



**HAL**  
open science

# Signature olfactive de pathologies : éducation de chiens d'assistance et avenir des nez bioélectroniques dans le diagnostic médical

Héloïse Jarlaud

► **To cite this version:**

Héloïse Jarlaud. Signature olfactive de pathologies : éducation de chiens d'assistance et avenir des nez bioélectroniques dans le diagnostic médical. Sciences pharmaceutiques. 2022. hal-04042770

**HAL Id: hal-04042770**

**<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-04042770>**

Submitted on 23 Mar 2023

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



**UNIVERSITÉ  
DE LORRAINE**

**BIBLIOTHÈQUES  
UNIVERSITAIRES**

## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact bibliothèque : [ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr)  
(Cette adresse ne permet pas de contacter les auteurs)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



UNIVERSITÉ  
DE LORRAINE



FACULTÉ  
DE PHARMACIE

UNIVERSITE DE LORRAINE  
2022

---

**FACULTE DE PHARMACIE**

**THESE**

Présentée et soutenue publiquement

le 8 septembre 2022, sur un sujet dédié à :

**SIGNATURE OLFACTIVE DE PATHOLOGIES :  
EDUCATION DE CHIENS D'ASSISTANCE ET AVENIR DES  
NEZ BIOELECTRONIQUES DANS LE DIAGNOSTIC  
MEDICAL**

pour obtenir

**le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie**

par Héloïse JARLAUD

née le 27 mai 1995

**Membres du Jury**

Président : Mme Béatrice FAIVRE, Professeur des Universités

Juges :

Mme Sandrine CAPIZZI, Maître de conférences

M. Guillaume SAUTREY, Maître de conférences

M. Loïc VAUGIER, Docteur en pharmacie

# SERMENT DE GALIEN

**En présence des Maitres de la Faculté, je fais le serment :**

**D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances**

**D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;**

**De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité**

**En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.**

**De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession**

**De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens**

**De coopérer avec les autres professionnels de santé**

**Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.**

**Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.**

Version validée par la conférence des Doyens de facultés de Pharmacie le 7 février 2018

« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE  
APPROBATION, NI IMPROBATION AUX  
OPINIONS EMISES DANS LES THESES, CES  
OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES  
COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

**UNIVERSITÉ DE LORRAINE**  
**FACULTÉ DE PHARMACIE**  
**Année universitaire 2021-2022**

***DOYEN***

Raphaël DUVAL

***Vice-Doyen***

Julien PERRIN

***Directrice des études***

Marie SOCHA

***Conseil de la Pédagogie***

Président, Luc FERRARI

Vice-Présidente - vacant

***Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier***

Présidente, Béatrice DEMORE

***Commission Prospective Facultaire***

Président, Igor CLAROT

Vice-Président, Raphaël DUVAL

***Commission de la Recherche***

Présidente, Caroline GAUCHER

***Chargés de Mission***

Aline BONTEMPS

Alexandrine LAMBERT

Virginie PICHON

Marie-Paule SAUDER

Arnaud PALLOTTA

***Communication***

***Innovation pédagogique***

***Référente ADE***

***Référente dotation sur projet (DSP)***

***Référent vie associative***

***Responsabilités***

Caroline PERRIN-SARRADO

Julien GRAVOULET

Isabelle LARTAUD,

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Béatrice DEMORE

Marie SOCHA

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Xavier BELLANGER

Igor CLAROT

Luc FERRARI

François DUPUIS

Mihayl VARBANOV

***Filière Officine***

***Filière Industrie***

***Filière Hôpital***

***Pharma Plus ENSIC***

***Pharma Plus ENSAIA***

***Pharma Plus ENSGSI***

***Cellule de Formation Continue et Individuelle***

***Commission d'agrément des maîtres de stage***

***ERASMUS***

***DOYENS HONORAIRES***

Chantal FINANCE

Francine PAULUS

Claude VIGNERON

***PROFESSEURS EMERITES***

Pierre LEROY

Philippe MAINCENT

Claude VIGNERON

***PROFESSEURS HONORAIRES***

Jean-Claude BLOCK

Pierre DIXNEUF

Chantal FINANCE

Marie-Madeleine GALTEAU

***MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES***

Monique ALBERT

Mariette BEAUD

François BONNEAUX

Gérald CATAU

Thérèse GIRARD  
Pierre LABRUDE  
Vincent LOPPINET  
Patrick MENU  
Alain NICOLAS  
Janine SCHWARTZBROD  
Louis SCHWARTZBROD

Jean-Claude CHEVIN  
Jocelyne COLLOMB  
Bernard DANGIEN  
Dominique DECOLIN  
Marie-Claude FUZELLIER  
Françoise HINZELIN  
Marie-Hélène LIVERTOUX  
Bernard MIGNOT  
Blandine MOREAU  
Dominique NOTTER  
Francine PAULUS  
Christine PERDICAKIS  
Marie-France POCHON  
Anne ROVEL  
Gabriel TROCKLE  
Maria WELLMAN-ROUSSEAU  
Colette ZINUTTI

**ASSISTANTS HONORAIRES**

Marie-Catherine BERTHE  
Annie PAVIS

**ENSEIGNANTS**

Section CNU\*

Discipline d'enseignement

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS**

Danièle BENSOUSSAN-LEJZEROWICZ	82	Thérapie cellulaire
Béatrice DEMORE	81	Pharmacie clinique
Alexandre HARLE	82	Biologie cellulaire oncologique
Jean-Louis MERLIN	82	Biologie cellulaire
Jean-Michel SIMON	81	Economie de la santé, Législation pharmaceutique
Nathalie THILLY	81	Santé publique et Epidémiologie

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES**

Ariane BOUDIER	85	Chimie Physique
Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	86	Pharmacologie
Igor CLAROT	85	Chimie analytique
Joël DUCOURNEAU	85	Biophysique, Acoustique, Audioprothèse
Raphaël DUVAL	87	Microbiologie clinique
Béatrice FAIVRE	87	Hématologie, Biologie cellulaire
Luc FERRARI	86	Toxicologie
Pascale FRIANT-MICHEL	85	Mathématiques, Physique
Christophe GANTZER	87	Microbiologie
Frédéric JORAND	87	Eau, Santé, Environnement
Isabelle LARTAUD	86	Pharmacologie
Dominique LAURAIN-MATTAR	86	Pharmacognosie
Brigitte LEININGER-MULLER	87	Biochimie
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS	86	Chimie thérapeutique
Anne SAPIN-MINET	85	Pharmacie galénique
Bertrand RIHN	87	Biochimie, Biologie moléculaire

**MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS**

Caroline LAROYE	82	Biothérapie
Julien PERRIN	82	Hématologie biologique
Loïc REPPPEL	82	Biothérapie
Marie SOCHA	81	Pharmacie clinique, thérapeutique et biotechnique

**MAITRES DE CONFÉRENCES**

Xavier BELLANGER <sup>H</sup>	87	<i>Parasitologie, Mycologie médicale</i>
Emmanuelle BENOIT <sup>H</sup>	86	<i>Communication et Santé</i>
Isabelle BERTRAND <sup>H</sup>	87	<i>Microbiologie</i>
Michel BOISBRUN <sup>H</sup>	86	<i>Chimie thérapeutique</i>
Cédric BOURA <sup>H</sup>	86	<i>Physiologie</i>
Sandrine CAPIZZI	87	<i>Parasitologie</i>
Antoine CAROF	85	<i>Informatique</i>
Frédérique CHANGEY	87	<i>Microbiologie</i>
Sébastien DADE	85	<i>Bio-informatique</i>
Natacha DREUMONT <sup>H</sup>	87	<i>Biochimie générale, Biochimie clinique</i>
Florence DUMARCAY <sup>H</sup>	86	<i>Chimie thérapeutique</i>
François DUPUIS <sup>H</sup>	86	<i>Pharmacologie</i>
Reine EL OMAR	86	<i>Physiologie</i>
Adil FAIZ	85	<i>Biophysique, Acoustique</i>
Anthony GANDIN	87	<i>Mycologie, Botanique</i>
Caroline GAUCHER <sup>H</sup>	86	<i>Chimie physique, Pharmacologie</i>
Stéphane GIBAUD <sup>H</sup>	86	<i>Pharmacie clinique</i>
Jérémy GOUYON	85	<i>Chimie analytique</i>
Thierry HUMBERT	86	<i>Chimie organique</i>
Olivier JOUBERT <sup>H</sup>	86	<i>Toxicologie, Sécurité sanitaire</i>
Alexandrine LAMBERT	85	<i>Informatique, Biostatistiques</i>
Julie LEONHARD <sup>H</sup>	86/01	<i>Droit en Santé</i>
Balbine MAILLOU	85	<i>Biophysique, Acoustique, Audioprothèse</i>
Christophe MERLIN <sup>H</sup>	87	<i>Microbiologie environnementale</i>
Maxime MOURER <sup>H</sup>	86	<i>Chimie organique</i>
Coumba NDIAYE	86	<i>Epidémiologie et Santé publique</i>
Arnaud PALLOTTA	85	<i>Bioanalyse du médicament</i>
Marianne PARENT	85	<i>Pharmacie galénique</i>
Caroline PERRIN-SARRADO	86	<i>Pharmacologie</i>
Virginie PICHON	85	<i>Biophysique</i>
Sophie PINEL <sup>H</sup>	85	<i>Informatique en Santé (e-santé)</i>
Marie-Paule SAUDER	87	<i>Mycologie, Botanique</i>
Guillaume SAUTREY	85	<i>Chimie analytique</i>
Rosella SPINA	86	<i>Pharmacognosie</i>
Sabrina TOUCHET	86	<i>Pharmacochimie</i>
Mihayl VARBANOV	87	<i>Immuno-Virologie</i>
Marie-Noëlle VAULTIER <sup>H</sup>	87	<i>Mycologie, Botanique</i>
Emilie VELOT <sup>H</sup>	86	<i>Physiologie-Physiopathologie humaines</i>
Mohamed ZAIYOU <sup>H</sup>	87	<i>Biochimie et Biologie moléculaire</i>

**PROFESSEUR ASSOCIE**

Julien GRAVOULET	86	<i>Pharmacie clinique</i>
------------------	----	---------------------------

**MAITRE DE CONFÉRENCE ASSOCIE**

Pauline GILSON	82	<i>Biologie cellulaire oncologique</i>
----------------	----	--

**PROFESSEUR AGREGÉ**

Christophe COCHAUD	11	<i>Anglais</i>
--------------------	----	----------------



<sup>H</sup> Maître de conférences titulaire HDR

\* Disciplines du Conseil National des Universités :

*80 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé*

*81 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé*

*82 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques*

*85 ; Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé*

*86 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé*

*87 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques*

*11 : Professeur agrégé de lettres et sciences humaines en langues et littératures anglaises et anglo-saxonnes*

## **Remerciements**

**A Madame Béatrice Faivre**, Présidente du jury et co-directrice de ma thèse,  
Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter avec intérêt la présidence de ce jury de thèse,  
Hommages respectueux.

**A Madame Sandrine Capizzi**, Directrice de thèse,  
Pour m'avoir accompagnée lors de la réalisation de ce travail,  
Hommages respectueux.

**A Monsieur Guillaume Sautrey**, Membre du jury,  
Pour avoir accepté avec enthousiasme de faire partie de mon jury de thèse,  
Sincères remerciements.

**A Monsieur Loïc Vaugier**, Membre du jury,  
Avec qui j'ai le plaisir de travailler chaque jour,  
Pour avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse,  
Pour ta bienveillance et ta gentillesse. Un grand merci.

### **A mes parents,**

Pour votre amour et votre soutien sans faille tout au long de ces années, sans qui rien n'aurait été possible. Je vous aime.

### **A ma petite sœur Bénédicte,**

Pour ton amour, ton soutien et pour cette complicité unique qui nous unit depuis toujours. Je t'aime.

### **A mon copain Théo,**

Pour être entré dans ma vie, pour ton amour, ton soutien, ta patience, ton écoute. Pour notre complicité qui ne cesse de croître chaque jour. Je t'aime.

### **A toute ma famille** qui compte énormément pour moi,

A mes grands-parents, Mémé, Mamily, Papily, à mes tatas, Claude et Françoise,  
Pour avoir toujours cru en moi et toujours soutenu. Je vous aime.

### **A mes amis,**

Pour votre précieuse présence à mes côtés, dans les très bons et les moins bons moments.

A Charlotte, à cette rencontre en 5<sup>ème</sup> année, pour avoir toujours été là depuis,

A Fabiola et à JJ, à toutes ces années d'études passées ensemble, à tous ces souvenirs,

A Théophile, Rébecca et à tous les autres grâce à qui je garderai des souvenirs inoubliables de ces études. Pour tous ces bons moments qui j'espère seront encore nombreux.

A mes amis du lycée, tout particulièrement à Silvère, Nicolas et Anne-Sarah (ma Grosse), qui même avec la distance, restent toujours dans mon cœur et que je suis toujours heureuse de revoir.

### **A mes chiens**, sans qui je n'aurais pas eu l'idée de cette thèse.

A Atouk, que j'ai tellement aimé et qui restera toujours dans mon cœur,

A Mouski, pour ta gentillesse et pour toute ta tendresse,

A Smoby, à tout l'amour que tu m'apportes chaque jour, ta joie de vivre et tes câlins.

## **Table des matières**

Introduction .....	1
1. Pathologies produisant des composés organiques volatils .....	4
1.1 Définition de composé organique volatil .....	4
1.1.1 Les caractéristiques physiques et propriétés des composés organiques volatils ..	4
1.1.2 Les grandes familles de composés organiques volatils .....	5
1.1.3 Analyse des composés organiques volatils entrant dans la composition de l'air expiré et des différents fluides corporels.....	5
1.1.3.1 COV contenus dans l'air expiré .....	6
1.1.3.2 COV présents dans la sueur .....	9
1.1.3.3 COV présents dans le sang .....	10
1.1.3.4 COV présents dans la salive .....	10
1.1.3.5 COV présents dans les urines et les selles .....	11
1.2 Origine de la formation des composés organiques volatils dans l'organisme .....	12
1.2.1 Production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et stress oxydant conduisant à la formation de COV .....	12
1.2.1.1 Production de ERO par les mitochondries .....	12
1.2.1.2 Autres producteurs d'ERO dans l'organisme .....	14
1.2.1.3 Systèmes antioxydants luttant contre la production de ERO.....	15
1.2.1.4 Stress oxydant, apparition de pathologies et formation de COV.....	16
1.2.2 Voies de synthèse de production de composés organiques volatils .....	18
1.2.2.1 Peroxydation lipidique .....	18
1.2.2.2 Altération de l'ADN et oxydation des protéines.....	18
1.2.2.3 Autres voies de formation de COV.....	19
a. La cétogenèse .....	19
b. Le métabolisme de l'acide mévalonique .....	20
c. Le métabolisme des alcools.....	20
d. Le métabolisme bactérien .....	20
1.3 Pathologies humaines et production de composés organiques volatils identifiés comme biomarqueurs de ces pathologies.....	21
1.3.1 Les cancers .....	21
1.3.1.1 Cancer du poumon .....	21
1.3.1.2 Cancer du sein.....	24
1.3.1.3 Cancer de la peau .....	26
1.3.1.4 Cancer des ovaires .....	26
1.3.1.5 Cancer de la prostate.....	27
1.3.1.6 Cancer colorectal .....	27

1.3.2	Le diabète .....	28
1.3.3	L'épilepsie .....	31
1.3.4	Les pathologies infectieuses .....	33
1.3.4.1	Pathologie virale : La COVID-19 .....	34
1.3.4.2	Pathologies bactériennes .....	35
a.	Infections respiratoires .....	35
b.	Pathologies gastro-intestinales .....	37
c.	Infections des voies urinaires .....	39
1.3.4.3	Les maladies parasitaires : le paludisme .....	40
1.3.5	Les pathologies à l'origine d'inflammations chroniques .....	41
2	Education de chiens à la reconnaissance de la signature olfactive d'une pathologie .....	43
2.1	Anatomie et fonctionnement de l'appareil olfactif du chien .....	43
2.1.1	Le nez externe .....	43
2.1.2	Les os et cartilages .....	44
2.1.3	Les muscles .....	45
2.1.4	Les nerfs impliqués dans l'olfaction .....	46
2.1.5	Les cavités nasales, méats, sinus paranasaux et muqueuse olfactive .....	46
2.1.6	L'épithélium olfactif et les cellules réceptrices olfactives .....	48
2.1.7	La partie olfactive du cerveau chez le chien .....	49
2.1.8	Le système olfactif accessoire chez le chien .....	49
2.1.8.1	L'organe voméro-nasal .....	50
2.1.8.2	L'organe septal de Masera .....	50
2.1.8.3	Le ganglion de Grueneberg .....	51
2.2	Capacités olfactives de la truffe du chien .....	51
2.2.1	Les flux d'air dans la narine du chien .....	51
2.2.2	La perception olfactive du chien .....	52
2.2.3	La mémoire olfactive du chien .....	53
2.2.4	Les facteurs influençant les performances olfactives du chien .....	54
2.2.4.1	La race du chien .....	54
a.	Les différences morphologiques et physiologiques du nez selon les races .....	54
b.	Les différences comportementales .....	55
2.2.4.2	L'âge du chien .....	56
2.2.4.3	Le sexe .....	57
2.2.4.4	Le régime alimentaire et l'exercice physique .....	57
2.2.4.5	L'état de santé du chien .....	58
2.2.4.6	Les conditions environnementales .....	59
2.2.4.7	Les substances chimiques et les médicaments .....	60

2.3	Les chiens d'assistance et de détection médicale, capables de détecter des COV ...	61
2.3.1	Les chiens d'assistance renifleurs d'hypoglycémie .....	61
2.3.2	Les chiens d'assistance pour personnes épileptiques .....	63
2.3.3	Les chiens détecteurs de cancers .....	65
2.3.3.1	Chiens renifleurs du cancer du sein .....	65
2.3.3.2	Chiens renifleurs du cancer des poumons.....	66
2.3.3.3	Chiens détecteurs du cancer de la peau.....	67
2.3.3.4	Chiens détecteurs du cancer des ovaires .....	67
2.3.3.5	Chiens détecteurs du cancer de la prostate .....	68
2.3.4	Les chiens dans le diagnostic de maladies infectieuses .....	69
2.3.4.1	Maladies bactériennes .....	70
a.	Infection à Clostridium difficile .....	70
b.	Infection à Staphylococcus aureus .....	72
c.	Détection d'infections des voies urinaires par les chiens .....	72
2.3.4.2	Maladies virales : des chiens détecteurs de l'infection par le SARS-Cov-2 73	
2.3.4.3	Maladies parasitaires : études sur les chiens détecteurs du paludisme .....	75
2.4	Education de chiens d'assistance pour personnes épileptiques et diabétiques.....	77
2.4.1	Organismes de formation dans le monde .....	77
2.4.2	Associations de formation de chiens d'assistance en France .....	78
2.4.2.1	L'association ACADIA pour personnes diabétiques .....	79
2.4.2.2	Les associations HANDI'CHIENS et ESCAPE pour personnes épileptiques 80	
2.5	Avantages et limites .....	84
2.5.1	Avantages à l'utilisation des capacités olfactives du chien dans le domaine médical 84	
2.5.1.1	Le coût .....	84
2.5.1.2	Le caractère non invasif de cette méthode de dépistage .....	84
2.5.1.3	Une méthode de diagnostic précoce .....	85
2.5.1.4	Une méthode de diagnostic rapide .....	85
2.5.1.5	Un diagnostic simple d'interprétation.....	85
2.5.1.6	Une méthode accessible .....	86
2.5.1.7	Une méthode de diagnostic fiable.....	86
2.5.1.8	Aspect psychologique des chiens d'assistance .....	86
2.5.2	Limites et inconvénients à l'utilisation des capacités olfactives du chien dans le domaine médical .....	86
3	Avenir des nez (bio)électroniques dans le diagnostic médical .....	89
3.1	Les nez électroniques et bioélectroniques .....	89

3.1.1	Les nez électroniques .....	89
3.1.1.1	Principes de fonctionnement des nez électroniques.....	89
3.1.1.2	Les capteurs chimiques .....	92
3.1.2	Les nez bioélectroniques .....	93
3.1.2.1	Principes de fonctionnement des nez bioélectroniques et récepteurs olfactifs 94	
3.1.2.2	Les biocapteurs et stratégies de production des récepteurs olfactifs .....	96
a.	Production de RO à partir de cellules de mammifères .....	96
b.	Production de RO à partir de bactéries .....	97
c.	Production de RO à partir de levures.....	97
d.	Production de RO à partir de virus infectant des cellules d'insectes.....	98
3.1.2.3	Partie non biologique des capteurs des nez bioélectroniques, le transducteur 99	
a.	Nanotubes de carbone et nanotubes en polymères conducteurs.....	99
b.	Microbalance à surface de quartz .....	100
c.	Résonance plasmonique de surface .....	101
d.	Graphène.....	101
3.1.3	Comparaison entre nez électronique, nez bioélectronique et nez naturel .....	103
3.2	Nez (bio)électroniques existants .....	104
3.2.1	Les nez électroniques Alpha-MOS .....	104
3.2.2	Le nez électronique Cyranose 320 .....	105
3.2.3	Le nez électronique AeoNose .....	106
3.2.4	Le nez électronique SniffPhone .....	106
3.2.5	Le nez bioélectronique NeOse Advance d'Aryballe.....	107
3.3	Pathologies détectables par les nez électroniques et bioélectroniques.....	108
3.3.1	Les cancers .....	108
3.3.2	Le diabète .....	110
3.3.3	L'épilepsie.....	111
3.3.4	Pathologie virale : la Covid-19.....	112
3.3.5	Les pathologies infectieuses bactériennes.....	113
3.3.5.1	Infections respiratoires (la tuberculose et infection à <i>pseudomonas aeruginosa</i> ).....	113
3.3.5.2	Infections urinaires.....	114
3.3.6	Les pathologies d'origine inflammatoire .....	114
3.3.6.1	Asthme .....	114
3.3.6.2	BPCO .....	116
3.3.6.3	Maladies du tractus gastro-intestinal .....	116
3.4	Avantages et limites liés à l'utilisation des nez (bio)électroniques .....	118

3.4.1	Avantages .....	118
3.4.1.1	Le caractère non invasif de cette méthode de dépistage .....	118
3.4.1.2	Une méthode de diagnostic rapide .....	118
3.4.1.3	Des résultats simples à interpréter .....	119
3.4.1.4	Une méthode accessible en ambulatoire .....	119
3.4.1.5	Une méthode de diagnostic fiable .....	119
3.4.1.6	Les avantages que ne possèdent pas la méthode de diagnostic à l'aide de chiens	119
3.4.2	Limites.....	119
3.4.2.1	Le manque de répétabilité .....	120
3.4.2.2	L'humidité.....	120
3.4.2.3	Les limites spécifiquement liées à l'utilisation des nez électroniques.....	120
a.	Impossibilité d'analyse des biomarqueurs spécifiques.....	120
b.	Nécessité d'un étalonnage fréquent des capteurs de gaz .....	120
3.4.2.4	Les limites spécifiquement liées à l'utilisation des nez bioélectroniques.	121
a.	Nécessité de connaître les biomarqueurs spécifiques de la pathologie pour leur conception .....	121
b.	Durée de conservation des biocapteurs .....	121
	Conclusion.....	122

## **Liste des abréviations :**

- ACP : Analyse en Composante Principale
- AMPc : Adénosine Monophosphate Cyclique
- ASC : Aire Sous la Courbe
- ATP : Adénosine-Triphosphate
- AUC : Area Under the Curve
- BEVS : Baculovirus Expression Vector System
- BPCO : Bronchopneumopathie Chronique Obstructive
- CCIS : Carcinome Canalaire In Situ
- COV : Composé(s) Organique(s) Volatil(s)
- CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse
- CPG-SM : Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse
- CRO : Cellules Réceptrices Olfactives
- DNA-CNT : DesoxyriboNucleic Acid - Carbon Nanotube
- DRO(s) : Dérivé(s) Réactif(s) de l'Oxygène
- ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène
- FAIMS : Field-Asymmetric Ion Mobility Spectrometer
- ICD : Infection à Clostridium Difficile
- IU : Infections Urinaires
- IVU : Infections des Voies Urinaires
- LPO : Peroxydation Lipidique
- LSS : Laurylsulfate de Sodium
- MC : Maladie de Crohn
- MICI : Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin
- NRO : Neurones Récepteurs Olfactifs
- PPBV : Partie Par Billion en Volume
- PPMV : Partie Par Million en Volume
- PPTV : Partie Par Trillion en Volume
- RCH : Rectocolite Hémorragique
- RO : Récepteurs Olfactifs
- ROC : Receiver Operator Characteristic
- ROS : Reactive Oxygen Species
- SARM : Staphylococcus Aureus Résistantes à la Méricilline
- SCC mec : Staphylococcique Cassette Chromosome mec
- SIFT-MS : Spectrométrie de Masse par Flux d'Ions Sélectionnés
- SM : Spectrométrie de Masse



## Liste des illustrations

<b>Figure 1: L'origine de la production des ROS au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale [22]</b> .....	13
<b>Figure 2 : Les quatre étapes de la réduction du dioxygène et formation d'intermédiaires (23)</b> .....	14
<b>Figure 3: Balance entre les systèmes antioxydants et pro-oxydants [26]</b> .....	16
<b>Figure 4: Stress oxydant et ses conséquences [28]</b> .....	17
<b>Figure 5: Abondance (en % par rapport à l'ensemble des COV présents dans l'haleine) des 33 COV retrouvés dans l'haleine de personnes saines et atteintes du cancer des poumons mis en évidence par l'étude de Peng et al.[39]</b> .....	23
<b>Figure 6: Narines et truffe du chien [86]</b> .....	44
<b>Figure 7: Dermatoglyphes de la truffe du chien (photo personnelle)</b> .....	44
<b>Figure 8 : Schéma de la vue latérale des cartilages nasaux du chien [85]</b> .....	45
<b>Figure 9: Schéma de l'épithélium olfactif (89)</b> .....	47
<b>Figure 10 : Schéma en coupe sagittale des cornets et des méats nasaux chez le chien [87]</b> .....	48
<b>Figure 11: Trajet des flux d'air dans les narines du chien [97]</b> .....	52
<b>Figure 12: Logo de l'association ACADIA [156]</b> .....	79
<b>Figure 13: Logo de l'association HANDI'CHIENS [157]</b> .....	81
<b>Figure 14:Chien d'assistance pour personne épileptique en formation [157]</b> .....	81
<b>Figure 15: Photos de chiens d'assistance (labrador retriever, golden retriever, caniche royal et labradoodle de gauche à droite) de l'association ACADIA [156]</b> .....	82
<b>Figure 16: Schéma du principe de fonctionnement d'un nez électronique [166]</b> .....	90
<b>Figure 17: Schéma de principe de fonctionnement d'un capteur chimique (167)</b> .....	91
<b>Figure 18: Deux méthodes différentes de traitement des données des nez électroniques ([166])</b> .....	92
<b>Figure 19: Schéma du code combinatoire entre récepteurs olfactifs et odorants [163]</b> ... 95	
<b>Figure 20: Principe de fonctionnement d'un transducteur fabriqué à base de nanotube [184]</b> .....	99
<b>Figure 21: Principe de fonctionnement du système de mesure de microbalance à surface de quartz [186]</b> .....	100
<b>Figure 22: Schéma du principe de fonctionnement de la résonance plasmonique de surface [188]</b> .....	101
<b>Figure 23: Schéma du principe de fabrication d'un capteur à base de graphène) [189]</b> 102	
<b>Figure 24: Nez électronique Alpha-MOS Fox [192]</b> .....	105
<b>Figure 25: Nez électronique Cyranose 320 [193]</b> .....	105
<b>Figure 26: nez électronique AeoNose [194]</b> .....	106
<b>Figure 27: Nez électronique SniffPhone [195]</b> .....	107
<b>Figure 28: Nez bioélectronique NeOse ([196]</b> .....	108
<b>Figure 29: Signature moléculaire de patients sains (carrés vert), et de patients atteints de cancer du sein (points orange) obtenus par ACP à partir de 3 composantes principales PC1, PC2 et PC3 chacune exprimée en proportion de variance en %[43]</b> .....	110
<b>Figure 30: Graphiques ACP bidimensionnels discriminant les patients asthmatiques légers (losange rouge) des témoins jeunes (carré bleu), les personnes asthmatiques sévères (triangle rouge) des témoins plus âgés (rond bleu), des patients asthmatiques légers et sévères et des témoins jeunes et plus âgés à l'aide de deux composantes principales (factor 1 et factor 2) [209]</b> .....	115
<b>Figure 31: Résultats obtenues par analyse en composantes principales avec le nez électronique Fox 4000 [210]</b> .....	117

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 : Composés Organiques Volatils endogènes détectés dans l'air expiré, leurs origines présumées et leurs plages de concentration (6)</b> .....	7
<b>Tableau 2: 11 COV sélectionnés pour la prédiction du diagnostic du cancer de la prostate (48)</b> .....	27
<b>Tableau 3: COV retrouvés en concentration significativement plus élevée chez les patients atteints de la COVID-19 dans trois études différentes (62)</b> .....	35
<b>Tableau 4: Principaux COV produits par les bactéries responsables des infections urinaires (79)</b> .....	40
<b>Tableau 5: Capacités olfactives de différentes races de chien (91)</b> .....	54
<b>Tableau 6: Synthèse d'études analysant la capacité des chiens à alerter leur propriétaire d'une crise d'hypoglycémie (122)</b> .....	62
<b>Tableau 7: Synthèse d'études analysant la capacité des chiens à détecter les infections à Clostridium difficile</b> .....	71
<b>Tableau 8: Tableau récapitulatif des caractéristiques des principales associations éduquant des chiens d'assistance pour personnes épileptiques et diabétiques aux Etats-Unis, au Royaume-Uni et en France</b> .....	83
<b>Tableau 9: Principales familles de capteurs de gaz et leurs caractéristiques [165]</b> .....	93
<b>Tableau 10: Comparaison de la structure et du principe de fonctionnement du nez électronique, bioélectronique et du nez animal (179)</b> .....	103

## Introduction

Le **diagnostic des pathologies par l'odeur** est un domaine de recherche en pleine expansion depuis une dizaine d'années. Cependant les Hommes se sont intéressés à la corrélation entre les pathologies et les odeurs y étant associées **dès l'Antiquité**. Par exemple, le diagnostic du diabète a reposé durant des siècles, sur l'odeur de pomme que dégage l'haleine des malades, ainsi que sur l'odeur sucrée de leurs urines. Aujourd'hui ce phénomène a été attribué à l'acétone, l'un des composés organiques volatils (COV) marqueur du diabète. C'est à partir des **années 1970** que les **études sur la signature olfactive des pathologies** se sont multipliées à l'aide de l'analyse de l'air expiré et des fluides corporels des patients par chromatographie en phase gazeuse.

Le **diagnostic à un stade précoce** de pathologies et notamment des cancers, permet de considérablement **augmenter les chances de guérison** du patient. De ce fait, les systèmes de santé, dont celui de la France, organisent régulièrement des **campagnes de dépistage** comme pour le cancer du sein, le cancer colorectal, le cancer de la prostate ou le cancer du col de l'utérus par exemple. Pour les pathologies infectieuses, les **dépistages de masse** permettent de limiter la propagation de l'infection, de traiter les personnes malades et contagieuses, et à terme de réduire le nombre de contaminés jusqu'à une possible éradication de la maladie. D'autre part, concernant les **pathologies chroniques** telles que l'épilepsie et le diabète, le diagnostic et le **suivi des patients** au quotidien est un enjeu primordial afin d'améliorer leur qualité de vie et de limiter les risques d'accidents liés aux crises d'épilepsies ou d'hypoglycémies pour les diabétiques.

Effectuer un diagnostic précoce des pathologies est donc un enjeu de santé publique primordial. Il existe d'ores et déjà des **méthodes de diagnostic** : techniques d'imagerie médicale (radiographie, scanner, IRM, etc.) et de prélèvements (prises de sang, biopsies, coproculture, etc.), qu'il est généralement nécessaire de coupler. Ces méthodes sont toutefois **contraignantes, invasives** pour la plupart, parfois **douloureuses**. Les **délais** nécessaires à l'obtention des résultats sont **longs**, ils peuvent prendre parfois plusieurs semaines et peuvent manquer de fiabilité.

