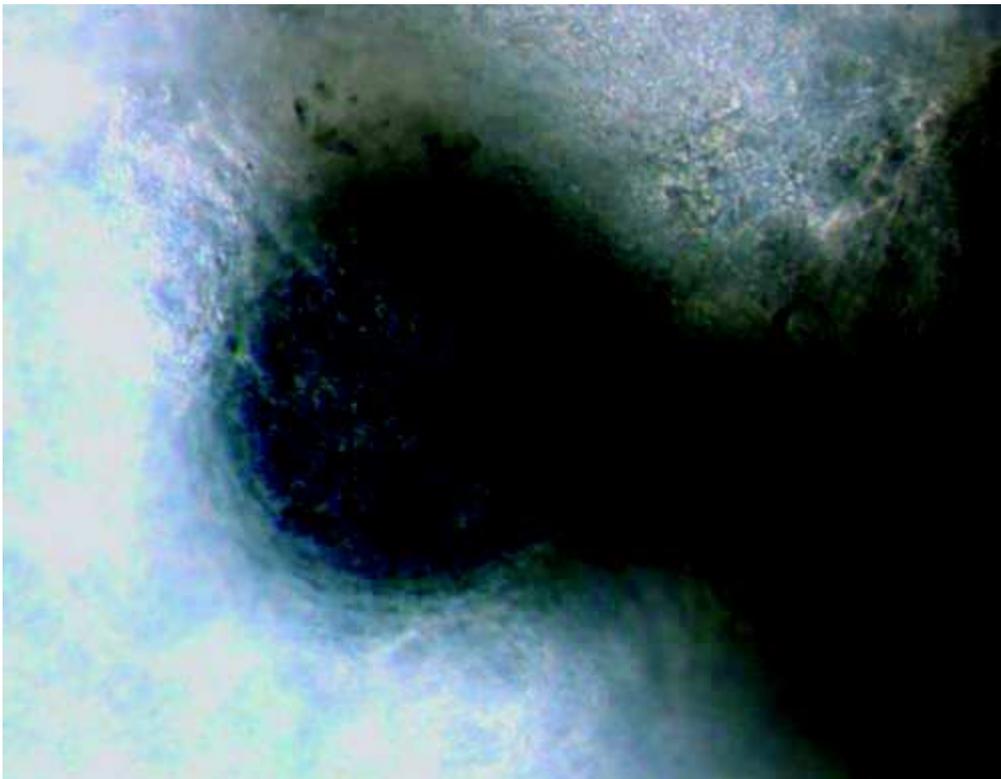
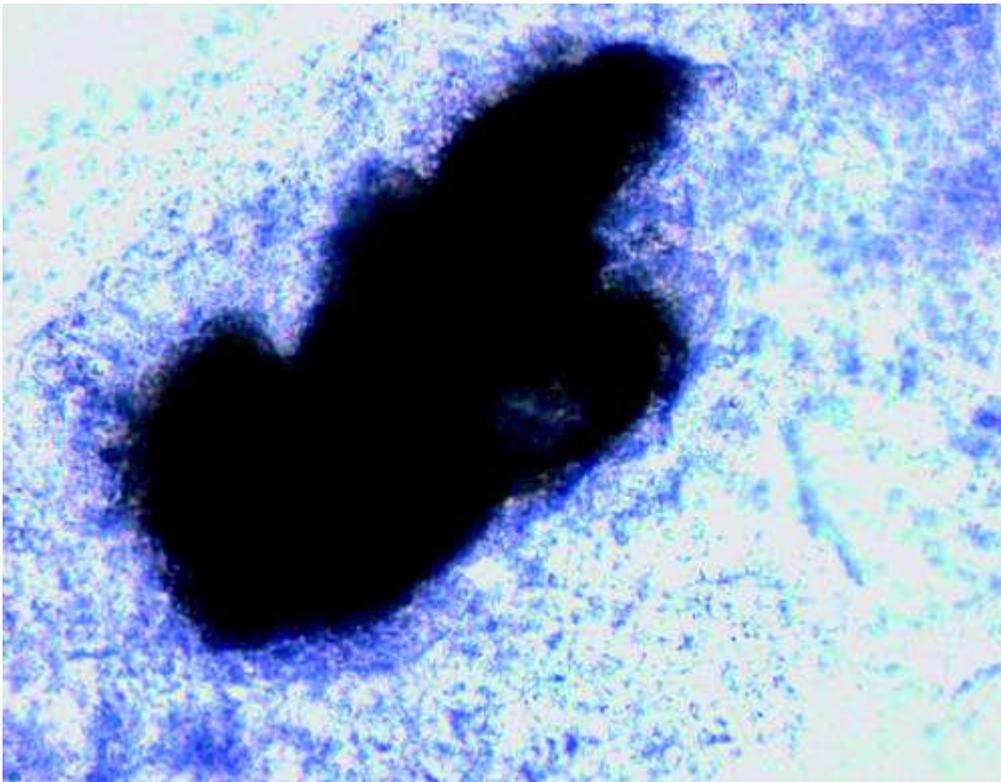
Filtration du sédiment de fond de tube (reste de précipité et particules ayant sédimenté) sur filtre 70 µm (filtre de droite sur la photo ci-dessous)



Des particules blanches avec un « centre » noir sont observables à l'œil nu.

>> observation microscopie optique x200 en lumière blanche





Conclusion de l'observation microscopique :

L'observation microscopique laisse penser à une origine protéique des particules avec un aspect globulaire irrégulier, laissant passer la lumière. Les points noirs observés au centre des particules ne semblent pas non plus totalement opaques, il pourrait s'agir de protéines « cuites » par un échauffement très localisé.

Traitement du reste du plasma présent dans le tube n°1 :

Centrifugation 20 minutes à 1200 g du plasma restant.

Récupération du culot

Filtration du culot sur filtre 70 µm

>> récupération d'un gros caillot qui a été ensuite déposé dans une boîte de pétri de 10 cm de diamètre (voir photo ci-dessous)



Ce « caillot » très visqueux s'est probablement formé par coalescence de toutes les petites « particules » présentes dans le tube, ce qui peut donner une idée du volume qu'elles représentaient dans les 50 ml de plasma reçus.

Les particules et le caillot ont été conservés 5 jours en solution saline à 4°C puis analysés en protéomique par spectrométrie de masse MSMS.

Echantillon n°2

A 4°C, le plasma semble normal, sans précipité ni particule

Après passage à 37°C : aspect identique à celui observé à 4°

C Centrifugation 20 minutes à 1200 g du plasma restant.

Aucun culot visible, pas de particules

Conclusion échantillon N°2 :

RAS

Echantillon n°3

A 4°C, le plasma semble normal, sans précipité ni particule.

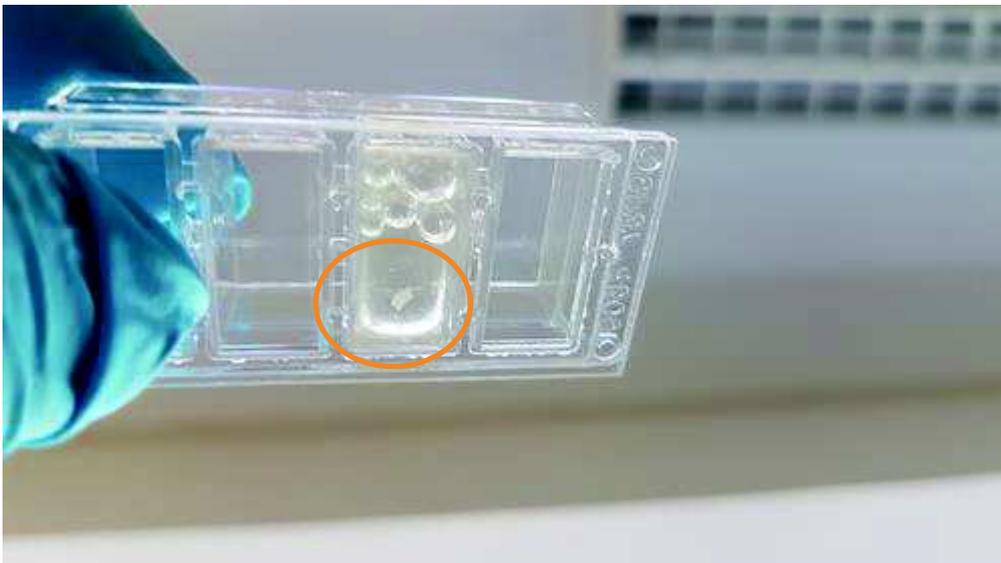
Après passage à 37°C : aspect identique à celui observé à 4°C

Centrifugation 20 minutes à 1200 g du plasma restant.

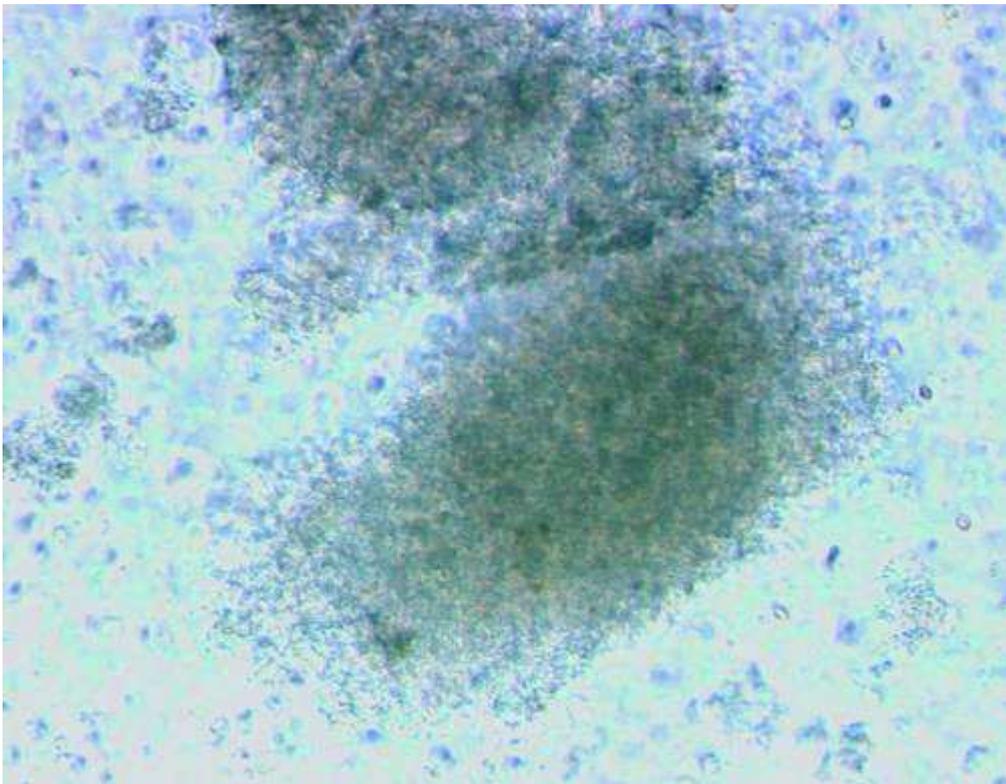
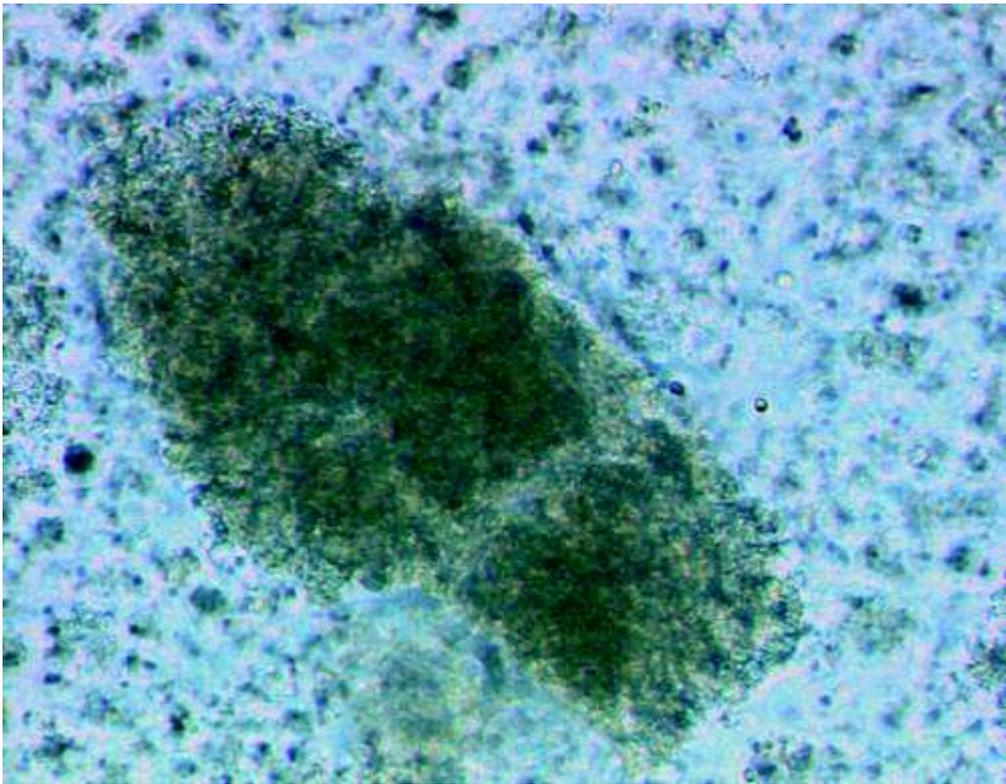
Présence d'un léger culot blanc/rougeâtre

Reprise du culot avec 0.2 mL de tampon PBS 50 mM pH 7.2

>> amas blanchâtres étalés (plus gros que ce qui était visible dans le culot avant reprise, plus de couleur rougeâtre.



>> observation microscopie optique (voir photos)



Conclusion de l'observation microscopique :

L'observation microscopique laisse penser à une origine protéique des particules avec un aspect globulaire irrégulier, laissant passer la lumière.

Les particules du tube 3 sont visuellement identiques à celles observées dans le tube n°1 à l'exception de la partie centrale noire (absente dans les particules du tube n°3).

Il n'a pas été possible de récupérer après filtration sur filtre 70 µm de matériel analysable par spectrométrie de masse

ANALYSE PROTEOMIQUE EN SPECTROMETRIE DE MASSE DES PARTICULES ET « CAILLOT » DE L'ECHANTILLON N°1

Ces expériences ont été réalisées au CEA de Marcoule, laboratoire Li2D (équipe)

Les particules filtrées à partir du tube 1 et 20 mg du coagulat obtenu après centrifugation du tube 1 ont été analysées avec une séquence suivante :

- Extraction des protéines
- Dessalage sur gel de polyacrylamide
- Récupération des protéines
- Digestion à la trypsine
- Séparation des peptides générés par nano HPLC couplée à un spectromètre de masse en tandem à haute résolution.
- Analyse des protéines par requête sur base de données de protéines humaines SwissProt 2018.

Voir annexes 1 et 2

Les 10 protéines les plus abondantes dans les particules filtrées sont :

- | | |
|---|-----|
| • Fibrinogen beta chain Homo sapiens | 17% |
| • Fibrinogen alpha chain Homo sapiens | 12% |
| • Serum albumin Homo sapiens | 11% |
| • Fibrinogen gamma chain Homo sapiens | 9% |
| • Immunoglobulin kappa constant Homo sapiens | 5% |
| • Immunoglobulin lambda constant 3 Homo sapiens | 5% |
| • Serotransferrin Homo sapiens | 4% |

- Immunoglobulin gamma-1 heavy chain Homo sapiens 3%
- Alpha-1-antitrypsin Homo sapiens 2%
- Immunoglobulin heavy constant mu Homo sapiens 1%

Les 10 protéines les plus abondantes dans le coagulat sont :

- Fibrinogen beta chain Homo sapiens 26%
- Fibrinogen alpha chain Homo sapiens 19%
- Fibrinogen gamma chain Homo sapiens 16%
- Serum albumin Homo sapiens 5%
- Immunoglobulin lambda constant 3 Homo sapiens 3%
- Immunoglobulin kappa constant Homo sapiens 3%
- Immunoglobulin gamma-1 heavy chain Homo sapiens 2%
- Coagulation factor XIII A chain Homo sapiens 1%
- Coagulation factor XIII B chain Homo sapiens 1%
- Immunoglobulin heavy constant mu Homo sapiens 1%

CONCLUSIONS

L'observation visuelle des particules montre des agrégats irréguliers blanchâtres avec, pour certaines, un centre plus noir. Lors du pipetage de ces particules elles sont très visqueuses et collantes.

L'observation microscopique montre des amas globulaires irréguliers transmettant la lumière, y compris les parties plus noires.

Ces observations sont en faveur d'une nature protéique, la partie noirâtre pourrait correspondre à une fraction protéique ayant subi une élévation de température.

L'analyse protéomique en spectrométrie de masse MSMS à haute résolution confirme cette hypothèse.

Annexes : Rapport d'analyse MSMS et fichier Excel de résultat de cette analyse.

Chef du Li2D



ANNEXES 1 ET 2

FICHE DEMANDE ANALYSE MS - LI2D

N° MS18-057_ANSM

Devis : #n/a

Projet: #n/a

Contacts collaborateurs externes : #n/a Interlocuteur devis & rapports:

Prise en charge:

Analyse: prestation cout complet

Nombre et nature des échantillons : 2 échantillons

Date de réception des échantillons: 9/10/2018

Description des échantillons :

Echantillon 1 : lavage « **particules** » d'un extrait de plasma sanguin

Echantillon 2 : « **coagulat** » d'un extrait de plasma sanguin

Objectif: identifier les protéines présentes

Réalisations expérimentales :

- 9/10/2018 :

Tube 1 « particules	Tube 2 « coagulat »
Vol. récup : 900µl	Masse prélevée : 20mg
Transfert dans tube Precellys 2ml avec	Transfert dans tube Precellys 0.5ml avec

Mix billes	Mix billes
------------	------------

Precellys : 10x30s / pause 30s / 10 000 tr/min

Centrifugation 1min à 16 000g

Récup. du surnageant, vol. = 600µl	Récup. du surnageant, vol. = 85µl
------------------------------------	-----------------------------------

Précipitation au TCA

Ajout 150µl de TCA 50%, (soit 10% final)

agitation et incub. 3' à TA

Centrifugation 5min à 16 000g

Elimination du surnageant

Reprise du culot

Ajout 35µl de LDS 1X (avec β-mercapto)

Chauffage 5min à 99°C

Gel NuPAGE 4-12% 10pts – tampon MES

Dépôts :

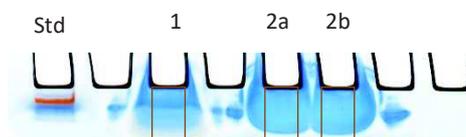
35µl	2 x 35µl
------	----------

Migration 4min à 200V

coloration au bleu 5min

Lavage H₂O, une nuit, à TA

• **Gel (10/10/2018):**



Découpage de bande selon les rectangles rouges

• **Hydrolyse en gel à la trypsine (10/10/2018) :**

selon le protocole court ProteaseMax-Trypsine Gold dispo ici :

[T:\SBTN\ Documents communs\Protéomique\Masse\Protocoles\Hydrolyse ProteasMax\Protocole Court de digestion ProteaseMAX-Trypsine Gold \(Promega\) révision 1 \(09-2014\).docx](T:\SBTN\ Documents communs\Protéomique\Masse\Protocoles\Hydrolyse ProteasMax\Protocole Court de digestion ProteaseMAX-Trypsine Gold (Promega) révision 1 (09-2014).docx)

Volume d'extrait peptidique par échantillon : env. 50µl

éch. conservés à 5°C (*à bord du passeur nanoLC*) avant disponibilité du système LC-MS/MS

- **Analyse LC-MS/MS (14/09/2018) :**

Injection de **2 µl**

Après analyse, le reste est conservé à -20°C (CONG014 - labo 2038)

Analyse nanoLC-MS/MS sur Ultimate3000 nanoRSLC (n°3) / QExactive HF(n°1) :

... \Li2D\Top20_Col50-200nl_gr60(4-25-40)_LavPreCol_sys1.meth

NanoLC :

Dessalage en ligne par phase inverse sur une µ pré-colonne Acclaim PepMap100 C18 (5 µm, 100 Å, 300 µm id x 5 mm), puis séparation sur une nano-colonne Acclaim PepMap100 C18 (3 µm, 100 Å, 75 µm id x 50 cm) à un débit de **200nl/min** avec un gradient, en **60 min**, de 4 à 25% de B en 50min, puis de 25 à 40% de B en 10min (B : 80% CH₃CN, 0.1% HCOOH)

Durée totale: **90min.**

Acquisition MS/MS : (*résumé, paramétrage complet dispo dans chaque fichier brut .raw*)

mode "Data Dependent" avec sélection des 20 ions les plus intenses du spectre FTMS à 60000 de résolution. Calibration interne des spectres FTMS (sur masse 445.12002m/z)
MS² : FTMS à 15000 de résolution.