D'autre part, les patients diabétiques peuvent aujourd'hui **suivre leur taux de glycémie** tout au long de la journée à l'aide de lecteurs de glycémie ou d'un capteur Freestyle libre. Les piqûres peuvent cependant entraîner des **pertes de sensibilité** au bout des doigts, des callosités de la

peau et des douleurs. Les capteurs peuvent quant à eux se décoller ou provoquer des **réactions cutanées**. Ces méthodes sont également **mal tolérées** par les jeunes enfants, et ces derniers ne sont pas encore capables de détecter les symptômes associés à une **crise d'hypoglycémie**, surtout la **nuît**, qui peuvent entraîner un coma ou des convulsions, ce qui peut avoir de graves conséquences sur la santé de l'enfant.

Enfin, les **patients épileptiques** sont quant à eux susceptibles d'être victimes d'une **crise** d'épilepsie de façon **imprévisible**, pouvant alors les mettre en danger en cas de chute notamment. Aucun moyen ou dispositif à leur disposition n'existaient jusqu'alors.

Dans ce contexte, les **recherches** sur le développement de **nouvelles méthodes de diagnostic et d'accompagnement** des patients dans leurs maladies se sont multipliées ces dernières années. L'idée est **d'exploiter les signatures olfactives des pathologies** dans le but de diagnostiquer ces dernières en mettant au point des **techniques de diagnostic** fiables, ne possédant pas les inconvénients des méthodes standards déjà existantes et **d'accompagner les patients** dans leurs maladies en améliorant leur qualité de vie.

Les chercheurs se sont tout d'abord aperçus en **1989**, de manière fortuite, de la **capacité des chiens à sentir l'odeur des maladies**. Une patiente a en effet consulté un dermatologue après avoir remarqué que son chien reniflait régulièrement et avec insistance un grain de beauté au niveau de son mollet qui s'est avéré être un mélanome. Depuis, les recherches sur les chiens renifleurs de pathologies se sont multipliées. L'objectif de ces travaux est de savoir si les chiens possèdent réellement cette capacité à percevoir l'odeur de toutes sortes de pathologies. Si tel était le cas, ils pourraient alors être entraînés à détecter la présence de ces maladies et à devenir des chiens d'assistance de patients atteints de pathologies chroniques comme le diabète et l'épilepsie.

C'est à cette même période, dans les **années 1980** que les **premiers nez électroniques** ont fait leur apparition. L'intérêt recherché de ces appareils est de **diagnostiquer par l'odeur, de façon non invasive, non douloureuse, rapide et en ambulatoire** diverses pathologies.

**L'objectif de cette thèse** est de dresser un état des lieux des connaissances scientifiques actuelles au sujet des **signatures olfactives des pathologies**, de mettre en évidence le potentiel de l'odorat des chiens **éduqués** dans les domaines du diagnostic médical et de l'accompagnement des patients en tant que **chiens d'assistance**, ainsi que de s'intéresser à **l'avenir** des nouvelles technologies permettant le diagnostic par l'analyse des odeurs grâce à

l'utilisation de **nez électroniques et bioélectroniques**. Pour ce faire, cette thèse bibliographique se compose de trois différentes parties.

La première partie intitulée « **Pathologies produisant des composés organiques volatils** » a pour but de définir la notion de composés organiques volatils (COV), à en exposer les différentes voies possibles de formation dans l'organisme humain et à faire un état des lieux des principales pathologies productrices de COV spécifiques.

Dans un second temps, nous traiterons de **l'éducation de chiens à la reconnaissance de la signature olfactive d'une pathologie**. Nous allons nous intéresser à l'anatomie de l'appareil olfactif du chien et à ses capacités olfactives qui lui confèrent cette aptitude à détecter les COV. Nous analyserons les études scientifiques mettant en évidence les capacités du chien à détecter l'odeur de pathologies et à nous en avertir. Nous aborderons le sujet des organismes et associations de formation de chiens d'assistance pour personnes diabétiques et épileptiques existants. Nous verrons que les chiens formés sont alors capables de détecter l'hypoglycémie des patients diabétiques et de prévenir les patients épileptiques d'une crise à venir avant qu'elle ne survienne. Enfin nous exposerons les avantages et les limites liées à l'utilisation de chiens dans le diagnostic médical et comme chien d'assistance.

Ensuite, dans une troisième partie nommée « **L'avenir des nez (bio)électroniques dans le diagnostic médical** », nous allons nous intéresser au principe de fonctionnement et de fabrication des nez électroniques et bioélectroniques. Nous allons parler des pathologies détectables par ces dispositifs. Enfin, nous traiterons des avantages et des limites liées à l'utilisation des nez (bio)électroniques.

# **1. Pathologies produisant des composés organiques volatils**

Nous allons dans cette partie définir ce qu'est un composé organique volatil (COV), établir les grandes familles de COV existantes et analyser les COV rejetés par les différents fluides corporels du corps humain. Nous étudierons ensuite les différentes voies de formation de ces COV. Puis nous parlerons des pathologies humaines reconnues comme étant productrices de COV spécifiques pouvant être utilisés comme biomarqueurs de ces pathologies et être reconnus par un chien d'assistance ou à l'avenir par un nez bioélectronique.

## **1.1 Définition de composé organique volatil**

Le corps humain fabrique naturellement ce que l'on appelle des composés organiques volatils endogènes. Ces composés organiques volatils (COV) humains sont des composés organiques issus du métabolisme cellulaire. La nature de ces COV synthétisés par l'organisme humain peut varier notamment en fonction de l'apparition de certaines pathologies. (1)

### **1.1.1 Les caractéristiques physiques et propriétés des composés organiques volatils**

Un composé organique est une molécule contenant au minimum un élément carbone ainsi qu'un ou plusieurs des éléments suivants : l'hydrogène, l'azote, l'oxygène, les halogènes (fluor, chlore, brome, iode), le phosphore, le silicium.(2)

Les COV sont des composés organiques se caractérisant par leur importante volatilité. La volatilité d'une substance exprime sa capacité à se vaporiser, c'est-à-dire à passer de l'état liquide à l'état gazeux. Les COV ont en effet la particularité d'être volatils à température ambiante. (2) (3)

Les composés organiques volatils sont ensuite classés en fonction de leur pression de vapeur saturante et de leur température d'ébullition. La pression de vapeur saturante est la pression à une température donnée, à laquelle la phase gazeuse d'une substance est en équilibre avec la phase liquide (ou solide), or plus la valeur de la pression de vapeur saturante est élevée plus le composé organique est volatil. Enfin la température d'ébullition est la température à laquelle le passage du composé de l'état liquide à l'état gazeux a lieu. Plus la température d'ébullition d'un COV est faible, plus celui-ci est volatil. (2) (3) Ainsi la directive européenne n°1999/13/CE 1 a donné une définition précise d'un composé organique volatil, c'est « un composé organique

ayant une pression de vapeur de 0,01 kPa (soit 10 Pa) ou plus à une température de 293,15 K (c'est-à-dire 20°C) ou ayant une volatilité correspondante dans les conditions d'utilisation particulières ». (4)

### 1.1.2 Les grandes familles de composés organiques volatils

Les composés organiques volatils peuvent être d'origine naturelle (exogène/biogénique) ou d'origine humaine (endogène/anthropogénique).(2) Il sera question d'étudier par la suite uniquement les composés organiques volatils synthétisés par l'organisme humain et pouvant être utilisés afin de diagnostiquer certaines pathologies ou être utilisé par les chiens d'assistances pour détecter par exemple une crise d'épilepsie avant même qu'elle ne se déclare ou encore un état hypoglycémique chez un diabétique.

Il y a tout d'abord la famille des hydrocarbures, ce sont des molécules organiques constituées de carbone et d'hydrogène : comme les alcanes, alcènes et alcynes qui diffèrent par l'absence ou la présence d'une double ou triple liaison entre deux atomes de carbone, ainsi que les hydrocarbures halogénés qui peuvent être de nature chlorée, fluorée, bromée ou iodée et que les hydrocarbures aromatiques. Les COV peuvent également faire partie de la famille chimique des composés azotés (dérivés aminés et dérivés nitrés), et des composés oxygénés (alcools, aldéhydes, cétones).

Les composés organiques volatils synthétisés par l'organisme humain font donc partie de ces différentes familles chimiques.

### 1.1.3 Analyse des composés organiques volatils entrant dans la composition de l'air expiré et des différents fluides corporels

Dans une étude de Costello *et al.* de 2014 (5), des scientifiques ont listé 1840 COV rejetés par l'organisme. 872 ont été trouvés dans l'haleine, 359 dans la salive ou encore 532 dans les sécrétions cutanées. Les chiffres trouvés peuvent ne pas refléter exactement la réalité des COV présents, ils dépendent des techniques de détection utilisées et des études réalisées à ce jour. Pour exemple il n'existe que peu d'études sur les COV présents dans le sang en comparaison aux études portant sur les COV de l'haleine. Ils ont cependant conclu que seulement 12 de ces composés partageaient l'ensemble des différents fluides corporels

(l'acétaldéhyde, le 2-butanone, le pentanol, le benzène, l'hexanaldéhyde, l'acétone, le benzaldéhyde, l'heptanaldéhyde, le styrène, le 1-butanol, l'octanaldéhyde et le toluène) (5). L'étude des COV présents dans le corps humain d'individus sains aidera par la suite à évaluer ce qui est spécifique de la présence d'une pathologie.

#### 1.1.3.1 COV contenus dans l'air expiré

L'air expiré est un mélange gazeux expulsé des poumons au moment de l'expiration comportant pas moins de 1000 composés différents. (6) En effet c'est un air composé principalement de diazote à 79%, d'oxygène à 16% contre 21% pour l'air inspiré, et enrichi en CO<sub>2</sub> avec une teneur de 4% contre 0,04% pour l'air inspiré. (7) En plus de ces trois gaz, on retrouve de la vapeur d'eau et en petite quantité d'autres gaz comme le monoxyde d'azote, le monoxyde de carbone et l'ammoniac. Sont aussi présents dans l'haleine des composés non volatils, sous forme de particules d'aérosol : des leucotriènes (lipides notamment médiateurs de l'inflammation), des prostaglandines (hormones liposolubles), ou encore des isoprostanes (isomères des prostaglandines et marqueurs du stress oxydant). (6)

L'air expiré contient également de nombreux métabolites à l'état de traces, quantifiés principalement en ppmv (partie par million en volume), en ppbv (partie par billion en volume) ou en pptv (partie par trillion en volume) provenant des voies respiratoires inférieures et supérieures. Ces derniers sont des composés organiques volatils synthétisés au cours du métabolisme de l'organisme et dont la composition varie entre chaque individu. Cette signature moléculaire reflète l'état physiologique ou pathologique de l'organisme.

Des techniques mises au point par chromatographie en phase gazeuse (CPG ou GC en anglais) et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM ou GC-MS en anglais) ont permis de mettre en évidence la majorité des composés organiques volatils présents dans l'haleine humaine (endogènes comme exogènes), de différentes natures : composés aromatiques, composés halogénés, hydrocarbures, composés azotés, composés oxygénés, ou encore composés sulfurés. Le tableau 1 répertorie les principaux COV endogènes entrant dans la composition de l'air expiré en indiquant l'origine probable de la formation de ces COV ainsi que leur plage de concentration. (6)



Ces COV présentés dans le tableau 1 sont retrouvés dans l'air expiré humain dans des quantités et des compositions différentes. Il existe de nombreux facteurs étant à l'origine de la signature moléculaire unique de chaque individu. La qualité de vie de chaque individu qui comprend l'exposition aux polluants environnementaux, le tabac, l'activité physique, le régime alimentaire, la santé de la personne, etc. a un impact direct sur la composition des COV rejetés dans l'air expiré.

**Tableau 1 : Composés Organiques Volatils endogènes détectés dans l'air expiré, leurs origines présumées et leurs plages de concentration (6)**

	<b>Composés organiques volatils endogènes</b>	<b>Origines endogènes présumées</b>	<b>Plage de concentration</b>
	Dioxyde de carbone	Métabolisme cellulaire	En fraction volumique
	Hydrogène	Bactéries (intestin)	ppmv
<b>Hydrocarbures</b>	Méthane	Bactéries	ppbv
	Ethylène	Peroxydation lipidique (LPO)	ppbv
	Ethane	LPO	ppbv
	n-Pentane	LPO	ppbv
	Isoprène	Biosynthèse du cholestérol, LPO, métabolisme	ppbv
<b>Composés azotés</b>	Ammoniac	Métabolisme des protéines	ppbv
	Méthylamine	Métabolisme des protéines	ppbv
<b>Composés oxygénés</b>	Acétaldéhyde	Métabolisme de l'éthanol	ppbv
	Acétone	Acidocétose/ Métabolisme du dextrose	ppmv/ppbv
	Hexanal	LPO	ppbv
	Méthanol	Bactéries	ppbv
	Ethanol	Bactéries	ppbv
<b>Composés sulfurés</b>	Sulfure de diméthyle	Métabolisme de la méthionine	ppbv/pptv
	Sulfure de méthane-éthyle	Métabolisme de la méthionine	ppbv/pptv
	Disulfure de carbone	Bactéries	ppbv
	Sulfure de carbonyle	Bactéries	ppbv/pptv
<b>Oxydes</b>	Oxyde nitrique	Oxyde nitrique synthase	ppbv/pptv
	Monoxyde de carbone	Hème oxygénase	ppbv/pptv

*ppbv (partie en billion en volume), ppmv (partie par million en volume), pptv (partie par trillion en volume)*

En effet les polluants environnementaux présents dans l'air, l'eau, les aliments, le tabac, les médicaments peuvent être inhalés par les voies respiratoires, peuvent passer à travers la barrière cutanée ou encore être ingérés directement par le système digestif, et ainsi se retrouver dans notre organisme. Il s'agit alors de COV exogènes qui ne nous seront pas exploitables dans le cadre de diagnostic de pathologies ou d'éducation de chiens d'assistance.

En prenant l'exemple du tabagisme pas moins de 80 composés organiques volatils exogènes inhalés peuvent être retrouvés dans l'air expiré dont beaucoup font partie de la famille des hydrocarbures insaturés. (8) Le café quant à lui est un exemple de source exogène de COV ingéré par l'organisme. Il est la source principale d'ingestion d'un composé volatil : le furane, qui en trop grande quantité peut entraîner des lésions hépatiques. (9) L'acétone est lui un exemple de COV endogène retrouvé en plus grande quantité dans l'air expiré, c'est un COV qui a pour origine l'acidocétose diabétique (augmentation de la concentration en corps cétoniques dans le sang, ne pouvant plus être éliminés par l'organisme). C'est un marqueur du diabète sucré qui sera traité plus tard. (8) Nous étudierons en effet plus en détail ces COV spécifiques de pathologies par la suite.

La prise de médicaments peut également être une source de production de COV, d'ailleurs cela pourrait être intéressant de les mesurer dans le cadre de suivi thérapeutique de patients. A titre d'exemple, les patients épileptiques sous valproate de sodium rejettent dans l'air expiré du 3-heptanone, produit de métabolisation du valproate. Chez les personnes saines la concentration en 3-heptanone est inférieure à 1ppbv, la quasi-totalité de ce COV retrouvé dans l'air expiré peut donc être attribué à la bonne prise de ce médicament. (5)

D'autres facteurs peuvent par ailleurs entraîner une augmentation soudaine et momentanée de la concentration de COV. C'est le cas de l'activité physique, en effet une étude anglaise de l'IPEM (Institute for Physics and Engineering in Medicine) de 2010 a mis en évidence l'augmentation de plusieurs COV dont l'augmentation drastique de la concentration d'isoprène et d'acétate de méthyle au moment de l'effort physique. (10)

En revanche, selon une étude de 2016 de Dragonieri *et al.* (11), le sexe ne semble pas avoir d'impact sur la nature et la quantité des COV expirés. L'âge quant à lui n'impacte pas directement la composition de l'air expiré, néanmoins le stress oxydant est plus important avec

l'âge et est, comme nous le verrons par la suite, une des principales sources de production de COV de l'organisme. (11)

Il est en résumé important de connaître l'origine biologique de chaque COV (origine exogène ou endogène) présent dans l'air expiré, afin de déterminer si ces derniers sont exploitables en tant que biomarqueurs de pathologies. Les COV présents dans l'air expiré sont nombreux et très intéressants à étudier afin de mettre en évidence des signatures olfactives spécifiques à des pathologies.

#### 1.1.3.2 COV présents dans la sueur

Les COV contenus dans la sueur donnent à l'être humain une odeur unique qui peut varier en fonction de l'âge, de l'état émotionnel, de la santé du patient, de certaines pathologies rejetant des COV spécifiques ou encore du régime alimentaire. De plus, sur la surface corporelle, le type et la quantité de glandes sébacées ainsi que la flore bactérienne ne sont pas repartis uniformément. Ainsi le profil de COV excrétés n'est pas le même sur l'ensemble du corps humain. Pour exemple, une étude de Penn *et al.* datant de 2007 (12) s'est penchée sur l'étude de la sueur de la région axillaire et a trouvé plus de COV dans cette région que dans la salive ou l'urine par exemple. C'est une zone constituant une source importante de marqueurs spécifiques. En effet c'est une région contenant des nombreuses glandes sudoripares et un microbiote très développé jouant un rôle dans la génération d'odeur individuelle. Il faut cependant prendre en compte la contamination des échantillons de cette région par tous les COV exogènes pouvant être présents sur la peau (produits cosmétiques, savons, parfum, polluants environnementaux, ...). (12)

Des études ont permis de mettre en évidence à l'aide de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, dans la sueur humaine environ 570 composés organiques volatils. Ces COV appartiennent notamment à la famille des composés oxygénés : alcools, aldéhydes, cétones, acides carboxyliques, esters, à la famille des composés nitrés, des composés aromatiques, des hydrocarbures, ou d'autres composés sulfurés. (13) (12)

Certains de ces COV ont systématiquement été retrouvés dans l'ensemble des échantillons testés, mais ils restent rares, il y a par exemple (13) :

- Le 1-tridécanol

- Le 1,3-bis (1,1-diméthyléthyl) -benzène
- Le 4,4'-(1-méthyléthylidène) bis phénol
- Le 7-acétyl-6-éthyl-1,1,4,4,-tétraméthyl-tétraline

Ce sont là des composés organiques entrant dans la composition stable de la sueur humaine. D'autres en revanche ne sont présents que chez certaines personnes ce qui rend la signature olfactive propre à chacun.

#### 1.1.3.3 COV présents dans le sang

Des composés organiques volatils sont également présents dans le sang, ils sont toutefois moins nombreux que dans l'air expiré ou la sueur par exemple et sont moins intéressants à étudier dans notre cas. En effet ces COV ont moins d'utilité dans la recherche sur les nez bioélectroniques, ces derniers utilisant le plus souvent l'air expiré ou la salive. Ils ne sont pas non plus les COV détectés en premier lieu par les chiens d'assistance.

Cependant la détection de certains COV dans le sang peut tout de même être intéressante dans le diagnostic de pathologies. L'ammoniac par exemple, lorsqu'il est présent en trop grande quantité dans le sang (hyperammoniémie) est considéré comme un indicateur d'une anomalie dans l'homéostasie de l'azote, généralement liée à un dysfonctionnement hépatique. Le risque dans ce cas est l'encéphalopathie pouvant entraîner la mort. (5)

Les recherches portant sur les composés organiques volatils retrouvés dans le sang sont par ailleurs en majeure partie axées sur l'exposition aux polluants environnementaux, évaluant ainsi les COV exogènes retrouvés dans le sang. (14)

#### 1.1.3.4 COV présents dans la salive

L'être humain sécrète en moyenne entre 500 et 1200 ml de salive par jour. Cette dernière est composée principalement d'eau à 99%, de protéines, de différents ions comme le sodium, le chlorure, le potassium, de glucides. Elle contient également différentes enzymes digestives comme l'amylase, la lipase et enfin de nombreux composés organiques volatils. (15) Une étude de Soini *et al.* de 2010 (16) ayant identifié les COV de la salive a montré qu'il s'agissait d'alcools, de cétones et d'aldéhydes, d'acides carboxyliques, d'esters, d'amines, d'amides et d'hydrocarbures. Ce sont des COV qui ont pu être transportés dans la salive depuis

les voies respiratoires, le tube digestif, par absorption transdermique ou depuis la circulation sanguine.

Une grande variabilité individuelle de profil de COV de la salive a été retrouvée dans l'étude de Soini *et al.* En effet comme pour les autres fluides corporels, l'alimentation, l'environnement et la santé des individus influent sur la production de COV. Dans cette même étude, les scientifiques ont retrouvé la moitié des COV déjà identifiés dans leur étude sur la sueur, cela signifie que ces composés (environ 180 COV) ont des chances d'avoir une origine endogène. (16)

#### 1.1.3.5 COV présents dans les urines et les selles

Les composés organiques volatils entrent également dans la composition des urines et des selles.

Dans les urines tout d'abord on retrouve comme dans les autres fluides corporels, des composés de plusieurs groupes chimiques : des alcools, des cétones et aldéhydes, des amines, des composés aromatiques, des composés soufrés ou encore des hydrocarbures. Une étude de Michael *et al.* (1999) (17) a reporté la présence d'un peu moins de 200 COV dont neuf d'entre eux étaient présents chez l'ensemble des individus : le propanone, le 2-butanone, le 2-pentanone, le 2-heptanone, le 3-hexanone, le 4-heptanone, le 2,5-diméthylfurane, le 2-éthyl-5-méthylfurane et le toluène. Certains des COV présents dans les urines peuvent avoir une origine intestinale, c'est le cas de la méthylamine qui retrouvée dans l'urine est principalement d'origine endogène, les bactéries intestinales jouant un rôle dans leur production. (17)

A propos des COV présents dans les selles, selon les études, il a été recensé jusqu'à 300 COV différents. Dans l'étude de Garner *et al.* (2002), 44 COV étaient communs à 80% des échantillons, ce sont donc des COV retrouvés dans la population saine et entrant dans la composition normale des selles. On peut y retrouver jusqu'à 52 alcools différents, probablement produits par les bactéries intestinales à partir des acides. Il y a également des COV de la famille des cétones, des aldéhydes, des hydrocarbures comme l'isoprène, des composés soufrés, des éthers comme le 2-éthoxyéthanol. Certaines substances volatiles comme l'ammoniac ou le méthanthiol sont des COV endogènes produits à partir de la méthionine par l'action de différentes bactéries comme les *Clostridium sporogènes*. Même si ces COV ne sont pas

beaucoup exploités en recherche pour le diagnostic médical, on peut noter que les selles peuvent dégager une odeur anormale chez les patients atteints de maladies gastro-intestinales. Or cette odeur est causée par la présence de COV spécifiques à ces pathologies. (17)

## **1.2 Origine de la formation des composés organiques volatils dans l'organisme**

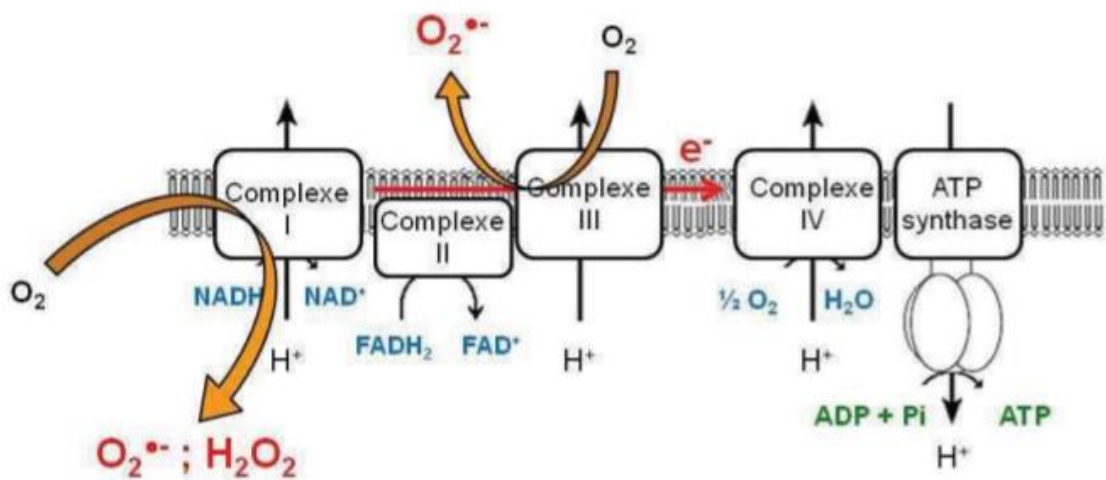
Les COV présents dans le corps humain et pouvant être retrouvés dans l'haleine, la sueur ou l'urine par exemple, peuvent avoir deux origines différentes. Ils peuvent tout d'abord provenir d'une source exogène : la pollution atmosphérique, le tabac, la nourriture par exemple sont des sources potentielles de COV. Par ailleurs l'origine des COV peut être endogène, la production dans le corps humain de ces COV résulte alors d'une succession de réactions chimiques au sein des cellules. C'est ce type de composé organique volatil qui nous intéresse ici et qu'il est utile d'identifier afin de les utiliser comme biomarqueurs de pathologies, à des fins de diagnostic médical. C'est également ce type de COV qui peut être détecté par les chiens d'assistance dans certaines pathologies comme le diabète ou l'épilepsie par exemple. (18) Nous allons donc nous intéresser à l'origine de la formation de ces COV endogènes dans l'organisme. Il existe différentes voies métaboliques de formation des COV dont certaines restent encore méconnues à l'heure actuelle. Cependant le lien entre la production d'ERO par les mitochondries à l'origine du stress oxydatif et la formation de COV est lui reconnu par la littérature scientifique. Nous allons détailler ci-après ce processus de formation de COV. (19)

### **1.2.1 Production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et stress oxydant conduisant à la formation de COV**

#### **1.2.1.1 Production de ERO par les mitochondries**

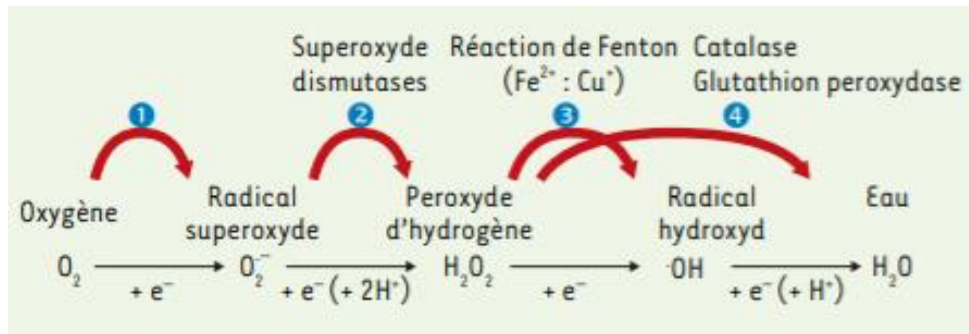
L'oxygène est un élément ayant une fonction majeure dans la production de COV dans l'organisme. En effet il est responsable de réactions générant ce que l'on appelle les dérivés réactifs de l'oxygène (DROs) encore appelés espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou ROS en anglais pour reactive oxygen species. L'anion superoxyde  $O_2^-$  ou encore le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  sont des exemples de ERO. Ces ERO sont à l'origine de phénomènes de stress oxydant pouvant entraîner le développement de certaines pathologies. Ce sont ces derniers qui sont en parallèle responsables de la synthèse des composés organiques volatils spécifiques susceptibles de permettre le diagnostic de ces mêmes pathologies. (19)(20)

C'est au niveau des mitochondries que la grande majorité des ERO sont produites. Au niveau de la membrane interne de la mitochondrie se trouve la chaîne de transport des électrons, un ensemble de complexes protéiques : enzymes, coenzymes et de cytochromes capables de capter et de donner des électrons. Cette chaîne a ainsi pour objectif de produire de l'ATP, source d'énergie pour la cellule. (21) Au niveau des complexes I (NADH déshydrogénase) et III (cytochromes bc1) est générée la plus grande quantité de ERO. En effet le long de cette chaîne de transport, l'oxygène peut se combiner avec les électrons et ainsi former des ERO comme les radicaux superoxydes ainsi représentés sur la figure 1 (22). (21)



**Figure 1: L'origine de la production des ROS au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale [22]**

De plus au niveau du complexe IV de la chaîne de transport des électrons de la membrane interne des mitochondries, les molécules de dioxygène subissent une réduction appelée réduction tétravalente, grâce à l'apport de quatre électrons s'additionnant successivement sur l'O<sub>2</sub>. On obtient alors une molécule H<sub>2</sub>O, comme illustré sur la figure 2 (23). Pour obtenir cette molécule d'H<sub>2</sub>O il faut passer par plusieurs intermédiaires qui ne sont autres que les ERO (espèces réactives de l'oxygène). Une petite partie du dioxygène réduit au niveau de ce complexe ne le sera que partiellement et conduira à la formation de dérivés réactifs de l'oxygène. (19)



**Figure 2 : Les quatre étapes de la réduction du dioxygène et formation d'intermédiaires**

(23)

C'est une petite partie du dioxygène qui forme ainsi des espèces réactives de l'oxygène, on estime à environ 2% des électrons de la chaîne respiratoire qui finissent par former des ERO avec l'oxygène. Cette faible partie est pourtant suffisante pour être à l'origine d'un grand nombre de conséquences physiologiques, induisant des dégâts au niveau des molécules biologiques, altérant ainsi leur fonctionnement et formant également de nombreux composés organiques volatils (COV). (21)

#### 1.2.1.2 Autres producteurs d'ERO dans l'organisme

Les dérivés réactifs de l'oxygène peuvent également être produits par d'autres mécanismes cellulaires dont la NADPH oxydase, le cytochrome P450 ou encore la xanthine oxydase. (24)

En effet la NADPH oxydase est une enzyme capable de produire des espèces réactives de l'oxygène en jouant un rôle de catalyseur dans la réaction de réduction du dioxygène. En tant que donneur d'électron, elle permet ainsi la production de l'anion superoxyde  $\text{O}_2^{\cdot -}$ . Cette réaction peut avoir lieu dans la majorité des cellules de notre organisme. (21) (24)

Les cytochromes P450 au cours de l'oxydation des acides gras, permettent la réduction du dioxygène moléculaire pour former des ERO de type peroxyde d'hydrogène ou des anions superoxyde.(24)

La xanthine oxydase peut également produire des anions superoxydes en catalysant la réaction d'oxydation de la xanthine et de l'hypoxanthine. (24)



### 1.2.1.3 Systèmes antioxydants luttant contre la production de ERO

Afin de lutter contre les espèces réactives de l'oxygène vu précédemment et de maintenir un équilibre dans la balance antioxydants/pro-oxydants, il existe différents types d'antioxydants agissant en synergie dans l'organisme. Ces systèmes antioxydants peuvent être séparés en deux catégories, les mécanismes de défense composés d'enzymes et les mécanismes non enzymatiques.

Tout d'abord, les molécules antioxydantes enzymatiques sont synthétisées par l'organisme. Ces enzymes sont les superoxydes dismutases (SOD), les glutathion peroxydases (GPx's), les catalases ou encore les thiorédoxines réductase. (25)

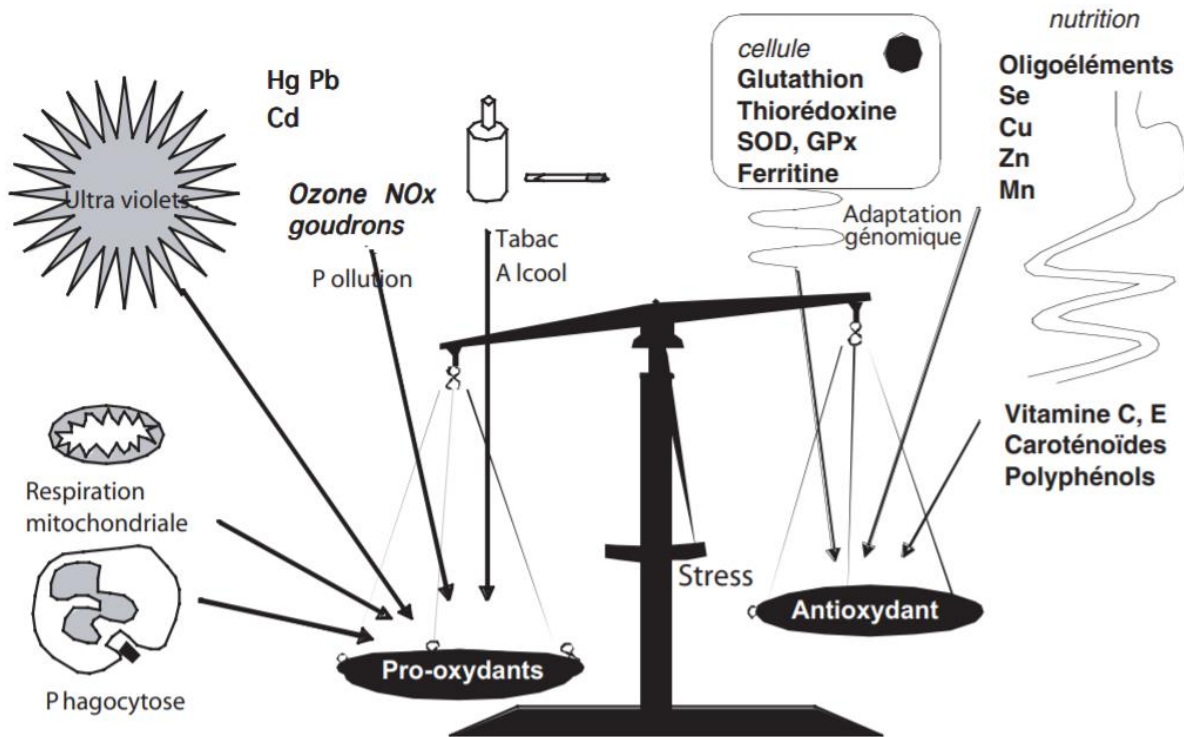
Ensuite on retrouve les molécules antioxydantes non enzymatiques :

- Certaines vitamines provenant de l'alimentation comme la vitamine C (acide ascorbique) présente dans les fruits et légumes et la vitamine E (tocophérol) que l'on retrouve dans les huiles végétales, les fruits à coque ou les poissons gras par exemple
- Les caroténoïdes que l'on retrouve dans certains légumes comme la carotte, la tomate ou le poivron
- Le glutathion synthétisé par l'organisme
- Des protéines : la ferritine, la transferrine, la céruléoplasmine
- Les flavonoïdes comme la rutine ou la quercétine retrouvés dans l'alimentation et notamment présents dans le thé, le vin rouge, l'oignon ou encore la myrtille. (25,26)
- Des oligoéléments : le cuivre, le zinc, le sélénium, le fer qui agissent en tant que cofacteur des enzymes antioxydantes. En effet le cuivre et le zinc agissent ensemble comme cofacteur de l'enzyme superoxyde dismutase (Cu,Zn-SOD), le manganèse est également cofacteur de l'enzyme SOD (MnSOD), le sélénium est quant à lui cofacteur de l'enzyme glutathion peroxydase et les catalases sont des cofacteurs du fer . (25,26)

Toutes ses défenses antioxydantes (enzymes, vitamines, oligoéléments, protéines, etc.) vont ainsi lutter synergiquement contre les espèces réactives de l'oxygène et faire en sorte que la balance antioxydants/pro-oxydants soit à l'équilibre. Cependant chaque organisme n'a pas les mêmes capacités antioxydantes en fonction de sa génétique, de son alimentation, de ses habitudes de vie et des facteurs de risque d'apparition d'un stress oxydant auxquels il peut être exposé et que nous détaillerons par la suite.

#### 1.2.1.4 Stress oxydant, apparition de pathologies et formation de COV

Le problème majeur de la formation de ERO survient lorsque l'équilibre entre les systèmes produisant les espèces réactives de l'oxygène et les systèmes antioxydants vus précédemment permettant leur élimination n'est plus respecté. On dit dans ce cas que la balance antioxydants/prooxydants est rompue (comme représenté dans la figure 3 (26)) : c'est le stress oxydant.



**Figure 3: Balance entre les systèmes antioxydants et pro-oxydants [26]**

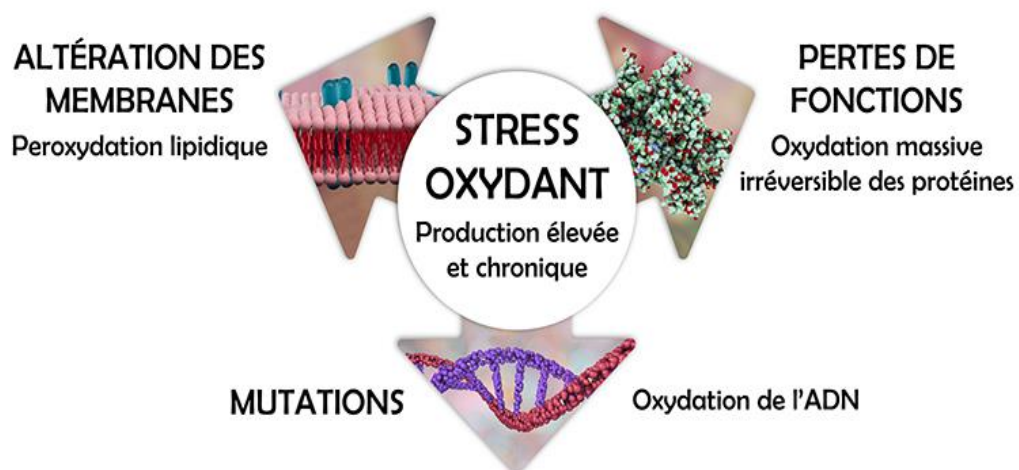
Le stress oxydant peut donc survenir soit à la suite d'une production trop importante d'ERO soit lorsque les capacités antioxydantes de l'organisme sont défaillantes. Plusieurs situations peuvent aboutir à ce déséquilibre entre antioxydants/pro-oxydants. C'est ce qui arrive notamment lors du vieillissement cellulaire. En effet chez les personnes âgées on observe une diminution de l'expression des gènes antioxydants avec l'âge. La production d'ERO peut également être augmentée du fait de dérèglements physiologiques au niveau des mitochondries. Ces dérèglements peuvent eux aussi apparaître avec le vieillissement.

Une trop forte activation des systèmes enzymatiques producteurs d'ERO comme la NADPH oxydase ou la xanthine oxydase vus précédemment peut également être à l'origine d'un stress oxydant.

Un apport nutritionnel trop faible en antioxydants contribuera également à l'apparition d'un stress oxydant, cet apport est par ailleurs souvent trop faible chez les personnes âgées. (26)(25)

Enfin, le stress, le tabac, l'alcool, l'obésité, la pollution atmosphérique, le soleil, la radioactivité tout comme l'est le vieillissement, sont des facteurs de risque pouvant être à l'origine de stress oxydant et entraîner une diminution des capacités antioxydantes. (24) (27)

Les excès d'espèces réactives de l'oxygène créent des dommages oxydatifs irréversibles structurelles et fonctionnelles au niveau des cellules. Ces ERO s'attaquent aux macromolécules des cellules, ils induisent des oxydations des protéines, des peroxydations des lipides, ainsi que des mutations de l'ADN (Figure 4 (28)).



*Figure 4: Stress oxydant et ses conséquences [28]*

Ces dégâts cellulaires peuvent être à l'origine notamment de troubles immunitaires, de mutagenèses, de carcinogenèses, de diminution de sensibilité à l'insuline, de morts neuronales et peuvent entraîner la mort de la cellule appelée l'apoptose. (29) (26) Le stress oxydatif généré au sein des cellules est le facteur déclenchant de bon nombre de pathologies.

A la suite de ces réactions chimiques en chaîne, ces dommages oxydatifs vont finir par donner des molécules ayant des masses molaires de plus en plus faibles pour donner in fine des composés organiques volatils de type alcanes, alcènes ou aldéhydes par exemple. (20) Ces COV vont ensuite être retrouvés dans l'air expiré, dans la salive, la sueur, les urines notamment et

pourront être utilisés en tant que biomarqueurs de ces pathologies, et être captés par les chiens d'assistance.

### 1.2.2 Voies de synthèse de production de composés organiques volatils

Les réactions chimiques en chaînes à l'origine de la production des composés organiques volatiles sont complexes, mal connues et peu documentées dans la littérature scientifique. Cependant certaines évoquées précédemment sont reconnues productrices de COV, il s'agit de la peroxydation lipidique, de l'oxydation des protéines ainsi que de l'altération de l'ADN.

#### 1.2.2.1 Peroxydation lipidique

Comme vu précédemment la peroxydation lipidique est une des conséquences du stress oxydant. Cette dernière se déroule en plusieurs étapes, c'est une réaction en chaîne initiée par la présence de radicaux libres.

Dans un premier temps le mécanisme a besoin d'un acide gras polyinsaturé et de radicaux libres, après plusieurs réactions en chaîne, on parle de phase de propagation, on obtient un hydroperoxyde lipidique toxique pour la cellule. Ces hydroperoxydes d'acide gras produits sont en général réduits en acides gras monohydroxylés à l'aide de l'enzyme glutathion peroxydase. Cependant cette enzyme peut voir son activité diminuée lors du vieillissement ou dans certaines pathologies comme le diabète. Les hydroperoxydes produits sont instables et vont alors se dégrader en composés organiques volatils tels que des alcanes, des aldéhydes, des alcools, ... (30) (31)

Il est reconnu dans la littérature scientifique que la peroxydation lipidique est étroitement liée à de nombreux processus pathologiques dont nous parlerons par la suite : les cancers ou le diabète par exemple, ainsi que d'autres processus physiologiques comme le vieillissement, ou les processus d'inflammation. (31)

#### 1.2.2.2 Altération de l'ADN et oxydation des protéines

Comme vu précédemment les ERO peuvent également induire des altérations de l'ADN et des oxydations des protéines à l'origine de la formation de COV.

Dans un premier temps, les radicaux libres produits lors du stress oxydant peuvent endommager les bases d'ADN (l'adénine, la thymine, la cytosine et la guanine), ainsi que le désoxyribose, le sucre entrant dans la composition des nucléotides constituant l'ADN. Pour exemple afin de réguler l'expression de nombreux gènes les cytosines subissent des méthylations dans l'ADN. Cependant au cours de la cancérogenèse, les schémas de méthylation physiologique se voient modifiés par les espèces réactives de l'oxygène, ce qui endommage l'ADN. Des études dont celle de Weitzman. *et al.* (1994) ont mis en évidence cette apparition de méthylation altérée de l'ADN ou d'hypométhylation au cours du développement de cancers. (31) (32)

Les ERO peuvent également oxyder les protéines, ce sont en effet des cibles majeures pour ces derniers. Une protéine peut subir une oxydation à différents niveaux. Tout d'abord l'oxydation peut se faire au niveau des chaînes latérales des acides aminés. Toutes peuvent être touchées bien qu'il ait été observé que les ERO endommageaient préférentiellement les acides aminés soufrés (la méthionine et la cystéine), ensuite les basiques comme l'arginine ou la lysine, ainsi que les aromatiques comme la tyrosine ou le tryptophane. Il peut également y avoir une oxydation de la chaîne polypeptidique qui peut parfois entraîner une fragmentation de cette dernière. Enfin en produit de l'oxydation, on peut observer la formation de protéines carbonylées, issues entre autres de l'oxydation des acides aminés et de la fragmentation des chaînes polypeptidiques. (24) (31)

Les altérations de l'ADN et l'oxydation des protéines sont donc également à l'origine de la formation de COV pouvant être spécifiques de pathologies comme les cancers par exemple.

### 1.2.2.3 Autres voies de formation de COV

Il existe encore d'autres voies de formation de COV, qui ne dépendent pas du stress oxydant. Bien que beaucoup restent encore inconnues, nous allons en détailler quelques-unes.

#### a. La cétogenèse

L'acétone est un COV produit lors de la cétogenèse, c'est-à-dire lors de la synthèse des corps cétoniques. Ce processus métabolique a lieu dans le foie et permet la synthèse de trois corps cétoniques : l'acétone, l'acide acétyla étiq ue et l'acide  $\beta$ -hydroxybutyrique. L'acétone est un COV que l'on retrouve ensuite dans le sang et les urines. Lorsque la quantité de corps

cétoniques et notamment d'acétone devient trop importante et dépasse les capacités d'élimination de l'organisme, le sang devient trop acide, c'est l'acidocétose. On parle d'acidocétose diabétique lorsque cette dernière survient à la suite d'une concentration en insuline trop faible dans le sang. (33)

b. Le métabolisme de l'acide mévalonique

L'isoprène est un COV quant à lui principalement formé dans l'organisme à partir du métabolisme de l'acide mévalonique, par phosphorylation des deux groupes alcools de l'acide mévalonique. L'isoprène est ensuite un précurseur de la biosynthèse du cholestérol au niveau du foie. Par condensation de six COV d'isoprène en squalène on obtient une molécule de cholestérol. (34)

c. Le métabolisme des alcools

L'alcool est en grande partie métabolisé en acétaldéhyde puis en acétate, par oxydation à l'aide des enzymes ALD (alcool déshydrogénase) et ADH (aldéhyde déshydrogénase). Le métabolisme des alcools constitue la source la plus importante des COV aldéhydes de l'organisme. (35)

d. Le métabolisme bactérien

Les acides gras volatils, appelés également acides gras à chaîne courte (AGCC) sont les principaux produits finaux issus de la fermentation des glucides et de la dégradation des protéines, ayant lieu dans les intestins en présence des bactéries.

Dans le cas des protéines, différents types d'acides gras peuvent être produits en fonction du temps de transit. En effet plus le temps de transit dans les intestins est long, plus l'effet du métabolisme bactérien est important et plus on obtient des dégradations importantes de protéines en acides aminés, qui sont à leur tour dégradés pour donner différents acides. Pour exemple, il a été prouvé que l'acide 2-méthylbutyrique se forme à partir du métabolisme d'acides aminés à chaîne ramifiée, dont la valine, la leucine et l'isoleucine, en présence de bactéries. (5)

La fermentation des glucides est provoquée quant à elle dans les intestins par les bactéries anaérobies. Elle produit également des COV à chaîne courte tels que l'acide acétique, l'acide propionique ou l'acide butyrique. (5)

La cétogenèse, le métabolisme de l'acide mévalonique, le métabolisme des alcools ainsi que celui des bactéries au niveau des intestins sont donc des exemples de voies de production de COV dans l'organisme humain. Cependant un grand nombre de voies de formation de COV reste encore inconnu à ce jour.

### **1.3 Pathologies humaines et production de composés organiques volatils identifiés comme biomarqueurs de ces pathologies**

Nous allons nous intéresser dans cette partie aux pathologies humaines produisant des composés organiques volatils pouvant être utilisés dans le diagnostic de ces dernières.

#### **1.3.1 Les cancers**

Il est démontré dans la littérature scientifique que l'apparition de cancers est étroitement liée au stress oxydant responsable d'une production anormalement importante d'espèces réactives de l'oxygène. Il semble donc important de s'intéresser de plus près aux types de COV produits afin de diagnostiquer précocement certains types de cancers. Certains COV ne sont présents uniquement que lorsque le patient est atteint d'un cancer, tandis que d'autres sont présents chez les personnes saines comme chez les personnes malades mais en concentrations différentes. Il est donc encore plus intéressant de se concentrer sur des COV spécifiques d'une pathologie, car leur présence permettrait de détecter immédiatement la présence d'un cancer chez un individu. (20)

##### **1.3.1.1 Cancer du poumon**

Le cancer du poumon est la première cause de décès par cancer dans le monde. Il est le troisième cancer le plus diagnostiqué chez la femme (après le cancer du sein et le cancer colorectal), et le deuxième derrière le cancer de la prostate chez l'homme, mais il reste le plus mortel de tous. (36) Les méthodes de dépistage sont coûteuses, non envisageables en ambulatoire : radiographie du thorax, tomodensitométrie, IRM, ... ce qui rend difficilement envisageable le diagnostic précoce d'une large population asymptomatique. Or le diagnostic précoce du cancer du poumon augmente de manière considérable les chances de survies (80%

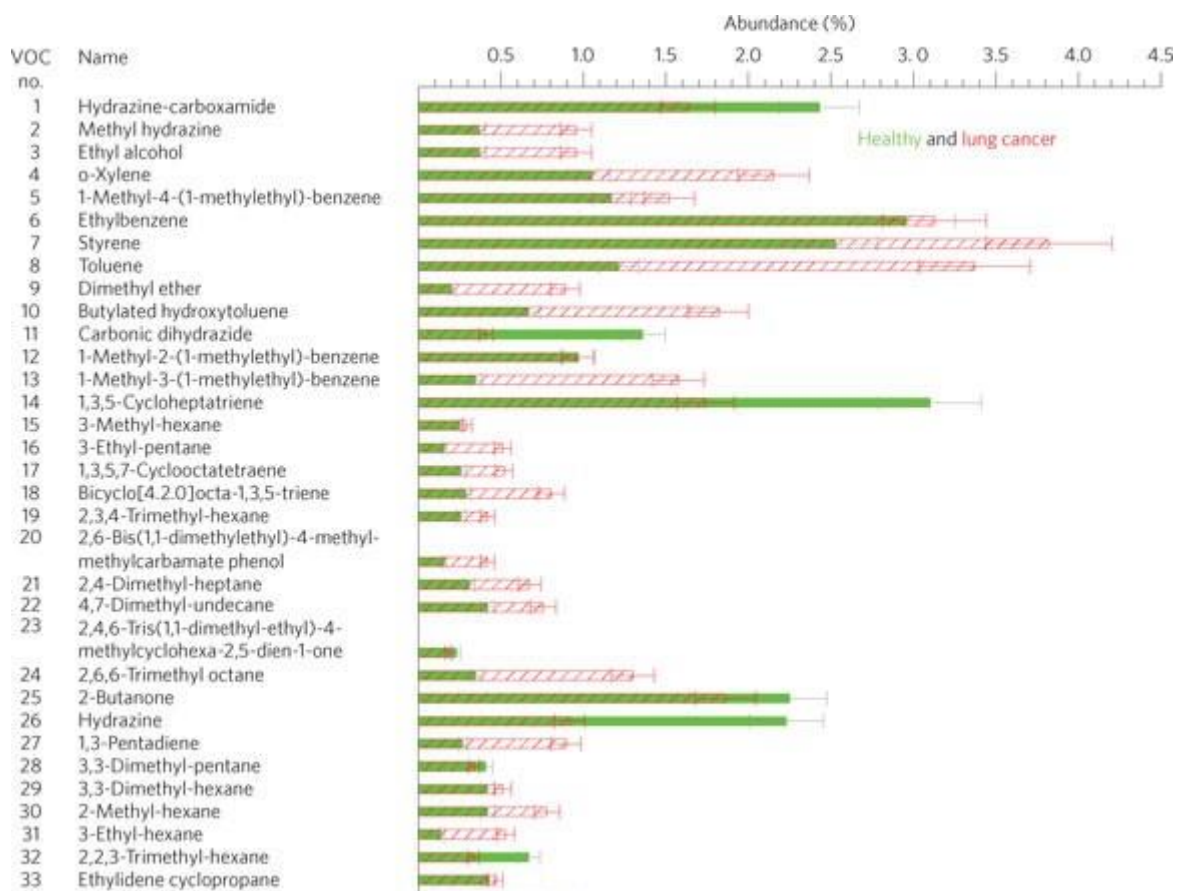
de survie si le cancer est diagnostiqué à un stade précoce contre 15% à un stade avancé). Le diagnostic par l'analyse des COV émis notamment dans l'haleine est donc une piste intéressante, qui serait beaucoup moins coûteuse que les autres méthodes de dépistage et non invasive. (1) (37)

Les premières études sur le sujet des COV biomarqueurs du cancer du poumon datent d'environ une trentaine d'années. Même si chacune de ces études ne donnent systématiquement pas le même résultat en termes de COV spécifiques idéaux, elles s'entendent à dire que les composés spécifiques appartiennent généralement à la famille des hydrocarbures (notamment aux composés aromatiques dont le benzène et ses dérivés benzéniques et aux alcanes), ainsi qu'à la famille des alcools, et des aldéhydes. En effet pour exemple, une étude de Phillips *et al.* de 1999 a sélectionné 108 patients qui avaient une bronchoscopie à passer (38). Les chercheurs ont analysé l'haleine de ces 108 individus par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Un cancer des poumons a été confirmé histologiquement chez 60 patients, et il a été mis en évidence une signature olfactive du cancer des poumons, en établissant une combinaison de 22 COV présents chez les sujets malades et non présents chez les sujets sains. Ces 22 COV étaient effectivement composés principalement d'alcane, de dérivés d'alcane et de composés aromatiques dont des dérivés benzéniques. Ces composés organiques volatils étaient présents à tous les stades du cancer, dès le stade 1 avec une sensibilité de 100% et une spécificité de 81,3%. La physiopathologie n'a pas été expliquée, cependant comme vu précédemment, il a été prouvé que la quantité de radicaux libres de l'oxygène se retrouve augmentée dans les cellules cancéreuses, ces derniers dégradent les membranes cellulaires par peroxydation lipidique, et les acides gras polyinsaturés obtenus sont convertis en COV dont des alcanes, excrétés dans l'haleine. (38)

On peut également souligner la possibilité de séparer les COV marqueurs spécifiques du cancer des poumons en deux catégories, les COV retrouvés uniquement chez les patients atteints du cancer des poumons, et ceux naturellement présents chez toute personne saine mais retrouvés dans des concentrations différentes chez les personnes malades. Une première étude réalisée chez 441 sujets sains et 220 sujets atteints du cancer a en effet identifié 4 marqueurs spécifiques du cancer : le benzaldéhyde, le propanol (propan-1-ol), le butanedione (appelé également diacétyl), et le butanone. Tandis que l'étude de Peng *et al.* datant de 2009 (39) a mis en évidence des COV non-spécifiques, certains avec une concentration qui s'est vu être augmentée en comparaison à la quantité naturellement présente chez les personnes saines, et cela étant dû



à l'augmentation de l'activité des radicaux libres de l'oxygène. A l'inverse, certains COV se sont retrouvés en moindre quantité car éliminés par les cellules cancéreuses plus rapidement qu'ils ne sont produits. Cette étude a effectivement identifié 33 composés se retrouvant dans des quantités différentes (supérieures ou inférieures) dans les haleines d'individus sains et atteints du cancer des poumons, comme illustré sur la figure 5. Les abondances exprimées en pourcentage et matérialisées par les barres vertes, correspondent à la proportion de chacun des 33 COV chez les personnes saines par rapport à l'ensemble des COV présents dans l'haleine. Tandis que les barres rouges correspondent à l'abondance de ces 33 COV chez les personnes atteintes du cancer des poumons. (20,39)



**Figure 5: Abondance (en % par rapport à l'ensemble des COV présents dans l'haleine) des 33 COV retrouvés dans l'haleine de personnes saines et atteintes du cancer des poumons mis en évidence par l'étude de Peng et al.[39]**

Une revue systématique de Janssens *et al.* parue en 2020 répertoriant les données de 22 articles sur les COV biomarqueurs du cancer du poumon nous donne un aperçu des COV détectés dans les différents fluides corporels (épanchements pleuraux, sang, urine, air expiré) ainsi que dans l'espace de tête des lignées cellulaires du cancer des poumons (espace de gaz présent au-dessus

d'un échantillon dans un flacon fermé) (40). Cette revue nous offre une synthèse des similitudes entre les différentes matrices existantes. Elle répertorie les COV spécifiques et non spécifiques pouvant être des marqueurs du cancer des poumons. Cette revue systématique en a conclu que chaque fluide corporel avait sa propre combinaison de COV, mais que plusieurs COV étaient retrouvés dans au moins deux fluides corporels différents : comme le 2-éthyl-1-hexanol, le 2-pentanone, le 2-butanone, la cyclohexanone, les deux aldéhydes l'hexanal et l'heptanal, l'octane, l'acétone, le styrène ou encore le décane. (40)

Les recherches sur les COV du cancer du poumon sont toujours d'actualité aujourd'hui, il existe en effet un autre projet appelé Pathacov bénéficiant d'un financement européen ayant pour objectif d'identifier la signature moléculaire du cancer bronchopulmonaire afin d'en améliorer le diagnostic précoce. Il s'agit d'un projet ayant débuté en octobre 2018 et prenant fin en juin 2022. (1) (41) Pathacov a sélectionné 42 articles publiés ces derniers 35 ans, les a synthétisés afin de retenir 218 COV pouvant être des biomarqueurs potentiellement idéals. Ils ont ensuite effectué des recherches afin de conserver les plus pertinents d'entre eux. Les critères de choix étaient les suivants : non fortement corrélés à l'activité physique, exogènes comme endogènes, peu liés à la consommation de cigarettes et ayant une demi-vie courte dans l'organisme. Ils ont finalement conservé pour l'étude, 4 COV répondant à tous ces critères : le propanol-1-ol, le butan-2-ol, l'heptanal et le n-décane. Ils ont ensuite testé la sensibilité de détection de différents capteurs en fonction de plusieurs paramètres dont l'humidité, afin de mettre en place un réseau de capteurs de gaz capable de détecter un cancer du poumon à son stade le plus précoce. Des études sont encore en cours pour élaborer ce nez bioélectronique, mais les résultats sont déjà très encourageants. (37)

### 1.3.1.2 Cancer du sein

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme, environ une femme sur 8 risque de développer un cancer du sein dans sa vie. Détecté à un stade précoce, on observe une guérison dans 99% des cas à 5 ans, contre seulement 26% à un stade tardif. Il est donc intéressant de développer de nouvelles techniques de dépistage précoce par les composés organiques volatils. (42) En effet l'hypoxie, l'augmentation de l'activité inflammatoire, la génération d'espèces réactives de l'oxygène ainsi que l'augmentation de la dépense énergétique induit par l'hyperprolifération au cours du cancer du sein sont des causes de changements de types et de concentration des COV produits. (43)

Nous allons nous intéresser à une récente étude visant à mettre en évidence les COV marqueurs spécifiques du cancer du sein. Il s'agit d'une étude de cohorte prospective commanditée par Yu Zhang *et al.* et publiée en novembre 2020. Elle s'est intéressée aux COV rejetés dans l'haleine de 203 individus. 71 étaient des patientes atteintes de cancer du sein à différents stades de la maladie : 13 avec un CCIS (Carcinome Canalaire In Situ) qui prend naissance au niveau des cellules des canaux galactophores, c'est le type de cancer du sein le plus courant, 31 avec un statut de métastase ganglionnaire négatif, et enfin 27 avec une métastase ganglionnaire positive. Le reste des individus de l'étude était composé de 78 patients sains et de 54 personnes atteintes d'un cancer gastrique afin de pouvoir comparer les COV rejetés en fonction des types de cancer. Ils ont utilisé la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse ainsi que la micro-extraction en phase solide, afin d'analyser les COV présents dans l'haleine des patients. Les résultats de cette étude ont été concluants puisque les chercheurs ont réussi à isoler sept COV significativement différents de ceux présents chez les personnes saines ainsi que chez celles atteintes du cancer gastrique. Il s'agit de ces molécules : le propane-1,2-diol, la cyclopentanone, le carbonate d'éthylène, le 3-méthoxypropane-1,2-diol, le 3-méthylpyridine, le phénol et le tétraméthylsilane. La combinaison de ces 7 COV peut être la signature olfactive du cancer du sein. Le 2-éthylhexanol peut également être considéré comme un biomarqueur du cancer du sein, cependant il n'a pas été retenu dans cette étude car il n'était pas retrouvé à des niveaux de concentration assez différents entre les trois sous-cohortes de cancer du sein, les chercheurs ont donc préféré retenir uniquement cet ensemble de 7 COV. Dans cette étude le diagnostic d'un CCIS à l'aide de l'analyse de l'haleine et de la recherche de ces 7 composés a donné des résultats très satisfaisants avec une sensibilité de 93,59% et une spécificité de 71,62% pour la détection du cancer du sein. En ce qui concerne uniquement les CCIS la sensibilité est de 80,77% et la spécificité s'élève à 100%. En comparaison, la mammographie a une sensibilité de détection du cancer du sein comprise entre 72 et 96% et elle est encore plus faible chez les patientes ayant un tissu mammaire dense avec une sensibilité allant de 48 à 70% seulement. Cette dernière conduit également à des résultats faussement positifs/négatifs dans environ 20% des cas. L'échographie quant à elle, a une sensibilité plus élevée que la mammographie chez les patientes avec un tissu mammaire dense, cependant elle n'est pas en mesure de détecter la plupart des microcalcifications qui sont le résultat courant du CCIS. Enfin les tests d'identification des mutations des gènes BRCA1 et BRCA2 (gènes suppresseurs de tumeurs) sont pertinents pour les femmes ayant des antécédents familiaux, cependant ces tests sont coûteux et non applicables à la population générale. L'utilisation des COV dans le diagnostic du cancer du sein serait donc une avancée considérable pour la médecine, afin de prendre en

charge au plus tôt les patientes atteintes de cancer du sein. Il faut cependant émettre une réserve sur les résultats de cette étude qui a été établi sur un petit nombre de patient, et l'élargir à une population plus importante dans le but de confirmer les résultats obtenus et aboutir à une signature olfactif universelle du cancer du sein. (43,44)

Même si à ce jour, il n'existe pas encore de signature olfactive uniforme pour diagnostiquer un cancer du sein, les techniques actuellement utilisées comme la mammographie ou l'IRM sont contraignantes et ne permettent pas toujours de diagnostiquer un cancer du sein à son stade le plus précoce, ce que la détection dans l'haleine de COV spécifiques au cancer du sein sera quant à elle est capable de faire dans le futur.

#### 1.3.1.3 Cancer de la peau

Il a été démontré que les COV rejetés par les mélanomes n'étaient pas les mêmes que ceux provenant d'une source cutanée saine. Une étude de Kwak Jae *et al.* de 2013 a mis en évidence des biomarqueurs volatils spécifiques des cellules de mélanome humain.(45) Les chercheurs ont utilisé plusieurs techniques dont la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse et l'utilisation de nanotubes de carbone entourée d'ADN simple brin (DNA-CNT) afin de comparer les COV des mélanocytes normaux à ceux retrouvés dans les mélanomes. Certains des COV ont été retrouvés en concentration plus élevée dans les cellules de mélanome : l'alcool isoamylique notamment. A l'inverse d'autres étaient présent en plus faible concentration dans les cellules de mélanome : l'acide isovalérique. Enfin deux COV ont été identifiés comme spécifiques des mélanomes et donc absents des cellules saines, il s'agit du diméthylsulfure ainsi que du diméthyltrisulfure. (45,46)

#### 1.3.1.4 Cancer des ovaires

Amal *et al.* (2015) ont analysé des échantillons d'haleine expirée chez des femmes atteintes d'un cancer des ovaires, des femmes sans tumeurs et des femmes avec une néoplasie bénigne des voies génitales afin de comparer la composition en COV de ces échantillons.(47) Les résultats obtenus après une analyse par CPG-SM ont montré des concentrations plus élevées en décanal, nonanal, styrène, 2-butanone et en hexadécane. La mesure de la concentration de ces composés organiques volatils dans l'haleine expirée des patientes pourrait donc servir à diagnostiquer un cancer des ovaires. (46,47)

### 1.3.1.5 Cancer de la prostate

Une étude de Gao *et al.* (2019) a énuméré un total de 11 COV présents dans l'urine de patients atteints de cancer de la prostate, montrant une forte tendance à différencier les patients atteints du cancer de la prostate des individus sains avec une sensibilité de 96% et une spécificité de 92%. (48) Certains de ces COV présentaient des concentrations plus élevées chez les personnes saines, d'autres à l'inverse étaient positivement liés aux patients atteints du cancer de la prostate (le tableau 2 énumère ces différents COV). En comparaison, la méthode de diagnostic par mesure du taux de PSA dans le sang a obtenu une sensibilité de 60% et une spécificité de 42%. (48)

**Tableau 2: 11 COV sélectionnés pour la prédiction du diagnostic du cancer de la prostate (48)**

Groupe dominant	Formule chimique
Patients sans cancer de la prostate	$C_{18}H_{20}O_2$
	$C_{18}H_{24}O_2$
	$C_{16}H_{32}O_3$
	$C_{15}H_{22}O$
	$C_4H_5N_3O_2$
Patients atteints d'un cancer de la prostate	$C_{10}H_{32}O_4Si_5$
	$C_{12}H_{36}O_4Si_5$
	$C_{26}H_{42}O_4$
	$C_{12}H_8C_1NO_3S$
	$C_3H_7C_{15}N_3P_3$
	$C_{15}H_{22}O_2$

Cette étude a donc mis en évidence une sélection de composés organiques volatils qui permettrait de diagnostiquer de manière rapide et efficace un cancer de la prostate à partir des urines des patients. Cela promet un avenir prometteur à une méthode de diagnostic rapide, efficace et non invasive du diagnostic du cancer de la prostate par détection de COV spécifiques.