Exclusion dynamique: 20s

Seuil déclenchement MS² (*Intensity threshold*): 1.10⁵

Charge: 2⁺ & 3⁺

- **Identification MASCOT et traitements des résultats :**

1. Recherche sur :SwissProt 2018_04 (557,275 sequences; 199,856,860 residues)

- Tolérance MS/MS² : 5ppm/0.02Da
- Modification fixe : Carbamidomethyl (C)
- Modification variable : Oxydation (M), Deamidated (NQ)
- Enzyme : Trypsine et 2 erreurs de clivage.

Retraitement des résultats MASCOT : utilisation d'IRMa (Interprétation des Résultats Mascot)

Validation semi-auto des peptides de rang 1 dont le score est supérieur au seuil d'identité () MASCOT pour $p < 0,05$. Les protéines retenues sont celles avec au moins 2 peptides différents.*

A l'issu du traitement par IRMa, les résultats sont exportés dans des classeurs Excel puis mis en formes.

Export des résultats sous Excel :

Compilations des résultats et construction des tables de résultats: liste des peptides / liste des protéines.

Traitements avec parcimonie

2. Recherche sur : NCBI nrL

- Tolérance MS/MS² : 5ppm/0.02Da
- Modification fixe : Carbamidomethyl (C)
- Modification variable : Oxydation (M)
- Enzyme : Trypsine et 1 erreur de clivage.

Identification des espèces présentes par le logiciel μ ORG.ID : [Analyse \$\mu\$ ORG.ID NCBI nrL.xlsx](#)

Une seule espèce : *Homo sapiens*

Résultats :

Les listes de protéines identifiées sont disponibles dans les fichiers suivants :

Sous : [M:\\\$projets courts ou prestations\ MS\LI2D\Bellanger\MS18-057 ANSM\5.Données retraitées](M:\$projets courts ou prestations\ MS\LI2D\Bellanger\MS18-057 ANSM\5.Données retraitées)

[Bilan nLC-MS² Liste Protéines MS18-057 ANSM-2018-10-12.xlsx](#)

Archivage des fichiers :

Données brutes : <\\sauval\Data MS\LI2D\MS18-057 ANSM\2018-10-11>

Données retraitées : [M:\\\$projets courts ou prestations\ MS\LI2D\Bellanger\MS18-057 ANSM\5.Données retraitées](M:\$projets courts ou prestations\ MS\LI2D\Bellanger\MS18-057 ANSM\5.Données retraitées)

RAPPORT D'ESSAIS N° 18RAP92

- Nombre de pages (y compris celle-ci) : 32
- Nombre d'annexes : 0
- Nom et Adresse du client : **ANSM**
Agence Nationale de Sécurité du Médicament

- Date d'émission du rapport : 24/10/2018
- Echantillons soumis aux essais : A la demande de l'ANSM, caractérisation de particules issues de plasma sanguin par mesures MEB/EDX et analyses moléculaires GC-Q-TOF sur 7 échantillons.

- Date de réception : 05/10/2018
- Nature des échantillons : Solide
- Identification des échantillons : 18ECH685 => 18ECH689

Technique	Essais	Mode opératoire
GC-MS	Recherche de composés organiques	-
LTQ - Orbitrap	Expertises spécifiques	-
MEB/EDX	Imagerie	-
MEB/EDX	Microanalyse X	-

- Devenir des reliquats : Archivé
- Devenir des Echantillons : Mise en déchet
- Observations :

- Commentaires : A votre demande, les normes et la date des essais vous seront communiquées.

- Visa du chargé Ordonnancement :
- Référence client :

Le présent rapport d'essais ne concerne que les échantillons soumis aux essais.

La reproduction de ce rapport n'est autorisée que sous forme de fac-similé photographique intégral. Il comporte 32 page(s) et 0 annexe(s).

La reproduction partielle de ce rapport ne peut se faire sans l'approbation du laboratoire.

Observation et caractérisation de différents échantillons par MEB/EDX et spectrométrie de masse moléculaire

Il est important de noter en préambule que :

- cette expertise constitue une première approche (réponse rapide à une demande urgente de l'ANSM),
- le laboratoire d'analyse n'est pas spécialisé dans l'étude des matrices biologiques.

I - Echantillons.

Les échantillons observés et caractérisés sont de nature très différente :

- Particules noires visibles à l'œil nu provenant d'un automate pour aphérèse, présentes dans un tube.
- Différentes parties d'un kit de prélèvement de plasma de marque HAEMONETICS réf 782HS-P-SL, telles qu'un joint, une protection de joint ou une enveloppe d'aiguille.
- 3 échantillons « filtres nylon panier » sur lesquels des particules sont visibles à l'œil nu. Ces particules sont issues des filtrations des 3 plasmas à analyser (seuil de filtration = 70 μm). Les particules ont été rincées à l'eau ultra-pure en fin de filtration. Ces échantillons ont été préparés pour les analyses par MEB/EDX.
- 3 échantillons « filtres quartz » sur lesquels des particules sont visibles à l'œil nu. Ces échantillons ont été préparés pour les analyses par spectrométrie de masse moléculaire.

II – Matériel utilisé.

Dans le cadre de cette expertise, un **Microscope Electronique à Balayage (MEB)** FEI Quanta 3D FEG, équipé d'un **spectromètre de rayons X à sélection d'énergie (EDX)** EDAX Octane Elect Plus de 30 mm², a été utilisé.

De plus, une technique de spectrométrie de masse haute résolution a été mise en œuvre : la **GC/TOF-MS** (chromatographie en phase gazeuse couplée à la détection en spectrométrie de masse à temps de vol), couplée à un module de pyrolyse (montée en température de l'échantillon analysé possible jusqu'à T = 950 °C).

L'intérêt des spectromètres de masse haute résolution repose principalement sur leur capacité à mesurer de manière précise et juste les masses des composés analysés, ce qui permet de remonter a posteriori à leur formule brute et donc, le plus souvent, à l'identité des molécules détectées.



Figure 1 : GC/TOF-MS équipé du module de pyrolyse

D'un point de vue opératoire, le choix de la source d'ionisation choisie pour les analyses GC/TOF-MS s'est porté sur l'impact électronique, afin de pouvoir comparer le spectre de masse expérimental avec le spectre de référence contenu dans la bibliothèque spectrale NIST (National Institute of Standard and Technology).

III- Analyses relatives aux particules noires visibles à l'œil nu provenant d'un automate pour aphérèse.

Des particules noires issues d'un automate d'aphérèse, présentes dans un tube d'hémolyse contenu dans un sac plastique (voir la Figure 2), ont été caractérisées par MEB/EDX et par spectrométrie de masse moléculaire.



Figure 2 : Photo des particules récupérées sur l'automate d'aphérèse (événement du 24/08/2018).

III-1- Observations et analyses par MEB/EDX

Ces particules ont été récupérées par « stub » (disque de carbone autocollant : Figure 3) au niveau du bouchon du tube. Elles ont des tailles pouvant atteindre 500 μm (Figure 4). Elles sont essentiellement constituées de carbone, azote, oxygène, sodium, chlore, aluminium et soufre. Des traces de silicium, phosphore, potassium et calcium sont également détectées. Ces particules sont recouvertes d'une couche de quelques micromètres d'épaisseur dans laquelle les éléments carbone, oxygène et sodium sont très majoritaires (Figure 5).



Figure 3 : Image du « stub » sur lequel des particules provenant d'un automate pour aphérèse ont été récupérées.

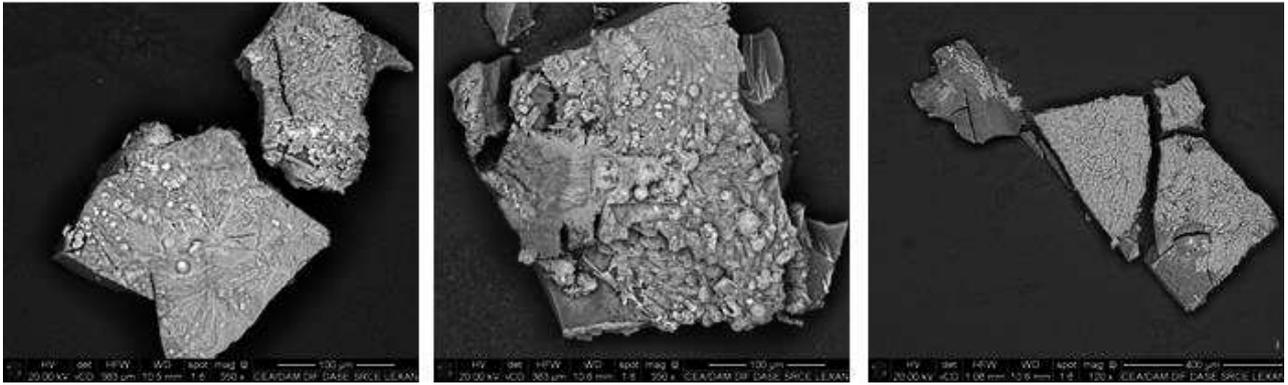


Figure 4 : Images MEB de particules provenant d'un automate pour aphérese récupérées à la surface d'un « stub ».

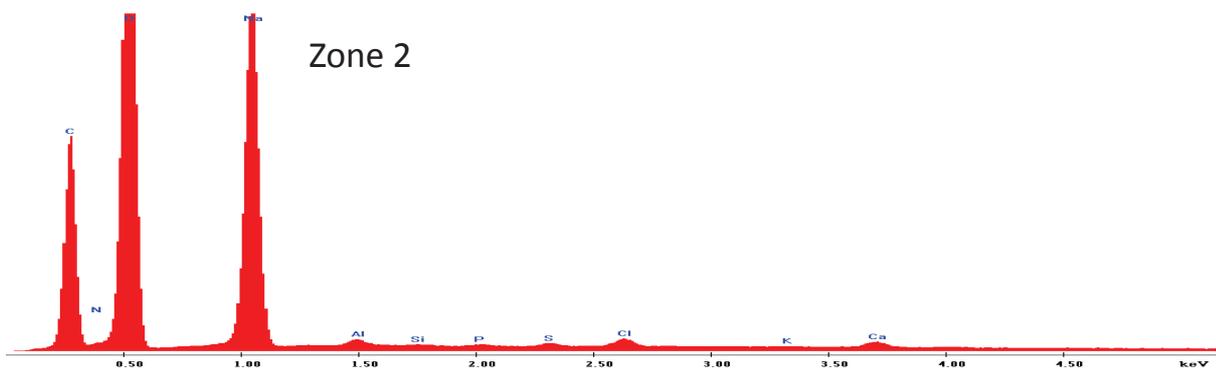
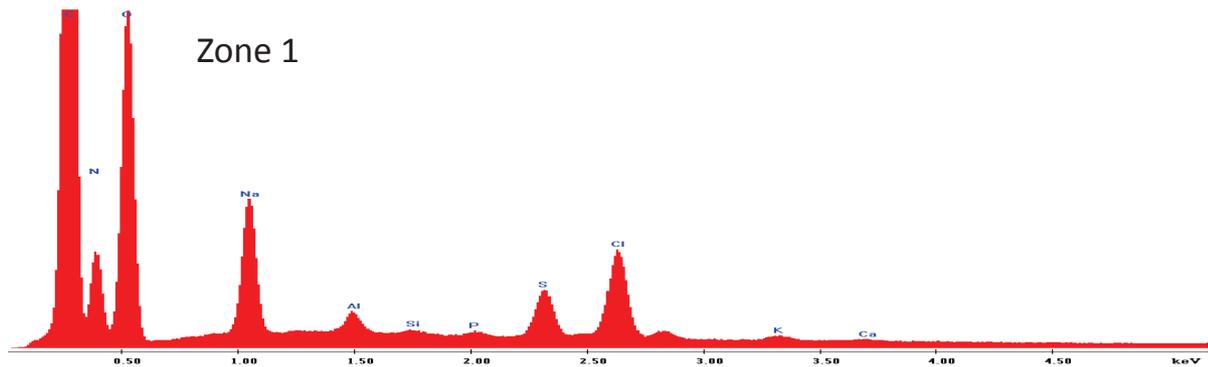
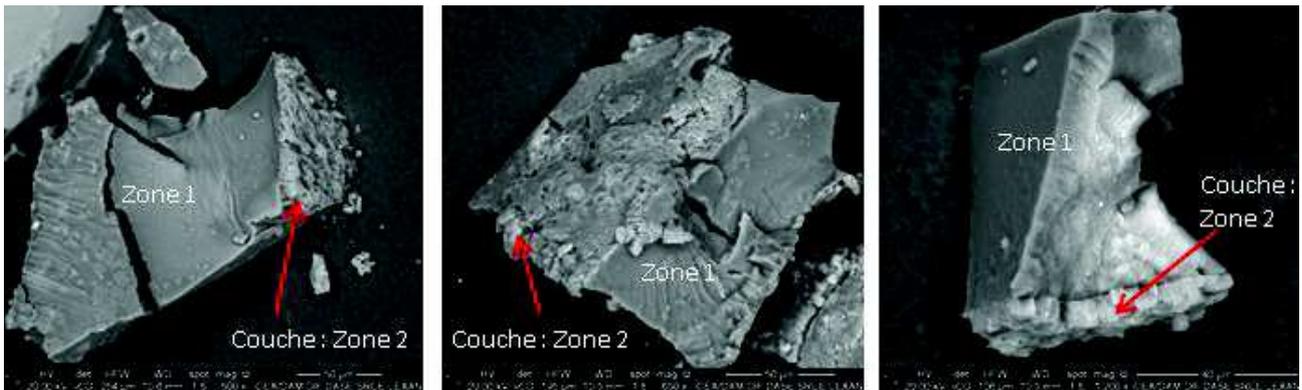


Figure 5 : Images MEB et spectres EDX associés de particules provenant d'un automate pour aphérese récupérées à la surface d'un « stub ». Au niveau de la zone 1, les éléments carbone, azote, oxygène, sodium, aluminium, soufre et chlore sont majoritaires. Au niveau de la zone 2, couche de quelques micromètres présente à la surface des particules, seuls les éléments carbone, oxygène et sodium sont majoritaires.

Comme les particules issues des 3 échantillons de plasma avaient été rincées à l'eau ultra-pure (en fin de filtration) lors de la préparation analytique préalable, nous avons décidé de rincer également les particules provenant de l'automate d'aphérèse. Quelques particules ont été déposées à la surface d'un filtre nylon 0,22 µm et mouillées au moyen d'eau désionisée. Nous avons attendu le séchage complet du filtre et recommencé un second cycle mouillage-séchage avant d'observer et d'analyser ces particules au MEB. Sur les images MEB, il apparaît clairement que les particules ont été dégradées au contact de l'eau (Figure 6) par rapport à celles observées Figures 4 et 5. De plus, l'analyse X de ces particules montre que les **éléments sodium et chlore ont complètement disparu** (Figure 7). Une observation de ces particules au moyen de la loupe binoculaire montre que des inclusions très sombres sont présentes dans ces particules (Figure 8).

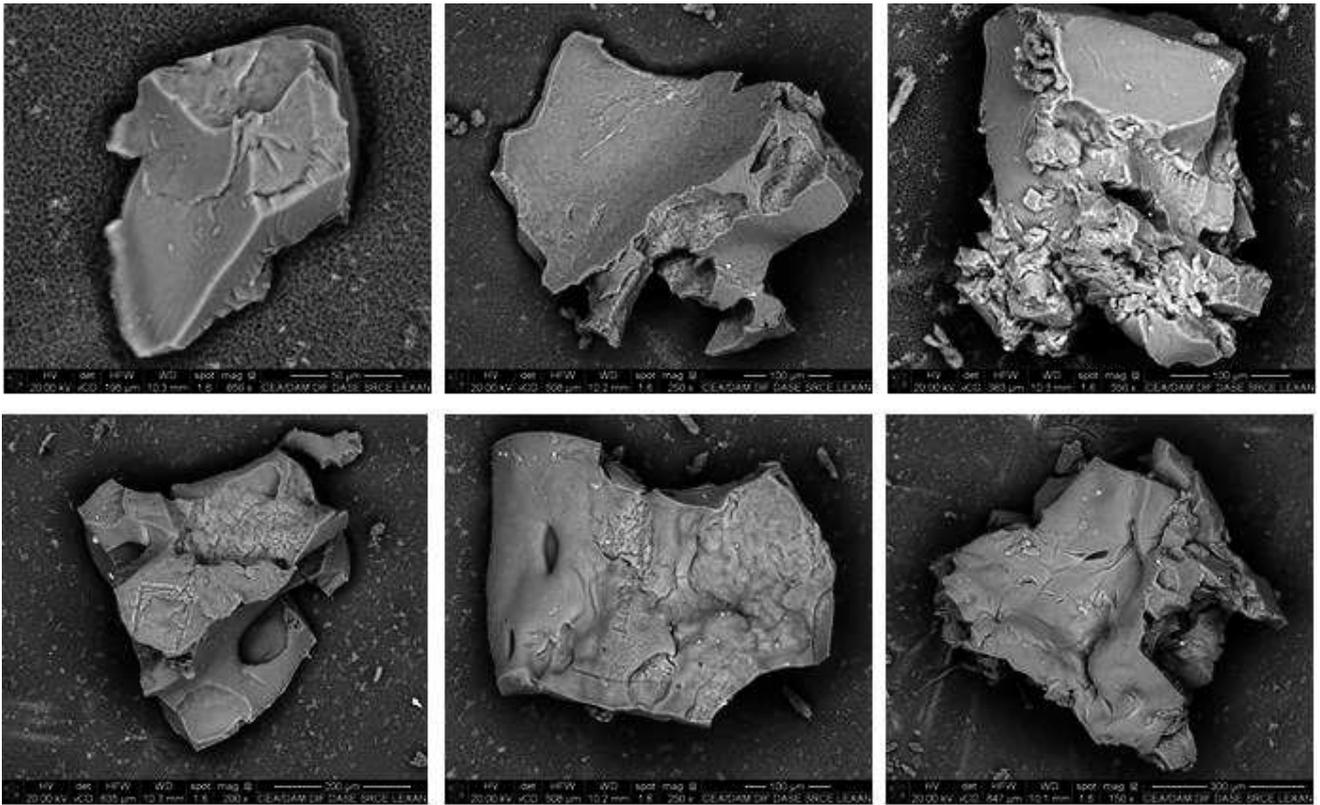


Figure 6 : Images MEB de particules provenant d'un automate pour aphérèse, déposées sur un filtre nylon 0,22 µm et mouillées au moyen d'eau désionisée.