### 1.3.1.6 Cancer colorectal

Actuellement, le test de dépistage du cancer colorectal proposé gratuitement de 50 à 74 ans est la méthode permettant de lutter efficacement contre ce cancer. Elle repose sur la recherche de sang dans les selles. Si le test s'avère positif des examens complémentaires (coloscopie) sont alors effectués afin de diagnostiquer ou non un cancer colorectal. Un

dépistage précoce de ce cancer permet d'accroître considérablement les chances de guérison. Cependant cette méthode de dépistage ne possède une valeur prédictive positive que de 9% (probabilité qu'un individu ayant un test positif soit réellement atteint de la maladie) et une sensibilité assez faible comprise entre 55% et 57%. La spécificité de ce test est en l'occurrence quant à elle satisfaisante (98%) ce qui permet d'éviter de passer à côté de personnes réellement positives. L'identification de biomarqueurs spécifiques du cancer colorectal serait donc intéressante afin de mettre au point une nouvelle méthode de dépistage à partir notamment de l'air expiré des individus, plus fiable et moins contraignante que celle par détection de sang dans les selles. (49–51)

Une étude de Altomare *et al.* (2013) a recueilli des échantillons d'haleine expirée de patients atteints de cancer colorectal et d'individus sains (négatifs à la coloscopie). (51) Ils ont ensuite recherché par CPG-SM les COV spécifiques à ce cancer. Quinze COV ont alors été identifiés comme étant présents spécifiquement chez les patients atteints de cancer colorectal, notamment le décanal, le nonanal, le méthylcyclohexane, le cyclohexane, le 4-méthyl-2-pentanone ainsi que le 4-méthyl-octane. Les chercheurs ont obtenu une valeur prédictive positive de 75%, une sensibilité de 86% et une spécificité de 85%, soit une sensibilité et une précision largement supérieure à celle obtenue par la méthode classique de dépistage. L'analyse des COV respiratoires s'avère donc également intéressante en vue de diagnostiquer à l'avenir par cette méthode le cancer colorectal. (46,51)

Les composés organiques volatils produits par l'organisme chez les patients atteints de cancer sont donc différents pour chacun des types de cancers. En effet chaque cancer possède sa propre signature olfactive, ce qui est intéressant afin d'éduquer les chiens à reconnaître l'odeur spécifique de ces cancers et afin de mettre au point des techniques de diagnostic rapides et non invasives par la détection de ces COV spécifiques.

### 1.3.2 Le diabète

La prise en charge du diabète nécessite dans certains cas une autosurveillance fréquente de la glycémie. En effet elle est systématique chez les patients atteints de diabète de type 1, et parfois chez les personnes atteintes de diabète de type 2. En effet l'autosurveillance de la glycémie dans le cas d'un diabète de type 1 où le pancréas n'est presque plus capable de fabriquer suffisamment d'insuline voir plus du tout, est essentielle afin d'adapter le traitement

par insuline. Chez les diabétiques de type 2, l'autosurveillance vient parfois en complément du dosage régulier en laboratoire de l'hémoglobine glyquée (afin de repérer des épisodes d'hypoglycémie/hyperglycémie, afin de confirmer un épisode d'hypoglycémie ou dans le cas de traitement par insuline). La méthode la plus courante est la mesure de la glycémie capillaire à l'aide d'un autopiqueur. Le principe est de se piquer le bout des doigts à l'aide de lancettes plusieurs fois par jour afin d'avoir une mesure de la glycémie dans le sang. Il est également de plus en plus courant d'utiliser des systèmes d'autosurveillance du glucose par mesure en continu du taux de glucose interstitiel comme avec le capteur FreeStyle Libre. Ce capteur est fixé en continu durant 14 jours à l'arrière du bras du patient et est capable de mesurer toutes les minutes la concentration en glucose dans le liquide interstitiel. L'autosurveillance de sa glycémie permet ainsi d'adapter si nécessaire ses doses d'insuline lente et rapide, en cas d'hyperglycémie et d'hypoglycémie. (52) Cependant ces méthodes peuvent s'avérer contraignantes et invasives. En effet la mesure de la glycémie capillaire peut ne pas s'avérer pratique en ambulatoire, à terme cela peut entraîner une perte de sensibilité au bout des doigts, des callosités de la peau et des douleurs. Avec les capteurs, il y a des risques qu'ils se décrochent en enfilant un vêtement par exemple. Il arrive également que le capteur se décolle notamment au contact prolongé avec l'eau, ou qu'il provoque des réactions cutanées et allergiques chez certains patients. Le diabète fait partie des pathologies rejetant des COV spécifiques au moment des crises d'hypoglycémie et d'hyperglycémie. De ce fait l'analyse des COV dans l'air expiré pourrait être un futur moyen alternatif et non invasif permettant de surveiller la glycémie chez les patients. En effet cette méthode est totalement indolore, facilement acceptable chez les enfants et à l'avenir elle deviendra moins coûteuse que les méthodes actuelles. Pour exemple, l'utilisation d'un lecteur de glycémie nécessite des centaines de bandelettes et de lancettes par an pour un patient, ce qui ne sera plus nécessaire avec un appareil mesurant les COV dans l'air expiré. Enfin l'analyse de l'air expiré pourra être facilement exploitable dans le cadre de dépistage précoce du diabète dans la population générale. (53,54)

Une étude menée par l'Institute for Clinical and Translational Science (ICTS) datant de 2011 a été la première à mettre en évidence la possibilité d'estimer un niveau glycémique grâce à l'analyse des profils cinétiques de plusieurs COV expirés. (53) En effet pour que l'estimation soit précise il faut intégrer l'analyse de plusieurs COV spécifiques à la fois. L'étude a intégré 17 volontaires sains et 8 autres atteints de diabète de type 1 chez qui on a fait des injections de glucose suivies d'insuline afin de provoquer une période d'hyperglycémie et d'hyperinsulinémie pour analyser les résultats par la suite. Ils ont d'abord sélectionné un

ensemble de 20 COV spécifiques, puis ont généré plusieurs modèles prédictifs de la glycémie basés sur des groupes de 4 COV différents sélectionnés au sein de la liste de départ de 20 COV. Deux de ces groupes ont eu des valeurs de corrélation plus élevées que les autres. Il s'agit du groupe A constitué des COV suivants : acétone, nitrate de méthyle, éthanol et éthylbenzène, et du groupe B avec les COV : nitrate de 2-pentyle, propane, méthanol et acétone. Le coefficient de corrélation (unité comprise en -1 et 1) entre la mesure du glucose plasmatique et le modèle prédictif du groupe A est dans cette étude de 0,883, et celui du groupe B de 0,869. Or plus la valeur absolue tend vers 1, plus cela signifie que l'association entre les deux variables est importante. Cette première étude a donc permis de démontrer qu'il était possible d'estimer la concentration de glucose plasmatique en analysant la quantité dans l'air expiré d'un ensemble de 4 COV. (53)

Une revue systématique et méta-analyse de Wang *et al.*, parue en 2021, avait pour objectif d'identifier les biomarqueurs potentiels du diabète sucré et d'étudier la performance des tests respiratoires existants. (55) Cette revue systématique a inclus 44 recherches portant sur 2699 individus diabétiques et 14 études ont été utilisées pour la méta-analyse. Parmi ces 44 études, 16 COV biomarqueurs du diabète ont été rapportés dont 4 ont été signalés plus de deux fois. Ces 4 COV sont l'acétone, le dioxyde de carbone isotopique, l'isopropanol et le diméthyle. (55) Tout d'abord la relation entre l'acétone et le diabète est étudiée depuis les années 1940. Mais la preuve de sa validité en tant que biomarqueur du diabète n'est que récente. La méta-analyse a cependant montré que sa sensibilité était particulièrement limitée. En effet la concentration dans l'air expiré d'acétone est influencée par un grand nombre d'autres facteurs tels que le type de diabète, l'âge, le sexe, l'alimentation, l'exercice physique ou encore la prise de médicaments. Cependant il peut être exploité en tant que biomarqueur du diabète en étant couplé à d'autres COV. (55)

Le CO<sub>2</sub> expiré provient de l'oxydation du glucose. En effet le glucose par le processus de glycolyse est converti en pyruvate, oxydé en O<sub>2</sub> pour générer du CO<sub>2</sub> et synthétiser dans le même temps de l'ATP. Le diabète, en tant que pathologie métabolique modifie la production d'énergie cellulaire et ainsi la production de CO<sub>2</sub> respiratoire. En effet les études ont montré que la concentration des différents isotopes du CO<sub>2</sub> était modifiée dans l'haleine : le <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> avait une concentration diminuée après ingestion de <sup>13</sup>C-glucose, tandis que le C<sup>18</sup>O<sub>2</sub> était augmenté après ingestion de glucose chez les diabétiques.

L'isopropanol est un COV qui voit sa concentration augmenter dans l'haleine des patients diabétiques. Il est métabolisé à partir des propanoates. Des récentes études ont également



montré que l'enzyme alcool déshydrogénase était capable de convertir l'acétone en isopropanol au niveau du foie. Cependant l'analyse des données a montré une précision modérée dans le diagnostic, avec une sensibilité trop faible. (55)

Le quatrième COV est le sulfure de diméthyle. Ce composé organique volatil est un métabolite provenant de l'activité bactérienne intestinale. Les variations de concentration observées chez les patients diabétiques seraient induites par l'altération du microbiote intestinal causée par une carence en insuline. (55) C'est un COV intéressant à exploiter pour le diagnostic du diabète au vu de sa spécificité et sa sensibilité.

Il existe donc des COV marqueurs du diabète, présentant des spécificités et des sensibilités plus ou moins importantes pour cette pathologie. La méthode la plus simple qui permettra de diagnostiquer dans la population générale un diabète ou de mesurer un état hypo/hyperglycémique sera l'utilisation d'un nez bioélectronique. Elle serait intéressante car elle permettrait une surveillance non invasive du diabète. Il s'agirait de la technique la plus rapide, pratique et économique permettant de détecter la signature olfactive du diabète. Cette méthode ne permet cependant pas d'identifier la composition exacte en composants exhalés afin de repérer les biomarqueurs spécifiques.

### 1.3.3 L'épilepsie

L'épilepsie est une maladie neurologique chronique qui se caractérise par la survenue imprévisible de crises d'épilepsie. Ces crises se déclenchent à la suite de décharges excessives d'influx nerveux dans le cortex cérébral. On parle d'épilepsie partielle lorsque l'influx nerveux reste localisé au niveau du foyer épileptogène, dans ce cas la personne reste consciente. Ces crises partielles sont dites « simples » lorsque la personne perçoit quelques symptômes (hallucinations, contractions musculaires, ou fourmillements) et complexes lorsque que les symptômes se caractérisent en plus par un regard fixe, des gestes répétitifs, et lorsque la personne ne se souvient pas de la crise une fois cette dernière passée. On parle ensuite d'épilepsie généralisée lorsque l'influx nerveux se diffuse à l'ensemble des neurones. On peut alors distinguer quatre types d'épilepsie généralisées. Il y a tout d'abord les « absences » : c'est une crise d'épilepsie sans convulsion, avec un regard dans le vague, ce type de crise touche principalement les enfants. On parle ensuite de crises tonico-cloniques qui se traduisent par une perte de connaissance, une contraction musculaire intense, des convulsions, une absence de déglutition et donc la sécrétion importante de bave, parfois des vomissements, un arrêt bref de la respiration, et la perte d'urine et/ou de selles. Les deux derniers types de crises d'épilepsie

généralisées sont les crises atoniques qui entraînent une perte du tonus musculaire durant quelques secondes, et les crises myocloniques se traduisant par des secousses musculaires brusques et répétées le plus souvent le matin au réveil.

L'épilepsie touche 65 millions de personnes dans le monde. En France le nombre de personnes atteintes d'épilepsie est d'environ 600 000, dont la moitié a moins de 20 ans. 30% d'entre eux sont pharmaco-résistants, en effet ils ne parviennent pas à contrôler la survenue des crises à l'aide des médicaments. A l'heure actuelle, il n'existe aucun dispositif d'alerte de la survenue des crises pour les patients. Ces derniers vivent constamment dans la peur de l'apparition d'une crise et des risques qu'elles engendrent qui vont du risque de blessures notamment au moment de la chute, jusqu'au risque de mort subite. En effet la nature imprévisible de la survenue des crises est la cause principale de morbidité et de mortalité chez les patients épileptiques. (56–58) En amont de la crise, les personnes épileptiques sécrètent des COV spécifiques. Une alerte donnée avant la crise par un chien d'assistance formé à reconnaître ces COV ou à l'avenir par un appareil non invasif permettrait à ces personnes de se mettre en sécurité avant la survenue de la crise. Ainsi, en cessant de vivre avec ce stress, leur qualité de vie serait largement améliorée. Nous allons étudier dans cette partie les études ayant permis de mettre en évidence l'existence de cette signature olfactive.

Une étude de Catala *et al.* datant de 2020 avait pour objectif de prouver l'existence de cette signature olfactive en utilisant la spectrométrie de masse par flux d'ions sélectionnés (SIFT-MS). (59) Cette technique permet d'analyser un échantillon en temps réel en 3 étapes. La première étape consiste à choisir et générer les ions réactifs parmi huit pouvant être utilisés. Ces huit ions sont les suivants :  $\text{H}_3\text{O}^+$ ,  $\text{NO}^+$ ,  $\text{O}_2^+$ ,  $\text{O}^-$ ,  $\text{O}_2^-$ ,  $\text{OH}^-$ ,  $\text{NO}_2^-$  et  $\text{NO}_3^-$ . Une fois l'ion réactif sélectionné, ce dernier est mis en contact avec l'échantillon. Dans le cadre de cette étude les ions réactifs testés comme étant les plus pertinents étaient les suivants :  $\text{H}_3\text{O}^+$ ,  $\text{NO}^+$  et  $\text{O}_2^+$ . Les composés organiques volatils contenus dans l'échantillon sont ensuite ionisés par l'ion réactif en formant ainsi des ions caractéristiques du produit. La dernière étape est celle permettant de calculer la concentration de chaque composé en récupérant les ions produits et les ions réactifs inutilisés. (60) Dans cette étude, des échantillons ont été collectés chez 14 personnes épileptiques. Les patients ont essuyé un coton stérile sur leurs mains, leur front et leur nuque dans 5 situations différentes :

- Un échantillon prélevé pendant ou moins de 5 minutes après une crise
- Un échantillon prélevé pendant un exercice physique

- Un échantillon correspondant au dernier échantillon prélevé avant que la crise ne se produise
- Un échantillon n-2 prélevé juste avant l'échantillon n-1
- Un échantillon inter-critique prélevé au minimum six heures avant ou après une crise

Afin d'analyser les résultats, les échantillons ont été répartis en deux groupes, ceux liés à une crise (échantillon prélevé pendant la crise, n-1 et n-2) et ceux non liés à une crise (échantillon prélevé pendant un exercice physique et échantillon inter-critique). Les résultats obtenus ont été plus que concluant avec une sensibilité de 90% et une spécificité de 95,2%. Cela prouve l'existence d'une signature olfactive de l'épilepsie. Une des limites de cette étude est tout d'abord le nombre d'individus restreints. A l'avenir un nombre d'échantillons plus important améliorerait la validation du modèle. De plus cette méthode utilisant la SIFT-MS ne permet pas de déterminer la composition en composés organiques volatils de la signature olfactive de l'épilepsie, mais elle permet cependant bien de prouver l'existence de cette odeur spécifique de la crise d'épilepsie. (59)

Il a été mis en évidence par Maa *et al.* en 2021 (61), des composés organiques volatils uniquement présents dans les échantillons prélevés en postcritique chez les patients. Ces derniers sont libérés dans la respiration, la salive et dans la sueur. Il a en effet comparé les profils des COV dans les échantillons de patients épileptiques prélevés pendant et en dehors des crises et d'individus sains. Les composés organiques volatils trouvés uniquement dans les échantillons des patients épileptiques en postcritique comprennent la menthone, l'acétate de menthyle, le 3-éthoxy-3,7-diméthyl-1,6-octadiène, le camphre, le pentadécanal, le valencène, le (-)- $\beta$ -bourbène, le  $\beta$ -cubane et le 4-tert-butylcyclohexyl acetate. (61) Les fonctions remplies par ses COV n'ont cependant pas été réellement démontrées, mais leur mise en évidence est une avancée considérable pour la recherche sur les nez (bio)électroniques capables de prévenir l'arrivée d'une crise à un patient.

#### 1.3.4 Les pathologies infectieuses

Les pathologies infectieuses (bactériennes, virales ou parasitaires) entraînent également des modifications dans le métabolisme de l'organisme humain. Des composés organiques volatils spécifiques à ces différentes pathologies peuvent alors être sécrétés. Identifier ces biomarqueurs spécifiques aux maladies infectieuses fait l'objet d'un grand intérêt afin de développer ensuite des méthodes de diagnostics rapides, peu chères et efficaces se basant sur la détection de ces COV.

#### 1.3.4.1 Pathologie virale : La COVID-19

La COVID-19 est une maladie hautement contagieuse causée par le virus SARS-CoV-2 ayant provoqué une pandémie. A l'heure actuelle les deux méthodes de dépistage de référence de la COVID-19 sont le test RT-PCR et le test antigénique s'effectuant tous deux à partir d'un prélèvement nasopharyngé à l'aide d'un écouvillon. Ils nécessitent des installations spécifiques et du personnel qualifié. De plus c'est une méthode invasive pouvant être considérée comme inconfortable. Il serait intéressant de mettre au point une nouvelle technique de dépistage rapide, abordable, non invasive et permettant des dépistages de masse, se basant sur la signature olfactive de la COVID-19. Des chercheurs se sont donc intéressés aux COV pouvant être produits lors d'une infection par le SARS-CoV-2. (62)

Une revue systématique de Subali *et al.* publiée en 2022 (62) a sélectionné les études répertoriant les COV spécifiques retrouvés dans l'haleine des patients atteints de la COVID-19, analysant les performances diagnostics de ces COV et calculant la sensibilité et la spécificité de leurs méthodes. Ainsi dans l'étude de Berna *et al.*, six composés organiques volatils ont été retrouvés à des concentrations significativement élevées dans l'haleine d'enfants infectés par la COVID-19 (tableau 3) dont l'octanal, l'heptanal ou le tridécane. Les études de Grassin-Delyle *et al.* (2021)(63) et de Ruskiewicz *et al.* (2020)(64) ont également mis en évidence des COV à des concentrations particulièrement élevées dans l'haleine expiré dont la liste est répertoriée dans le tableau 3 (62). La signature olfactive des patients atteints de la COVID-19 s'est avérée être différente des personnes non-infectées par la COVID-19. En effet dans l'étude de Grassin-Delyle *et al.* les chercheurs ont pu différencier avec une sensibilité de 90% et une spécificité de 94% les échantillons COVID-19 + des autres échantillons en détectant en temps réel à partir de l'air expiré les concentrations en 4 COV : le méthylpent-2-éanal, le 2,4-octadiène, le 1-chloroheptane et le nonanal. L'étude de Ruskiewicz *et al.* a également pu différencier à l'aide d'une autre sélection de COV (octanal, éthanal, acétone, butanone et méthanol) les patients infectés des personnes non infectées à Edimbourg avec une sensibilité de 82,4% et une spécificité de 75% et à Dortmund avec une sensibilité de 90% et une spécificité de 80%. Ces trois études ont toutes pu différencier les échantillons d'individus non-malades des échantillons de patients malades, mais chacune à l'aide d'une sélection de COV différentes. (62–64)

**Tableau 3: COV retrouvés en concentration significativement plus élevée chez les patients atteints de la COVID-19 dans trois études différentes (62)**

COV	Etude de Berna <i>et al.</i>	Etude de Grassin- Delyle <i>et al.</i>	Etude de Ruszkiewicz <i>et al.</i>
Octanal	X		X
Nonanal	X	X	
Heptanal	X		
Ethanal			X
Acétone			X
Butanone			X
Décane	X		
Tridécano	X		
2-pentyl furane	X		
Méthylpent-2-énoal		X	
2,4-octadiène		X	
1-chlororheptane		X	
Méthanol			X

Il est donc possible de diagnostiquer la COVID-19 grâce aux composés organiques volatils retrouvés en concentration plus importante dans l'air expiré des patients lors de l'infection. Cette production accrue de COV lors d'une infection virale s'explique du fait que les virus ont besoin d'une cellule hôte afin de se répliquer. Ce sont les interactions entre le virus et l'organisme qui engendrent des changements métaboliques à l'origine d'une modification des COV produits. Cependant une harmonisation des résultats retrouvés dans ces études, ainsi que des recherches supplémentaires seraient nécessaires, afin de connaître la composition précise de la signature olfactive de cette pathologie.

#### 1.3.4.2 Pathologies bactériennes

Les infections bactériennes sont elles aussi susceptibles de modifier la composition en composés organiques volatils rejetés par l'organisme. Nous allons étudier ci-après un certain nombre d'infections bactériennes possédant une signature olfactive ayant été mis en évidence à ce jour par la littérature scientifique et pouvant être utilisée à des fins de diagnostic.

##### a. Infections respiratoires

La tuberculose et les infections à *Pseudomonas aeruginosa* sont deux pathologies respiratoires dont l'analyse des COV présents dans l'air expiré des personnes infectées ont été

analysés dans la littérature scientifique. Nous allons donc nous intéresser à la signature olfactive de ces deux pathologies.

La tuberculose est une maladie infectieuse constituant encore aujourd'hui un problème de santé publique majeure avec plus de 10 millions de personnes infectées et provoquant 1,4 millions de morts chaque année dans le monde. C'est une maladie très contagieuse provoquée par le bacille de Koch appelé également *Mycobacterium tuberculosis*. Les symptômes d'une tuberculose active sont une grande fatigue, un amaigrissement, de la fièvre, des douleurs aux articulations et des sueurs nocturnes. Elle peut également toucher les poumons et engendrer alors de la toux persistante, un essoufflement et parfois des crachats sanglants. Sans traitement la tuberculose devient chronique et provoque dans la moitié des cas le décès de la personne. La majorité des décès surviennent dans les pays en développement, mais cette infection est également préoccupante dans les pays industrialisés à cause de formes multi-résistantes de la bactérie, très longues et difficiles à traiter. (65,66)

Une étude de Phillips *et al.* (2007) (67) a étudié les COV présents dans l'espace de tête de culture de *Mycobacterium tuberculosis* en CPG-SM. 130 COV différents ont été systématiquement détectés dans les échantillons, certains présents en forte concentration comme le 1-méthylnaphtalène, le 1,4-diméthylcyclohexane, le 2,2,4,6,6-pentaméthylheptane et le 3-méthylbutanal. Dans cette même étude une analyse de l'air expiré a été effectué par CPG-SM chez 42 patients tuberculeux et 59 témoins. Les échantillons des patients atteints de tuberculose contenaient des biomarqueurs identiques à ceux ayant été observés dans les cultures in-vitro : le 1-méthylnaphtalène et le 1,4-diméthylcyclohexane, d'autres COV étaient quant à eux structurellement similaires à ceux des cultures in-vitro. Des marqueurs du stress oxydatif ont également été retrouvés dans les échantillons d'air expiré : des alcanes comme le tridécane, le cyclohexane, le benzène ou le décane. De plus, les résultats de cette étude ont suggéré la possibilité de distinguer la tuberculose pulmonaire active de la tuberculose non active. En effet un COV le 1,3,4-triméthylbenzène a été identifié comme étant un biomarqueur spécifique à la tuberculose active, tandis que le 1,2,3,4-tétraméthylbenzène n'a été retrouvé que dans les échantillons d'air expiré des patients atteints d'une tuberculose au stade non-actif. Une seconde étude de Banday *et al.* (2011) a également utilisé la CPG-SM couplée à un échantillonneur d'espace de tête afin d'étudier le profil de COV des patients tuberculeux mais sur des échantillons d'urine (68). L'analyse des résultats a donné cinq composés permettant avec une précision de 98,8% de discriminer les individus infectés par la

tuberculose des individus sains. Il s'agit de l'acétate d'isopropyle, du pentan-3-one, le diméthylstyrène, l'alpha-xylène et le cymol. (67–69)

Ces études exposent les modifications dans la composition en composés organiques volatils de l'haleine et des urines engendrées par la tuberculose du fait de la présence dans l'organisme de la bactérie *Mycobacterium tuberculosis* et du stress oxydatif que l'infection engendre. (69)

*Pseudomonas aeruginosa* est un agent pathogène pulmonaire opportuniste peu virulent chez les personnes non malades mais ayant la capacité de coloniser l'épithélium respiratoire des patients présentant des conditions prédisposantes : souffrant de mucoviscidose, de BPCO ou d'immunodéficience par exemple. Plusieurs études ont mis en évidence des biomarqueurs du *Pseudomonas aeruginosa*. Tout d'abord, la mesure de concentration dans l'espace de tête d'air expiré du 2-nonanone seul, a permis d'identifier l'infection avec une sensibilité de 72% et une spécificité de 88%. D'autres COV ont également été identifiés dans différentes études comme biomarqueurs des infections à *Pseudomonas aeruginosa* : le thiocyanate de méthyle, et le 2-aminoacétophénone. Le 2-aminoacétophénone est en effet produit par toutes les souches de *P. aeruginosa*, et leur donne une odeur spécifique de raisin, cependant la consommation de certains aliments peut conduire à une augmentation du taux de 2-aminoacétophénone et ainsi fausser les résultats des tests. Le cyanure d'hydrogène (HCN) a lui aussi été retrouvé à de fortes concentrations dans l'espace de tête des cultures in vitro de *Pseudomonas aeruginosa* ainsi que dans les échantillons d'air expiré d'enfants atteints de mucoviscidose. Cependant il est important de noter que le HCN a également été rapporté comme étant un biomarqueur d'infection à *Helicobacter pylori*. Certains COV peuvent en effet être identiques d'une pathologie à une autre d'où l'intérêt de s'intéresser à un profil de COV spécifique pour effectuer un diagnostic plutôt que de n'utiliser qu'un biomarqueur unique. Il serait donc intéressant d'utiliser un profil de plusieurs COV spécifiques afin de détecter avec précision une infection à *P. aeruginosa*. (69–71)

#### b. Pathologies gastro-intestinales

Les infections à *Clostridium difficile* et à *Helicobacter pylori* sont toutes deux des pathologies gastro-intestinales dont l'existence de la production de composés organiques volatils spécifiques a été démontrée par la littérature scientifique. Les études conduisant à l'identification de ces COV permettront par la suite de mettre au point de nouvelles méthodes de diagnostic basées sur la reconnaissance de ces signatures olfactives.

*Clostridium difficile* est un agent pathogène à gram positif fréquemment nosocomial affectant jusqu'à 3 millions d'individus par an. C'est une infection du tractus gastro-intestinal potentiellement mortelle. Selon le rapport de la HAS de 2016, les trois techniques de diagnostics d'infection à *Clostridium difficile* qui sont le test de culture toxigénique, le test de cytotoxicité et le test de détection des toxines dans les selles, ne sont pas suffisamment sensibles et spécifiques pour être utilisés seuls dans le diagnostic de cette infection. Il existe également deux autres techniques de diagnostic : la détection de la GDH (glutamate déshydrogénase) dans les selles (une enzyme produite par le *Clostridium difficile*), et la technique d'amplification des acides nucléiques de *C. difficile* (TAANs) qui permet de détecter l'ADN de la bactérie, elle cible les gènes codant différentes toxines produites par la bactérie. La stratégie de diagnostic actuelle se base donc sur la recherche en plusieurs étapes des preuves de présence de la bactérie. La recherche de la GDH suivie en cas de positivité de la recherche de toxines dans les selles est un exemple de parcours diagnostic pouvant s'avérer long et fastidieux. Mettre au point un test de diagnostic rapide basé sur la détection des COV, non invasif, plus spécifique et plus sensible serait alors une stratégie intéressante. (69,72–74)

Patel *et al.* ont publié en 2019 un article présentant une liste de COV identifiés comme étant spécifiques de l'infection à *Clostridium difficile* (75). Les chercheurs ont sélectionné 24 biomarqueurs candidats à partir d'une revue de la littérature. Ils ont mesuré les taux de concentration de ces COV retrouvés dans les échantillons de selles congelés de 53 patients positifs à l'infection à *Clostridium difficile* et de 53 individus négatifs à l'infection. Ainsi ils ont pu identifier 7 composés indicatifs de l'infection : le propan-1-ol, le 3-méthylbutanal, le propanoate d'éthyle, l'acide hexanoïque, le 4-méthylphénol, le dodécane ainsi que l'indole. Cette approche est donc prometteuse afin de développer une technique de diagnostic rapide de l'infection à *Clostridium difficile*. (75)

L'infection à *Helicobacter pylori* est fréquente (selon la HAS 15 à 30% de la population serait contaminée par cette bactérie). Elle colonise la muqueuse gastrique et elle peut être à l'origine d'ulcères gastroduodénaux et de cancers gastriques. Il est important de rechercher une infection à *H. pylori* dans certaines situations, notamment en cas d'ulcère gastrique ou duodéal, de dyspepsie chronique, d'anémie par carence en fer ou en vitamine B12 sans cause trouvée ou en cas de lymphome gastrique. Différentes techniques de diagnostic existent à ce jour : la sérologie suivie d'une gastroscopie ou la gastroscopie seule suivant les symptômes et les facteurs de risque du patient. Il existe également le test respiratoire à l'urée fréquemment utilisé comme méthode non invasive, qui consiste à faire ingérer au patient de l'urée marquée



par l'isotope  $^{13}\text{C}$  qui sera en cas d'infection hydrolysé en ammonium et bicarbonate par l'uréase bactérienne. Les bicarbonates donneront ensuite du gaz carbonique marqué qui sera expiré. La mesure de la différence de proportion  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  dans l'air expiré avant et après l'absorption de l'urée permet d'identifier la présence ou non de la bactérie. Cependant les infections à *Helicobacter pylori* sont également émettrices de composés organiques volatils. Ulanowska *et al.* (2011) ont notamment détecté trois COV endogènes présents chez les individus infectés par *H. pylori* et absents chez les individus sains de l'étude (76). Ils ont récupéré les échantillons d'air expiré et ont utilisé la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Les biomarqueurs ayant été retrouvés chez les patients infectés sont l'isobutane, le 2-butanone et l'acétate d'éthyle. De plus comme vu précédemment, le cyanure d'hydrogène (HCN) est émis par les cultures à *H. pylori* mais également à *Pseudomonas aeruginosa*. Enfin Matthias Lechner *et al.* ont mesuré des taux de nitrate d'hydrogène significativement plus élevés dans l'air expiré des patients infectés par la bactérie. D'autres méthodes de diagnostic par mesure de ces COV spécifiques pourraient donc également être mis au point. (69,76–78)

### c. Infections des voies urinaires

Les infections urinaires (IU) peuvent toucher la vessie (cystite), l'urètre (urétrite) ou encore les reins (pyélonéphrite). Elles sont généralement initiées par la pénétration dans les voies urinaires de bactéries du tractus intestinal. *Escherichia coli* est la bactérie responsable en grande majorité des infections urinaires. *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp. ou *Klebsiella pneumoniae* sont également des agents pathogènes pouvant être à l'origine de ces infections. Le diagnostic des IU se fait actuellement à partir d'échantillons d'urines mis en culture. Le délai d'identification des bactéries est compris entre 24 et 72 h, ce qui retarde la prise en charge des patients. Il existe également les bandelettes urinaires qui détectent ou non la présence de nitrites et de leucocytes dans l'urine, présents en cas d'infection urinaire. Cependant la sensibilité et la spécificité de ces bandelettes urinaires sont limitées, et ne permettent pas d'identifier la souche en cause de l'IU. Les premières études ayant permis d'identifier les COV spécifiques des infections urinaires datent des années 1970. Elles ont notamment mis en évidence la production d'éthanol par les bactéries (*E. coli*, *Proteus* spp., et *Klebsiella* spp.) dans des quantités proportionnelles à la concentration en bactérie, ce qui permettait d'identifier la charge bactérienne de l'échantillon. La triméthylamine est un COV qui a été détecté dans les infections à *Proteus* spp. et *Klebsiella* spp. Le méthylmercaptan a été suggéré comme biomarqueur spécifique des infections à *Proteus* spp. L'acétate d'éthyle est un COV également produit lors

d'infections par différentes souches bactériennes (*E. coli*, *Proteus spp.* et *Klebsiella spp.*). Le tableau 4 (79) présente les composés organiques volatils les plus courants dont la production par les agents pathogènes responsables des infections urinaires a été démontré. L'analyse des COV permettant d'identifier la souche responsable d'une IU est complexe du fait des nombreux chevauchements de COV identiques entre espèces rendant la discrimination difficile. Ces études ont permis de démontrer que les infections urinaires étaient également productrices de COV, ce qui est prometteur afin de développer de nouvelles méthodes de diagnostic. Cependant il est difficile de discriminer une bactérie par rapport à une autre avec une simple analyse des COV présents dans les urines. Les nez bioélectroniques en développement dont nous reparlerons par la suite, utilisent quant à eux des techniques de reconnaissances de formes performantes permettant de discriminer avec une sensibilité et une spécificité pouvant aller respectivement jusqu'à 90% et 96%, et permettant l'identification des souches bactériennes. (79,80)

**Tableau 4: Principaux COV produits par les bactéries responsables des infections urinaires (79)**

<b>Souches bactériennes</b>	<b>Composés organiques volatils principaux</b>	
<i>Escherichia coli</i>	- Ethanol - Acétate d'éthyle	- Diméthyldisulfure - N-propanol
<i>Proteus spp.</i>	- Méthylmercaptan - Ethanol - Acétate d'éthyle	- Diméthyldisulfure - Triméthylamine
<i>Staphylococcus spp.</i>	- 3-Hydroxybutanone - Butan-1-ol - Butan-2-ol	- Toluène
<i>Klebsiella spp.</i>	- Ethanol - Acétate d'éthyle - Triméthylamine	- Butan-1-ol - Butan-2-ol - Toluène

#### 1.3.4.3 Les maladies parasitaires : le paludisme

Les parasites du paludisme sont à l'origine d'une modification des COV rejetés par leur hôte pour plusieurs raisons : par interaction directe avec les globules rouges de l'hôte mais aussi en provoquant des altérations dans la composition microbienne de la peau de l'hôte. Une revue systématique portant sur les biomarqueurs volatils du paludisme a été publiée en novembre

2021. Les études identifiant des COV émis par les patients infectés par le paludisme ne sont pas nombreuses. Dans une première étude de Schaber *et al.* (2018), six COV présents dans l'air expiré d'enfants positifs au paludisme ont été identifiés comme étant biomarqueurs de la maladie, avec une sensibilité de 94% et une spécificité de 71%. Ces COV sont le diméthyldécane, le 2,2,3-triméthylhexane, le nonanal, l'isoprène et le tridécane. Cependant les COV identifiés comme biomarqueurs du paludisme diffèrent d'une étude à l'autre. Plusieurs raisons sont à l'origine de ce constat. Tout d'abord les études publiées à ce jour sont encore au stade préliminaire, elles ont été menées à petite échelle et dans des zones géographiques restreintes. Or la génétique varie d'une population à une autre ainsi que les facteurs environnementaux peuvent être à l'origine de modifications de l'odeur corporelle. La composition en COV rejetés lors d'une infection par le paludisme mesurée est alors différente dans chaque étude. De plus certains COV peuvent également être retrouvés dans l'alimentation, les cosmétiques ou en tant que biomarqueurs d'autres pathologies. Pour exemple, l'hexanal, fréquemment retrouvé dans la composition des COV spécifiques du paludisme est utilisé en tant qu'arôme alimentaire, il est également un biomarqueur du cancer des poumons et du sein. Cependant certains COV permettent de détecter avec précision certaines espèces de *Plasmodium* tels que le *P. falciparum* et le *P. vivax*, il s'agit du terpinolène et du m-cymène. Pour conclure, afin de diagnostiquer avec précision le paludisme il est nécessaire de se référer à un ensemble de COV. A l'avenir, avec le développement rapide des instruments analytiques et notamment des nez bioélectroniques, il sera possible d'utiliser les biomarqueurs volatils dans le diagnostic du paludisme. (81)

### 1.3.5 Les pathologies à l'origine d'inflammations chroniques

Certaines pathologies sont à l'origine d'inflammations chroniques des voies respiratoires comme l'asthme et la bronchopneumopathie chronique obstructive. D'autres provoquent des inflammations chroniques du tractus intestinal comme les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin : la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique. Ces processus inflammatoires entraînent un stress oxydatif accru dans l'organisme de ces patients. Des COV spécifiques du stress oxydatif sont donc produits en grande concentration chez les individus atteints de ces pathologies. L'oxyde nitrique (NO) est un exemple de biomarqueur présent dans l'air expiré lors de la présence d'une inflammation pulmonaire ou d'un stress oxydatif provoqué par différentes pathologies pulmonaires comme l'asthme et la bronchopneumopathie chronique obstructive. Des niveaux de concentration élevés en éthane et pentane dans l'air expiré ont également été rapportés dans la littérature scientifique chez les

patients atteints de pathologies respiratoires. De plus, à partir d'échantillons d'air expiré analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, plusieurs études ont montré la possibilité de différencier la signature olfactive des patients atteints de BPCO, d'asthme et de ceux souffrant d'une exacerbation de ces maladies. Cette découverte permettrait ainsi de prédire ces exacerbations avant que les premiers symptômes ne surviennent. (82,83)

Nous avons pu étudier les différentes pathologies provoquant une modification de la composition des COV rejetés naturellement par l'Homme. Les cancers, le diabète, l'épilepsie, les pathologies infectieuses ainsi que les pathologies inflammatoires chroniques sont toutes à l'origine d'une modification de la composition en composés organiques volatils de l'organisme. Ce sont des pathologies possédant une signature olfactive propre permettant d'être détecté par les chiens odorants ainsi que par des instruments analytiques performants comme les nez (bio)électroniques. Cependant, la signature olfactive de beaucoup d'autres pathologies reste encore mal connue. De plus le mécanisme de formation de ces COV est également souvent inexpliqué.

## **2 Education de chiens à la reconnaissance de la signature olfactive d'une pathologie**

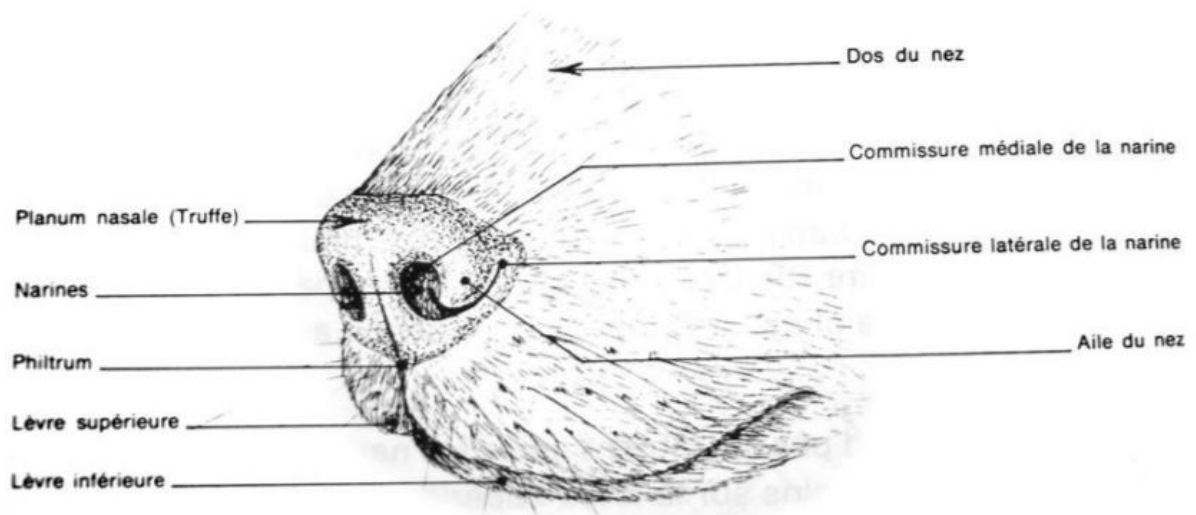
L'olfaction chez le chien est son sens le plus développé. Il fait ainsi partie des animaux que l'on appelle macrosmatiques : animaux pour qui l'odorat leur permet de recueillir toutes sortes d'informations importantes sur l'environnement et les individus qui les entourent et prendre des décisions en conséquence. A l'heure actuelle, les chiens sont principalement utilisés pour l'identification d'explosifs, de drogues ou de personnes. Or en raison de leur sens olfactif très développé, le chien pourrait également nous accompagner comme chiens odorants médicaux dans le diagnostic de certaines pathologies ou être utilisé en tant que chien d'assistance en détectant les composés organiques volatils rejetés par l'être humain et que le chien est capable de percevoir. Ces dernières années des études sont en cours dans ce sens. Nous étudierons dans cette partie l'anatomie de la truffe du chien ainsi que les capacités olfactives particulières lui conférant cette aptitude à détecter les COV rejetés par l'être humain. Puis nous nous intéressons aux pathologies que le chien a la capacité de détecter ainsi qu'aux associations d'éducation canine existantes et à leurs méthodes d'apprentissage permettant de former des chiens d'assistance à la reconnaissance de ces COV.

### **2.1 Anatomie et fonctionnement de l'appareil olfactif du chien**

Nous allons dans un premier temps nous intéresser à l'anatomie du museau du chien. Ce dernier est composé de plusieurs parties : le nez externe, les cartilages nasaux ainsi que les cavités nasales.

#### **2.1.1 Le nez externe**

Le nez externe appelé truffe ou planum nasale est humide et globuleux, il possède deux narines séparées par un septum nasale cartilagineux et osseux. La partie inférieure de la truffe est délimitée par le philtrum appelé également sillon naso-labial, séparation entre la lèvre supérieure du chien et la base de son nez. Les narines possèdent une fente en forme de virgule en direction latérale et sont donc composées d'une commissure médiale et d'une commissure latérale (figure 6). (84–86)



**Figure 6: Narines et truffe du chien [86]**

La truffe est composée de dermatoglyphes : des petites plaques de forme polygonale séparées par les sillons papillaires. Ce motif créé par les dermatoglyphes (figure 7) est unique et propre à chaque individu, comme l'est l'empreinte digitale chez l'Homme.



**Figure 7: Dermatoglyphes de la truffe du chien (photo personnelle)**

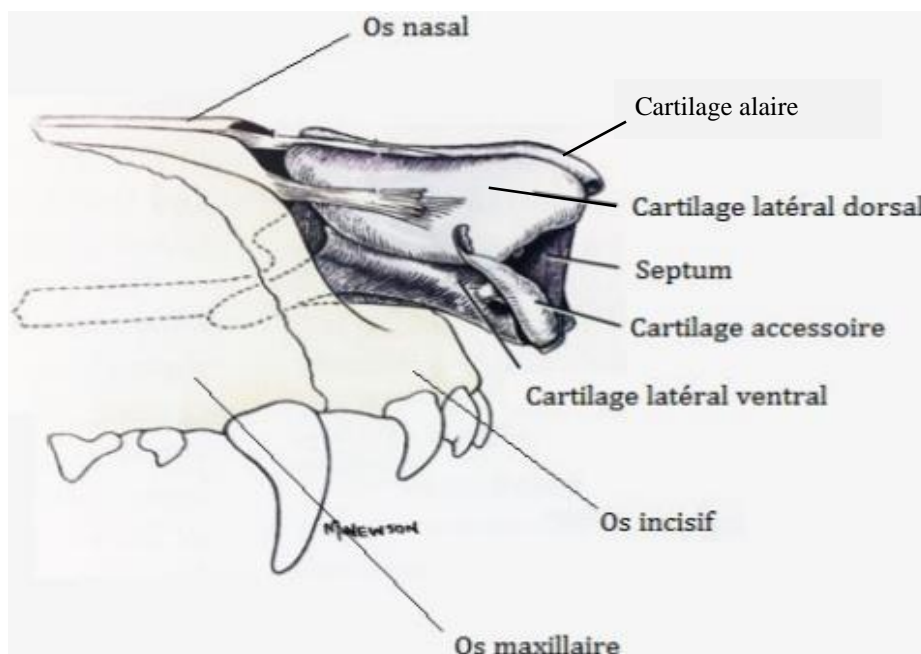
### 2.1.2 Les os et cartilages

Trois os constituent la structure osseuse de l'appareil olfactif du chien : l'os nasal forme la partie supérieure, tandis que l'os incisif et l'os maxillaire constituent les parties latérales. (87)

Les différents cartilages forment la charpente cartilagineuse du nez et permettent aux narines d'être mobiles.

Cette charpente est constituée d'un cartilage central, c'est le septum nasal, de trois cartilages latéraux principaux, ainsi que de cartilages accessoires (figure 8) (85,87) :

- Le septum nasal est cartilagineux et devient fibreux dans sa partie terminale. C'est le cartilage central, unique, situé entre les deux narines.
- Le cartilage alaire est situé au niveau de la partie supérieure de la truffe. Il donne la forme de l'aile du nez.
- Le cartilage latéral ventral est situé dans la continuité de l'os incisif et constitue la paroi latérale du vestibule nasal.
- Le cartilage latéral dorsal est une expansion du cartilage septal et constitue le plafond du vestibule nasal. Il représente la plus grande partie de la partie mobile de la truffe.
- Le cartilage accessoire latéral au niveau de la bordure ventrale du nez a une forme d'ancre marine et est soudée au cartilage alaire au niveau de sa corne.
- Le cartilage accessoire médial renforme le pli alaire.



**Figure 8 : Schéma de la vue latérale des cartilages nasaux du chien [85]**

### 2.1.3 Les muscles

Les muscles jouant un rôle dans l'olfaction chez le chien sont ceux permettant aux narines d'être mobiles et ainsi de varier leur dilatation. De ce fait en fonction de la dilatation des narines les échanges d'airs sont plus ou moins importants, faisant varier ainsi le débit d'air inspiré et expiré. (88)

Chez le chien, l'air inspiré rentre au niveau de la commissure médiale de la narine, tandis que l'air expiré ressort au niveau de la commissure latérale de la narine. Cela a pour effet de créer des tourbillons d'air et ainsi de capter en quantité plus importante des molécules organiques

volatiles au niveau de ses cavités nasales. De plus le chien est capable de différencier la provenance des odeurs. Avec sa narine gauche il détecte les molécules odorantes provenant de sa gauche et inversement avec sa narine droite.

Les muscles permettant la mobilité des narines sont (88):

- Le muscle dilatateur des narines qui joint les deux narines au niveau du cartilage alaire
- Le muscle releveur naso-labial
- Le muscle canin qui est le muscle élévateur de la lèvre supérieure, il tire les narines vers l'arrière
- Le muscle nasal latéral est quant à lui le muscle constricteur des narines.

#### 2.1.4 Les nerfs impliqués dans l'olfaction

L'important réseau de nerfs olfactifs au niveau du nez du chien, lui confère en partie ses grandes capacités d'olfaction. Le nerf olfactif regroupe en réalité un grand nombre de filets nerveux nommés « nerfs olfactifs ». La réunion des axones provenant des cellules olfactives forme ses filets nerveux. Ils se rejoignent entre eux et traversent ensuite la lame criblée vers le bulbe olfactif, centre primaire de l'olfaction au niveau du cerveau.

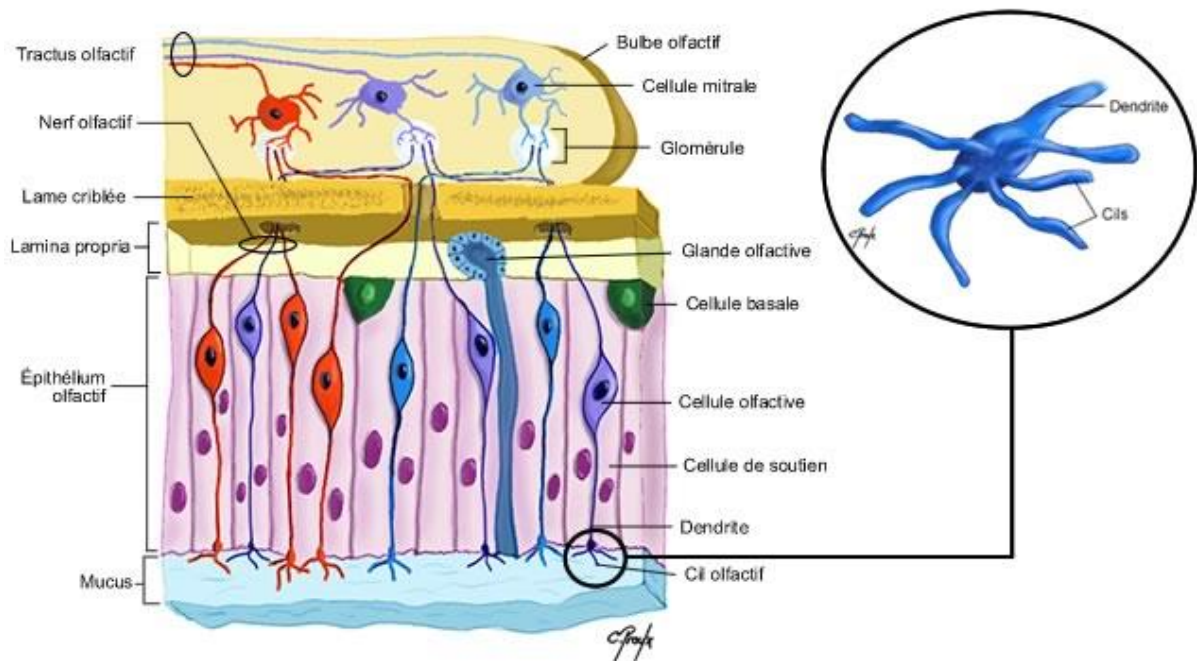
#### 2.1.5 Les cavités nasales, méats, sinus paranasaux et muqueuse olfactive

Les cavités nasales du chien forment la partie supérieure de l'appareil respiratoire. Elles ont pour rôle : la purification de l'air (à l'aide de la muqueuse ciliée), son réchauffement (par la vascularisation) ainsi que son humidification (à l'aide des sécrétions produites par les glandes nasales). (88) De plus c'est le lieu de l'olfaction, ce qui nous intéresse tout particulièrement afin de comprendre comment sont captés les COV.

Les deux cavités nasales s'étendent des vestibules des narines jusqu'aux choanes. Elles sont séparées sur la partie médiale par le septum nasal, et sont séparées de la cavité crânienne par la lame criblée de l'ethmoïde. Cette lame osseuse appartenant à l'os ethmoïde est perforée de trous. Cette dernière a pour rôle de laisser passer les filets des nerfs olfactifs. Ces cavités nasales communiquent avec les sinus frontaux et maxillaires, avec la cavité buccale et orbitale ainsi qu'avec le rhino-pharynx. Elles sont tapissées par l'épithélium olfactif, une muqueuse nasale contenant de très nombreuses cellules olfactives reposant sur de minces lames osseuses



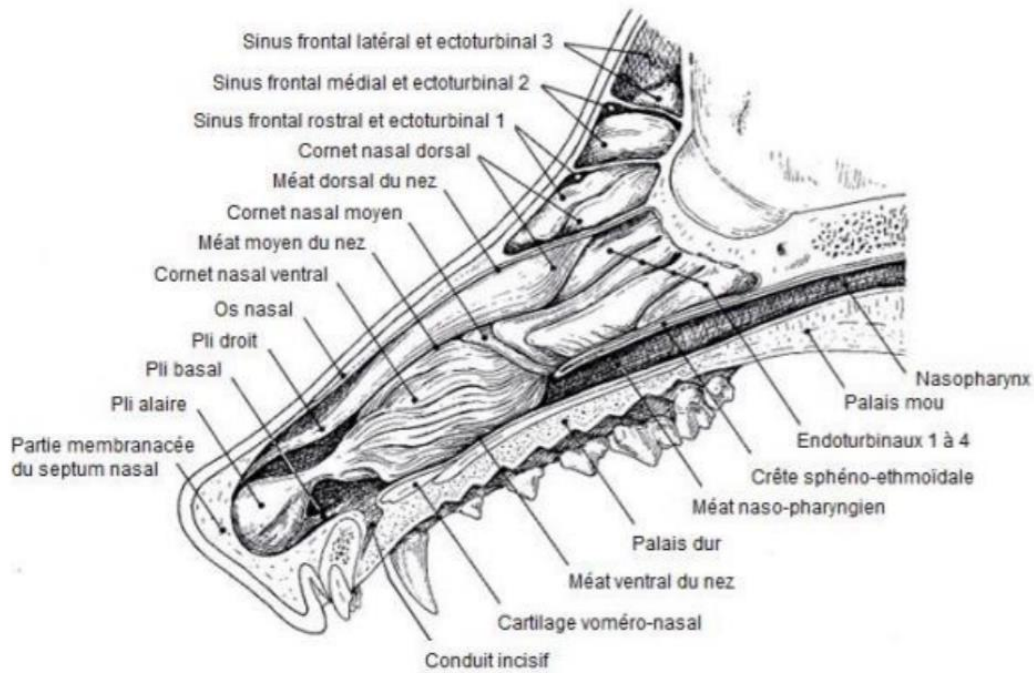
enroulées en spirale sur elles-mêmes: les cornets nasaux (ventral, moyen et dorsal) rattachés quant à eux à l'os ethmoïde (figure 9) (89). Ces cellules olfactives baignent dans un mucus et possèdent des dendrites prolongées de cils olfactifs capables de capter les molécules odorantes (100 à 150 cils par cellule).(90,91)



**Figure 9: Schéma de l'épithélium olfactif (89)**

Les cornets dorsal et ventral du chien séparent et délimitent trois méats entre eux : le méat dorsal, le méat moyen et le méat ventral. Le méat ventral se trouve à l'étage inférieur des cavités nasales. Ce dernier s'ouvre sur les méats naso-pharyngiens qui débouchent quant à eux sur les choanes. (87) Les choanes sont les orifices postérieurs internes des fosses nasales permettant de communiquer avec le nasopharynx. Le méat moyen communique caudalement avec le méat ventral. (90)

Les sinus paranasaux sont au nombre de trois : le sinus frontal divisé en trois parties (latéral, médial et rostral), le sinus maxillaire et le sinus sphénoïdal (figure 10) (87). Ce sont des cavités remplies d'air, on parle de pneumatisation. Ils ont pour rôle d'alléger le poids total de la tête, ils servent également de protection en cas de choc, au système nerveux notamment. Ils jouent également un rôle dans l'olfaction. Les sinus frontaux et sphénoïdaux sont tapissés chez le chien par une muqueuse respiratoire, ce qui leur confère une fonction olfactive. (87,88)



**Figure 10 : Schéma en coupe sagittale des cornets et des méats nasaux chez le chien [87]**

#### 2.1.6 L'épithélium olfactif et les cellules réceptrices olfactives

La surface de l'épithélium olfactif détermine sa capacité à capter des signaux odorants même très faible. Le Berger allemand est la race détenant la plus grande surface d'épithélium olfactif, elle varie entre 96 et 200 cm<sup>2</sup>, pour autre exemple chez un cocker elle est d'environ 67 cm<sup>2</sup>.(91)

L'épithélium olfactif contient entre 125 et 300 millions de neurones récepteurs olfactifs (NRO) (ou cellules réceptrices olfactives CRO), tandis que l'être humain n'en possède environ que 5 millions. Chaque cellule possède des centaines de cils, contre 25 par cellule chez l'être humain. Ils sont donc capables de détecter des molécules odorantes à des concentrations significativement plus faibles que l'être humain. (91,92)

La membrane des cils des CRO se compose de deux parties. La première, extracellulaire, est celle sur laquelle se lie les molécules odorantes. La deuxième partie est intracellulaire et est couplée à une protéine G. Cette protéine G est activée lorsque la molécule odorante se pose sur le cil, la sous-unité alpha de la protéine G se détache alors, elle active à son tour une enzyme, l'adénylate-cyclase qui convertit ensuite l'ATP (Adénosine-Triphosphate) présent dans la cellule en AMPc (Adénosine Monophosphate Cyclique). L'AMPc permet d'obtenir une

amplification du signal, en activant des canaux sodiques. L'ouverture des canaux sodiques entraîne une dépolarisation et un potentiel d'action (influx nerveux) qui se propage à travers le bulbe olfactif vers le cerveau. Chaque molécule odorante est reconnue à l'aide d'une combinaison unique de récepteurs olfactifs activés. La capacité du chien à reconnaître une odeur spécifique repose sur cette composante. Ces NRO sont des neurones de premier ordre qui envoient leurs signaux par un axone unique. En effet un grand nombre de neurones de premier ordre convergent vers des glomérules composés d'un nombre de cellules plus petit. C'est donc au niveau du centre olfactif primaire (bulbe olfactif) que se passe le premier relais entre les neurones récepteurs olfactifs et les neurones de second ordre. Les NRO exprimant le même type de récepteur réagissent aux mêmes odeurs et se situent à divers endroits de la muqueuse olfactive mais ils se retrouvent ensuite dans un même glomérule. L'influx nerveux traverse ensuite les différentes couches concentriques de cellules neuronales pour atteindre le pédoncule olfactif. (92) (93)

#### 2.1.7 La partie olfactive du cerveau chez le chien

Le bulbe olfactif abouche sur les centres olfactifs secondaires composés du noyau olfactif antérieur et du cortex olfactif. Les centres secondaires se projettent ensuite sur les centres olfactifs supérieurs au niveau du néocortex, notamment au niveau du système limbique. Ce dernier est entre autres composé de l'amygdale et de l'hippocampe. L'hippocampe est responsable de la mémoire des odeurs à long terme, tandis que l'amygdale est ce que l'on appelle le cerveau émotionnel, il permet de relier des odeurs à des souvenirs et en susciter des émotions. (93)

Le cerveau du chien possède un lobe olfactif très développé, environ quatre fois plus grand que celui de l'Homme. Il fait en effet partie des animaux macrosmatiques, c'est-à-dire dont le sens de l'odorat est le sens prépondérant, lui permettant d'analyser le monde extérieur. En effet la mémoire du chien repose essentiellement sur les odeurs, lorsque chez l'être humain celle-ci repose essentiellement sur la vision. (93)

#### 2.1.8 Le système olfactif accessoire chez le chien

Il existe chez le chien un système olfactif accessoire composé de l'organe voméro-nasal uniquement présent à l'état vestigial chez l'Homme, ainsi que de l'organe septal de Masera et

du ganglion de Grueneberg absents chez l'Homme. De ce fait on peut décrire chez le chien 4 neuroépithéliums possédant chacun des caractéristiques morphologiques et topographiques spécifiques. Il s'agit de l'épithélium du système olfactif principal décrit précédemment, de l'épithélium de l'organe voméro-nasal, et de ceux de l'organe septal de Masera et de l'organe de Grueneberg. Leurs structures sont chacune spécialisées dans la perception de molécules odorantes spécifiques. (93)

#### 2.1.8.1 L'organe voméro-nasal

L'organe voméro-nasal, également appelé l'organe de Jacobson est un organe olfactif bilatéral situé derrière les incisives supérieures du chien, au niveau de son palais. Il possède son propre épithélium olfactif. Cet organe est présent chez les mammifères et les reptiles. Leur taille diffère selon les espèces. Chez l'homme il n'est présent qu'à l'état vestigial, chez le chien sa taille moyenne est de 4cm environ. Il est constitué de deux sacs allongés (canalicules) remplis de liquide. Il est également tapissé d'une muqueuse olfactive et respiratoire. Il est innervé par le nerf voméro-nasal qui rejoint le centre de l'olfaction au niveau du cerveau. Cet organe possède plusieurs fonctions, il joue un rôle dans l'apprentissage et dans la perception des odeurs, il permet la perception des phéromones. Il possède un rôle important dans les comportements liés à l'activité sexuelle. Un chien dépourvu de l'organe voméro-nasale verra son activité sexuelle fortement diminuée. Enfin il est impliqué dans les interactions mère-petit. Afin de véhiculer les molécules odorantes au niveau de cet organe, les chiens effectuent un rictus appelé « flehmen », en retroussant leurs lèvres supérieures. (88,91), (93,94)

#### 2.1.8.2 L'organe septal de Masera

Il est bilatéral et se situe à la base de la cloison nasale, il s'agit d'une petite zone d'épithélium olfactif distincte de l'épithélium olfactif principal. Des scientifiques ont démontré que cet organe était capable de détecter des molécules odorantes à des concentrations beaucoup plus faibles que l'organe olfactif principal. Cette sensibilité accrue aurait pour rôle d'alerter le chien sur la présence d'odeurs et de laisser ensuite à l'organe olfactif principal le rôle d'interprétation de ses odeurs. (95,93)

### 2.1.8.3 Le ganglion de Grueneberg

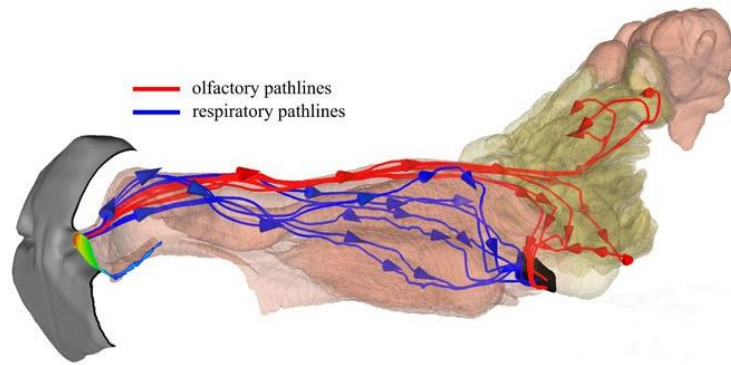
Il s'agit d'un amas de cellules de forme et de disposition très spécifiques du reste des neurones olfactifs classiques. En effet ces cellules sont ovales et accolées entre elles en formant des grappes. Contrairement au reste des neurones récepteurs olfactifs elles ne sont pas directement en contact avec les cavités nasales mais entourées de cellules gliales (cellules de soutien du système nerveux entièrement silencieuses). Ce ganglion jouerait un rôle olfactif chez le chien dans les interactions mère-petit ainsi que dans la réponse aux phéromones d'alarme. (93,96)

## 2.2 Capacités olfactives de la truffe du chien

Comme vu précédemment la cavité nasale du chien possède une structure complexe lui conférant une capacité à détecter les odeurs 10 000 à 100 000 fois supérieure à celle de l'être humain. Au moment où le chien renifle, l'air entre au fond de la cavité nasale au niveau de la cavité olfactive. Les composés organiques volatils se dissolvent alors dans le mucus de l'épithélium olfactif. Ainsi les molécules odorantes se fixent sur les cils des cellules olfactives déclenchant alors un influx nerveux qui sera transmis au bulbe olfactif (centre olfactif primaire) jusqu'au nerf olfactif qui va envoyer les informations au centre olfactif du cerveau (centre olfactif secondaire). Nous allons dans cette partie mettre en évidence ce qui confère aux chiens en plus de son anatomie particulière, ses capacités olfactives impressionnantes, lui permettant de détecter des composés organiques rejetés par les pathologies.