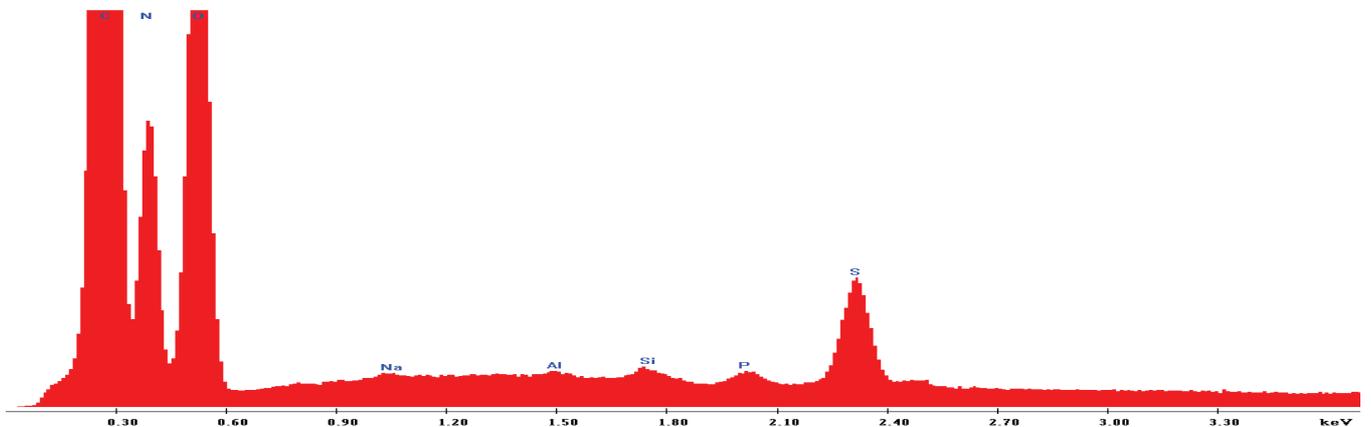


Figure 7 : Spectre EDX d'une particule provenant d'un automate pour aphérèse, déposée sur un filtre nylon 0,22 µm et mouillée au moyen d'eau désionisée.

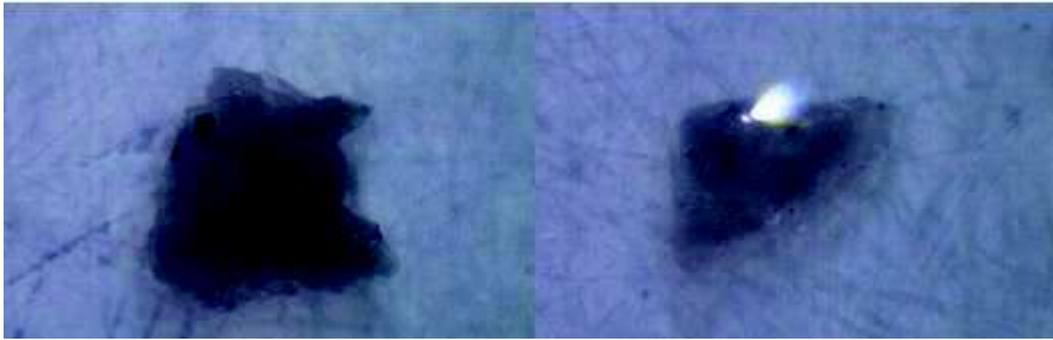


Figure 8 : Images de ces particules réalisées au moyen de la loupe binoculaire montrant que des inclusions très sombres sont présentes dans ces particules.

III-2- Analyse chimique de la composition des particules par GC/TOF-MS

La composition moléculaire de quelques particules noires issues d'un automate d'aphérèse (présentes dans un tube d'hémolyse) a été déterminée par des pyrolyses successives (à des températures allant de 320°C à 900°C) suivies d'analyses GC/TOF-MS. Les chromatogrammes obtenus pour les différentes températures sont présentés dans l'annexe 1 et les principales molécules identifiées (relatives aux principaux pics notables) sont présentées dans l'annexe 3.

La Figure 9 représente le pyrogramme obtenu pour des produits de pyrolyse à 700°C. De nombreuses petites molécules ont été détectées et caractérisées grâce à leur temps de rétention, la bonne adéquation entre les spectres expérimentaux et les spectres théoriques en mode d'ionisation par impact électronique (via la recherche systématique de la bibliothèque NIST), et également, la masse exacte des composés (voir les tableaux de l'annexe 2).

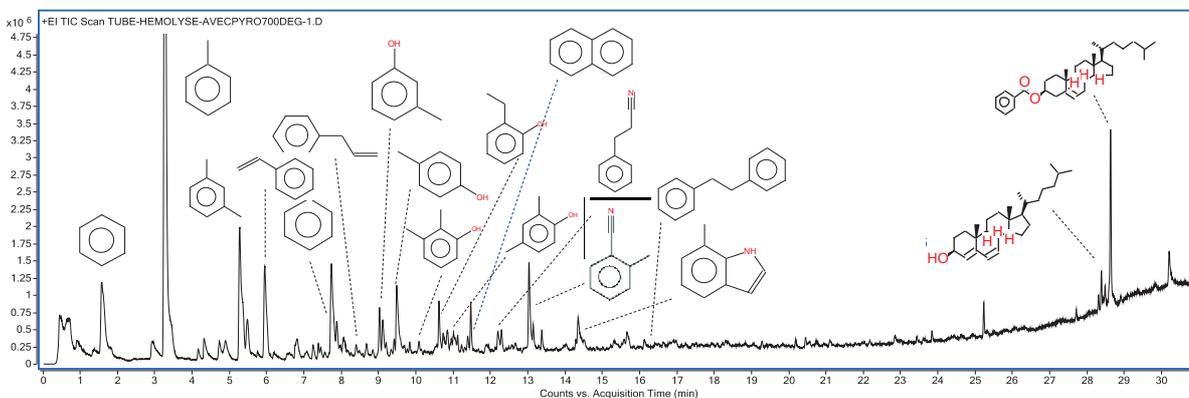


Figure 9 : Pyrogramme GC/TOF-MS ($T^{\circ}\text{C}$ de pyrolyse = 700°C) de l'échantillon de particules récupérées sur l'automate d'aphérèse

Parmi les molécules d'intérêt détectées sur le pyrogramme de la figure 9, nous pouvons distinguer un nombre important de composés volatils libérés par pyrolyse, tels que des composés phénoliques comme le phénol, le crésol, etc, ainsi que des composés aromatiques cycliques tels que le benzène, le toluène, le naphthalène, etc.

Enfin, nous pouvons noter la présence de composés organiques biogéniques dérivés du cholestérol, éluant à la fin du pyrogramme (temps de rétention 28-29 minutes). Ces composés sont le cholesta-4,6-dien-3-ol (3β) ainsi que le cholestéryl benzoate. La présence de ces composés atteste que les particules expertisées ont bien été en contact avec du plasma humain.

IV- Analyses relatives aux particules issues du plasma n°1

IV-1- Observations et analyses par MEB/EDX

Compte tenu de la hauteur des parois des « filtres nylon papier », il a été nécessaire de les découper afin de récupérer la partie basse des filtres où les concentrations en particules sont les plus importantes (Figure 10).

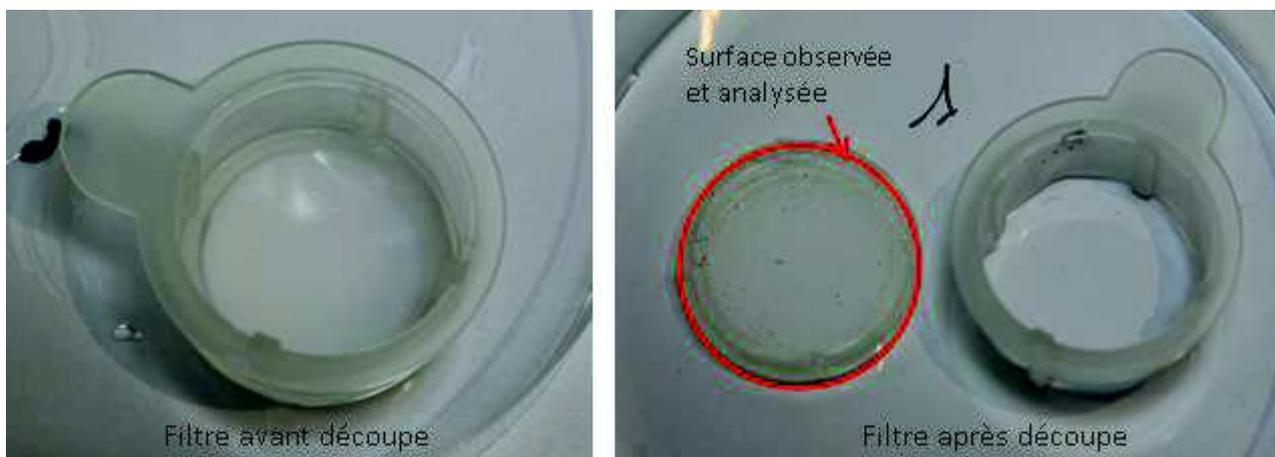


Figure 10 : Images d'un filtre nylon panier avant et après découpe pour observation et analyse par MEB.

Une première observation à la loupe binoculaire a permis de mettre en évidence plusieurs dizaines de particules noires ainsi que plusieurs centaines de particules translucides présentes à la surface du filtre n°1. Une observation de la même zone à la loupe binoculaire et au MEB a permis de mettre en évidence et de confirmer des morphologies différentes en fonction de la couleur des particules observées (Figure 11).

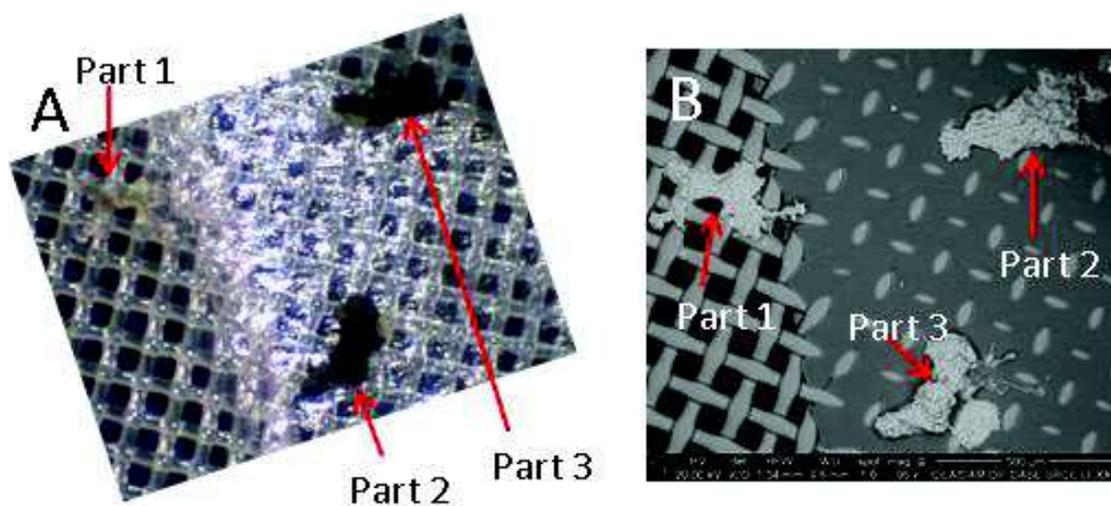


Figure 11 : Images d'une zone du filtre nylon panier correspondant à l'échantillon n°1 observée à la loupe binoculaire (image A) et au MEB (image B).

Sur l'image réalisée au moyen de la loupe binoculaire, il apparaît clairement que la particule 1 est translucide alors que les particules 2 et 3 apparaissent bien noires.

IV-1-1- Observation et analyse au MEB des particules apparaissant bien noires à la loupe binoculaire.

Ces particules peuvent avoir des tailles allant jusqu'à environ 400 μm (Figure 12). Les éléments constituant ces particules sont : carbone, azote, oxygène et soufre pour les éléments majeurs. Les éléments sodium, aluminium, silicium, phosphore, calcium, titane et fer peuvent également être détectés mais à l'état de traces (Figure 13). Tous ces éléments sont également détectés dans le blanc du filtre et il est impossible de quantifier la contribution du filtre sur les analyses des particules (Figure 14). Il est cependant possible d'affirmer que **les éléments, carbone, azote, oxygène et soufre sont bien présents dans les particules analysées.**

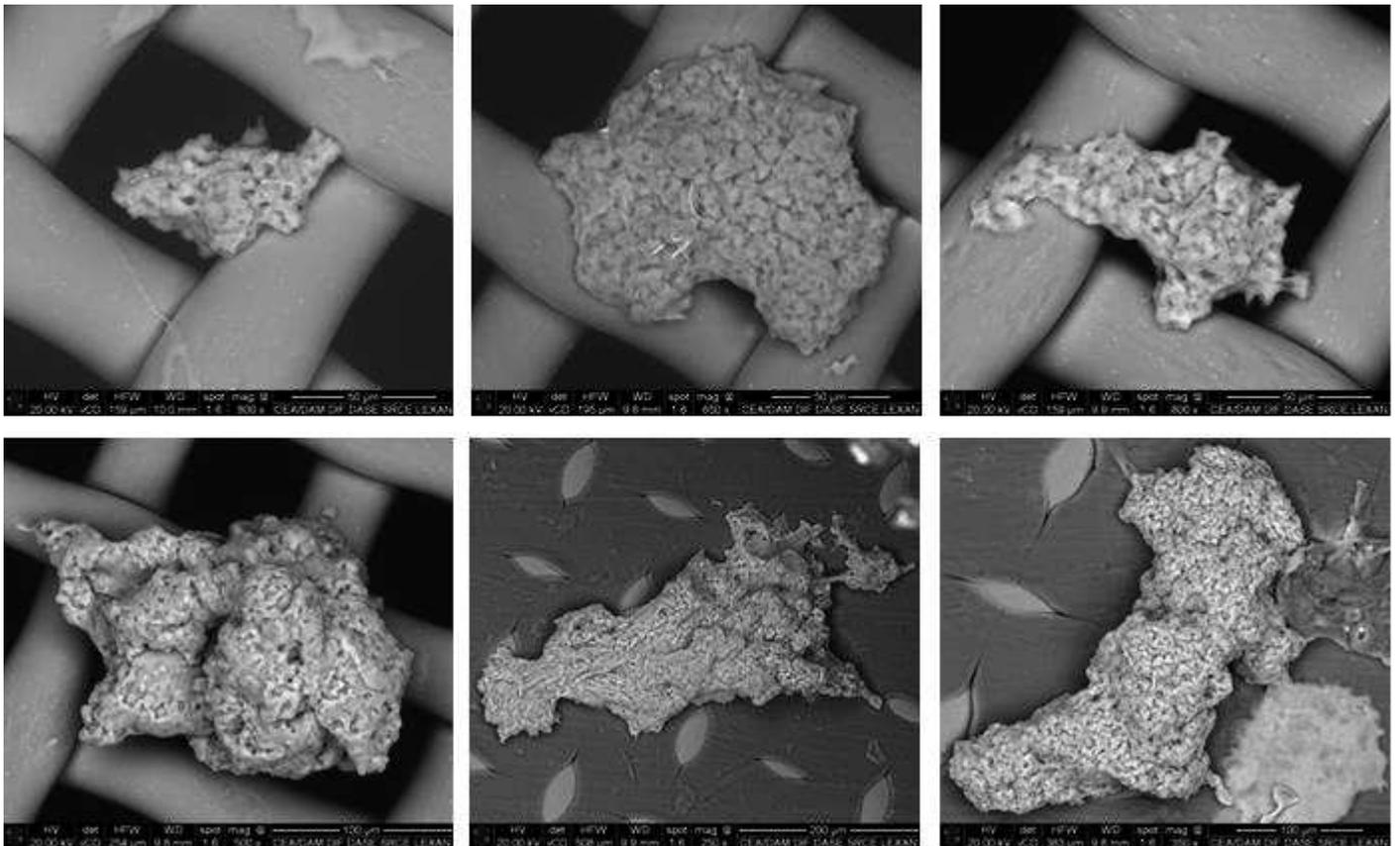


Figure 12 : Images MEB de particules noires détectées à la surface du filtre nylon (seuil de filtration de 70 μm) correspondant à l'échantillon n°1.

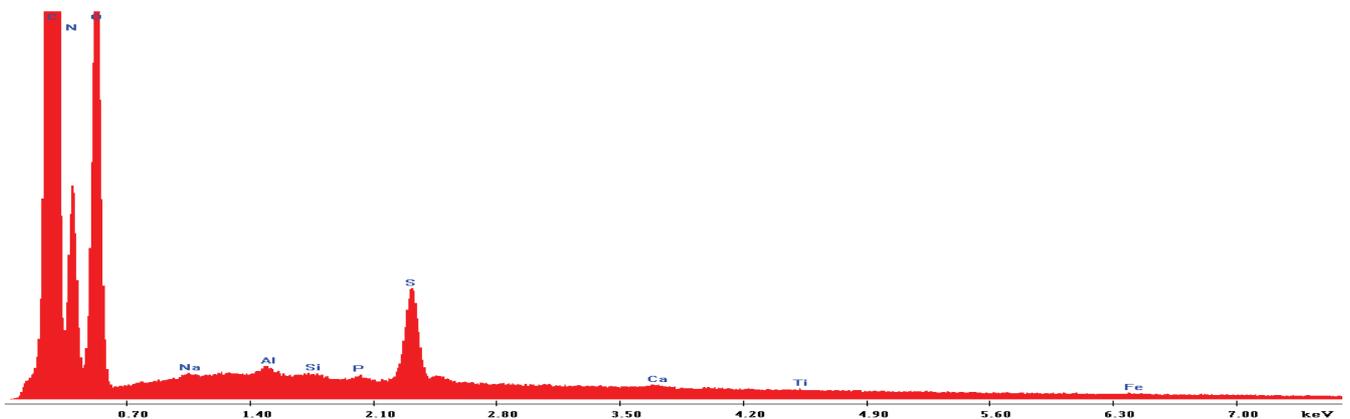


Figure 13 : Spectre EDX d'une particule noire détectée à la surface du filtre nylon correspondant à l'échantillon n°1.

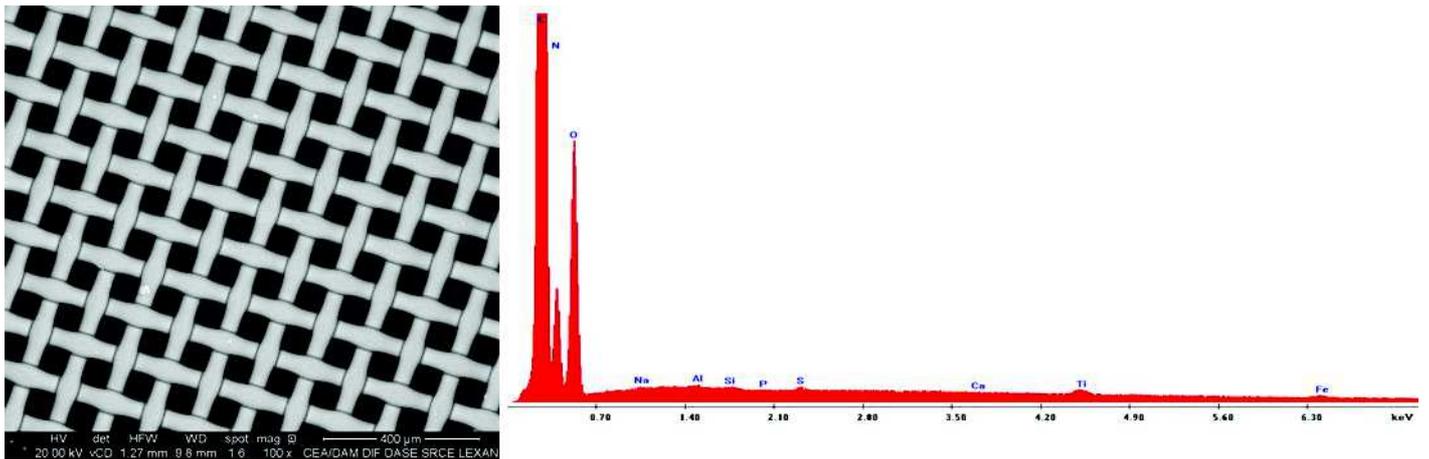


Figure 14 : Image MEB et spectre EDX associé du filtre nylon (blanc).