### 2.2.1 Les flux d'air dans la narine du chien

Un bioingénieur Brent Craven a modélisé le flux d'air de chien à l'air d'IRM haute résolution. Il a mis en évidence la capacité du chien à séparer l'air inspiré en deux flux d'air distincts à l'intérieur de la narine, grâce à la présence d'un pli de tissu. Le flux d'air rapide se dirige vers l'épithélium olfactif (trajet rouge sur la figure 12) tandis que le flux d'air plus lent sert à la respiration en se dirigeant vers les poumons (trajet bleu sur la figure 12). En effet, environ 12% de l'air inhalé se dirige vers la zone dédiée à l'olfaction se situant à l'arrière du nez. (97)



**Figure 11: Trajet des flux d'air dans les narines du chien [97]**

Même après l'expiration du chien, les molécules odorantes sont retenues dans le mucus des récepteurs olfactifs. Enfin, l'air expiré par le chien sort par les commissures latérales de la fente du nez, cela crée un tourbillon d'air permettant l'inspiration d'une plus grande quantité de nouvelles odeurs. (97)

De plus le chien est dans la capacité d'avoir un comportement de reniflement, ce qui accélère la quantité d'air inhalée et parallèlement de composés organiques volatils. Le professeur B. Steen a observé la capacité du chien à renifler jusqu'à 210 fois par minute au cours de la chasse. Lorsqu'un chien recherche une odeur humaine, il est capable de renifler jusqu'à six fois par seconde, et plus l'exercice de recherche d'odeur est difficile pour lui plus il va chercher à renifler vite. De plus il a tendance à renifler plus vite dans le noir afin de compenser son manque de vision pour une meilleure olfaction lui permettant de surveiller son environnement. (91,97)

Chaque narine du chien est également capable d'inspirer un échantillon d'odeur séparé et de l'analyser séparément. Le chien peut ainsi savoir quelle narine aspire une odeur donnée et de cette manière connaître la direction d'où provient cette odeur. (98)

### 2.2.2 La perception olfactive du chien

La perception olfactive du chien résulte d'une part de la concentration en odorant et d'autre part de la nature de cette odeur. Plusieurs paramètres que nous allons définir ci-après rentrent en compte afin d'obtenir cette perception olfactive spécifique du chien. Il s'agit du seuil de détection olfactif, du temps de latence ainsi que du phénomène d'adaptation ou fatigue olfactive. (93)

Le seuil de détection olfactif correspond à la concentration minimale d'un composé odorant nécessaire afin qu'il soit détectable par un individu. Le seuil de détection du chien est très faible. Il est estimé être compris entre des parties par milliard (ppb) et parties par billion (ppt). Ce sont des seuils auxquelles les composés organiques volatils endogènes sont présents dans l'air expiré, ce qui explique la capacité des chiens à détecter ces COV. (99)

Le temps de latence correspond quant à lui à la durée s'écoulant entre l'entrée en contact du chien avec une molécule odorante et le moment à laquelle l'odeur est perçue et assimilée par ce dernier. Il est de l'ordre du dixième de seconde chez le chien. (100)

La capacité olfactive du chien n'est, comme chez l'être humain, pas constante dans le temps. Un phénomène d'adaptation des récepteurs olfactifs apparaît lors d'un contact prolongé avec une odeur. Ce temps nécessaire à l'apparition de ce phénomène d'adaptation peut être plus ou moins long en fonction de la nature de l'odeur. On parle également de fatigue olfactive, elle est le résultat d'une adaptation sensorielle qui permet à l'organisme de s'adapter à l'exposition prolongée à une odeur afin que les récepteurs olfactifs soient prêts à réagir à la présence de nouvelles odeurs. Lorsqu'une molécule odorante se fixe sur un récepteur olfactif, cela envoie un potentiel d'action qui se propage à travers le bulbe olfactif jusqu'au cerveau. Or, après une stimulation répétée et prolongée à une même molécule odorante, la cellule réceptrice olfactive va cesser temporairement d'envoyer cet influx nerveux au cerveau, le chien ne perçoit à ce moment-là plus l'odeur. Cette fatigue olfactive apparaît chez le chien plus ou moins rapidement, on l'estime apparaître après environ une heure de travail intensif. Il est donc nécessaire de donner régulièrement aux chiens de travail des temps de pause afin d'éviter de leur provoquer cette fatigue olfactive. (100–102)

### 2.2.3 La mémoire olfactive du chien

Le chien possède une excellente mémoire olfactive. Il est capable de reconnaître des milliers d'odeurs différentes. C'est le système limbique du cortex cérébral constitué notamment de l'hippocampe et de l'amygdale qui est responsable de cette mémoire olfactive. En effet l'hippocampe est responsable de cette mémoire à long terme, tandis que l'amygdale permet d'y projeter un souvenir et une émotion. Avec un entraînement adapté en mettant le chien en contact répété à une même odeur, ses performances olfactives à la détection de cette odeur vont s'améliorer. Au fur et à mesure du temps, le seuil de détection du chien pour une odeur

spécifique va s'abaisser. Il sera à même de la percevoir même en présence d'odeurs parasites. (93,103)

## 2.2.4 Les facteurs influençant les performances olfactives du chien

### 2.2.4.1 La race du chien

#### a. Les différences morphologiques et physiologiques du nez selon les races

Il existe des différences de capacités olfactives entre les différentes races de chien, en fonction de leurs différences anatomiques et physiologiques.

Tout d'abord chaque race possède une surface d'épithélium olfactif et un nombre de cellules réceptrices olfactives qui lui est propre, le tableau 5 (91) ci-dessous récapitule les caractéristiques olfactives propres à quelques espèces. Les Limiers sont pour exemple les chiens possédant le plus grand nombre de cellules réceptrices olfactives, environ 300 millions de CRO, ils sont ainsi considérés comme la race ayant la plus grande capacité olfactive. Les bergers allemands et les labradors, couramment utilisés comme chiens de travail de détection des odeurs, possèdent quant à eux le même nombre de CRO qui s'élève à environ 220 millions et une surface d'épithélium olfactive d'environ 195 cm<sup>2</sup>. Pour autre exemple, le cocker possède quant à lui 140 millions de CRO et une surface d'épithélium de 67cm<sup>2</sup>. (91,104,105)

**Tableau 5: Capacités olfactives de différentes races de chien (91)**

<b>Races de chien</b>	<b>Surface de l'épithélium olfactif (en cm<sup>2</sup>)</b>	<b>Nombre de cellules réceptrices olfactives (en millions)</b>
<b>Limier (ou Saint Hubert)</b>	/NR	300
<b>Berger allemand</b>	200	220
<b>Labrador</b>	190	220
<b>Cocker</b>	67	140
<b>Bouledogue</b>	75	100

Au nombre de cellules réceptrices olfactives s'ajoute le caractère morphologique de la truffe du chien. Pour cela une étude de Polgàr *et al.* (2016) a comparé les capacités olfactives de différentes races de chien en les classant en 4 catégories distinctes : les chiens élevés et



sélectionnés pour leurs capacités olfactives, les chiens élevés à d'autres fins, les chiens à museau plat et des loups gris (106). Il y avait au total 41 chiens de compagnie adultes dans l'étude ainsi que 12 loups. L'expérience consistait à déposer 4 récipients à l'envers avec un morceau de dinde crue placé sous l'un des quatre pots. Il y avait 5 niveaux de difficulté avec un nombre de trous de plus en plus faible au-dessus des pots. Les résultats ont montré que les races à long museau sélectionnées pour leurs capacités olfactives ainsi que les loups avaient de meilleures capacités olfactives que les races de chien élevés pour d'autres fins et que les chiens au museau court. Les races de chiens odorants utilisés dans cette étude et donc considérés comme des races à grandes capacités olfactives sont des bassets hound, des beagles, des braques allemand, des vizslas à poil dur, des braccos italiano, des grands basset griffon vendéen, ainsi que des lévriers de Transylvanie. (104,106,107)

Les races de chien possédant une surface d'épithélium olfactif et un nombre de cellules réceptrices olfactives ainsi qu'un museau long sont donc prédisposées à avoir une plus grande capacité olfactive que les races de chien possédant moins de CRO et étant brachycéphale c'est-à-dire avec une face aplatie et un crâne étant plus large que long.

#### b. Les différences comportementales

Au-delà des propriétés morphologiques et physiologiques du chien il est intéressant de s'intéresser aux différences comportementales des chiens. En effet posséder de bonnes qualités olfactives est nécessaire mais cela n'est pas suffisant pour être considéré comme un bon chien de travail odorant.

Une étude menée par Hall *et al.* (2015) a évalué les performances de discrimination olfactive de trois races de chien : le carlin, le berger allemand et le lévrier (107). L'étude consistait à entraîner les chiens à creuser dans un seau rempli de copeaux de pin contenant l'odeur cible, et à ne pas creuser en l'absence de cette odeur. Les carlins étant des chiens brachycéphales (dont la face est écrasée et le nez court) doivent normalement avoir des capacités olfactives diminuées par rapport à celles des bergers allemands et des lévriers qui sont des races de chiens odorants. Les résultats obtenus ont cependant montré que les carlins avaient une aptitude supérieure concernant leur capacité de discrimination des odeurs et du maintien des performances lors de la diminution des concentrations en odorant par rapport aux bergers allemands et aux lévriers. En effet les carlins ont été capables de détecter des concentrations plus faibles en molécules

odorantes que les bergers allemands. Les lévriers de cette étude ont quant à eux montré un échec général à participer. Cette étude montre que les seuls critères morphologiques et physiologiques ne suffisent pas à donner à une race une étiquette de chien possédant de bonnes capacités à reconnaître les odeurs et à nous en avertir. Une explication aux résultats de cette étude est que les lévriers ont perdu leur motivation au cours des séances malgré leur capacité olfactive importante. Les carlins ont quant à eux acquis l'exercice de discrimination des odeurs plus rapidement et ont obtenus de meilleurs résultats que les bergers allemands. Cette étude a cependant plusieurs limites, les carlins sélectionnés pour cette étude étaient des chiens répondant facilement aux sollicitations. En sélectionnant minutieusement les chiens au sein d'une même race, les performances des bergers allemands et des carlins auraient pu alors se montrer similaires. Les données de cette étude ont simplement suggéré que le carlin était plus facilement entraînable sur la discrimination olfactive que les bergers allemands. Il faut cependant prendre en compte d'autres facteurs chez les chiens dont le travail consiste à repérer des odeurs tels que la capacité physique à parcourir de longues distances, ce qui alors n'est pas le cas des carlins. De plus, les bergers allemands de cette étude n'étaient pas élevés à l'origine pour détecter des odeurs mais pour garder des moutons. Les résultats auraient certainement été différents en incluant dans l'étude des bergers allemands entraînés à la détection des odeurs. L'éducation des chiens à la reconnaissance des odeurs a donc également toute son importance pour obtenir des chiens les plus performants à la détection des odeurs. (104,107)

Jamieson *et al.* ont rassemblé les caractéristiques comportementales communes au sein des races de chien ou d'une catégorie de chien. Les chiens rapporteurs de gibiers (labrador retriever, english springer spaniels) et les chiens de berger (berger allemand, berger australien, border collie) sont des chiens coopératifs avec l'homme, leur dressage est facile. A contrario les chiens de terriers (jack russel) et les limiers sont des chiens dont le dressage s'avère difficile. Les jack russel sont en effet des chiens très énergiques, leur attention est difficile à capter et ils ont une tendance à l'agressivité. Les limiers malgré leurs capacités olfactives hors normes sont des chiens têtus, qui ne répondent qu'à leur maître, ils ne sont donc pas les chiens les plus faciles à utiliser en tant que chien odorant. Enfin, les lévriers comme l'étude précédente l'a montré sont également des chiens dont le dressage est difficile. (105)

#### 2.2.4.2 L'âge du chien

Les capacités olfactives du chien diminuent avec l'âge. Une étude de Hirai *et al.* s'intéressant aux modifications du système olfactif des chiens avec l'âge, parue en 1996, a

montré des modifications atrophiques du système olfactif (108). En effet des dégénérescences de l'épithélium olfactif ont été constatées chez les chiens âgés de plus de 14 ans, ces modifications étaient encore plus importantes chez les chiens de plus de 17 ans. Cette étude a mis en évidence une diminution du nombre de cellules olfactives avec l'âge, ainsi que du nombre de cils par cellules. (108)

#### 2.2.4.3 Le sexe

L'odorat n'est pas le même entre mâles et femelles. En règle générale les femelles sont plus sensibles aux odeurs que les mâles. Il a été observé que leur capacité olfactive était maximale au moment de l'ovulation lorsque leur taux d'œstrogènes est le plus élevé et le taux de progestérone le plus bas. Une étude a démontré que les femelles possédaient un nombre de cellules mitrales (cellules qui reçoivent l'information des récepteurs olfactifs et la transmettent au cerveau par leurs axones) plus important que les mâles, ce qui pourrait également contribuer à cette différence de performance entre les deux sexes. Malgré leurs capacités olfactives plus importantes, les femelles sont moins utilisées en tant que chien de travail du fait qu'elles perturbent également les mâles durant les chaleurs. Il est donc préférable de stériliser les femelles lorsque l'on souhaite les utiliser en chiens de travail. (91,105)

#### 2.2.4.4 Le régime alimentaire et l'exercice physique

Le régime alimentaire et l'exercice physique sont des facteurs pouvant également influencer les performances olfactives du chien.

Une étude d'Angle *et al.* (2014) a évalué l'olfaction de 17 chiens de détection certifiés ayant été nourris durant 12 semaines avec trois régimes alimentaires différents : l'un riche en graisse, le deuxième faible en graisse et le troisième riche en graisses polyinsaturés (109). Les chiens devaient retrouver par l'odorat des matériaux explosifs avant et après avoir effectué un exercice physique. Les chiens avec le régime riche en graisses polyinsaturées et faible en glucides ont été 1,42 fois plus susceptibles de trouver une odeur cible en comparaison avec les chiens ayant un régime riche en graisse. De plus les chiens nourris avec un régime riche en AGPI utilisant de l'huile de maïs plutôt qu'une autre a montré de meilleurs résultats. Enfin, le résultat concernant le régime pauvre en graisse n'était pas significativement différent de celui d'une alimentation standard. Il n'y pas d'explications connues à ces résultats, une hypothèse serait que le gras améliorerait le fonctionnement des récepteurs olfactifs. De plus, une alimentation

enrichie en acide linoléique pourrait également avoir un impact positif sur la sensation olfactive. Cette même étude a également démontré l'impact de l'exercice physique sur les performances olfactives des chiens. En effet les résultats ont montré une diminution des performances olfactives des chiens juste après un exercice physique en comparaison à leurs résultats sans exercice physique. Il faut cependant prendre en compte le fait que dans des situations réelles, ces différences de résultat en fonction de l'alimentation et de l'activité physique peuvent s'avérer insignifiantes au vu des seuils de détection des chiens qui restent assez bas pour détecter l'odeur cible dans les trois différents groupes alimentaires. (91,109)

#### 2.2.4.5 L'état de santé du chien

Certaines pathologies entraînent une diminution voire une perte d'odorat chez le chien, on parle d'anosmie canine. En effet, le chien peut perdre ses capacités olfactives lorsqu'il est atteint de problèmes des voies respiratoires due à des infections des voies nasales, à leur obstruction ou en raison de la présence de mucus. D'autres pathologies que nous allons détailler par la suite peuvent également altérer les capacités olfactives du chien.

La maladie de Carré est une pathologie virale qui peut atteindre plusieurs organes dont l'appareil respiratoire. Elle est due au virus *Morbillivirus* et est transmise par contact oro-nasal. Les symptômes peuvent être nombreux, ils comprennent de la fièvre, un abattement, des troubles digestifs, une atteinte du système nerveux central dans les stades avancés de la maladie mais aussi des signes respiratoires : toux, sécrétion de mucus, dyspnée. La vaccination est la solution permettant de prévenir une infection à *Morbillivirus*. En effet il n'existe pour l'heure pas de traitement efficace contre ce virus. Une étude de Myers *et al.* (1988) a constaté des pertes d'odorat (anosmie) chez les chiens atteints de la maladie de Carré couplées à des altérations de leur muqueuse olfactive (110). Les autopsies de chiens décédés de la maladie ont révélé une atrophie de l'épithélium olfactif ainsi qu'une rhinite purulente. Le mucus sécrété serait entre autres à l'origine du blocage des molécules odorantes et donc de cette perte d'odorat. De plus dans cette étude, l'anosmie était toujours présente chez cinq des six chiens ayant réussi à guérir de la maladie 20 et 26 semaines auparavant. Le sixième chien, lui, présentait une hyposmie c'est-à-dire une diminution de l'odorat. Cette persistance des troubles olfactifs après guérison n'est pas encore expliquée aujourd'hui. (110,111)

La toux de chenil est également une maladie pouvant porter atteinte à l'odorat du chien. C'est une pathologie virale causée par le virus *parainfluenza canin* (CPIV) particulièrement contagieuse. Le symptôme principal est la toux. Il existe un vaccin permettant de protéger les chiens de cette infection. Une étude de Myers *et al.* (1988) (112) a montré un seuil de détection à deux molécules, le benzaldéhyde et l'eugénol, excessivement élevé durant l'infection par le virus parainfluenza canin. Le seuil de détection olfactif est redevenu normal après disparition des symptômes de la maladie. La toux de chenil entraîne donc une baisse voire une perte totale de l'olfaction chez le chien. (112,113)

Des acariens nasaux canins les *Pneumonyssoides caninum*, peuvent aussi envahir la muqueuse des fosses nasales des chiens où ils se nourrissent de la couche de kératine de l'épiderme. Cela peut entraîner des signes cliniques comme des éternuements, de la toux, une rhinite, un écoulement nasal ainsi qu'une baisse des capacités olfactives chez le chien. Un traitement antiparasitaire permet de se débarrasser de ces acariens nasaux. (114,115)

#### 2.2.4.6 Les conditions environnementales

Les conditions environnementales comme les changements de température, le taux d'humidité ou la présence de vent peuvent également avoir un impact sur les capacités olfactives du chien.

Tout d'abord, l'humidité de l'air améliore l'olfaction du chien. En effet elle améliore l'humidification de l'épithélium nasal et ainsi le piégeage des odeurs. De plus une plus forte humidité augmenterait également l'intensité des odeurs. Les chiens pisteurs par exemple, repèrent plus facilement les sentiers tracés sur sol humide que sur sol sec. Majumder *et al.* (2015) se sont penchés sur la question de la saisonnalité des accouplements chez les chiens en liberté en Inde (116). Il a en effet été observé une forte corrélation entre la saison d'accouplement des chiens (période où les femelles entrent en œstrus) et la saison des pluies. En effet l'humidité accrue avec de faibles pluies et une température réduite au moment de la saison des pluies entraîneraient une intensification des signaux de phéromones sexuelles des femelles ce qui déclencherait une réponse sexuelle chez les chiens mâles. A contrario une humidité trop forte avec de fortes pluies peut être un facteur négatif réduisant l'efficacité de l'olfaction du chien. (116,117)

Des températures élevées affectent également l'olfaction canine. Elles entraînent une baisse des performances de recherche avec une capacité réduite des chiens à travailler. Les températures élevées augmentent le risque de déshydratation, dessèchent la muqueuse olfactive et diminuent la production de mucus de l'épithélium nasal. (117)

Le vent entraîne lui aussi un dessèchement des muqueuses et perturbe ainsi le flair du chien.(93)

#### 2.2.4.7 Les substances chimiques et les médicaments

La prise de certains médicaments peut avoir un impact sur l'odorat chez les chiens comme cela peut être le cas chez l'être humain également, provoquant des pertes d'acuité, appelées hyposmie ou des distorsions de l'olfaction (dysosmie). Cette perte d'odorat ou cette distorsion des odeurs perçues est provoquée soit par blocage de l'activation des récepteurs olfactifs, soit par l'induction d'une persistance anormale de l'activité de ces récepteurs. (118)

Pour exemple l'étude de Jenkins *et al.* (2016) a prouvé le lien entre l'administration orale de métronidazole chez le chien et la diminution de ses capacités olfactives à détecter des odorants (119). En effet, dans cette étude le métronidazole (25mg/kg) était administré toutes les 12h pendant une période de 10 jours, suivi d'une période de sevrage de 10 jours et de la prise de doxycycline (5mg/kg) pendant 10 jours également. Les chiens devaient détecter la présence de 3 molécules odorantes explosives (le nitrate d'ammonium, le trinitrotoluène, et de la poudre sans fumée) au jour 0, 5 et au dernier jour de la prise de chaque médicament. Les résultats ont montré une dégradation du seuil de détection au jour 5 et 10 avec la prise de métronidazole pour deux des trois types d'explosifs : le nitrate d'ammonium et le trinitrotoluène. A l'inverse, il n'y a pas eu de dégradation significative du seuil de détection lors de la prise de doxycycline. La prise de métronidazole chez les chiens de travail et d'assistance entraîne donc une baisse de leur capacité olfactive pouvant s'avérer problématique. D'autres médicaments comme la dexaméthasone entraînent eux aussi une élévation du seuil de détection des molécules odorantes chez les chiens. (117,119)

D'autre part, d'autres substances peuvent influencer l'odorat du chien. Ramaihgari *et al.* (2018) ont découvert que les nanoparticules de zinc augmentaient les capacités olfactives des chiens (120). En effet ces nanoparticules accroissent significativement la connectivité cérébrale du réseau olfactif canin. Dans leur étude les potentiels électriques mesurés provenant du bulbe olfactif étaient significativement augmentés en présence de nanoparticules de zinc. Les résultats

montrent que l'ajout de nanoparticules de zinc serait équivalent à une augmentation de 10 fois de la concentration en odorant. Ces nanoparticules pourraient potentiellement être utilisées afin d'augmenter les performances des chiens dans des situations où les concentrations en odorants sont très faibles. (120)

### **2.3 Les chiens d'assistance et de détection médicale, capables de détecter des COV**

Les capacités olfactives du chien évoquées précédemment couplées à un bon programme d'entraînement, rendent possibles l'implication des chiens dans la détection de composés organiques volatils pour un large éventail d'applications. Les chiens sont déjà largement utilisés par la police, l'armée et la douane en tant que chiens renifleurs. Ils sont capables de repérer la présence d'explosifs, de stupéfiants ou de personnes grâce à leur odorat développé. Le déploiement de chiens de détection médicale ou d'assistance médicale dans le futur est donc à envisager sérieusement. En effet les chiens peuvent être utiles dans le diagnostic médical des pathologies rejetant des COV dont nous avons parlé dans la première partie ou comme chien d'assistance pour les patients épileptiques et diabétiques. (121)

Des recherches sont en cours, et des études récentes sont parues sur l'utilisation de chiens de détection médicale dans diverses pathologies infectieuses ou non infectieuses. On retrouve en effet les pathologies rejetant des composés organiques volatils dont voici une liste non exhaustive: différents types de cancer, l'hypoglycémie dans cadre du diabète, les crises d'épilepsies, la COVID-19, les infections à *Clostridium difficile* ou le paludisme. (121) Nous allons étudier plus en détail les connaissances actuelles sur les capacités des chiens dans le diagnostic médical.

#### **2.3.1 Les chiens d'assistance renifleurs d'hypoglycémie**

L'autosurveillance de la glycémie chez les personnes diabétiques se fait par mesure de la glycémie capillaire à l'aide d'un autopiqueur et d'un lecteur de glycémie ou par mesure du taux de glucose interstitiel à l'aide d'un capteur Freestyle libre. L'emploi de chiens d'assistance renifleurs d'hypoglycémie serait une alternative à ces méthodes invasives. Plusieurs études ont été publiées ces dernières années afin de connaître la sensibilité et la spécificité des alertes données par les chiens en cas d'hypoglycémie en comparaison aux méthodes standards de mesure de glycémie.

Lippi *et al.* ont publié en 2019 une revue systématique synthétisant les résultats obtenus de 6 études différentes parues entre 2013 et 2017. Ces études avaient toutes pour objectif d'évaluer l'efficacité des chiens à alerter leur propriétaire d'une crise d'hypoglycémie à venir. La première étude parue fournissant des preuves fiables de la capacité des chiens à détecter les crises d'hypoglycémie date de 2008 et a été menée par Wells *et al.* Les scientifiques avaient étudié le comportement de 212 chiens non formés appartenant à leurs maîtres diabétiques de type 1. Les patients devaient observer le comportement de leurs chiens. 65,1% d'entre eux ont indiqué que les chiens affichaient des comportements d'alerte tel que des aboiements, des pleurs, des léchages, un regard attentif sur le visage de leur maître ou des sauts lors d'au moins un épisode d'hypoglycémie. 33% des chiens changeaient de comportement avant même que le patient ne présente de signe d'un état d'hypoglycémie. Les études qui ont suivi avaient toutes des procédés de mesure d'efficacité des chiens à avertir d'une crise qui étaient différents. Certaines études utilisaient des chiens d'assistances formés à l'alerte des crises d'hypoglycémie d'autre des chiens domestiques non formés comme pour l'étude menée par Lippi *et al.* en 2018. De plus, certaines étaient faites en situation réelle d'autres sous forme d'exercice en faisant sentir aux chiens des échantillons de transpiration humaine prélevée lors d'un état hypoglycémique et en dehors. Les sensibilités et spécificités mesurées dans chacune de ses études ont été très hétérogènes avec des valeurs de sensibilité comprises entre 0,36 et 0,80 et des valeurs de spécificité comprises entre 0,48 et 0,96 (tableau 6). (122)

**Tableau 6: Synthèse d'études analysant la capacité des chiens à alerter leur propriétaire d'une crise d'hypoglycémie (122)**

Nom des chercheurs	Taille des échantillons	Sensibilité	Spécificité
Rooney <i>et al.</i>	17 sujets	0,80	/
Dehlinger <i>et al.</i>	3 chiens et 24 échantillons humains chacun	0,56	0,54
Hardin <i>et al.</i>	6 chiens et 7 échantillons humains chacun	0,78	0,96
Los <i>et al.</i>	8 sujets	0,36	/
Gonder-Frederick <i>et al.</i>	14 sujets	0,29	0,66
Gonder-Frederick <i>et al.</i>	18 sujets	0,57	0,49



Les données disponibles actuellement démontrent la capacité des chiens à reconnaître et à alerter les patients diabétiques de l'arrivée d'une crise d'hypoglycémie. Cependant leur capacité à détecter les variations de glycémie de manière fiable est discutable. En effet les résultats sont très hétérogènes d'une étude à l'autre. Il faudrait harmoniser les procédures de formation des chiens d'assistance en prenant en compte les variabilités inter et intra-race présentes. Bien que les données actuelles nous montrent que les chiens ne remplaceront certainement pas les lecteurs glycémiques et les capteurs, les études attestent que les chiens d'alerte au diabète apportent des avantages psychologiques indéniables aux patients diabétiques. En effet les chiens d'assistance permettent d'améliorer la qualité de vie globale des patients diabétiques. Ces avantages psychologiques ont notamment été rapportés dans 4 études recherchant l'impact des chiens d'assistance chez les enfants pour qui les mesures glycémiques invasives sont souvent mal vécues. Les chiens d'assistance au diabète apportaient dans ces études des effets bénéfiques sur la santé psychologique, l'amélioration de la qualité de vie ainsi que le sentiment de sécurité des enfants. De plus, Jendry *et al.* (2021) ont constaté que la capacité des chiens à détecter les crises s'améliorait au fur et à mesure du temps passé avec leur maître. (121–124)

### 2.3.2 Les chiens d'assistance pour personnes épileptiques

Les difficultés rencontrées par les patients atteints d'épilepsie sont le caractère imprévisible de la survenue des crises d'épilepsie ainsi que la pharmacorésistance pour 30% d'entre eux. Comme nous avons pu le voir précédemment des COV spécifiques à l'épilepsie sont sécrétés en amont des crises. Comme il n'existe aujourd'hui encore aucun moyen technologique de prévenir le patient de l'arrivée d'une crise, le chien d'alerte peut jouer un rôle majeur dans l'amélioration de la qualité de vie des patients.

C'est au cours des années 1990 que des patients et chercheurs ont découvert de manière fortuite la capacité des chiens à alerter leur maître d'une crise d'épilepsie imminente. Les premiers chercheurs en avaient déduit la capacité des chiens à lire les changements de langage corporel et d'expressions faciales des personnes épileptiques en amont des crises. Cependant des rapports ont ensuite montré que même des chiens hors de vue de leurs maîtres-chiens venaient soudainement vers leur maître afin de les alerter. Les chercheurs ont alors envisagé la possibilité d'une signature olfactive dégagée par le patient en amont et pendant les crises d'épilepsies. Une étude de Martinez-Caja *et al.* sortie en 2019 avait pour objectif d'étudier le comportement de chiens entraînés et non entraînés de personnes épileptiques afin d'étudier leur

capacité ou non à avertir leurs maîtres des crises d'épilepsie (125). Le principe était d'envoyer un questionnaire en ligne à des patients épileptiques propriétaires de chiens. 227 réponses de personnes épileptiques ont été reçues provenant de six pays différents. Sur 227 chiens, 132 d'entre eux alertaient leur maître d'une crise dont seulement 10 chiens d'alerte qui avaient été éduqués et entraînés à reconnaître les crises. Les 95 autres chiens n'ont pas montré de comportement d'alerte. Cette étude montre la capacité des chiens même non entraînée à alerter leur maître, elle est donc encourageante quant aux résultats que l'on pourrait obtenir avec des chiens formés à reconnaître l'odeur dégagée par les patients avant une crise. (125,126)

Une récente étude parue en février 2021 de Maa *et al.* avait elle aussi pour objectif de prouver la capacité des chiens d'assistance à détecter la signature olfactive propre aux crises d'épilepsie (61). Un entraîneur canin a été chargé d'enseigner à une équipe de 13 chiens de la Canine Assistants (un programme d'éducation de chiens d'assistance en Géorgie) à reconnaître l'odeur de la crise. Les chiens devaient toucher la main gauche du dresseur, signifiant « oui » pour le chien lorsque l'échantillon de l'odeur de la crise était présenté. A l'inverse ils touchaient la main droite du dresseur signifiant non, après avoir senti un échantillon inter-critique. Les prélèvements d'échantillons de sueur ont été collectés chez des patients volontaires admis au sein d'une unité de surveillance de l'épilepsie (UEM). L'ensemble des échantillons prélevés chez les sujets ont été collectés à la fin de leur séjour à l'UEM. Seuls 3 à 4 chiens maximum sur les 13 ont été utilisés pour chaque échantillon donné, car au moment de l'analyse des échantillons l'odeur pouvait se dégrader avec le temps. La réponse positive d'un seul des chiens a été comptabilisée systématiquement comme une réponse positive à l'ensemble de l'équipe de test. Pour chaque sujet un tableau a été créé avec l'ensemble des échantillons prélevés chronologiquement, la réponse positive ou négative a été associée pour chaque échantillon et chien participant, ainsi que l'examen des rapports de sortie de l'unité de surveillance de l'épilepsie comportant la date et l'heure des crises épileptiques des patients. Afin de traiter les données, les échantillons ont été séparés en deux groupes : ceux considérés comme liés à une crise ou recueillis à +/- 90 minutes de l'apparition d'une crise, et les échantillons inter-critiques collectés au-delà de cette fenêtre de plus ou moins 90 minutes autour d'une crise. Ainsi au total 641 observations ont pu être incluses dans l'étude, 298 de ces échantillons se situaient dans la fenêtre de la crise de plus ou moins 90 minutes et 343 échantillons ont été définis comme inter-critiques. Les résultats montrent avec une probabilité de 93,7% que les chiens détectent correctement l'odeur de crise d'un échantillon de crise et ne détectent pas l'odeur de crise pour un échantillon inter-critique. Dans la partie de l'étude consistant à faire sentir au chien des

échantillons prélevés toutes les heures, les chiens ont identifié la présence d'une odeur de la crise avant qu'elle ne survienne avec une probabilité de 82,2% et une durée moyenne d'avertissement avant une crise de 68,2 minutes. Cette étude a donc confirmé l'existence d'une signature olfactive potentiellement unique à l'épilepsie détectable par des chiens d'assistances en amont de la crise avec une moyenne de 68 minutes. Ce laps de temps est particulièrement intéressant pour mettre en place des moyens logistiques et thérapeutiques afin de mettre en sécurité le patient épileptique avant la survenue de sa crise. (61)

### 2.3.3 Les chiens détecteurs de cancers

Les méthodes de diagnostic de cancer actuelles sont généralement coûteuses, invasives, parfois douloureuses. Nous avons étudié en première partie que les cancers génèrent des composés organiques volatils. En effet la physiopathologie des cancers provoque dans l'organisme des altérations métaboliques qui entraînent à terme la production de COV spécifiques de ces cancers. Une fois produits les COV sont excrétés dans les fluides corporels et dans l'air expiré. La capacité des chiens à détecter la présence de cancer chez l'être humain a été introduite pour la première fois par Williams *et al.* en 1989. A l'heure actuelle, de nombreuses études s'intéressent à cette capacité des chiens renifleurs entraînés à détecter les COV à des fins de diagnostic de cancers. C'est une méthode de diagnostic encore à l'étude, non conventionnelle, qui pourrait être développée comme méthode non invasive, indolore et peu coûteuse. Nous allons dans cette partie faire un état des lieux des données et des études existantes concernant les chiens détecteurs de cancer du sein, du cancer des poumons, de la peau, des ovaires et des cancers de la prostate. (46)

#### 2.3.3.1 Chiens renifleurs du cancer du sein

Selon la revue systématique de Kure *et al.* (2021) (127), une première étude de 2006 a formé 5 chiens à reconnaître l'odeur du cancer du sein. Les chercheurs ont fait sentir des échantillons d'haleine de 31 patientes atteintes du cancer du sein et de 83 volontaires sains. La sensibilité obtenue était de 88% et la spécificité de 98% pour tous les stades de la maladie confondus sans distinctions significatives dans les résultats en fonction des chiens. Une autre étude de 2021 a également évalué si les COV spécifiques au cancer du sein et présents dans les échantillons d'urine des patients pouvaient être détectés à l'aide d'un seul chien renifleur entraîné. Pour ce faire, les chercheurs ont entraîné une femelle Labrador de 9 ans à détecter l'odeur du cancer du sein dans des échantillons d'urine. Puis ils ont présenté des échantillons

de 40 patientes atteintes de cancer du sein, 142 atteintes d'une autre maladie non maligne du sein et 18 individus sains. Les tests ont été effectués en double-aveugle. Cette étude a obtenu des résultats plus que concluants avec une sensibilité et une spécificité de 100% chacune. En effet le chien entraîné a été capable d'identifier les 40 échantillons des patientes atteintes du cancer du sein. Cela indique la capacité des chiens à sentir les COV spécifiques du cancer. Il faut cependant émettre une réserve sur ces résultats qui auraient pu être différents avec un autre chien. Il serait à l'avenir intéressant de refaire l'expérience avec un nombre de chiens beaucoup plus important afin de soutenir ces résultats. Des recherches sont d'ailleurs en cours dans ce sens notamment à l'institut Curie par le groupe de détection du cancer KDOG. En effet depuis 2016 ce groupe de chercheurs forme des chiens renifleurs du cancer du sein. Ils ont d'ailleurs éduqué en 2016 deux chiens à la détection du cancer du sein et obtenu eux-aussi un taux de réussite de 100%. Une étude est en cours et devrait inclure 1000 femmes afin de tester à plus grande échelle la sensibilité et la spécificité de leur méthode. Ils ont pour objectif de créer un label scientifique avec un programme d'éducation des chiens reproductible et international. (46,127,128)

#### 2.3.3.2 Chiens renifleurs du cancer des poumons

Plusieurs études comparées dans la revue systématique de Pirrone *et al.* (2017) (46) portant sur la détection canine du cancer du poumon par des chiens entraînés ont déjà été publiées d'autres sont encore en cours de tests. Dans les études déjà publiées (de McCulloch *et al.* 2006, Ehmann *et al.* 2012, Walczak *et al.* 2012 et Amundsen *et al.* 2014), les chercheurs ont utilisé des échantillons d'air expiré à l'exception de l'étude d'Amundsen *et al.* qui a également utilisé des échantillons d'urine. Le nombre de chien utilisé par étude était compris entre 4 et 6. Ces études ont obtenu une moyenne de sensibilité de 78% et de spécificité de 71,5%. Une autre étude de Mazzola *et al.* publiée en 2020 a cherché à mesurer les capacités de détection du cancer des poumons par les chiens et à étudier si le temps et un changement d'environnement pouvaient perturber leurs performances (129). Les chercheurs ont éduqué trois chiens à raison de deux entraînements par semaine. Puis il y a eu deux phases de test à un an d'intervalle et dans un environnement différent. Les échantillons de cancer du poumon ont été récupérés à l'Institut Européen d'Oncologie en Italie. En fonction des chiens la sensibilité obtenue était comprise entre 45% et 73% et la spécificité entre 89% et 91%. Les chiens ont été capables d'identifier des tumeurs dès leur stade initial. De plus l'interruption d'un an de travail et le changement de lieu n'a pas modifié de manière significative les performances des chiens. (46,129)

### 2.3.3.3 Chiens détecteurs du cancer de la peau

Les premiers témoignages de chiens renifleurs de cancer de la peau datent de 1989. En effet, une patiente avait consulté un dermatologue au King's College Hospital à Londres car depuis plusieurs mois, son chien reniflait un seul de ses grains de beauté avec insistance au niveau de son mollet gauche, plusieurs minutes par jour et même à travers son pantalon. Il s'est avéré qu'il s'agissait d'un mélanome. En 2001, un labrador avait de la même manière détecté un cancer au niveau de la cuisse de son maître. Les deux chiens avaient ensuite perdu l'intérêt pour cette partie du corps une fois la tumeur retirée. Il a ensuite été prouvé que des composés organiques volatils spécifiques du mélanome pouvaient être retrouvés dans les fluides corporels et être libérés à la surface de la peau en quantité suffisante afin d'être détectés par l'odorat du chien. En 2004, l'équipe de Pickel *et al.* a effectué des recherches en ce sens avec deux chiens. Ces chiens ont été formés à l'aide d'échantillons de tissus de mélanome humain. Ils ont fait des phases de test en boîte, en plaçant une odeur d'échantillon de mélanome dans un puit et 9 odeurs autres pouvant être rencontrées dans un cadre médical (pansements, gants en latex, ...) dans 9 autres boîtes. Puis ils ont réalisé des tests en situation réelle et en double aveugle. Le premier chien, un schnauzer standard, a obtenu un taux de réussite de 86% et le deuxième chien (un golden retriever) un taux de réussite de 75%. Aucun faux positif n'a été enregistré. Il n'y a à ce jour pas beaucoup d'autres données sur l'utilisation de chiens de détection pour ce type de cancer. (46,91)

### 2.3.3.4 Chiens détecteurs du cancer des ovaires

Les patientes diagnostiquées d'un cancer des ovaires à un stade avancé ont seulement 21% de chance de survie à 5 ans après le diagnostic. Il est donc important de diagnostiquer au maximum ce cancer à un stade précoce de la maladie. Une étude de Horvath *et al.* parue en 2010 a démontré la possibilité d'utiliser des chiens entraînés à détecter ce cancer au stade précoce (130). Un chien prénommé Hanna a été entraîné à reconnaître l'odeur de ce cancer deux fois par semaine pendant un an. Puis dans un test en double aveugle, on a fait sentir à Hanna 10 séries de 10 échantillons. Chaque série comportait deux échantillons de tissus de carcinome ovarien et 8 échantillons de tissus sains contrôles. La sensibilité rapportée a été de 100% et la spécificité de 97,5%. Dans une seconde étude, la même équipe de chercheurs a voulu évaluer si l'odeur spécifique du cancer des ovaires pouvait être également retrouvée par les chiens dans le sang des patients afin de faciliter la technique de dépistage par les chiens détecteurs. Ils ont de nouveau entraîné le chien Hanna à ce nouvel exercice ainsi qu'un

deuxième chien Lotti. Ils ont ensuite effectué deux séries de tests pour chaque chien, une avec des échantillons de tissu de carcinome et l'autre avec des échantillons de plasma. Pour Loti la sensibilité obtenue était de 100% et la spécificité de 96% pour l'ensemble des deux tests. Pour Hanna, la sensibilité ainsi que la spécificité étaient de 100% pour les échantillons sanguins et de 100% de sensibilité et 94% de spécificité pour les échantillons de tissus. Or, pendant 9 mois Hanna avait cessé d'être entraînée à reconnaître l'odeur du cancer des ovaires à partir d'échantillons de tissus, ce qui explique cette petite diminution de performance. Cependant les résultats restent tout à fait concluants quant aux capacités des chiens à diagnostiquer les carcinomes ovariens à partir de plasma et de tissus. (46,130)

#### 2.3.3.5 Chiens détecteurs du cancer de la prostate

Le diagnostic du cancer de la prostate se fait par mesure du taux de PSA sérique ainsi que par toucher rectal. Or, le test PSA manque de spécificité du fait de l'augmentation des niveaux de PSA lors d'affections non cancéreuses : prostatite ou hypertrophie bénigne de la prostate par exemple. Lorsqu'un patient présente un taux de PSA élevé, on recherche ensuite par biopsie la présence de cancer, or le taux de détection lors de la première biopsie est de seulement 30%. La formation de chiens détecteurs de COV spécifiques du cancer de la prostate est donc une piste intéressante. L'étude de Cornu *et al.* en 2011 est la première à avoir entraîné un malinois à détecter le cancer de la prostate à partir d'échantillons d'urine (46). Les tests olfactifs ont rapporté un taux de spécificité et de sensibilité identique de 91%. Dans une étude plus récente (2015), deux chiens ont été formés à reconnaître l'odeur du cancer. Un total de 200 échantillons d'urine de patients atteints d'un cancer de la prostate et 230 échantillons du groupe témoin ont été analysés par les chiens. La sensibilité et la spécificité toutes deux obtenues lors des tests étaient également très satisfaisantes. 100% de sensibilité et 98,7% de spécificité pour le premier chien, 98,6% de sensibilité et 97,6% de spécificité pour le deuxième. (46)

Nous pouvons donc au vu des résultats obtenus par les différentes études énoncées, conclure sur les capacités évidentes des chiens à détecter plusieurs types de cancers, aux stades les plus précoces et avec pour certains de meilleurs résultats que ceux obtenus par les méthodes traditionnelles de dépistage. Cependant afin de développer à terme cette technique de dépistage à l'aide de chiens entraînés à grande échelle et obtenir des résultats uniformisés, il est important d'exposer les limites rencontrées dans ces différentes études. Pirrone *et al.* ont publié dans ce but, en 2017 une revue systématique des études sorties à ce jour portant sur les chiens renifleurs de cancers (46). Cette revue a en effet étudié 17 études portant sur les chiens renifleurs de

tumeurs malignes : cancer des poumons, du sein, de la peau, urologique, colorectal et cancer des ovaires. Cette revue a ensuite exposé les limites rencontrées et les biais présents dans ces études et a donné des solutions pour les études à venir. En effet, un grand nombre de ces études a utilisé des tailles d'échantillons très petites ce qui a pu fausser les résultats obtenus. De plus les méthodes de stockage des échantillons différaient entre chaque étude, avec des durées de stockage plus ou moins longue allant d'une journée à un an, à des températures allant de 4°C au réfrigérateur à -40°C selon les études. Or, ces variations de durée et de température ont pu avoir un fort impact sur les concentrations en COV contenues dans les échantillons et donc sur les résultats obtenus par la suite par les chiens renifleurs. Il faudra donc pour les études futures trouver une méthode de stockage des échantillons optimale et la standardiser à l'échelle internationale. Par ailleurs, dans l'étude de Elliker *et al.* les mêmes échantillons d'urine de personnes saines et atteintes du cancer de la prostate ont été présentés plusieurs fois aux chiens pendant leur formation. Il se peut que les chiens aient mémorisé l'odeur de l'urine de chaque individu plutôt que la présence de COV spécifiques du cancer de la prostate. Par conséquent il est important de ne présenter uniquement que de nouveaux échantillons aux chiens en formation afin de ne pas fausser les résultats. Enfin, les variations dans les résultats obtenus entre les études pourraient s'expliquer par les différences présentes dans les méthodes d'apprentissage. Une formation inappropriée, avec des séances d'entraînement trop rapprochées, ou trop longues peuvent avoir un impact négatif sur la performance des chiens qui peuvent se sentir stressés et fatigués et montrer de l'agitation et une baisse de concentration. (46)

En conclusion, la capacité des chiens à détecter l'odeur spécifique des cancers n'est plus à prouver, il est nécessaire maintenant de trouver une méthode d'apprentissage efficace et standardisée, saine pour les chiens afin d'obtenir les meilleurs résultats possibles et afin de développer cette méthode de diagnostic dans un futur proche.

#### 2.3.4 Les chiens dans le diagnostic de maladies infectieuses

L'évolution de la mondialisation a un impact sur la propagation des maladies infectieuses dans le monde. En effet l'interdépendance des pays entraîne l'augmentation des interactions humaines et facilite par conséquent la propagation de maladies infectieuses. L'histoire a montré que des agents pathogènes (bactéries, parasites ou virus) peuvent être à l'origine de graves épidémies pouvant menacer les populations humaines. La pandémie mondiale de Sars-COV-2 aillant débuter en décembre 2019 en Chine en est l'exemple le plus récent. Afin de prévenir au mieux le risque de nouvelles propagations de maladies infectieuses

il est important de se munir de méthodes de diagnostic efficaces, peu chères et faciles à mettre en place à grande échelle. Les chiens détecteurs d'odeurs peuvent jouer un rôle majeur dans le dépistage de maladies infectieuses au vu de leur capacité à détecter les composés organiques volatils spécifiques à ces pathologies. (121,131)

#### 2.3.4.1 Maladies bactériennes

Lors de la réplication bactérienne, les bactéries produisent des COV spécifiques pouvant être détectés par les chiens. Plusieurs études ont déjà démontré cette capacité canine dans les infections à *Clostridium difficile*, dans les infections à *Staphylococcus aureus* ainsi que dans le cadre d'infections urinaires. (131)

##### a. Infection à Clostridium difficile

Plusieurs études ont démontré la capacité du chien à détecter la présence d'une infection à *Clostridium difficile* (ICD) chez un individu. *Clostridium difficile* est une bactérie anaérobie à Gram positif qui produit des toxines à l'origine de troubles digestifs : gaz, diarrhées, douleurs abdominales. Dans certains cas les plus graves cette infection peut entraîner des colites ou un mégacôlon et peut s'avérer être mortelle principalement chez les personnes âgées. La première étude à s'être intéressée au diagnostic des ICD par les chiens a été menée par Bomers *et al.* en 2012 (132). Un beagle a été dressé à reconnaître l'odeur spécifique de l'infection à partir d'échantillons de selles et chez des patients infectés. Les résultats ont été très encourageants avec une sensibilité et une spécificité de toutes deux 100% à partir des échantillons de selles et une sensibilité de 83% et une spécificité de 98% en reniflant des patients infectés. Au vu de ces résultats l'équipe de chercheurs de Bomers *et al.* ont réitéré l'expérience lors d'une épidémie de *Clostridium difficile* dans un hôpital aux Pays-Bas (133). Les résultats obtenus ont été rapportés dans le tableau 7 ci-dessous. Dans cette dernière étude de 2014 il est intéressant de noter que sur les 11 faux positifs indiqués par le chien, 2 des patients ont développé une infection à *Clostridium difficile* dans les trois mois suivant la période de détection, ce qui représente un taux de 18%, contre seulement 12 patients identifiés comme négatif par le chien sur 346 (soit 3,5%). Sur l'ensemble de quatre études publiées entre 2012 et 2018, la sensibilité des chiens à détecter les ICD était comprise entre 77,6% et 100% pour les études travaillant avec des échantillons de selles et la spécificité comprise entre 84,5% et 100%. Deux études ont entraîné les chiens à détecter les ICD en reniflant directement les patients hospitalisés, la spécificité était alors légèrement plus basse mais toujours satisfaisante avec des valeurs



comprises entre 65% et 94% et la sensibilité entre 95% et 99% (cf. tableau 7). On peut donc conclure sur la faisabilité de dresser des chiens à la détection des infections à *Clostridium difficile*. Cependant il est à noter qu'il existe une importante variabilité de précision de diagnostic rapportée dans l'étude de Taylor *et al.* (2018) (134) pouvant être due à plusieurs facteurs évoqués précédemment (concentration du chien, sensibilité olfactive en fonction de la race, etc.). Chaque chien doit donc être sélectionné et validé de manière indépendante avant d'être utilisé comme chien de détection d'ICD. A l'heure actuelle leur utilisation reste donc limitée car la fiabilité de détection reste plus faible que les tests de diagnostic moléculaires actuels. Cependant leur utilisation, simple et rapide pour des diagnostics à grande échelle lors d'épidémie à *Clostridium difficile* peut s'avérer intéressante. (131–135)

**Tableau 7: Synthèse d'études analysant la capacité des chiens à détecter les infections à *Clostridium difficile***

Etudes	Auteurs	Année de l'étude	Nombre de chiens	Sensibilité	Spécificité	Types d'échantillon
Using a dog's superior olfactory sensitivity to identify <i>Clostridium difficile</i> in stools and patients : Proof of principle study	Bomers <i>et al.</i>	2012	1	100%  83% 65% 94%	100%  98% 95% 99%	Echantillons de selles  3 rondes de détection chez patients hospitalisés
A detection dog to identify patients with <i>Clostridium difficile</i> infection during a hospital outbreak	Bomers <i>et al.</i>	2014	1	86%	97%	Patients hospitalisés
Identifying environmental reservoirs of <i>Clostridium difficile</i> with a scent detection dog : preliminary evaluation	Bryce <i>et al.</i>	2017	?	92,3%	95,4%	Echantillons de selles
Using dog scent detection as a point-of-care tool to identify toxigenic <i>Clostridium difficile</i> in stool	Taylor <i>et al.</i>	2018	2	77,6% pour le premier chien  92,6% pour le second chien	85,1% pour le premier chien  84,5% pour le second chien	Echantillons de selles

### b. Infection à *Staphylococcus aureus*

Une étude a eu recours à des chiens de détection afin de mettre en évidence une infection à *Staphylococcus aureus*. Il s'agit d'une étude de Koivusalo *et al.* (2017) ayant utilisé des chiens avec succès pour identifier des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline (SARM) (136). En effet il s'agit d'un agent pathogène nosocomial fréquent. De nouveaux outils de détection rapide, efficace et peu coûteux sont nécessaires. Il existe des tests moléculaires basés sur la détection du Staphylococcique Cassette Chromosome mec (SCC mec) contenant le gène mecA. Ces tests connaissent des problèmes de spécificité liés aux souches ayant perdu le gène mecA. Or, il a été montré qu'il existait une signature olfactive différente pour les *S. aureus* résistants à la méticilline et pour ceux y étant sensibles. L'équipe de Koivusalo a donc voulu savoir si les chiens étaient capables de distinguer le SARM des autres souches de *Staphylococcus* à partir de cultures bactériennes. Ils ont procédé à plusieurs phases de tests avec des échantillons incubés pendant 16-24h, 4h ou non incubés. Ils ont obtenu une sensibilité comprise entre 75% et 97% en fonction du temps d'incubation des cultures bactériennes. D'ailleurs après une rééducation des chiens à détecter la souche après 4h de temps d'incubation la discrimination s'est nettement améliorée en passant de 75% à 93% de sensibilité, et une spécificité qui sans compter la première phase de tests à 4h d'incubation précédent la rééducation des chiens était comprise entre 92% et 96%. Les chiens ont donc réussi à différencier par l'odeur les *Staphylococcus* des autres espèces bactériennes mais également à différencier les souches résistantes de celles sensibles à la méticilline. (131,136)

### c. Détection d'infections des voies urinaires par les chiens

Les infections urinaires sont causées par une prolifération bactérienne au niveau de la vessie. Elle est due dans 90% des cas à la bactérie *Escherichia coli*, mais d'autres bactéries peuvent en être la cause également : *Staphylococcus aureus*, *Proteus* spp., *Enterococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Enterobacter* spp. ou *Klebsiella* spp. Le risque chez les personnes atteintes d'infections des voies urinaires (IVU) non symptomatiques est de développer des formes d'infections plus graves telles que des pyélonéphrites ou des septicémies pouvant s'avérer mortelles si elles ne sont pas traitées à temps. En cas d'infection grave, effectuer un diagnostic rapide afin de traiter l'infection rapidement et efficacement est primordial. Or l'obtention du résultat des cultures bactériennes d'urine peut prendre jusqu'à 48h. Les chiens de détection d'odeurs peuvent alors présenter une alternative dans la détection précoce des infections urinaires pertinentes chez les personnes à risque grave de développer des complications

(personnes atteintes de troubles neurologiques, les patients hospitalisés notamment porteurs de cathéters à demeure, ainsi que les personnes âgées). Dans une étude menée par Maurer *et al.* en 2016 cinq chiens ont été entraînés à différencier des échantillons d'urines infectés par des bactéries en comparaison à des échantillons d'urines sains (137). Les chiens ont réussi à détecter des échantillons d'urines positifs pour toutes les souches bactériennes testés :

- *Escherichia coli* à une sensibilité de 99,6% et une spécificité de 91,5%
- *Enterococcus* spp. à une sensibilité de 100% et une spécificité de 93,9%
- *Klebsiella* spp. à une sensibilité de 100% et une spécificité de 95,1%
- *Staphylococcus aureus* à une sensibilité de 100% et une spécificité de 96,3%

La détection d'une infection urinaire par les chiens peut être un moyen de diagnostic rapide et efficace permettant également d'éviter la surconsommation d'antibiothérapie. (131,137,138)

#### 2.3.4.2 Maladies virales : des chiens détecteurs de l'infection par le SARS-Cov-2

Les personnes positives à la COVID-19 secrètent dans leurs sueurs des composés organiques spécifiques détectables par les chiens. Plusieurs études se sont donc intéressées ces deux dernières années à l'utilisation des chiens comme détecteurs de la COVID-19 dont celles de Dickey *et al.* (2021) (139) et de Sakr *et al.* (2022) (140). Les résultats de ces études ont donné une sensibilité de détection par les chiens de 80%. Une valeur de sensibilité élevée permet de limiter au maximum le risque de passer à côté d'un faux négatif. En comparaison la sensibilité des tests PCR est d'environ 85% tandis que les tests antigéniques ont une sensibilité d'environ 71% selon la HAS. Les chiens ont donc une capacité à détecter la présence du virus de la COVID-19 comparable voir supérieure aux méthodes classiques de dépistage. De plus la spécificité obtenue est encore meilleure (90%), donc les chiens ne donnent que très peu de résultats faussement positifs. Afin d'obtenir des résultats reproductibles de ces études dans un cadre réel et à plus grande échelle et il est nécessaire de respecter plusieurs paramètres. Tout d'abord lors de l'apprentissage des chiens à la reconnaissance de l'odeur spécifique de la COVID-19, les échantillons négatifs et positifs doivent être comparables en tout point à l'exception du marqueur spécifique de la maladie (âge, sexe, origine ethnique notamment). De plus les échantillons doivent préférentiellement être prélevés au même endroit et au même moment afin que le chien ne reconnaisse pas de COV spécifiques à l'emplacement plutôt qu'au virus. Les échantillons ne doivent pas non plus provenir de la même personne afin que le chien ne reconnaisse pas l'odeur de l'individu plutôt que l'odeur de la COVID-19. Les études doivent toujours être réalisées en double-aveugle, le maître ne doit pas connaître la nature (positive ou négative) des échantillons, car le chien est à même de percevoir des modifications

dans le comportement de son dresseur et ainsi se retrouver influencé. Enfin il faut à la fin de l'apprentissage que les taux de positifs reproduisent la prévalence de la population cible réelle. (139–142)

En France, l'école nationale vétérinaire d'Alfort a conçu un projet mené par le Professeur Grandjean, de formation de chiens à la détection de la COVID-19, projet nommé Nosais-Covid19. Les chiens sont éduqués à l'aide de porte-prélèvements avec des échantillons positionnés de sorte à ne pas être en contact direct avec le nez des chiens. Le marquage est noté comme positif lorsque le chien s'assoit devant l'échantillon. Plusieurs pays notamment l'Argentine, le Chili, la Belgique et Dubaï ont d'ailleurs sollicité l'expertise de cette école dans le but d'obtenir des protocoles d'éducatons similaires. Les périodes de formation des chiens sont relativement courtes. En effet lorsqu'il s'agit de chiens déjà entraînés comme détecteurs d'odeurs comme celles d'explosifs notamment, il ne suffit que de quelques heures à quelques jours d'entraînement afin de leur apprendre à reconnaître cette nouvelle odeur. Il faut en revanche compter au moins un an de formation pour un chien juvénile. (143)

Pokaa est un exemple de chien détecteur de la COVID-19 formée à l'Ecole nationale vétérinaire d'Alfort. C'est un chien appartenant à l'association Handi'chiens, elle travaille environ deux jours par semaines dans les EHPAD afin de détecter les cas de COVID-19 au sein des résidents. Lorsqu'il y a une suspicion de cas positifs dans un étage, elle sent la totalité des individus de l'étage (environ 20 personnes). Lorsque la chienne marque une personne comme positive cette dernière confirme le résultat par un test PCR. Le reste de la semaine, la chienne se repose dans sa famille d'accueil. La présence du chien et cette méthode de dépistage sont très bien perçues par les résidents de la maison de retraite. A Marseille, Inslaf une femelle berger hollandais de l'équipe cynophile des Marins-pompiers a été la première à expérimenter le travail de chiens détecteurs de la COVID-19 à l'aéroport de Marseille Provence. Elle a pu s'exercer sur des passagers d'un avion provenant de Turquie. Elle a ainsi marqué deux passagers qui se sont avérés être positifs après confirmation par test PCR. Elle est capable de scanner une quarantaine de personnes en trois minutes. (144,145)

La mise en œuvre à grande échelle d'éducation de chiens détecteurs de la COVID-19 serait intéressante dans le cadre de dépistage en milieu ambulatoire : dans les aéroports, aux niveaux des entrées aux frontières ou dans les zones portuaires, dans les gares, dans les hôpitaux ou lors de grands rassemblements (événements sportifs, concerts par exemple). Il est possible

à l'heure actuelle en France de développer cette méthode de dépistage en formant l'ensemble des chiens de travail du territoire détecteurs d'odeurs, à cette nouvelle odeur. C'est une méthode performante, peu coûteuse, non invasive, permettant d'avoir des résultats rapides et immédiats pouvant donc s'appliquer à une recherche de masse. (139,140)

#### 2.3.4.3 Maladies parasitaires : études sur les chiens détecteurs du paludisme

Afin de diagnostiquer rapidement les individus porteurs du paludisme, il existe aujourd'hui des tests de diagnostic rapides efficaces et des techniques d'amplification isotherme à médiation par boucle (LAMP) permettant de diagnostiquer rapidement le paludisme. Cependant ce sont des tests restant invasifs nécessitant un prélèvement sanguin, généralement utilisés chez les personnes symptomatiques (fièvre, maux de tête, douleurs musculaires, troubles digestifs, toux, affaiblissement) en recherche d'un traitement. L'utilisation de chiens détecteur du paludisme peut s'avérer intéressante afin de diagnostiquer rapidement, de manière non invasive, la population générale non symptomatique constituant le réservoir humain de l'infection, afin de les traiter rapidement et de lutter contre cette maladie. (146,147)

L'étude de Guest *et al.* publiée en juin 2019 a été la première à utiliser des chiens dans le but de détecter des individus infectés par le paludisme (148). Les chercheurs ont recueilli les odeurs de pieds d'enfants de Gambie en Afrique de l'Ouest en leur fournissant une paire de chaussette en nylon qu'ils ont dû porter toute une nuit. Ils ont ensuite fait renifler ces chaussettes 17 à 20 mois après leur collecte à deux chiens entraînés à reconnaître la signature olfactive du paludisme. Les deux chiens ont obtenu respectivement des sensibilités de 73,3% et 70% et des spécificités de 91,0% et de 90,3%. La concordance des réponses obtenues entre les deux chiens renifleurs était de 89,7%. De plus les chercheurs auraient pu éviter un biais méthodologique. En effet six échantillons d'enfants non infectés ont été indiqués par les deux chiens comme positifs, or il s'est avéré que ces enfants avaient partagé leur lit avec un enfant infecté. Les résultats auraient été meilleurs si les enfants avaient eu chacun leur lit. Cette étude montre tout de même la capacité des chiens à détecter les individus infectés par le paludisme. Les critères de conformité demandés par l'OMS pour les TDR du paludisme sont : un taux de détection de 75% obtenu avec des échantillons à une densité minimale de 200 parasites par  $\mu\text{L}$  et une spécificité minimale de 90%. Les résultats obtenus par les deux chiens sont donc seulement légèrement en dessous des seuils demandés. Cependant il est à noter que dans cette étude 60% des échantillons avaient une densité parasitaire inférieure à 200 parasites par  $\mu\text{L}$ . En se basant

uniquement sur les échantillons avec une densité supérieure ou égale à 200 parasites par  $\mu\text{L}$ , la sensibilité obtenue par les deux chiens est passée de 70-73,3% à 81,8% soit nettement supérieure au taux minimal demandé par l’OMS.(148)

Une seconde équipe de chercheurs menée par Kasstan *et al.* (2019) a évalué la possibilité d’utiliser des chiens détecteurs de paludisme dans les pays pauvres concernés par cette infection, cette fois-ci en demandant aux chiens de renifler directement les individus (146). Cette étude a été menée dans des villages de Gambie. Des groupes de discussion ont d’abord été organisés dans le but d’échanger à propos de ce projet à l’aide de photos montrant des chiens de détection au travail. Les populations locales ont également pu échanger sur les expériences qu’ils avaient pu avoir avec les chiens. Pour les populations locales il existe une peur des chiens errants qui sont considérés comme une nuisance. Les chiens ne sont pas approchés par les habitants du fait de la rage qui reste endémique dans ce pays et de la peur existante du risque de morsure. Cependant la plupart des participants à l’étude ont vu positivement cette possibilité de détecter le paludisme de manière non invasive. Il est donc important d’échanger avec les populations locales, de les rassurer en ce sens sur l’utilisation de chiens détecteurs d’odeurs. (147)

En conclusion, cette méthode de détection du paludisme à l’aide de chiens renifleurs peut s’avérer intéressante. Il faut cependant prendre en considération cette peur des chiens que peuvent avoir les habitants, et pour cette raison la méthode utilisée par l’équipe de Guest *et al.* avec le port de chaussettes serait peut-être plus approprié et simple à mettre en place. De plus afin de déployer cette méthode de diagnostic dans ces pays pauvres il faudra trouver un important soutien financier afin de former et d’entretenir les chiens de détection. (146,148)

Les chiens grâce à leurs capacités olfactives hors normes peuvent donc être entraînés à détecter bon nombre de signatures olfactives spécifiques aux pathologies. Il est de ce fait possible de voir se développer à grande échelle, dans le futur, l’éducation de chiens d’assistance et de détection médicale pour les pathologies évoquées précédemment, mais également pour bien d’autres pathologies encore à l’étude, notamment pour accompagner les personnes asthmatiques ou pour assister les personnes présentant des allergies alimentaires.

## **2.4 Education de chiens d'assistance pour personnes épileptiques et diabétiques**

### **2.4.1 Organismes de formation dans le monde**

Dans le monde plusieurs programmes d'éducation de chiens d'assistance pour personnes diabétiques et épileptiques existent notamment au Royaume-Uni et aux Etats-Unis.