IV-1-2- Observation et analyse au MEB des particules apparaissant translucides à la loupe binoculaire.

Ces particules peuvent avoir des tailles allant jusqu'à environ 800 µm (Figure 15). Les éléments constituant ces particules sont : carbone, azote, oxygène et soufre pour les éléments majeurs. Les éléments sodium, aluminium, silicium, phosphore, calcium titane et fer peuvent également être détectés mais à l'état de traces (Figure 16). Tous ces éléments sont également détectés dans le blanc du filtre et il est impossible de quantifier la contribution du filtre sur les analyses des particules. Il est cependant possible d'affirmer que **les éléments, carbone, azote, oxygène et soufre sont bien présents dans les particules analysées.**

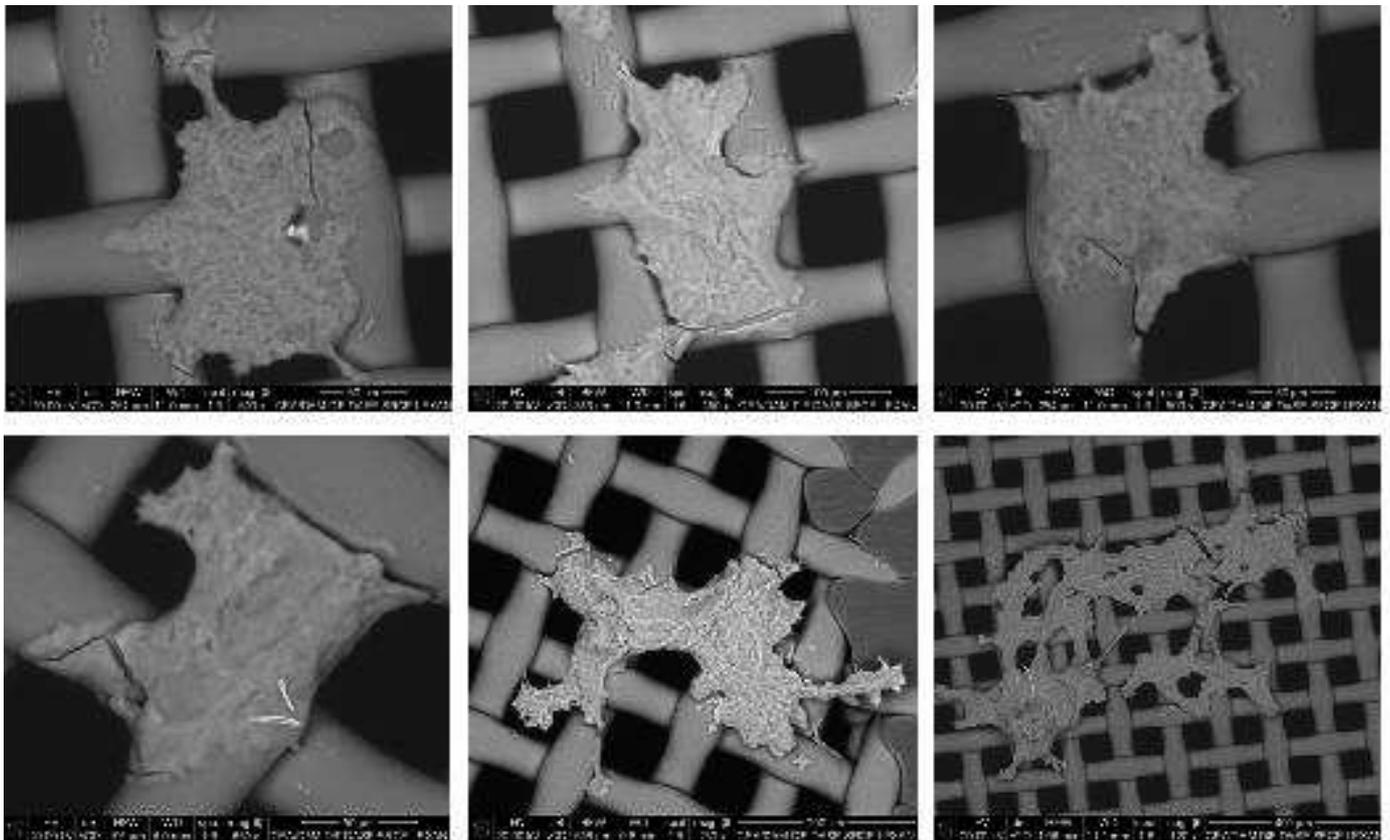


Figure 15 : Images MEB de particules translucides détectées à la surface du filtre nylon (seuil de filtration de 70 µm) correspondant à l'échantillon n°1.

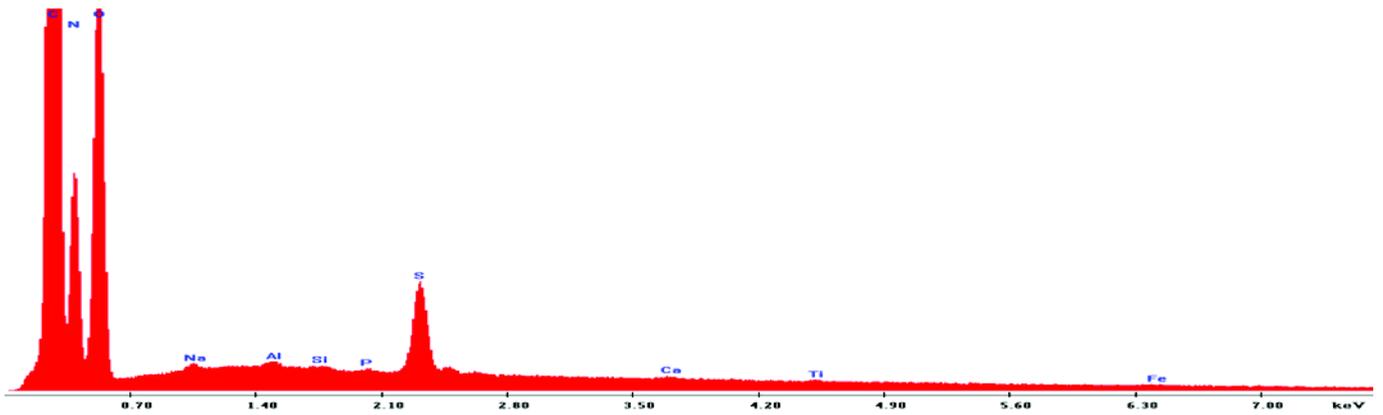


Figure 16 : Spectre EDX d'une particule translucide détectée à la surface du filtre nylon correspondant à l'échantillon n°1.

IV-1-2- Observation et analyse d'autres particules détectées par MEB à la surface du filtre nylon correspondant à l'échantillon n°1.

Il s'agit d'amas de morceaux de fibres composées essentiellement de silice et des éléments carbone, oxygène, zinc, magnésium, aluminium, potassium, calcium, baryum et fer (Figure 17). Ces amas de fibres proviennent probablement des filtres en quartz (Figure 18) utilisés pour récupérer des particules pour les analyses moléculaires.

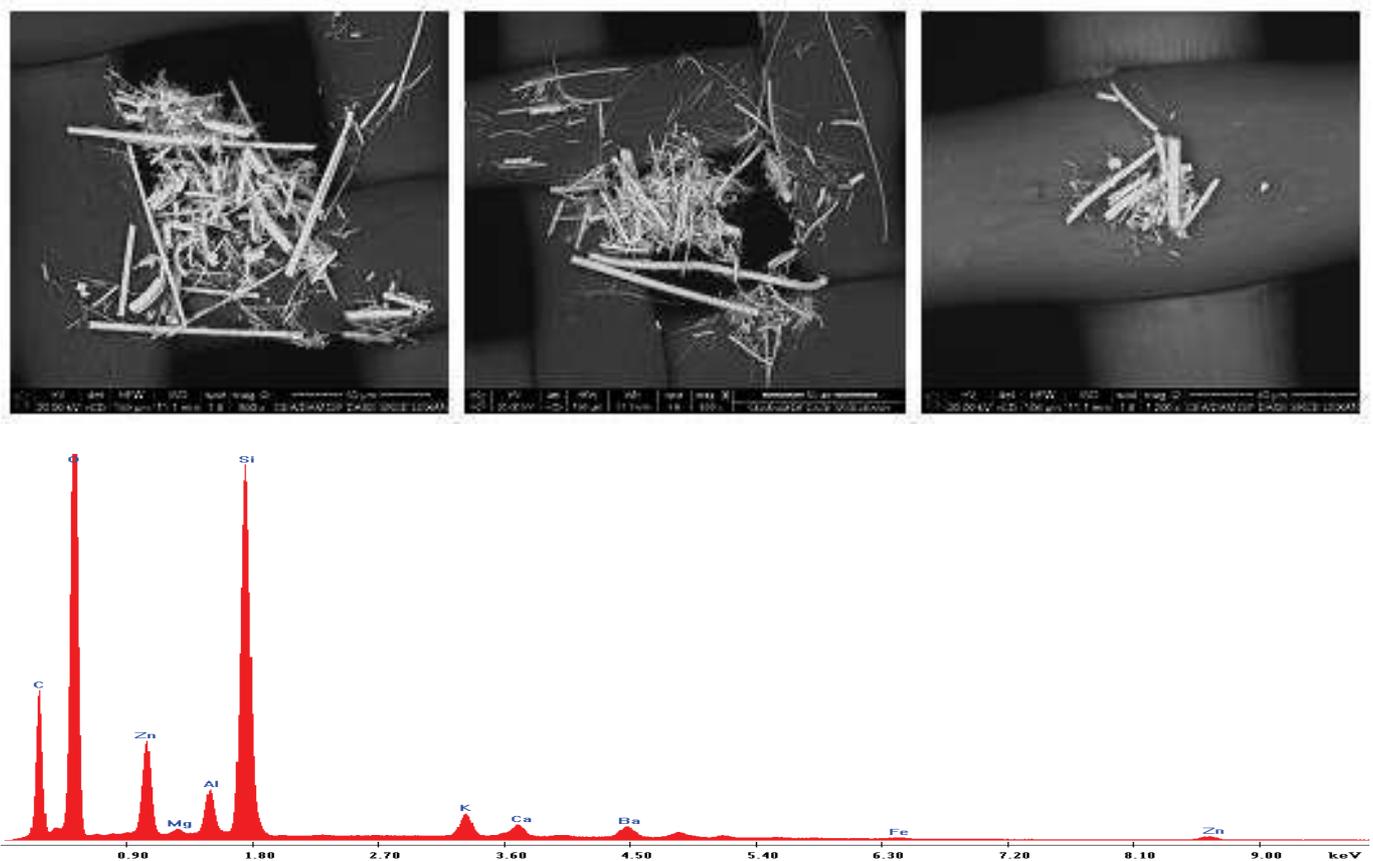


Figure 17 : Images MEB et spectre EDX associé de particules se présentant sous forme d'amas de fibres et détectées à la surface du filtre nylon correspondant à l'échantillon n°1.

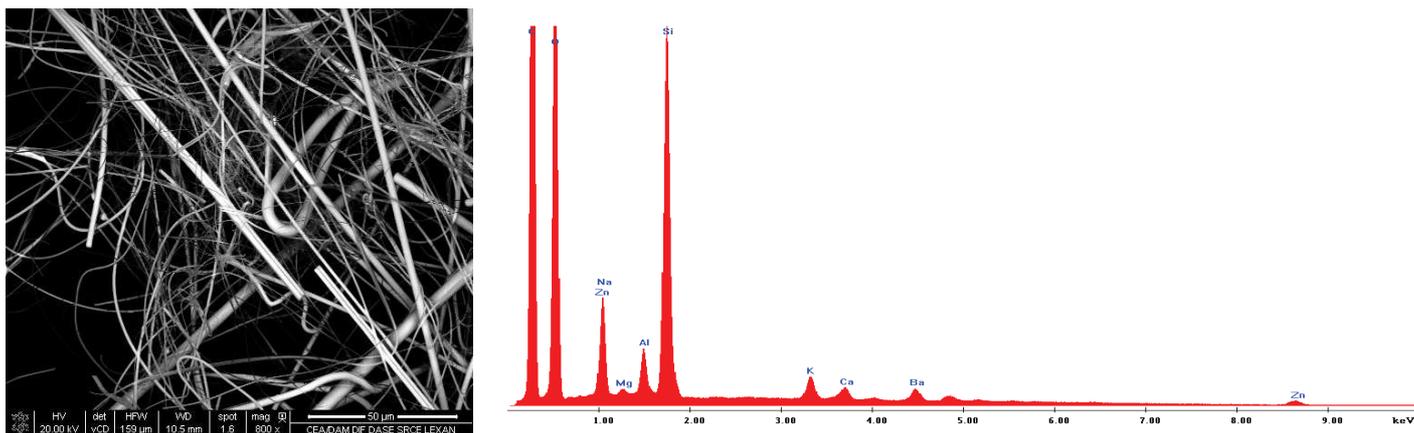


Figure 18 : Images MEB et spectre EDX associé d'un filtre de quartz utilisé pour les analyses moléculaires.

IV-2- Analyse chimique de la composition des particules par GC/TOF-MS

Quelques particules noires (Figure 19) ont été prélevées du filtre en quartz à l'aide d'une seringue à bord métallique et transférées à l'intérieur d'un tube de pyrolyse. Elles ont ensuite été analysées par pyrolyses successives (à des températures allant de 320°C à 900°C) suivies d'analyses GC/TOF-MS. Les chromatogrammes obtenus pour les différentes températures sont présentés dans l'annexe 1 et les principales molécules identifiées (relatives aux principaux pics notables) sont présentées dans l'annexe 3.



Figure 19 : Photo du filtre en quartz contenant des particules noires à expertiser provenant de l'échantillon de plasma n°1.

La Figure 20 représente le pyrogramme correspondant à l'analyse GC/TOF des produits de pyrolyse à 700°C de l'échantillon. Plusieurs produits détectés correspondent à du phénol et des dérivés phénoliques (phénol, crésol, méthyl phénol), également présents dans le pyrogramme correspondant à l'analyse des particules récupérées sur l'automate d'aphérèse (Figure 9).

Notons par ailleurs, la présence de composés organiques biogéniques dérivés du cholestérol (cholesta-4,6-dien-3-ol (3β)) ainsi que le cholesteryl benzoate sur le pyrogramme de la Figure 20. La présence de ces composés atteste que les particules expertisées ont bien été en contact avec du plasma humain.

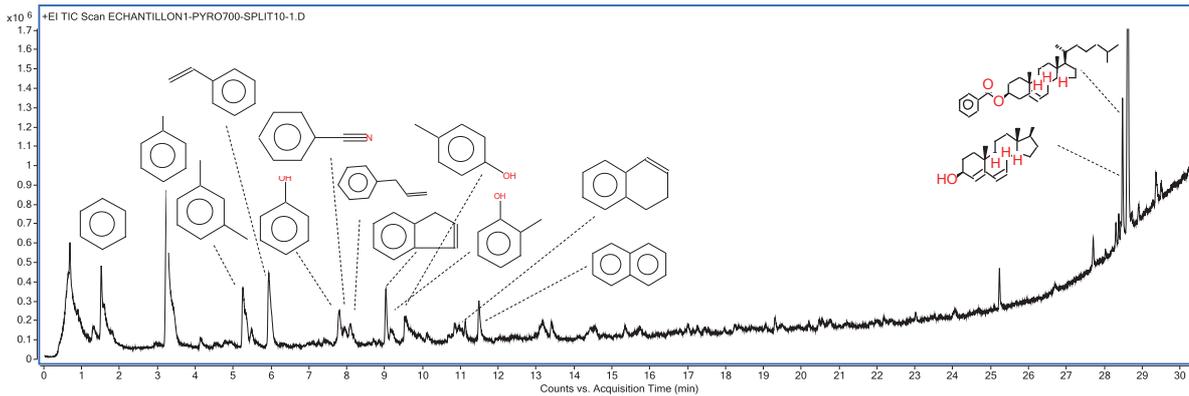
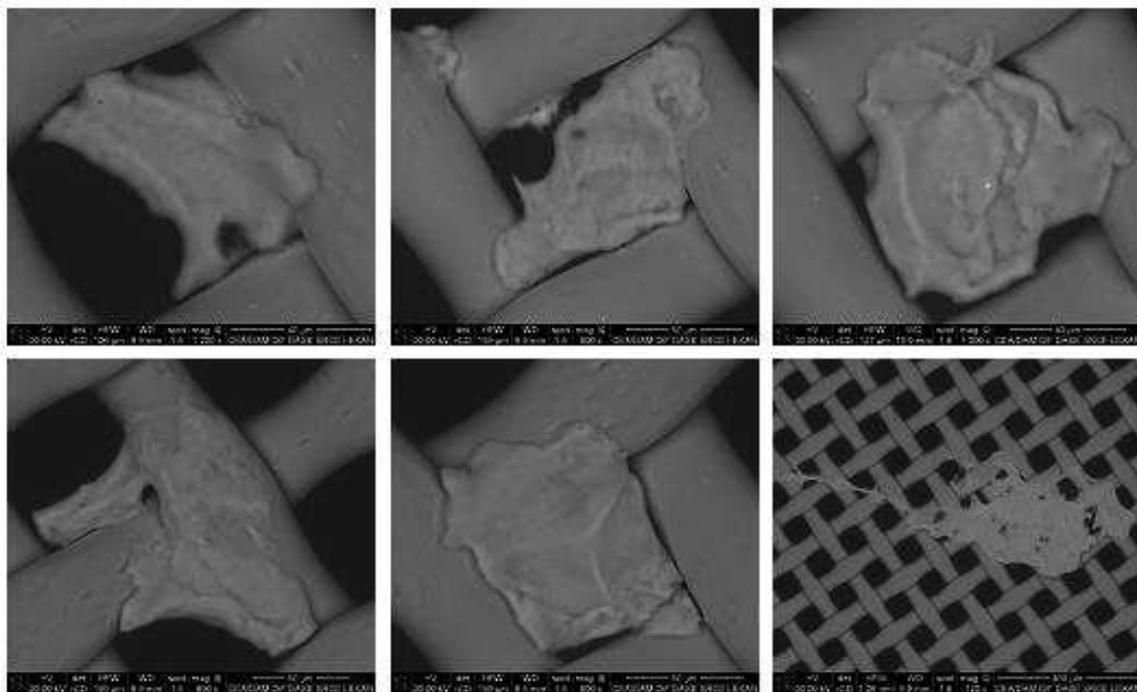


Figure 20 : Pyrogramme GC/TOF-MS ($T^{\circ}\text{C}$ de pyrolyse = 700°C) de quelques particules noires présentes à la surface du filtre en quartz

V- Analyses relatives aux particules issues du plasma n°2

Aucune analyse moléculaire n'a pu être réalisée sur cet échantillon, faute de quantités suffisantes de particules. Seules des observations et analyses MEB ont pu être conduites. Une première observation à la loupe binoculaire n'a pas permis de mettre en évidence de particules noires et seulement quelques particules translucides ont été repérées à la surface du filtre n°2. Les observations au MEB ont permis de détecter 20 particules. Pour 14 de ces particules, **la morphologie et les analyses EDX** (éléments majeurs : carbone, azote, oxygène et soufre ; autres éléments détectés : sodium, aluminium, silicium, phosphore, chlore, potassium, calcium, titane et fer) **ressemblent aux particules translucides détectées dans l'échantillon n°1**. Leurs tailles peuvent atteindre environ $600\ \mu\text{m}$ (Figure 21). Les 6 autres particules peuvent provenir de contaminations particulières. Leurs images MEB avec leurs spectres EDX associés sont données pour information (Figures 22 à 27).



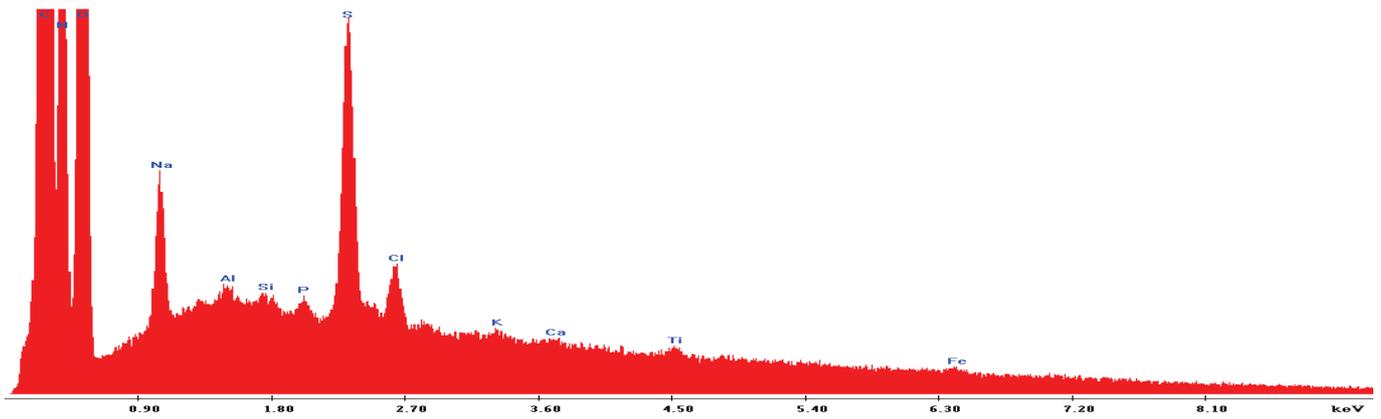


Figure 21 : Images MEB et spectre EDX associé de particules translucides détectées à la surface du filtre nylon correspondant à l'échantillon de plasma n°2.

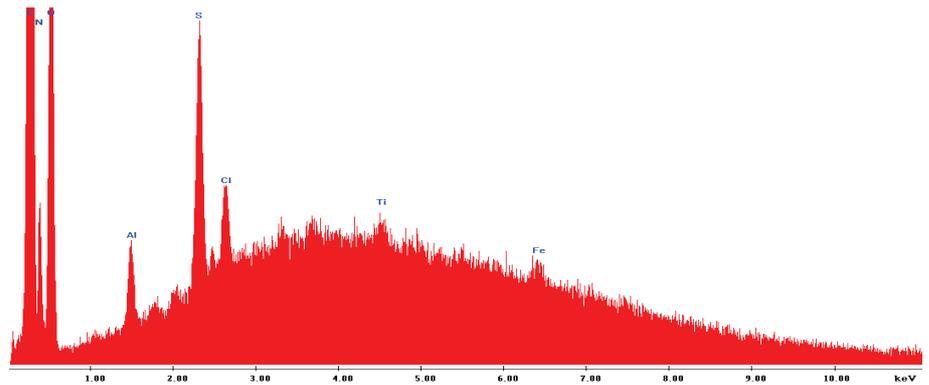
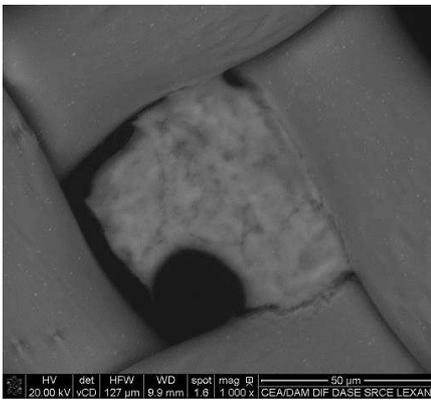


Figure 22 : Image MEB et spectre EDX associé d'une particule détectée à la surface du filtre nylon correspondant à l'échantillon de plasma n°2.

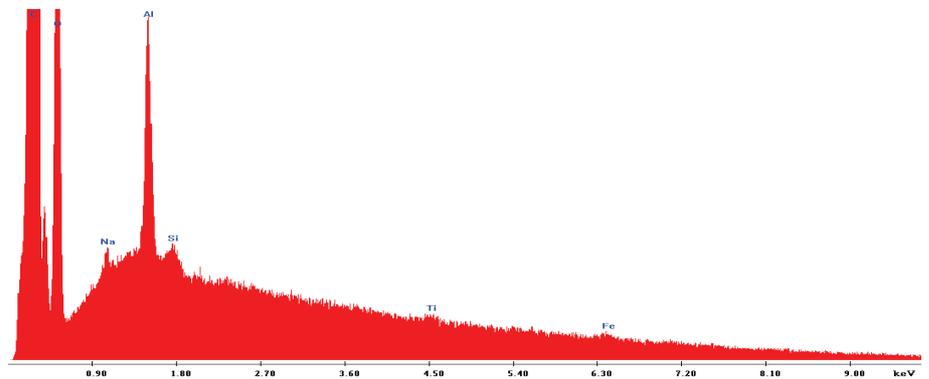
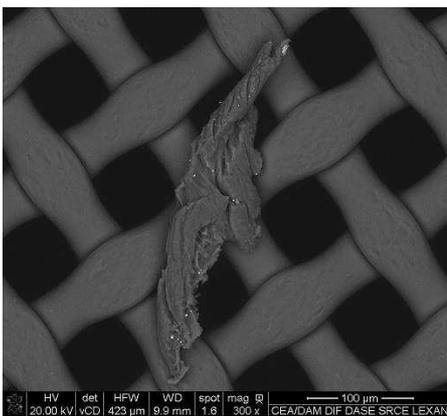


Figure 23 : Image MEB et spectre EDX associé d'une particule détectée à la surface du filtre nylon correspondant à l'échantillon de plasma n°2. L'élément aluminium est apporté par les particules micrométriques (brillantes), présentes à la surface de la particule.

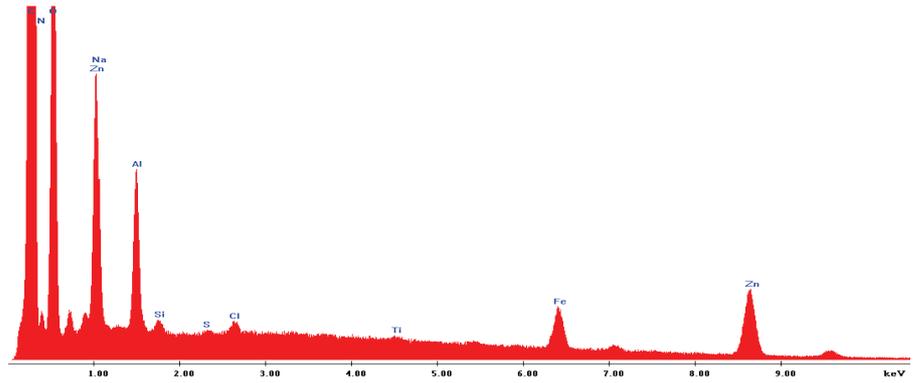
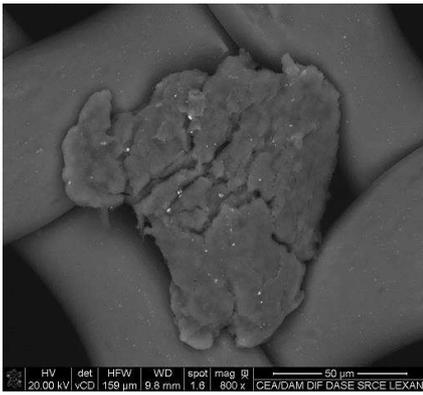


Figure 24 : Image MEB et spectre EDX associé d'une particule détectée à la surface du filtre nylon correspondant à l'échantillon de plasma n°2. Les éléments zinc et aluminium sont apportés par les particules micrométriques (brillantes), présentes à la surface de la particule.

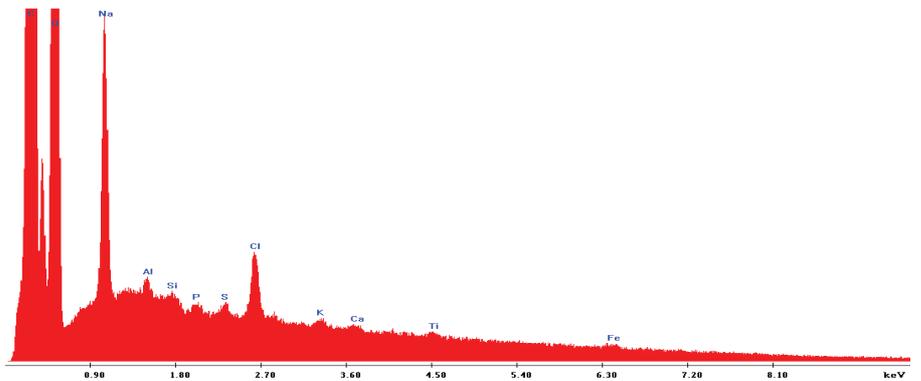
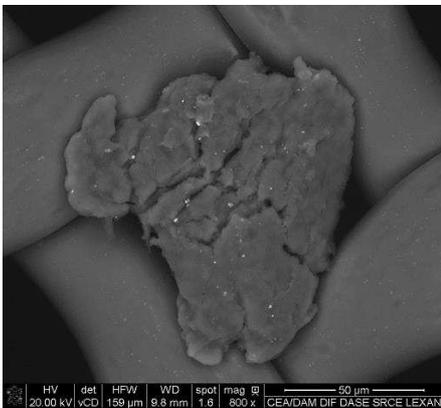


Figure 25 : Image MEB et spectre EDX associé d'une particule détectée à la surface du filtre nylon correspondant à l'échantillon de plasma n°2.

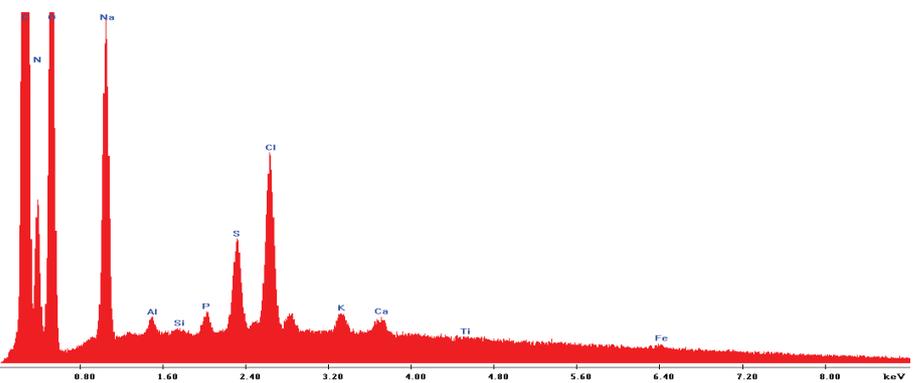
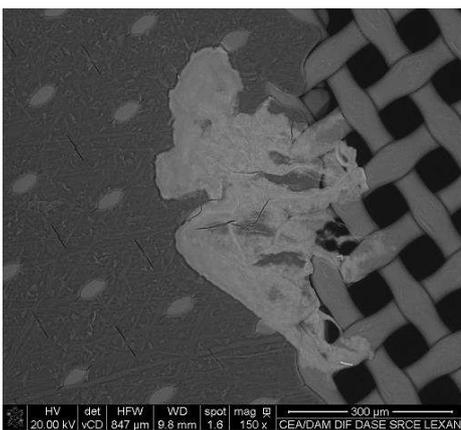


Figure 26 : Image MEB et spectre EDX associé d'une particule détectée à la surface du filtre nylon correspondant à l'échantillon de plasma n°2.

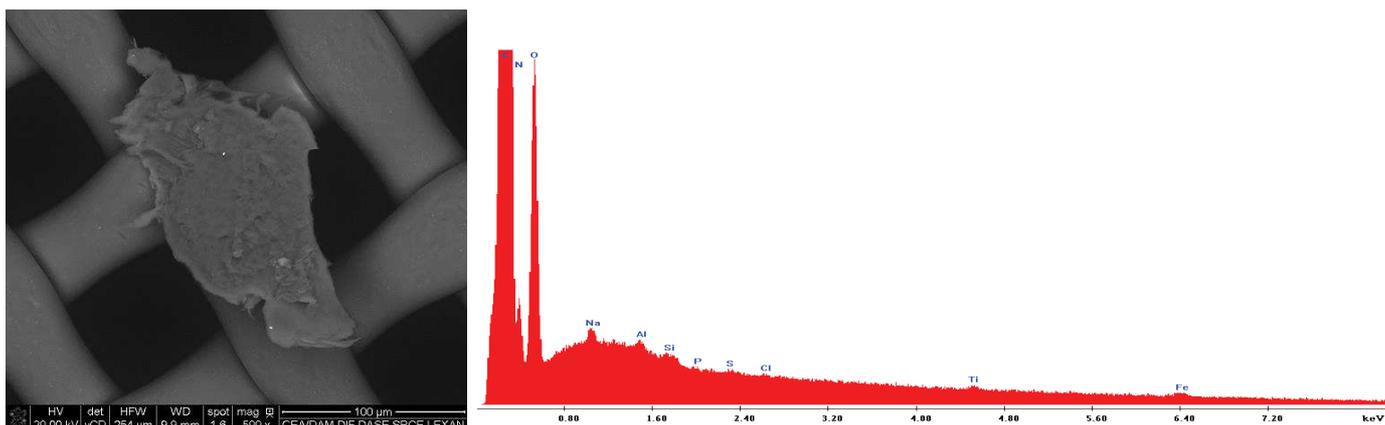


Figure 27 : Image MEB et spectre EDX associé d'une particule détectée à la surface du filtre nylon correspondant à l'échantillon de plasma n°2.

VI- Analyses relatives aux particules issues du plasma n°3

Aucune analyse moléculaire n'a pu être réalisée sur cet échantillon, faute de quantités suffisantes de particules. Seules des observations et analyses MEB ont pu être conduites. Une première observation à la loupe binoculaire n'a pas permis de mettre en évidence de particules noires ni de particules translucides à la surface du filtre n°3. Les observations au MEB ont permis de détecter 5 particules. Ces 5 particules peuvent provenir de contaminations particulaires. Leurs images MEB avec leurs spectres EDX associés sont données pour information (Figures 28 à 32).

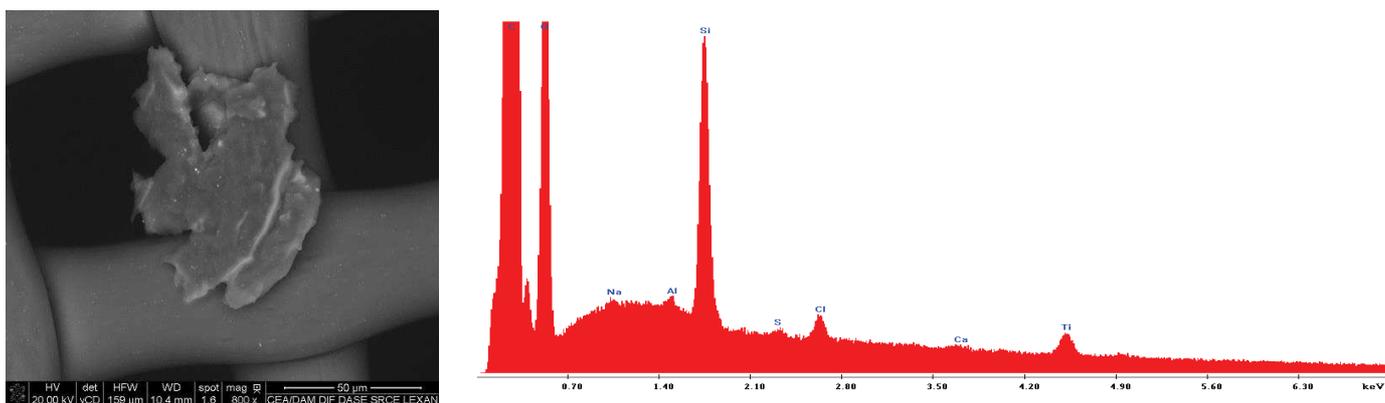


Figure 28 : Image MEB et spectre EDX associé d'une particule détectée à la surface du filtre nylon correspondant à l'échantillon de plasma n°3.

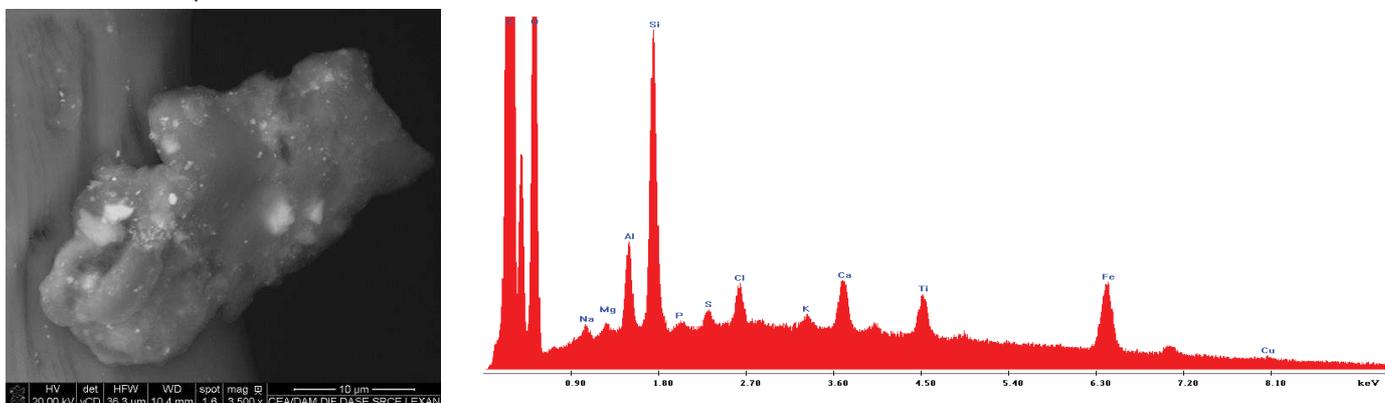


Figure 29 : Image MEB et spectre EDX associé d'une particule détectée à la surface du filtre nylon correspondant à l'échantillon de plasma n°3.

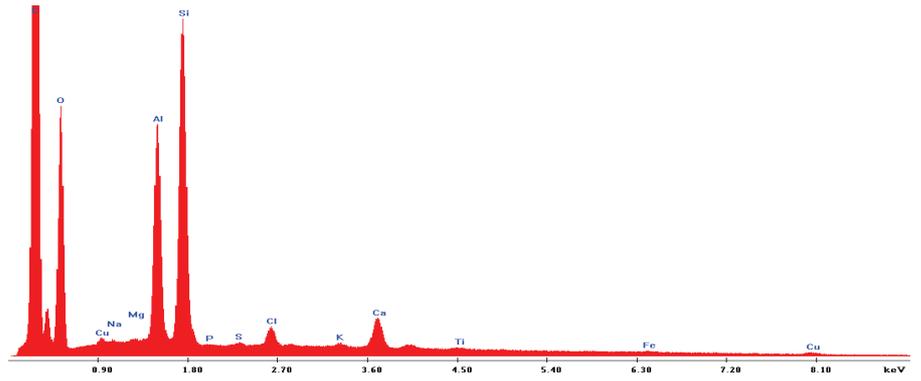
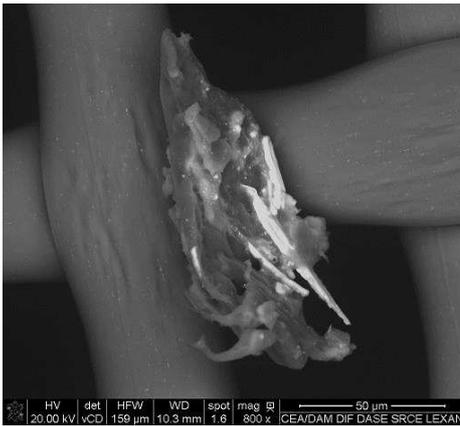


Figure 30 : Image MEB et spectre EDX associé d'une particule détectée à la surface du filtre nylon correspondant à l'échantillon de plasma n°3.

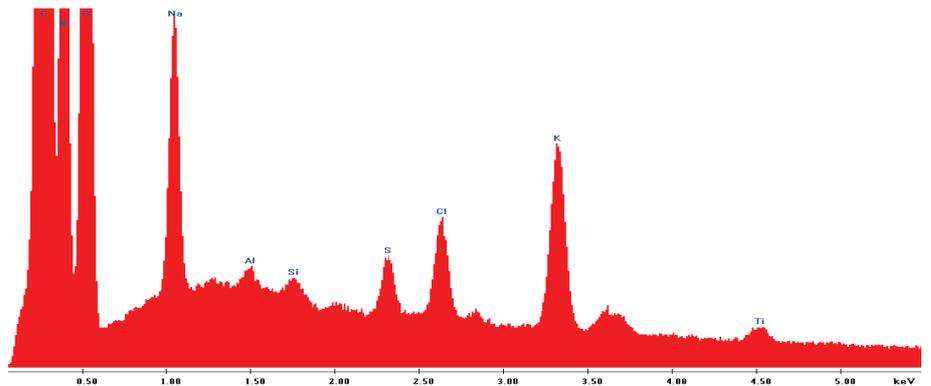
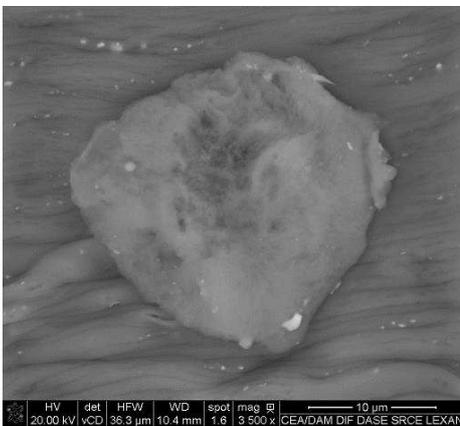


Figure 31 : Image MEB et spectre EDX associé d'une particule détectée à la surface du filtre nylon correspondant à l'échantillon de plasma n°3.

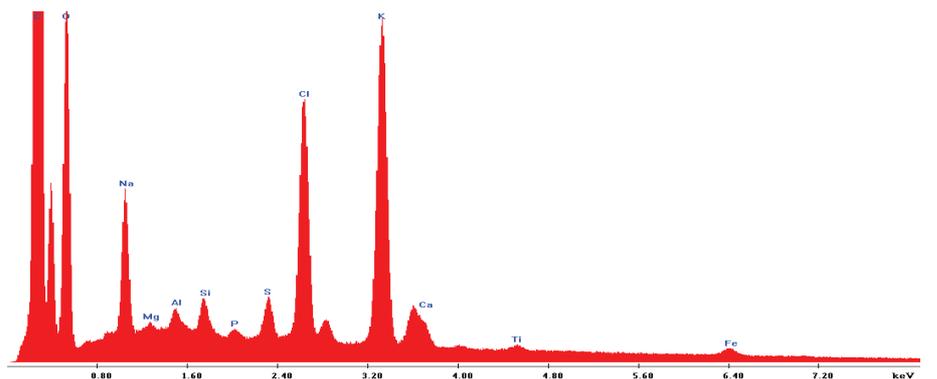
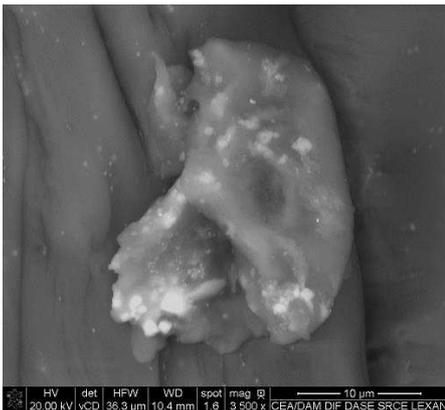


Figure 32 : Image MEB et spectre EDX associé d'une particule détectée à la surface du filtre nylon correspondant à l'échantillon de plasma n°3.

VII- Analyses relatives à différentes parties d'un kit de prélèvement de plasma de marque HAEMONETICS réf 782HS-P-SL.

VII-1- Observation et analyse d'un joint de couleur noire.

VII-1-1- Observations et analyses par MEB/EDX

Le joint de couleur noire (Figure 33) est relativement friable et de nombreuses particules pourraient être émises par celui-ci. A la surface de ce joint, quatre zones concentriques ont été observées. Ces quatre zones, numérotées de l'intérieur vers l'extérieur, ont des largeurs et des aspects différents (Figure 34).



Figure 33 : Images du joint noir observé et analysé.

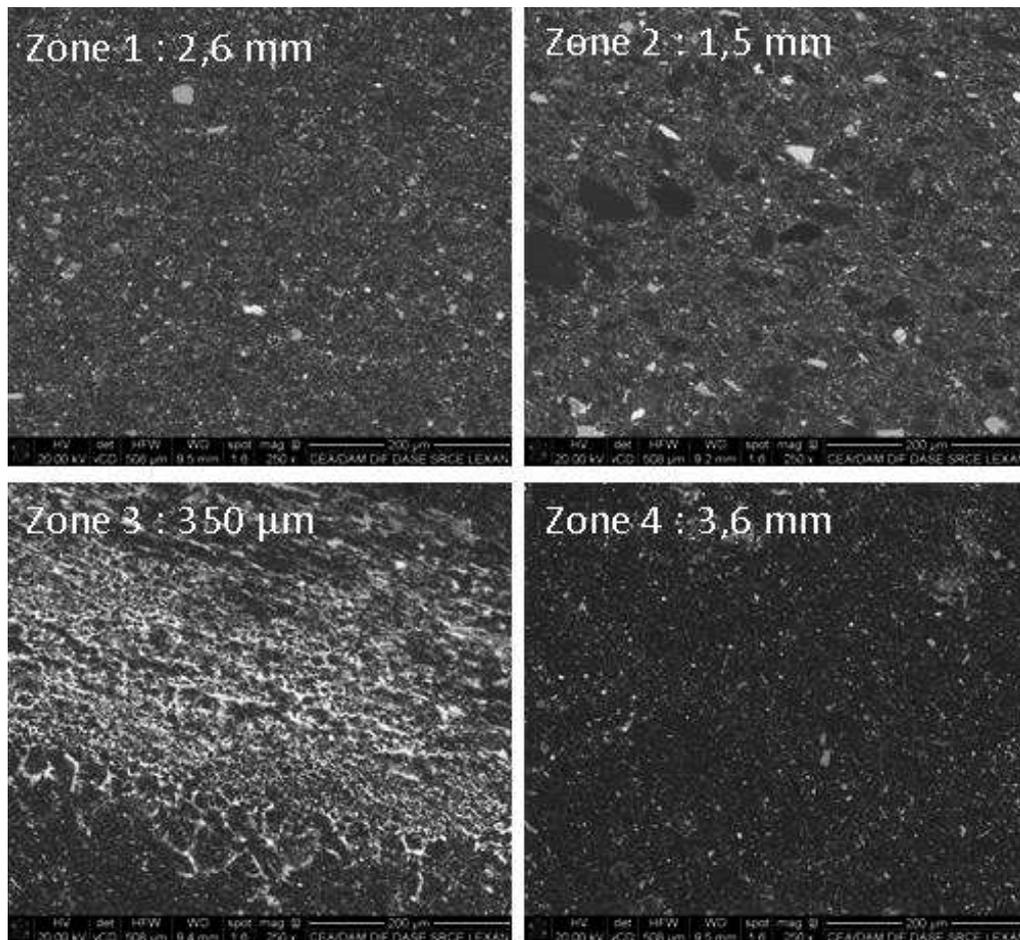


Figure 34 : Images MEB prises au niveau de chaque zone concentrique du joint.

Les analyses EDX (Figure 35) au niveau de chaque zone montrent clairement que ce joint est **composé majoritairement de carbone, oxygène, zinc, aluminium et silicium**. Les éléments magnésium, phosphore, soufre, potassium, calcium, titane et fer sont également détectés mais à des niveaux faibles voire à l'état de traces. Une différence au niveau de la zone 3 a été observée (Figure 36). Au niveau de cette zone, la **concentration en élément zinc observée est très supérieure à celles observées au niveau des 3 autres zones**.

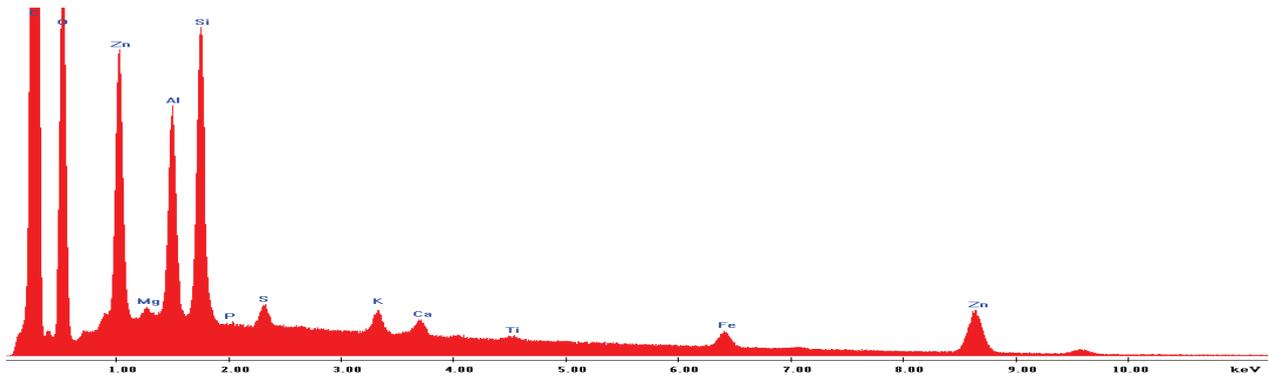


Figure 35 : Spectre EDX du joint de couleur noire au niveau des zones 1, 2 et 4.

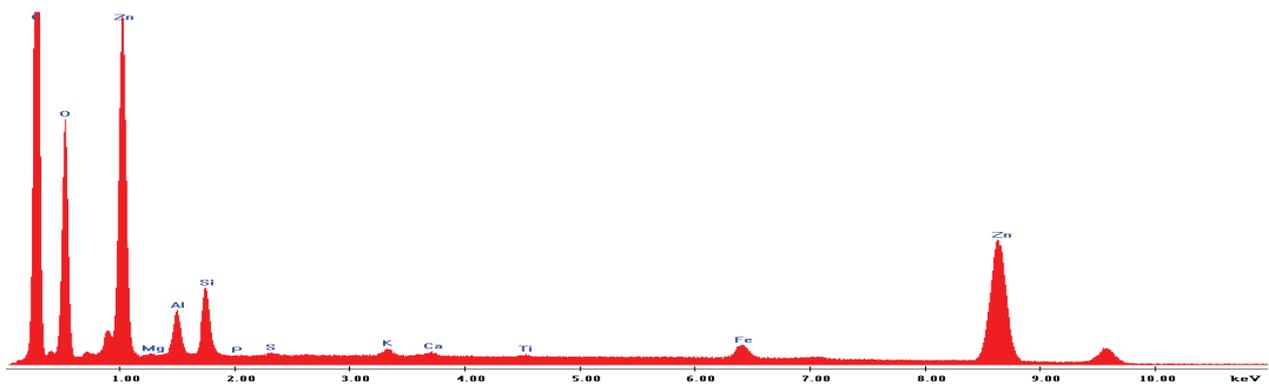


Figure 36 : Spectre EDX du joint de couleur noire au niveau de la zone 3. La concentration en élément zinc est clairement supérieure à celles observées dans les zones 1, 2 et 4.

VII-1-2- Analyse chimique de la composition par GC/TOF-MS

La caractérisation moléculaire du joint noir a également été déterminée. Pour ce faire, la surface du joint noir a été grattée à l'aide d'un rasoir, produisant une poudre de particules de très petite taille et de couleur noire (Figure 37).



Figure 37 : Images du joint noir et des particules récupérées suite au grattage de la surface du joint.

Une partie de la poudre noire a alors été transférée à l'intérieur d'un tube de pyrolyse. Elle a ensuite été analysée par pyrolyses successives (à des températures allant de 320°C à 900°C) suivies d'analyses GC/TOF-MS. Les chromatogrammes obtenus pour les différentes températures sont présentés dans l'annexe 1 et les principales molécules identifiées (relatives aux principaux pics notables) sont présentées dans l'annexe 3. A titre d'exemple, le pyrogramme à 700°C de la poudre est présenté ci-dessous (Figure 38) et comparé aux pyrogrammes relatifs aux particules issues de l'automate d'aphérèse et du plasma n°1.

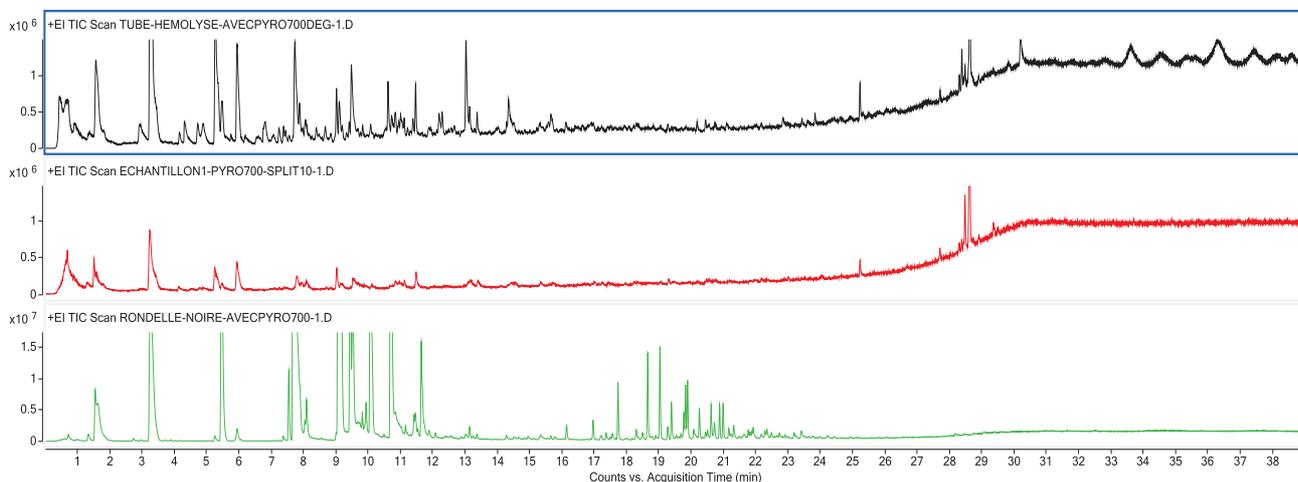


Figure 38 : Pyrogrammes à 700°C relatifs : en noir, aux particules issues de l'automate d'aphérèse, en rouge, aux particules issues du plasma n°1, et en vert, des particules issues du joint noir.

Pour chacune des températures de pyrolyse, nous pouvons observer, en première approche, que le chromatogramme des particules issues du joint noir diffère notablement (par exemple, la zone allant de 15 à 24 minutes sur le pyrogramme à 700°C ci-dessus) de ceux des particules issues de l'automate d'aphérèse et du plasma n°1 (qui eux, ont des allures plutôt similaires, les pics étant nettement moins notables sur le pyrogramme des particules issues du plasma n°1 à cause de la très faible quantité de matière analysée, seules 3 particules ayant pu être récupérées).

La Figure 39 représente le pyrogramme correspondant à l'analyse GC/TOF des produits de pyrolyse à 700°C de l'échantillon. De nombreux petites molécules organiques volatiles ont été détectées et caractérisées.

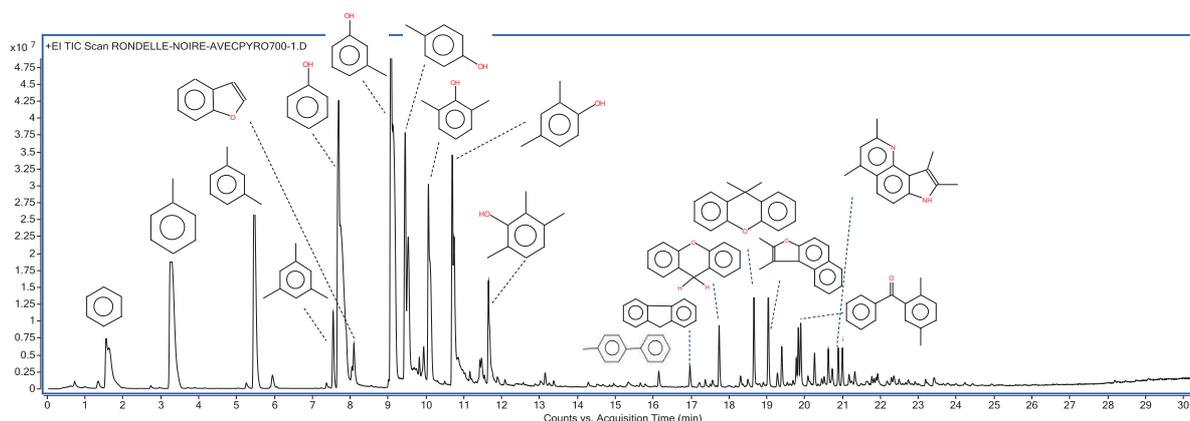


Figure 39 : Pyrogramme GC/TOF-MS (T°C de pyrolyse = 700°C) des particules noires récupérées suite au grattage de la surface du joint noir.

Parmi les molécules d'intérêt détectées sur le pyrogramme de la Figure 39, nous pouvons observer un nombre important de composés volatils libérés par pyrolyse, tels que des composés phénoliques comme le phénol, le crésol, etc., ainsi que des composés aromatiques cycliques tels que le benzène, le toluène, le naphthalène, etc.

Par ailleurs, le pyrogramme révèle la présence de composés tels que le xanthène ou le diméthylxanthène qui sont des marqueurs de pyrolyse de polymères thermodurcissables de type résine phénol formaldéhyde Novolaques¹. L'ensemble de ces produits de dégradation pyrolytique semble indiquer la présence de phénoplastes.

La comparaison de l'ensemble des informations moléculaires relatives aux particules issues du joint noir, de l'automate d'aphérèse et du plasma n°1 nous permet d'émettre les observations générales suivantes :

1/ les pyrogrammes relatifs aux particules issues de l'automate d'aphérèse et du plasma n°1 ont des allures similaires (voir l'annexe 1). Cependant, il faut préciser que nous avons observé, pour ces 2 échantillons, la présence de composés organiques biogéniques (voir les paragraphes III.2 et V.2). On ne peut donc exclure l'hypothèse que de nombreux pics communs (générés par pyrolyse de ces composés) soient présents, d'où des allures plutôt analogues des pyrogrammes pour cette raison.

2/ Les pyrogrammes relatifs aux particules du joint noir sont notablement différents de ceux des 2 échantillons précédents (voir de nouveau l'annexe 1). Par exemple, sur le pyrogramme à 700°C, de nombreux composés de plus hauts poids moléculaires, éluant entre les temps de rétention de 15 et 24 minutes, sont uniquement notables sur le pyrogramme du joint noir. Cependant, joint noir excepté, nous n'avons pu introduire que de très faibles quantités de matière à l'intérieur du tube de pyrolyse (très peu de particules ayant été récupérées), d'où des faibles intensités du courant ionique total. Nous ne pouvons donc pas exclure une éventuelle présence de particules noires (à l'état de trace, voire plus) au sein des particules issues de l'automate d'aphérèse ou du plasma n°1.

3/ L'exploitation des principaux pics notables des divers pyrogrammes est présentée sous forme de tableau dans l'annexe 3 (identifications non exhaustives de par le court délai d'expertise imparti). En première approche, cette étude nous permet d'observer que certaines molécules libérées (par pyrolyse) par les particules issues du joint noir le sont aussi par les particules issues de l'automate d'aphérèse et du plasma n°1. Cependant, il est important de préciser que de nombreux produits de dégradation pyrolytique semblent communs aux composés biogéniques (protéines, ...) et plastiques (phénoplastes, ...) dans la littérature. De plus, les particules issues du joint noir sont aussi à l'origine de nombreux pics significatifs que nous ne retrouvons pas notablement dans les 2 autres échantillons (nous ne pouvons néanmoins pas exclure l'hypothèse que ce soit lié à la très faible quantité de matière analysée, voir les explications du point 2).

VII-2 - Observation et analyse d'un protège joint de couleur grise.

VII-2-1- Observations et analyses par MEB/EDX

L'analyse EDX de ce protège joint de couleur grise (Figure 40) montre clairement que celui-ci est constitué de carbone, d'oxygène et de silicium, l'élément titane est également détecté, mais à l'état de traces. Il s'agit de particules nanométriques présentes dans la matrice observée (Figure 41).

¹ Tsuge, S. ; Ohtani, H. ; Watanabe, C. 2011. Pyrolysis-GC/MS data book of synthetic polymers.



Figure 40 : Image du protège joint observé et analysé.

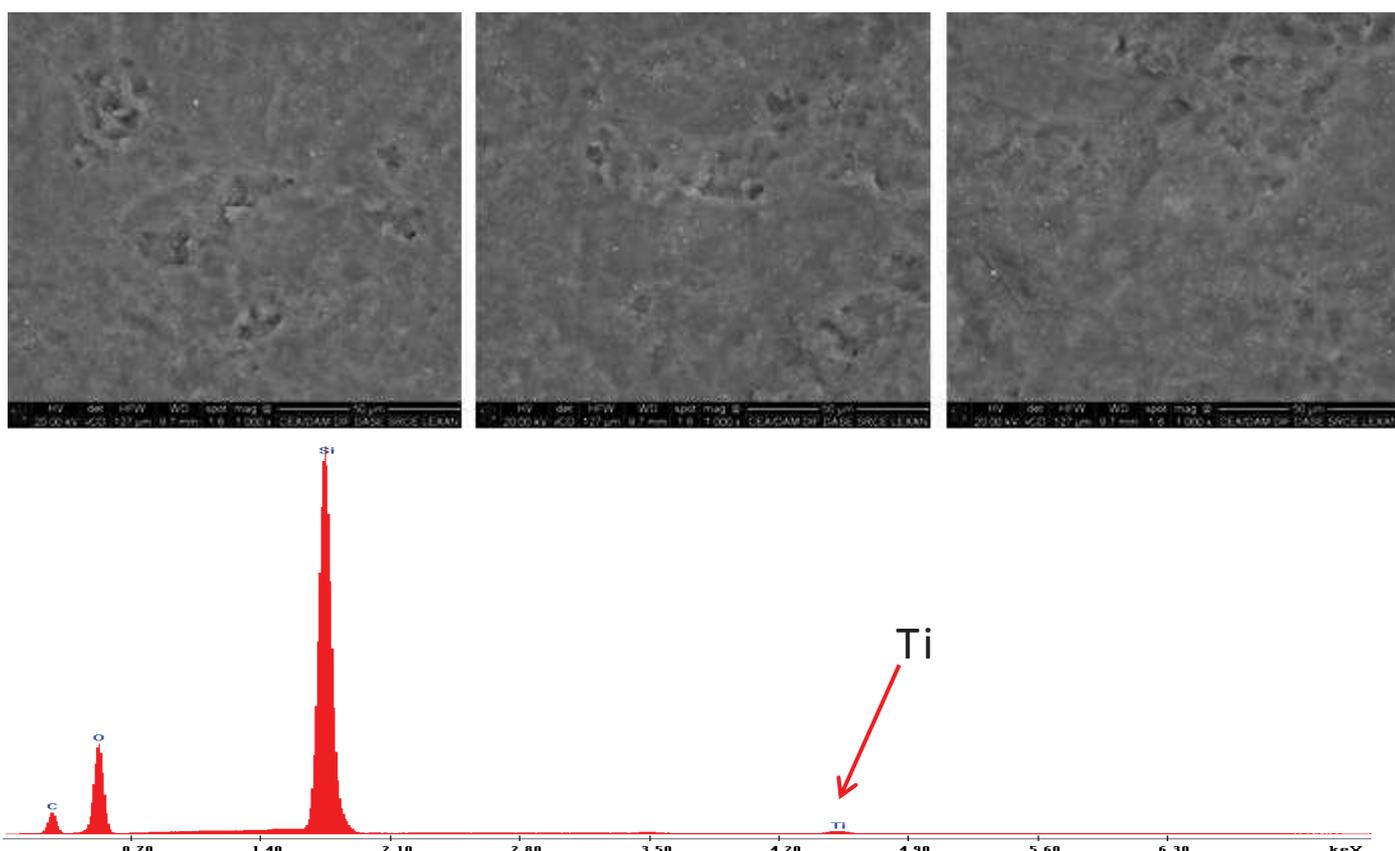


Figure 41 : Images MEB et spectre EDX associé du protège joint de couleur grise.

VII-2-2- Analyse chimique de la composition par GC/TOF-MS

Un petit morceau du protège-joint de couleur grise a été prélevé à l'aide d'une paire de ciseaux, transféré à l'intérieur d'un tube de pyrolyse et analysé par pyrolyse à 700°C couplée à une analyse par GC/TOF-MS.

La Figure 42 représente le pyrogramme correspondant à l'analyse GC/TOF des produits de pyrolyse à 700°C de l'échantillon de protège-joint. L'ensemble des pics chromatographiques présents sur le pyrogramme appartiennent à des oligomères de type diméthylsiloxanes. Le spectre de masse obtenu par impact électronique du pic éluant au temps de rétention 18,8 minutes sur le pyrogramme de la Figure 42 est représenté sur la Figure 43. Celui-ci correspond rigoureusement au spectre de masse de la bibliothèque spectrale NIST de l'octadécaméthyl-cyclononasiloxane (Figure 44), de formule chimique $C_{18}H_{54}O_9Si_9$. Les autres pics chromatographiques éluants entre 15 et 31 minutes sont tous

des dérivés oligomériques siliconés contenant de multiples motifs répétitifs de groupements diméthylsiloxane. **Le protège joint gris est donc un joint siliconé.**

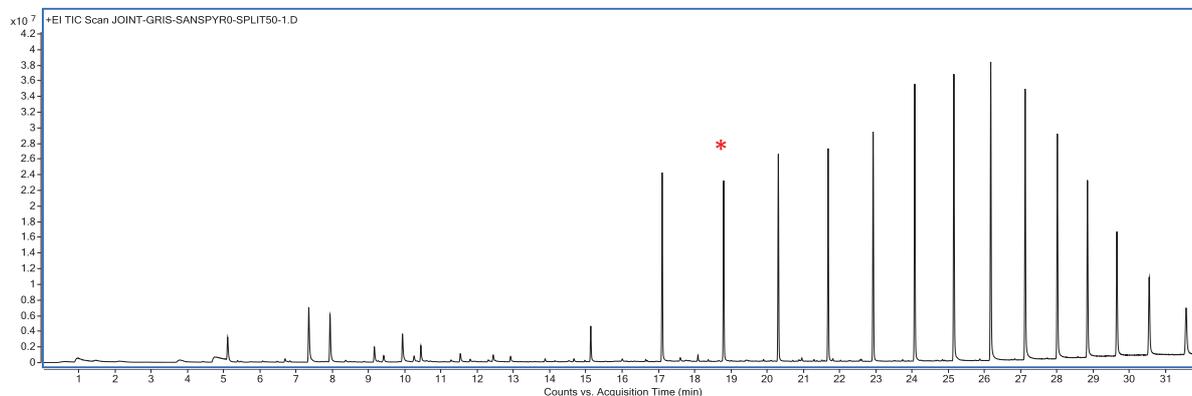


Figure 42 : Pyrogramme GC/TOF-MS ($T^{\circ}C$ de pyrolyse = $700^{\circ}C$) du joint de protection gris (Figure 6).

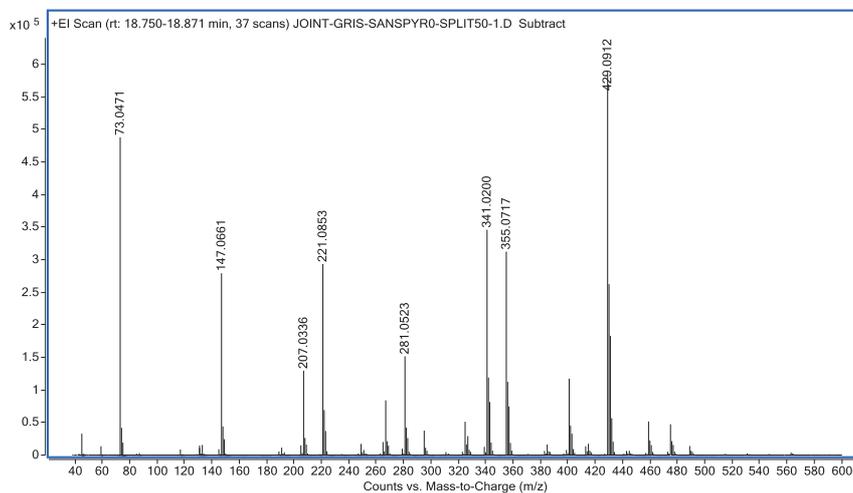


Figure 43 : Spectre de masse par impact électronique du pic chromatographique éluant au temps de rétention 18,8 minutes (*) sur le pyrogramme de la Figure 42.

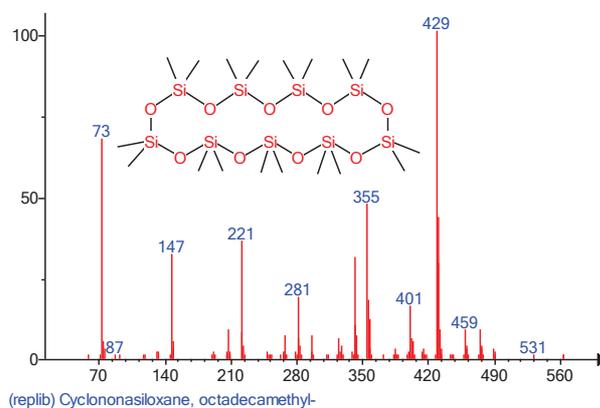


Figure 44 : Spectre de masse par impact électronique issu de la banque spectrale NIST.

VII-3 - Observation et analyse d'un protège aiguille de couleur noire.

VII-3-1- Observations et analyses par MEB/EDX

L'analyse EDX de ce protège aiguille de couleur noire (Figure 45) montre que celui-ci est constitué de carbone, d'oxygène, de soufre, de silicium et de chlore, les éléments titane et zinc sont également détectés. Il s'agit de particules nanométriques pour le titane et de particules pouvant avoir des tailles jusqu'à 3 µm pour le zinc, présentes dans la matrice observée. (Figure 46).



Figure 45 : Image du protège aiguille observé et analysé.

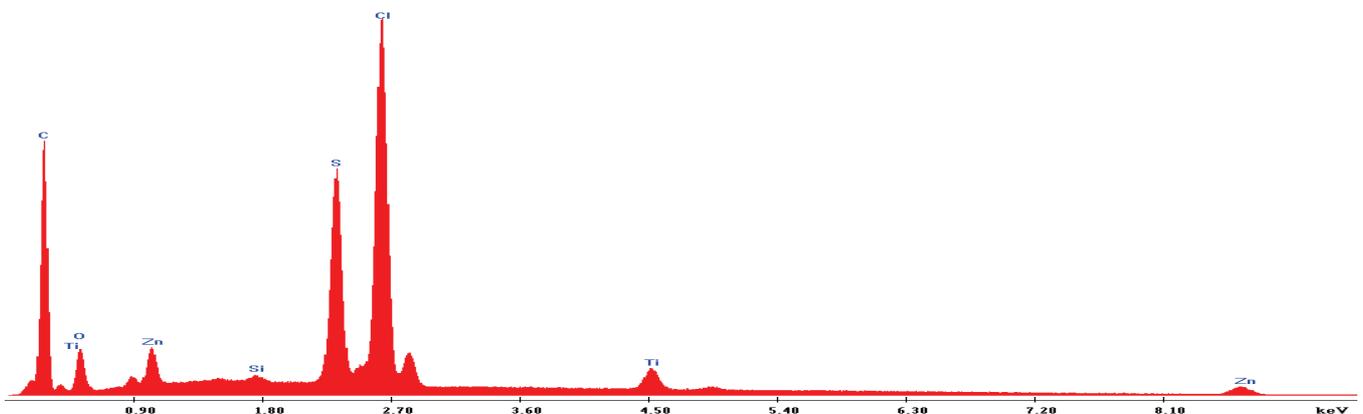
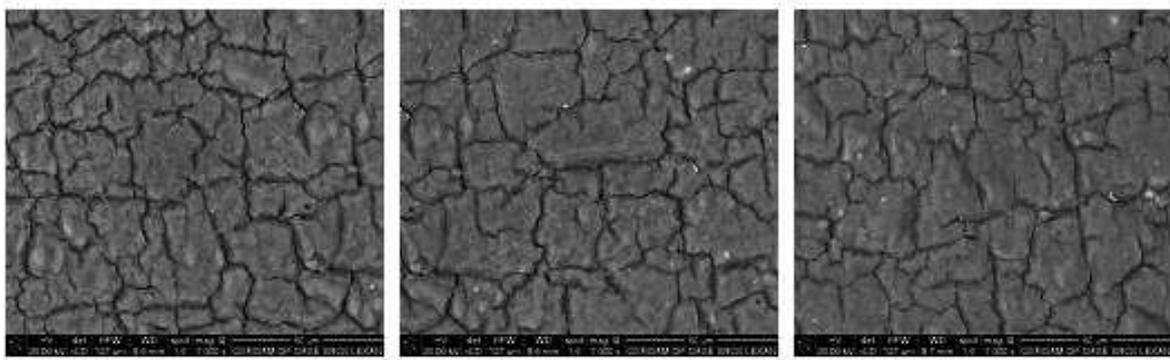


Figure 46 : Images MEB et spectre EDX associé du protège aiguille de couleur noire.

VII-3-2- Analyse chimique de la composition par GC/TOF-MS

Un petit morceau du protège aiguille a été prélevé à l'aide d'une paire de ciseaux, transféré à l'intérieur d'un tube de pyrolyse et analysé par pyrolyse à 700°C couplée à une analyse par GC/TOF-MS.

La Figure 47 représente le pyrogramme correspondant à l'analyse GC/TOF des produits de pyrolyse à 700°C du protège aiguille. L'ensemble des pics chromatographiques présents sur le pyrogramme correspond à des composés organiques volatiles complètement hydrocarbonés et cycliques et ne présente aucune trace de composés contenant de l'oxygène ou de l'azote. Plusieurs des composés détectés sont des dérivés méthyliques benzéniques du type méthylbenzène, diméthylbenzène, éthylbenzène, styrène etc.

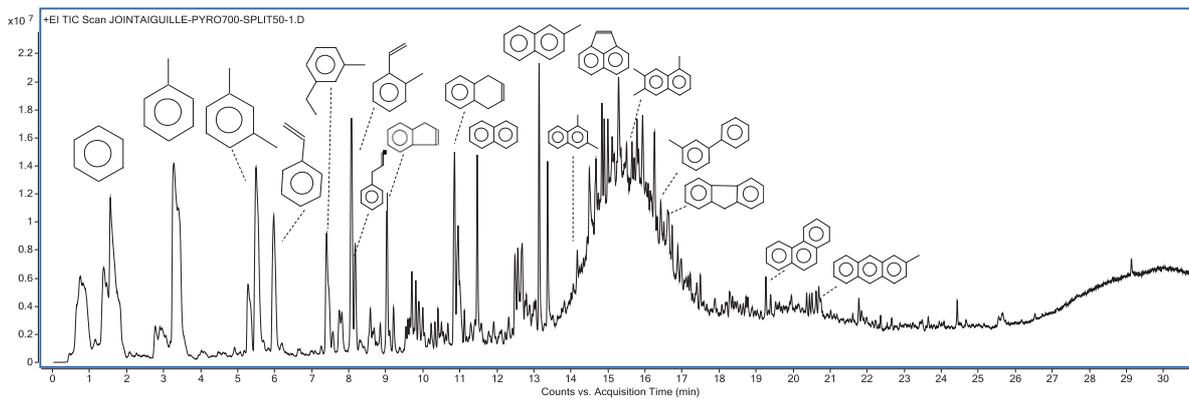
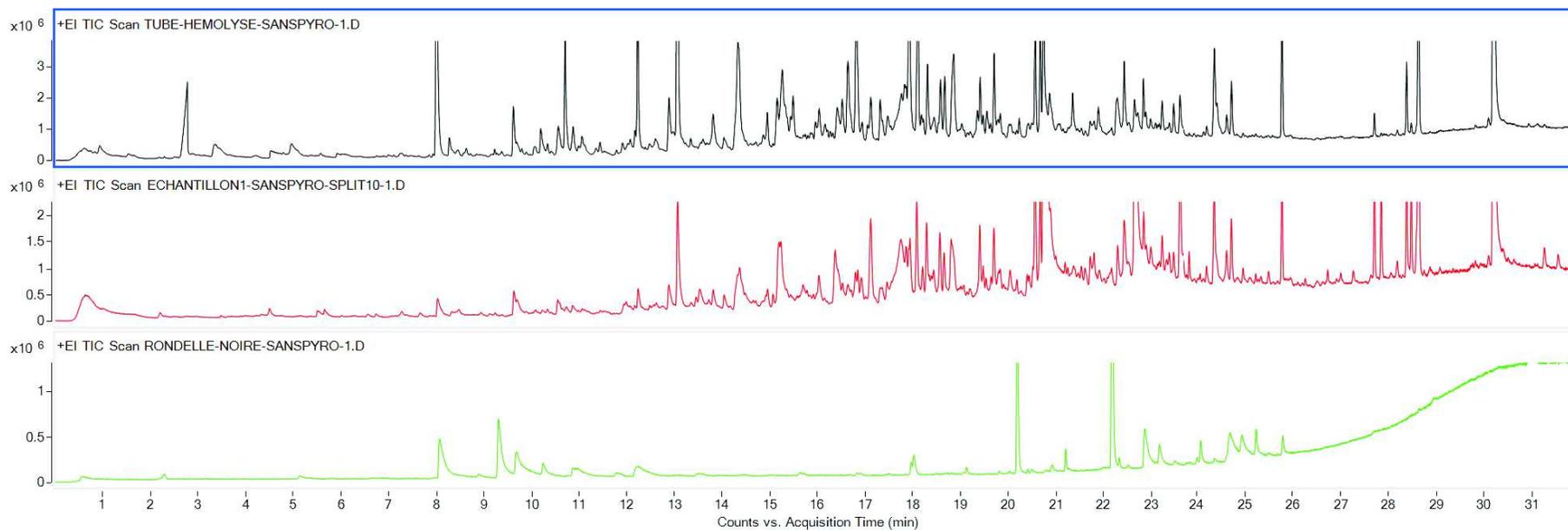


Figure 47 : Pyrogramme GC/TOF-MS ($T^{\circ}\text{C}$ de pyrolyse = 700°C) du joint de protection aiguille

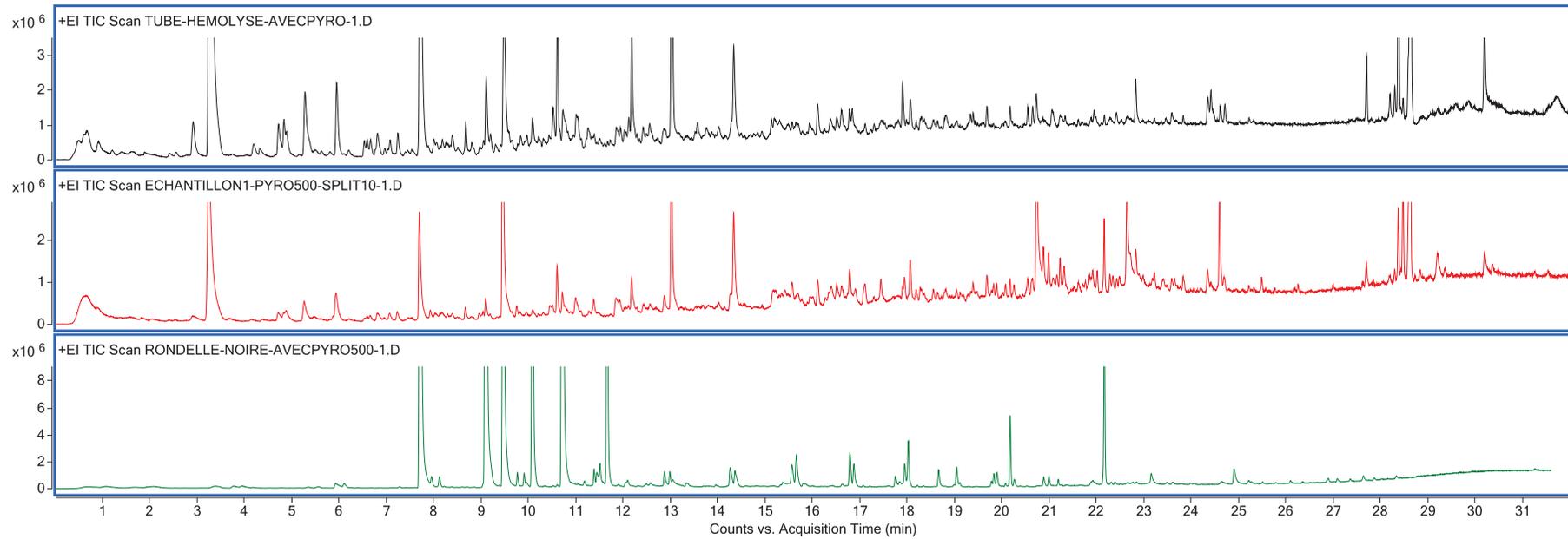
ANNEXE 1 : chromatogrammes obtenus à plusieurs températures de pyrolyse

1- Chromatogrammes à 320°C (thermodésorption)



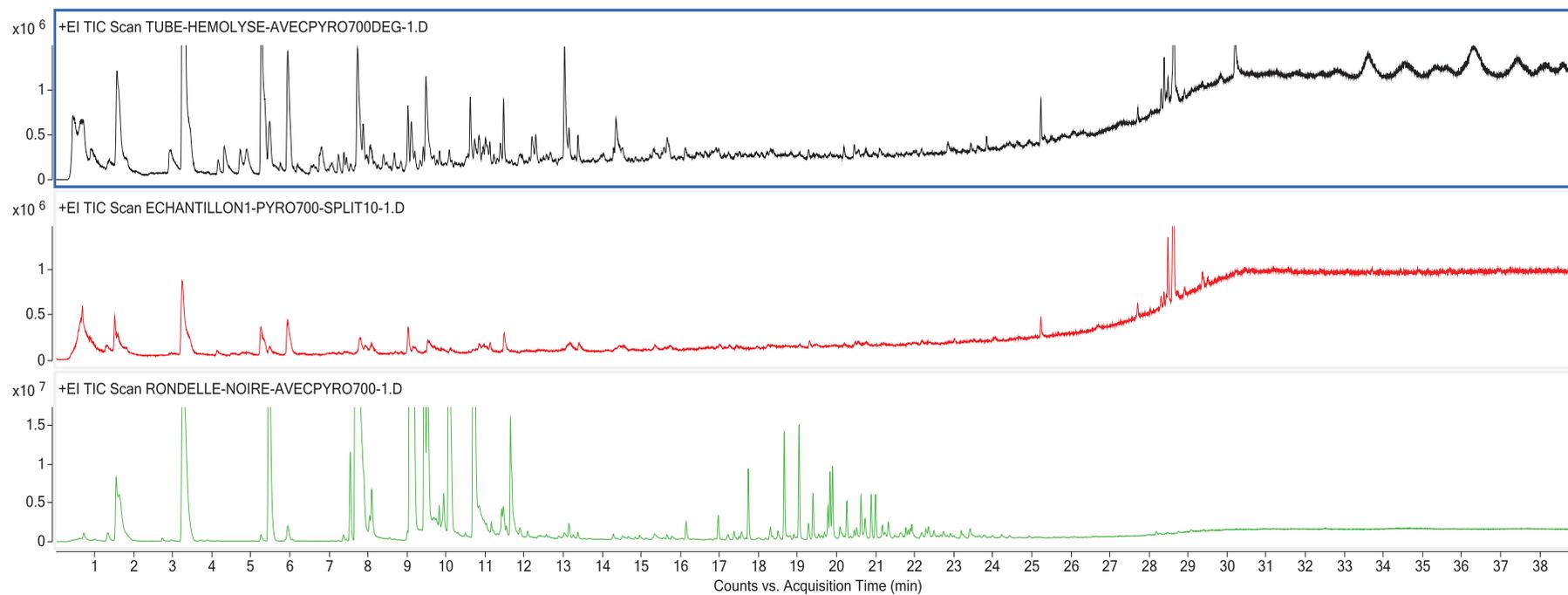
En noir, aux particules issues de l'automate d'aphérèse, en rouge, aux particules issues du plasma n°1, et en vert, des particules issues du joint noir

2- Pyrogrammes à 500°C



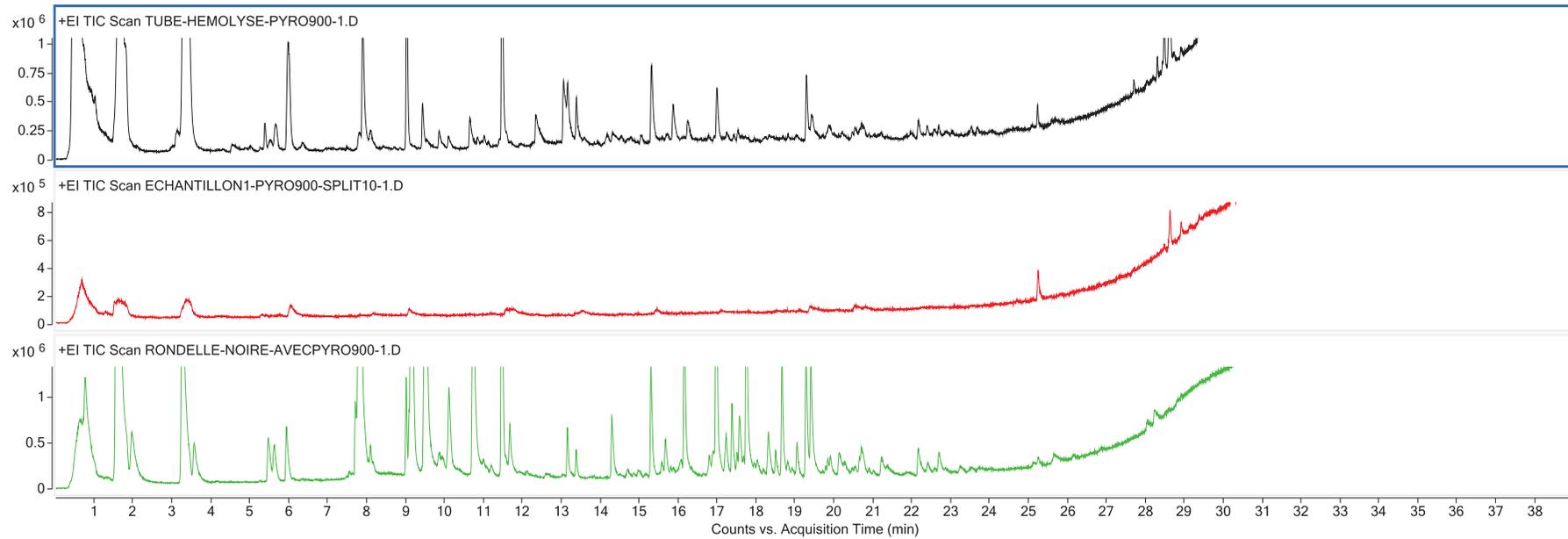
En noir, aux particules issues de l'automate d'aphérèse, en rouge, aux particules issues du plasma n°1, et en vert, des particules issues du joint noir

3- Pyrogrammes à 700°C



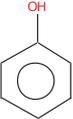
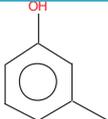
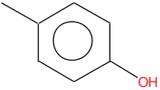
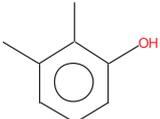
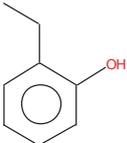
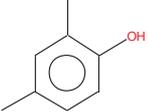
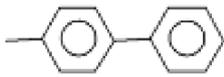
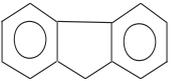
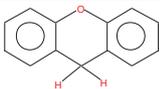
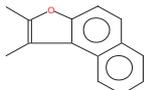
En noir, aux particules issues de l'automate d'aphérèse, en rouge, aux particules issues du plasma n°1, et en vert, des particules issues du joint noir

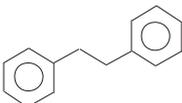
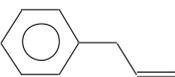
4- Pyrogrammes à 900°C

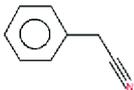
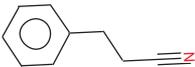
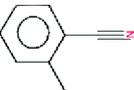
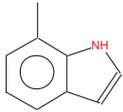
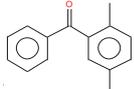
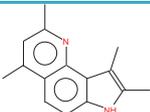


En noir, aux particules issues de l'automate d'aphérèse, en rouge, aux particules issues du plasma n°1, et en vert, des particules issues du joint noir

ANNEXE 2 : Liste de composés identifiés dans les pyrogrammes à 700°C

m/z measured	Calculated Formula	Structure	Name
94,0422	C ₆ H ₆ O		Phénol
108.0571	C ₇ H ₈ O		Phénol,3-méthyl
107,0500	C ₇ H ₈ O		p-Crésol
122,0722	C ₈ H ₁₀ O		Phénol, 2,3-diméthyl- (Xylénol)
122.0744	C ₈ H ₁₀ O		Phénol,2-éthyl
122.0729	C ₈ H ₁₀ O		Phénol, 2,4-diméthyl (Xylénol)
168,0577	C ₁₃ H ₁₂		1,1Biphényl 4méthyl
166,0768	C ₁₃ H ₁₀		Fluorène
182,0718	C ₁₃ H ₁₀ O		9HXanthène
195,0809	C ₁₄ H ₁₀		Naphtha[2,1-b]furan,1,2 diméthyl-

m/z measured	Calculated Formula	Structure	Name
78.0456	C ₆ H ₆		Benzène
91.0535	C ₇ H ₈		Toluène
182.1079	C ₁₄ H ₁₄		Bibenzyl
128.0619	C ₁₀ H ₈		Naphtalène
117.0694	C ₉ H ₁₀		Benzène, 2-propényl

117.0579	C ₈ H ₇ N ₁		Benzyl nitrile
131.0724	C ₉ H ₉ N ₁		Benzenepropanenitrile
117.0579	C ₈ H ₇ N ₁		Benzonitrile, 2-méthyl-
130.0653	C ₉ H ₉ N ₁		1H-Indole, 7-méthyl
209,0964	C ₁₅ H ₁₄ O		2,5 diméthylbenzophénone
224,131349	C ₁₅ H ₁₆ N ₂		7Hpyrrolo[2,3h]quinoline2,4,8,9 tétraméthyl
178,0778	C ₁₄ H ₁₀		Anthracène
192,0931	C ₁₅ H ₁₂		Phénanthrène,2-méthyl

ANNEXE 3 : Comparaison des principaux composés identifiés sur les pyrogrammes (en première approche, à confirmer par une étude plus approfondie)

Tableau 1 : principaux composés identifiés (principaux pics notables) dans les particules issues du plasma n°1

900°C	700°C	500°C	320°C
BENZENE	BENZENE		
TOLUENE	TOLUENE	TOLUENE	
	BENZENE,1,3-DIMETHYL	BENZENE,1,3-DIMETHYL	
STYRENE	STYRENE	STYRENE	
	PHENOL	PHENOL	PHENOL
	P-CRESOL	P-CRESOL	P-CRESOL
	BENZONITRILE	BENZONITRILE	BENZONITRILE
BENZENE,2-PROPENYL	BENZENE,2-PROPENYL		
INDENE	INDENE		
	PHENOL,2-METHYL	PHENOL,2-METHYL	
		BENZOFURAN,2,3-DIHYDRO	
		BENZENEPROPANENITRILE	BENZENEPROPANENITRILE
		INDOLE	INDOLE
		INDOLE,7-METHYL	
	METHYLSTYRENE		
	NAPHTHALENE,1,2-DIHYDRO		
NAPHTHALENE	NAPHTHALENE		
NAPHTHALENE,2-METHYL	NAPHTHALENE,2-METHYL		
ACENAPHTHYLENE	ACENAPHTHYLENE		
FLUORENE	FLUORENE		
PHENANTHRENE	PHENANTHRENE		
CHOLESTE.....	CHOLESTE.....	CHOLESTE.....	CHOLESTE.....
			?? GLYCINE,N-(N-GLYCYL-L-LEUCYL)
			?? PYRROLO[1,2-A]PYRAZINE-1,4-DIONE,
			HEXAHYDRO-3-(PHENYLMETHYL)
			?? SQUALENE
			?? ...ANOIC ACID

Tableau 2 : principaux composés identifiés (principaux pics notables) dans les particules issues de l'automate d'aphérèse

900°C	700°C	500°C	320°C
BENZENE	BENZENE		
TOLUENE	TOLUENE	TOLUENE	
BENZENE,1,3-DIMETHYL	BENZENE,1,3-DIMETHYL	BENZENE,1,3-DIMETHYL	
PHENYLETHYNE			
STYRENE	STYRENE	STYRENE	
BENZONITRIL			
	PHENOL	PHENOL	PHENOL
	P-CRESOL	P-CRESOL	P-CRESOL
BENZYLNITRILE	BENZYLNITRILE	BENZYLNITRILE	
BENZENE,2-PROPENYL	BENZENE,2-PROPENYL		
INDENE	INDENE		
	PHENOL,2-METHYL		
	BENZENEPROPANENITRILE	BENZENEPROPANENITRILE	
INDOLE	INDOLE	INDOLE	
		INDOLE,7-METHYL	
NAPHTHALENE	NAPHTHALENE		
NAPHTHALENE,2-METHYL	NAPHTHALENE,2-METHYL	MESYTYLENE	
ACENAPHTHYLENE			
NAPHTHALENE,1-ISOCYANO			
FLUORENE			
PHENANTHRENE			
CHOLESTE.....	CHOLESTE.....	CHOLESTE.....	CHOLESTE.....

En rouge, composés identiques à ceux présents dans les particules issues du plasma n°1

En bleu, composés supplémentaires

Tableau 3 : principaux composés identifiés (principaux pics notables) dans les particules issues du joint noir

900°C	700°C	500°C	320°C
BENZENE	BENZENE		
TOLUENE	TOLUENE		
BENZENE,1,3-DIMETHYL	BENZENE,1,3-DIMETHYL		
	TRIMETHYLBENZENE		
BENZOFURAN	BENZOFURAN		
STYRENE	STYRENE		
BENZONITRIL			
PHENOL	PHENOL	PHENOL	PHENOL
CRESOL	CRESOL	CRESOL	P-CRESOL
XYLENOL	XYLENOL	XYLENOL	XYLENOL
TRIMETHYLPHENOL	TRIMETHYLPHENOL	TRIMETHYLPHENOL	TRIMETHYLPHENOL
			PYRIDIN,2ETHYL-3,5-DIMETHYL
NAPHTHALENE	NAPHTHALENE		
NAPHTHALENE,2-METHYL	NAPHTHALENE,2-METHYL		
BIPHENYL	BIPHENYL		
BIPHENYL METHYL	BIPHENYL METHYL		
ACENAPHTHYLENE	ACENAPHTHYLENE		
DIBENZOFURAN			
FLUORENE	FLUORENE		
9h-XANTHENE	9h-XANTHENE	9h-XANTHENE	
METHANE DITOTYL	xanthene-9,9-dimetyl		
9HFLUORENE,2METHYL			
NAPHTHO[2,1]FURAN,1,2-DIMETHYL	NAPHTHO[2,1]FURAN,1,2-DIMETHYL	NAPHTHO[2,1]FURAN,1,2-DIMETHYL	
ANTHRACENE	ANTHRACENE		
DIMETHYLBENZOPHENONE	DIMETHYLBENZOPHENONE	DIMETHYLBENZOPHENONE	
XANTHONE			
ANTHRACENE METHYL	ANTHRACENE METHYL		
7H-PYRROLO[2,3-H]QUINOLINE,2,7-DIMETHYL	7H-PYRROLO[2,3-H]QUINOLINE,2,4,8,9TETRAMETHYL		
FLUORANTHENE			
	PHENANTHRENE METHYL		
		ALCANES ET ALCENES	
		NITRILE(---DECANE)	NITRILE(---DECANE)

En rouge, composés identiques à ceux présents dans les particules issues du plasma n°1

En bleu, composés supplémentaires