Pour la formation de chiens d'assistance aux personnes diabétiques, il y a aux Etats-Unis les programmes Diabetic Alert Dogs of America et Dogs4Diabetics (D4D). Dogs4Diabetics créé en 2004 est le premier fournisseur de chiens d'assistance pour personnes diabétiques accrédité par Assistance Dogs International (l'autorité mondiale à but non lucratif réunissant des organisations de chiens d'assistance étant conformes au processus d'accréditation de l'ADI). Les chiens formés par Dogs4diabetics sont capables de détecter dans minimum 80% des cas un changement de glycémie 20 à 30 minutes avant toute autre technologie actuelle, et atteignent très régulièrement des taux de plus de 99% de détection. Au Royaume-Uni, Medical Detection Dogs forment des chiens de détection biologique mais aussi d'assistance médicale d'alerte pour les diabétiques de type I. Chaque organisme possède sa propre organisation et son propre programme d'entraînement. Pour exemple, Diabetic Alert Dogs entraîne et remet aux familles uniquement des chiens reçus grâce à des partenariats établis, et n'entraîne pas de chiens personnels. Tandis que Medical Detection Dogs possède un programme de chien propriétaire pour chiens personnels montrant déjà des signes d'alerte et âgés entre 6 et 18 mois. (149–151)

Support Dogs est la seule organisation du Royaume-Uni formant des chiens d'alerte pour personnes épileptiques. Elle organise deux journées d'information par an où les personnes peuvent postuler si elles répondent aux critères de sélection. Aux Etats-Unis plusieurs organisations éduquent des chiens d'assistance pour personnes épileptiques. Paws with a Cause est une association formant des chiens d'assistance à l'échelle nationale pour les personnes épileptiques mais c'est une organisation qui se concentre essentiellement sur l'assistance pendant et après la crise et ne certifie pas la capacité de leur chien à prédire et prévenir son maître de la survenue imminente d'une crise d'épilepsie. (152,153)

Canine Partners for Life (CPL) est quant à elle une organisation à but non lucratif qui éduque également des chiens d'assistance pour personnes diabétiques et pour personnes épileptiques en prévenant l'arrivée des crises jusqu'à une heure à l'avance. C'est l'une des plus grandes

organisations des Etats-Unis dans l'industrie des chiens d'assistance. Elle est également accréditée par l'Assistance Dogs International. (154)

CPL éduque les chiens à détecter par l'odeur les hypoglycémies avant que ce faible niveau en sucre dans le sang ne devienne trop dangereux. Pour ce faire le chien est entraîné à sentir des échantillons de salive sur un coton et à prévenir l'individu lorsque la glycémie est inférieure ou égale à 0,70g/L, valeur à laquelle on parle d'hypoglycémie. Au cours des dernières étapes de sa formation, le chien est entraîné sur des échantillons de salive de son futur bénéficiaire. Ces échantillons sont congelés et stockés afin de pouvoir être utilisés à tout moment lors de la formation. (154)

CPL entraîne également des chiens à adopter un comportement spécifique lorsqu'ils reconnaissent l'odeur de l'arrivée d'une crise d'épilepsie : les chiens regardent profondément leur maître en posant la tête sur ses genoux et tapent avec leur nez. Les chiens ont deux ans de formation en obéissance de base et en compétences avancées où ils sont placés en famille d'accueil, puis l'organisation évalue la capacité du chien à devenir un potentiel chien d'alerte en cas de crise. L'éducation du chien est basée sur un renforcement positif de ses capacités de détection de la crise avec la méthode du clicker. Lorsque le chien exécute un ordre ou une action correctement, l'éducateur actionne le clicker avant de le récompenser avec une friandise. Le « clic » est le signal indiquant au chien qu'il a bien obéi. (154)

#### 2.4.2 Associations de formation de chiens d'assistance en France

En France il existe une confédération appelée CANIDEA, il s'agit de la confédération nationale des organisations de chiens d'aide à la personne, regroupant différentes associations existantes sur le territoire de formation de chiens d'assistance et d'aide à la personne. Les associations affiliées à CANIDEA éduquent des chiens guides d'aveugles et mal voyants, des chiens médiateurs, des chiens d'éveils pour enfants et adultes handicapés. Mais cette confédération comprend également des associations de chiens d'aide à la personne pour les patients épileptiques avec les associations HANDI'CHIENS et ESCAPE qui ont pour but d'éduquer les chiens à prévenir la survenue de crises d'épilepsies, et ACADIA qui éduque des chiens à assister des enfants diabétiques en détectant l'évolution de leur glycémie. (155)

Afin de bénéficier d'un chien d'assistance pour personnes diabétiques ou épileptiques en France, il faut tout d'abord qu'un médecin reconnaisse la pathologie du patient. Une fois sa pathologie reconnue la personne ou la famille de la personne peuvent alors prendre contact avec l'association éduquant des chiens correspondant à la pathologie, ACADIA pour une personne



diabétique par exemple. Une rencontre entre le patient et l'association sera organisée. L'association effectue ensuite une visite à domicile afin de se rendre compte du quotidien et de l'environnement dans lequel évolue le potentiel futur maître. C'est ensuite à la commission d'attribution du centre d'étudier la demande du patient et de la valider ou non. Un ou plusieurs chiens éduqués pouvant correspondre au patient sont sélectionnés et une rencontre entre le ou les chien(s) et le patient est ensuite organisée. Une formation d'environ deux semaines avec le futur maître et le chien est ensuite organisée afin d'apprendre au maître à faire travailler le chien comme ce dernier a appris à le faire au cours de sa formation. Le chien peut alors être remis à son maître et un contrat est signé entre l'école et le maître. L'association effectue un suivi au bout d'un mois, de 6 mois puis chaque année. Le chien part ensuite à la retraite lorsqu'il n'a plus la capacité de travailler.(155)

#### 2.4.2.1 L'association ACADIA pour personnes diabétiques

ACADIA est une association fondée en 2015 par Solène Grivolat, mère d'un enfant diabétique de type I et son mari. Ils découvrent en 2013 l'existence d'écoles de chiens éduqués à détecter les crises d'hypoglycémie et d'hyperglycémie aux Etats-Unis. Ils décident alors de créer leur propre association en France, afin d'éduquer des chiens d'assistances et de rendre possible leur adoption aux personnes touchées par la maladie, et cela gratuitement. ACADIA signifie : Association Chiens d'Assistance pour Diabétiques (figure 16). Les quatre premiers chiens d'assistance ont été remis en juin 2018 à quatre jeunes personnes diabétiques. L'équipe est aujourd'hui constituée d'un conseil d'administration, d'un service civique, d'un responsable famille, d'éducateurs canins, de coordinateurs, de référents d'éducatrices et de bénévoles. (156)



*Figure 12: Logo de l'association ACADIA [156]*

Comme vu précédemment le diabète de type I est une maladie auto-immune dont on ne guérit pas et qui nécessite un suivi quotidien rigoureux. Cette pathologie impacte la vie quotidienne

des enfants qui en sont atteints. Les risques majeurs liés aux crises d'hypoglycémie sévères qui peuvent survenir sont le coma, le décès ou les complications à long terme comme les néphropathies, les rétinopathies ou la perte de sensibilité des membres. ACADIA a pour objectif d'améliorer la qualité de vie d'enfants atteints de diabète en leur permettant de gagner en autonomie. L'objectif actuelle de l'association ACADIA est de remettre environ 10 chiens d'assistance pour personnes diabétiques par an en France. Ces chiens sont capables de détecter de jour comme de nuit les crises d'hypoglycémie et d'hyperglycémie de leur maître et de les en alerter en adoptant un comportement bien précis. (155,156)

Cette association a fait le choix d'éduquer des chiens étant tous issus de refuges, afin de leur donner une seconde chance. Elle s'engage dans le respect du bien-être animal et assure un suivi du chien tout au long de sa vie : de son adoption à sa retraite. L'éducation des chiens dure environ huit mois. Elle est uniquement basée sur de l'éducation positive avec un clicker, on parle de clicker training et de récompense à l'aide de friandises. (156)

Depuis 2018 ce sont 21 chiens qui ont été remis gratuitement à de jeunes patients diabétiques et 8 chiens sont actuellement en formation. En avril 2022 ce sont 6 familles qui, à l'issue de 10 jours de stade de formation à l'association ACADIA, se verront remettre à condition que l'intégralité de la formation soit validée, leur chien d'assistance. (156)

#### 2.4.2.2 Les associations HANDI'CHIENS et ESCAPE pour personnes épileptiques

Les chiens d'assistance pour personnes épileptiques pharmaco-résistantes qui représentent environ 1/3 des malades épileptiques, sont éduqués dans le but d'alerter de la survenue imminente d'une crise d'épilepsie, qui est très difficile à prévoir pour les patients, d'autant plus qu'il n'existe à ce jour par d'outils technologiques permettant de les prédire. (155,157)

L'association HANDI'CHIENS a été créée en 1989. Elle remet gratuitement différents types de chiens d'assistance : des chiens d'éveil qui assistent notamment les enfants souffrant d'autisme, des chiens d'accompagnement social (dans les EHPAD, à l'hôpital de jour ou en foyer d'accueil médicalisé par exemple), un premier chien d'assistance judiciaire qui accompagne et soutien moralement les victimes d'infractions pénales (agression ou viols par exemple), des chiens de réussite scolaire, des chiens formés à la détection de maladies et

également des chiens d'alerte pour l'épilepsie. L'association est composée de 800 bénévoles, de 350 familles d'accueil dans toute la France, de 80 délégués familles d'accueil et de 18 administrateurs. Le coût total de formation d'un HANDI'CHIENS est de 17 000 €. Les chiens ne sont pas ici issus de refuges, ce sont des chiens placés en famille d'accueil durant 16 mois et formés en centre pendant 6 mois. (157)



**Figure 13: Logo de l'association HANDI'CHIENS [157]**

Les HANDI'CHIENS pour personnes épileptiques ont reçu une formation basée sur la discrimination d'odeur. Ces chiens interviennent avant la crise en la détectant en moyenne 7 minutes avant qu'elle ne survienne. Le chien joue alors un rôle de chien d'alerte en prévenant son maître par un coup de museau spécifique appelé « poke ». Le maître peut ainsi se mettre en sécurité, prendre ses médicaments ou prévenir son entourage. Pendant la crise, le chien reste couché auprès de son maître en lui faisant ressentir un point de pression afin de l'apaiser (cf. figure 18). En fonction des attentes du bénéficiaire, le chien peut également être entraîné à appuyer sur un bouton alertant la famille de la crise, on parle de chien de réponse. Après la crise le chien peut aider son maître à se relever, à aller chercher ses médicaments ou le téléphone. La réussite de détection de la crise avant qu'elle ne survienne n'est pas absolue, elle est d'environ 70% et le chien améliore ses performances avec le temps passé avec son maître. 100% des chiens sont en revanche formés et capables d'intervenir pendant et après la crise. (157,158)

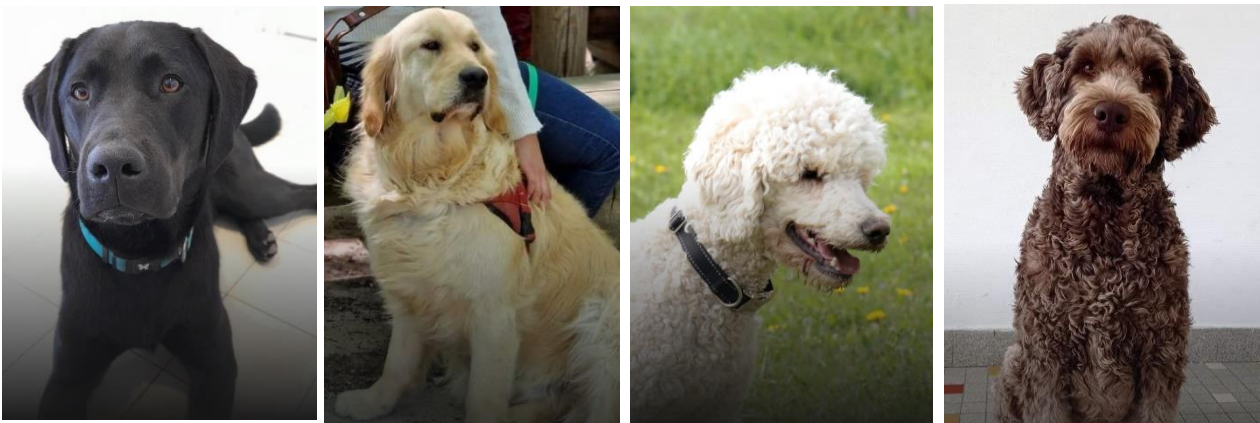


**Figure 14: Chien d'assistance pour personne épileptique en formation [157]**

HANDI'CHIEN a remis ses premiers chiens d'assistance pour personnes épileptiques en 2018. En 2020 elle a remis 114 chiens d'assistance dont 5 chiens d'assistance pour personnes épileptiques. (157)

Une seconde association nommée ESCAPE pour Education et Suivi des Chiens d'Alerte et de protection pour Personne Epileptique a pour projet de mettre en place une structure d'éducation permettant de former elle aussi des chiens d'alerte pour personne épileptique et d'étudier parallèlement la façon dont les chiens parviennent à prévenir les crises d'épilepsie. Cependant à ce jour ESCAPE ne remet pas encore de chiens d'alerte. HANDI'CHIEN est donc actuellement la seule association en France possédant des éducateurs canins formés à l'éducation de chiens pour personne épileptique. (155,159)

Différentes associations éduquant des chiens d'assistance pour personnes diabétiques et épileptiques existent donc dans le monde. Elles possèdent chacune leurs propres critères d'éligibilité (tableau 8) et leurs propres programmes de formation. Les races de chiens principalement sélectionnées afin d'être éduqué comme chien d'assistance sont les labradors et les goldens retriever, ainsi que les caniches royaux et les labradoodles (croisement entre un labrador et un caniche) (figure 15 et tableau 8). Ce sont en effet des chiens qui se dressent facilement, calmes, dociles, sociables et possédant un très bon odorat capable de détecter les COV.



*Figure 15: Photos de chiens d'assistance (labrador retriever, golden retriever, caniche royal et labradoodle de gauche à droite) de l'association ACADIA [156]*

**Tableau 8: Tableau récapitulatif des caractéristiques des principales associations éduquant des chiens d'assistance pour personnes épileptiques et diabétiques aux Etats-Unis, au Royaume-Uni et en France**

	Pays	Pathologies	Critères principaux d'éligibilité des futurs bénéficiaires	Races de chien et/ou provenance	Durée de formation des chiens
<b>Dogs 4 Diabetics</b>	Etats-Unis	Diabète	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Vivre dans les Etats de Washington, en Oregon ou en Californie</li> <li>- Pas d'âge minimum mais bonne maturité physique et émotionnelle</li> <li>- Famille non- fumeur</li> <li>- Diabétique depuis au moins 12 mois</li> </ul>	En grande majorité des labradors retriever provenant d'une association de formation de chiens d'aveugle (GBDB) et changeant de carrière ou provenant de la fondation de sauvetage des animaux (ARF)	Durée de formation non renseignée
<b>Canine Partners for Life</b>	Etats-Unis	Diabète	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Agé de 12 ans et plus</li> <li>- Avoir au moins 2 à 4 épisodes d'hypoglycémie/jour et ne pas en avoir conscience</li> <li>- Volonté de s'engager à temps plein dans un partenariat de chien d'assistance</li> </ul>	Provenant : <ul style="list-style-type: none"> <li>- de leur élevage de labrador</li> <li>- d'autres organisations de chiens d'assistance du pays</li> <li>- de chiots d'éleveurs responsables</li> </ul>	2 ans : 1 an avec des bénévoles pour obéissance de base et un an de formation avancée avec des entraîneurs professionnels
		Epilepsie (chien d'alerte et d'assistance)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Agé de 12 ans ou plus</li> <li>- Volonté de s'engager à temps plein dans un partenariat de chien d'assistance</li> </ul>		
<b>Medical Detection Dogs</b>	Royaume-Uni	Diabète Chiens détecteurs de pathologies	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Vivre en Angleterre, au Pays de Galle ou en Ecosse</li> <li>- Entre 5 et 75 ans</li> <li>- Diabétique depuis 1 an ou plus</li> <li>- Fort engagement et bonne disponibilité</li> </ul>	labradors et goldens retriever, mais aussi labradoodle et cockers spaniel + Programme pour éduquer chiens personnels	De 18 à 24 mois pour un chiot
<b>Support Dogs</b>	Royaume-Uni	Epilepsie (chien d'alerte et d'assistance)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Diagnostic confirmé d'épilepsie avec au minimum 10 crises/mois</li> <li>- &gt; 16 ans</li> <li>- Pas d'autres animaux de compagnie</li> <li>- Être disponible pour la formation</li> </ul>	labradors retriever principalement	Environ deux ans Suivi d'une formation de 3 semaines avec la famille + stage de 3 à 5 jours à domicile
<b>ACADIA</b>	France	Diabète	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Enfants et jeunes adultes en priorité</li> <li>- Minimum 5 ans</li> <li>- Minimum 2 ans de diabète</li> </ul>	Chiens issus de refuges : <ul style="list-style-type: none"> <li>- labradors Retriever</li> <li>- caniches Royaux</li> <li>- labradoodles</li> </ul> Et plus rarement : <ul style="list-style-type: none"> <li>- goldens Retriever</li> <li>- bergers</li> <li>- beaucerons</li> </ul>	Environ 8 mois
<b>HANDI' CHIENS</b>	France	Epilepsie (chien d'alerte et d'assistance)	Non renseigné	Races de prédilection : <ul style="list-style-type: none"> <li>- labradors retriever</li> <li>- goldens retriever</li> </ul> A l'essai : <ul style="list-style-type: none"> <li>- bergers allemand</li> <li>- caniches royaux</li> </ul>	Remis en famille d'accueil à 2 mois durant 16 mois puis formation de 6 mois

## **2.5 Avantages et limites**

L'utilisation des capacités olfactives des chiens pour en faire des chiens d'assistance et de dépistage de pathologies est une voie se révélant prometteuse pour l'avenir. Il existe en effet un certain nombre d'avantages à l'utilisation de leurs capacités olfactives dans le domaine médicale cependant il subsiste certaines limites et inconvénients à cette méthode que nous allons aborder ci-après.

### **2.5.1 Avantages à l'utilisation des capacités olfactives du chien dans le domaine médical**

#### **2.5.1.1 Le coût**

Le coût de formation d'un chien d'assistance ou d'aide médical est estimé être compris entre 10 000 et 30 000 euros selon le type de formation et l'association formatrice. Pour exemple, le coût total nécessaire à l'éducation d'un chien d'assistance comprenant le coût d'élevage, de formation, de placement et de suivi du chien à vie par Canine Partners for Life est d'environ 30 000 \$. L'association ACADIA quant à elle, livre le détail des dépenses nécessaires à la formation d'un chien d'un total d'environ 20 000 euros : 300€ pour l'adoption d'un chien en refuge, 30 € pour une cape d'assistance de l'association, 50 € de croquettes et friandises par mois, 150 € de bilan vétérinaire et 600 € par semaine de formation. Ce coût peut s'avérer être élevé sachant que le financement de la formation de chiens d'assistance est généralement possible grâce aux seuls dons des donateurs. Cependant l'éducation de chien de diagnostic médical pourrait être pris en charge à l'avenir par le système de santé . Ce coût moyen de formation s'avèrerait beaucoup moins onéreux en comparaison du prix des équipements scientifiques nécessaires aux dépistages de pathologies (spectromètre de masse, scanner, mammographe, ...). Selon la HAS le seul coût total du dépistage individuel du cancer du sein en France en 2012 a été de 37,6 millions d'euro. Si à l'avenir le dépistage canin venait à se démocratiser, cela permettrait de réduire considérablement le coût économique du dépistage des pathologies tels que les cancers. (154,156,160)

#### **2.5.1.2 Le caractère non invasif de cette méthode de dépistage**

A contrario des méthodes de dépistage classiques pouvant s'avérer contraignantes, invasives et/ou douloureuses (biopsie, scanner, prise de sang, test PCR/antigénique pour le diagnostic du COVID...), l'utilisation des chiens est une méthode non invasive. Le dépistage des cancers par les chiens se fait généralement à l'aide d'échantillons d'air expiré ou d'urine

du patient. La recherche d'infection à *Clostridium difficile* se fait à partir d'échantillons de selles. Le dépistage de la COVID-19 est effectué par le chien directement en reniflant l'odeur corporel du patient, tandis que le dépistage du paludisme peut se faire à partir d'échantillons de sueur corporel (chaussettes portées par le patient toute une nuit).

#### 2.5.1.3 Une méthode de diagnostic précoce

La prise en charge des cancers à un stade des plus précoces est primordiale afin d'avoir les meilleures chances de guérison possible. Or, la littérature scientifique étudiée précédemment semble prouver la capacité des chiens à détecter les cancers à un stade précoce. En effet, l'étude de Horvath *et al.* (2010) avait démontré la capacité des chiens à détecter le cancer des ovaires au stade le plus précoce (130). Cette aptitude avait également été démontré dans différentes études notamment pour le cancer du sein et le cancer des poumons. (130)

#### 2.5.1.4 Une méthode de diagnostic rapide

Les méthodes de diagnostic traditionnelles peuvent s'avérer complexes, l'obtention des résultats et leurs interprétations peuvent parfois demander plusieurs jours d'attente ce qui s'avère anxiogène. Pour exemple une coloscopie se prépare plusieurs jours à l'avance avec la mise en place d'un régime sans résidu, un lavage de l'intestin, l'examen en lui-même dure environ 30 minutes puis l'interprétation des résultats prend en moyenne 3 jours. Avec un chien détecteur de pathologie le diagnostic peut se faire directement par reniflement du patient ou sur un échantillon d'urine ou de selles par exemple. Le diagnostic est alors connu en quelques secondes. (93)

#### 2.5.1.5 Un diagnostic simple d'interprétation

L'interprétation des résultats d'une analyse canine est très simple, là où l'interprétation de résultats donnés par un spectromètre de masse peut s'avérer complexe par exemple. La réponse du chien est binaire (échantillon positif ou négatif). Le chien indique son analyse à la manière qui lui a été appris : par marquage en se couchant devant l'échantillon ou en le montrant de la patte par exemple. (93)

#### 2.5.1.6 Une méthode accessible

L'utilisation de chiens pour le diagnostic de pathologies permet son utilisation en ambulatoire, sans avoir besoin de matériel médical sophistiqué et difficilement transportable. Comme vu précédemment cela permettrait de faire du dépistage dans les pays à faible ressources avec peu de matériel pour lutter contre le paludisme notamment. Cela permet également de faire du dépistage de masse à grande échelle dans les lieux publics comme les aéroports, les stades ou dans les salles de spectacle pour détecter les personnes infectées par la COVID-19. De plus c'est une méthode rendant possible le dépistage de certains cancers à distance, intéressant pour les personnes à mobilité réduite. En effet le projet KDOG souhaite proposer un diagnostic du cancer du sein à distance, en envoyant au domicile des patients un kit de dépistage KDOG permettant de récolter un échantillon à retourner à l'organisme et analysé par un chien. Ce kit comporte un savon sans odeur, une lingette à positionner sur chaque sein durant une nuit et un bocal dans lequel mettre la lingette. (161)

#### 2.5.1.7 Une méthode de diagnostic fiable

L'odorat du chien est capable de détecter une quantité infime de composés organiques volatils. Les études évaluant la fiabilité de l'utilisation des chiens dans le diagnostic médical analysées ci-avant ont trouvé des spécificités et des sensibilités élevées, parfois même supérieures aux techniques de diagnostic classiques.

#### 2.5.1.8 Aspect psychologique des chiens d'assistance

Les chiens d'alerte pour personnes diabétiques et épileptiques améliorent la qualité de vie des patients qui en bénéficient, notamment chez les plus jeunes. En effet l'accompagnement du chien dans la prise en charge de la maladie, rassure et apaise l'enfant qui en est atteint. Il offre un sentiment de sécurité incontestable. (124)

#### 2.5.2 Limites et inconvénients à l'utilisation des capacités olfactives du chien dans le domaine médical

Il existe cependant un certain nombre de limites à l'utilisation d'un chien d'assistance ou de dépistage de pathologie.

Tout d'abord la durée d'éducation des chiens est longue, elle comprend la période d'éducation et d'obéissance de base généralement effectuée en famille d'accueil, ainsi que la période



d'éducation en compétences avancées où le chien est formé à reconnaître les odeurs spécifiques. Elle est en moyenne de deux ans.

Il n'existe actuellement pas encore de processus standardisé d'éducation. Il serait intéressant, dans l'optique d'obtenir des résultats similaires, peu importe le centre de formation duquel le chien est issu, d'harmoniser à l'échelle internationale les programmes de formation des chiens et de créer un organisme de certification de chiens détecteurs de pathologie. La durée de formation des chiens, le nombre d'entraînements hebdomadaires ainsi que la durée de ces entraînements, les types d'échantillons utilisés pour chaque pathologie et leurs durées de conservation sont autant de paramètres à normaliser dans les méthodes d'éducation afin de créer des centres de formation de chiens de détection médicale certifiés. Cependant cette méthode reste difficile à standardiser car la différence de performance d'un chien à l'autre sera toujours présente. Les résultats obtenus par un chien ne peuvent pas être reproductibles à l'identique par un autre. De plus un même chien peut voir ses performances évoluer dans le temps avec le vieillissement, la fatigue ou la présence d'une infection.

Le chien nécessite un entretien et des soins permanents, il faut organiser son placement en famille d'accueil, planifier ses séances de travail. De plus, le temps de travail du chien est limité à environ 20 minutes consécutives suivi de périodes de récupération de 45 minutes en moyenne afin de limiter le risque de fatigue olfactive et afin qu'il reste concentrer et motivé à travailler, là où les méthodes de diagnostic à l'aide d'outils technologiques permettent de travailler en continu. (93)

Le déploiement de cette méthode reste controversé et fait face au scepticisme d'un grand nombre de personnes doutant de la capacité des chiens à permettre d'établir un diagnostic. Il faut cependant souligner que le chien pourrait être d'une grande aide au dépistage notamment de cancers. De plus, en cas de détection par le chien d'une anomalie, des examens complémentaires sont bien sûr systématiquement effectués. Il se positionnerait en effet en première ligne au dépistage de pathologies. (105)

Cela peut également poser un problème éthique d'hygiène en milieu hospitalier. Il est indispensable de créer des locaux annexes adaptés permettant d'accueillir les chiens dans les meilleures conditions, et dans lesquels l'analyse des échantillons peut être faite.

Enfin il est à noter qu'à contrario des technologies qui peuvent voir leurs banques de données s'enrichir au fur et à mesure du temps, à la retraite du chien cette banque de données olfactives est inévitablement perdue. (93)

En conclusion, l'appareil olfactif du chien est particulièrement développé, ce qui lui confère cette capacité à sentir les composés organiques volatils rejetés par l'Homme même à des seuils de détection très faibles. Nous avons également pu constater que certaines races de chiens étaient plus aptes à devenir des chiens d'assistance ou de diagnostic du fait de leur anatomie (museau long) et de leur surface d'épithélium olfactif mais également grâce à leurs caractéristiques comportementales (sociable, aimant travailler, affectueux, calme, doux). Les labradors et golden retriever ainsi que les caniches royaux sont en sens largement choisis. La perspective d'utiliser les chiens dans ce domaine médical n'est que récente. De nombreuses études ont montré la capacité des chiens à détecter un grand nombre de signatures olfactives de pathologies et beaucoup d'autres devraient être publiées dans un futur proche. L'avenir de l'éducation des chiens à la reconnaissance de ces signatures olfactives est prometteur et la création d'organismes de certification de chiens détecteurs de pathologies serait une solution intéressante afin d'étendre cette pratique.

### **3 Avenir des nez (bio)électroniques dans le diagnostic médical**

Nous avons pu constater la capacité des chiens à détecter les composés organiques volatils, cependant il subsiste certaines limites à l'utilisation des chiens dans le domaine médical. Le développement de dispositifs artificiels miniaturisés présentant l'avantage d'être portatifs et de diagnostiquer des pathologies de manière non invasive par détection des COV rejetés par l'organisme est donc également prometteur. Il existe deux types de ces dispositifs artificiels distincts : les nez électroniques ainsi que les dispositifs hybrides appelés nez bioélectroniques. Les premiers nez électroniques sont apparus dans les années 1980, cependant le développement de ces nouvelles technologies dans le diagnostic médical s'est véritablement rapidement accéléré ces dix dernières années. (162,163)

#### **3.1 Les nez électroniques et bioélectroniques**

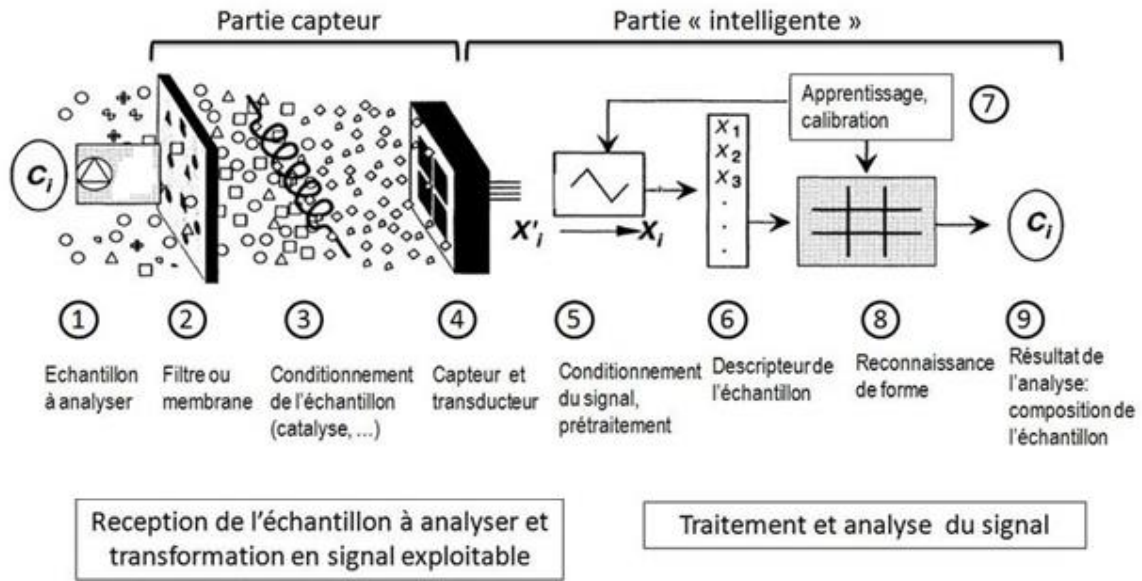
##### **3.1.1 Les nez électroniques**

Nous allons nous intéresser dans cette partie au principe de fonctionnement des nez électroniques, ainsi qu'aux différents types de capteurs chimiques pouvant être utilisés dans leur constitution.

##### **3.1.1.1 Principes de fonctionnement des nez électroniques**

Les nez électroniques appelés également e-nose sont des dispositifs de détection de gaz constitués de plusieurs parties distinctes : un système d'échantillonnage et un réseau de capteurs chimiques couplés à un système de mesure. La signature olfactive perçue par les nez électroniques est ensuite analysée et comparée à des bases de données de signatures odorantes. Ainsi ils peuvent être utilisés afin de servir au diagnostic de pathologies rejetant des composés organiques volatils spécifiques. (18,163–165)

La première partie de l'e-nose, la partie « capteur » sur la figure 16, a pour fonction de réceptionner l'échantillon à analyser et de transformer l'information chimique qu'elle reçoit (composition et concentration de l'échantillon) en un signal exploitable.

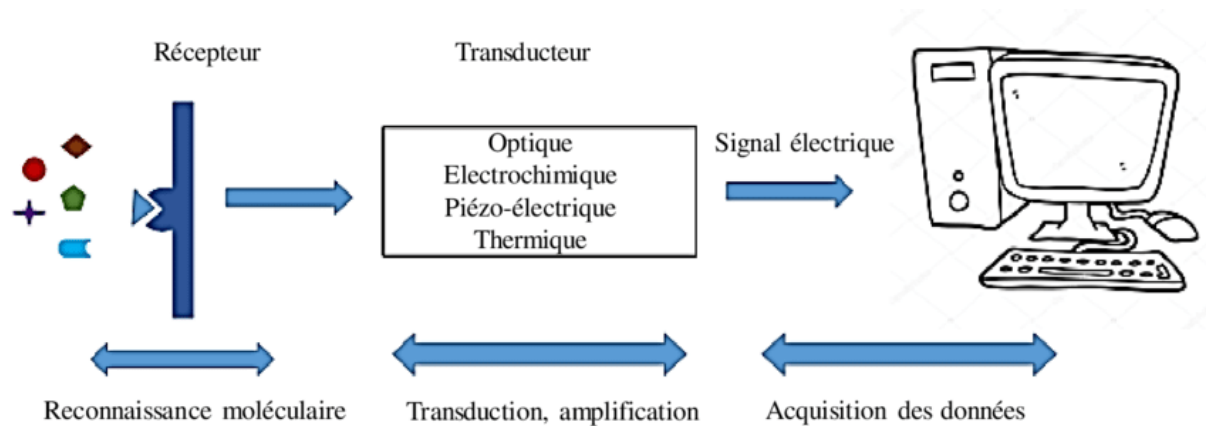


**Figure 16: Schéma du principe de fonctionnement d'un nez électronique [166]**

Tout d'abord, un système d'échantillonnage permet de mettre en contact le gaz libéré par l'échantillon avec le réseau de capteurs chimiques. Les techniques d'échantillonnage les plus couramment utilisées pour les nez électroniques sont les techniques d'extraction de l'espace de tête qui peuvent être effectuées en mode statique ou en mode dynamique. Pour le mode statique, l'échantillon est placé dans un flacon fermé hermétiquement et chauffé. Les composés organiques volatils vont se retrouver dans l'espace tête dans des concentrations proportionnelles à celles de l'échantillon. L'espace tête sera prélevé et constitue alors l'échantillon à analyser. La technique d'extraction de l'espace de tête en mode dynamique est une technique plus sensible que la première qui consiste à envoyer un flux continu de gaz vecteur dans lequel les analytes sont entraînés. L'extraction des COV est ainsi facilitée. La méthode d'échantillonnage en mode statique n'est plus adaptée aux nez électroniques compacts et portatifs, en effet elle nécessite un temps d'équilibre d'évaporation d'une dizaine de minutes au minimum contrairement à la méthode dynamique. (166)

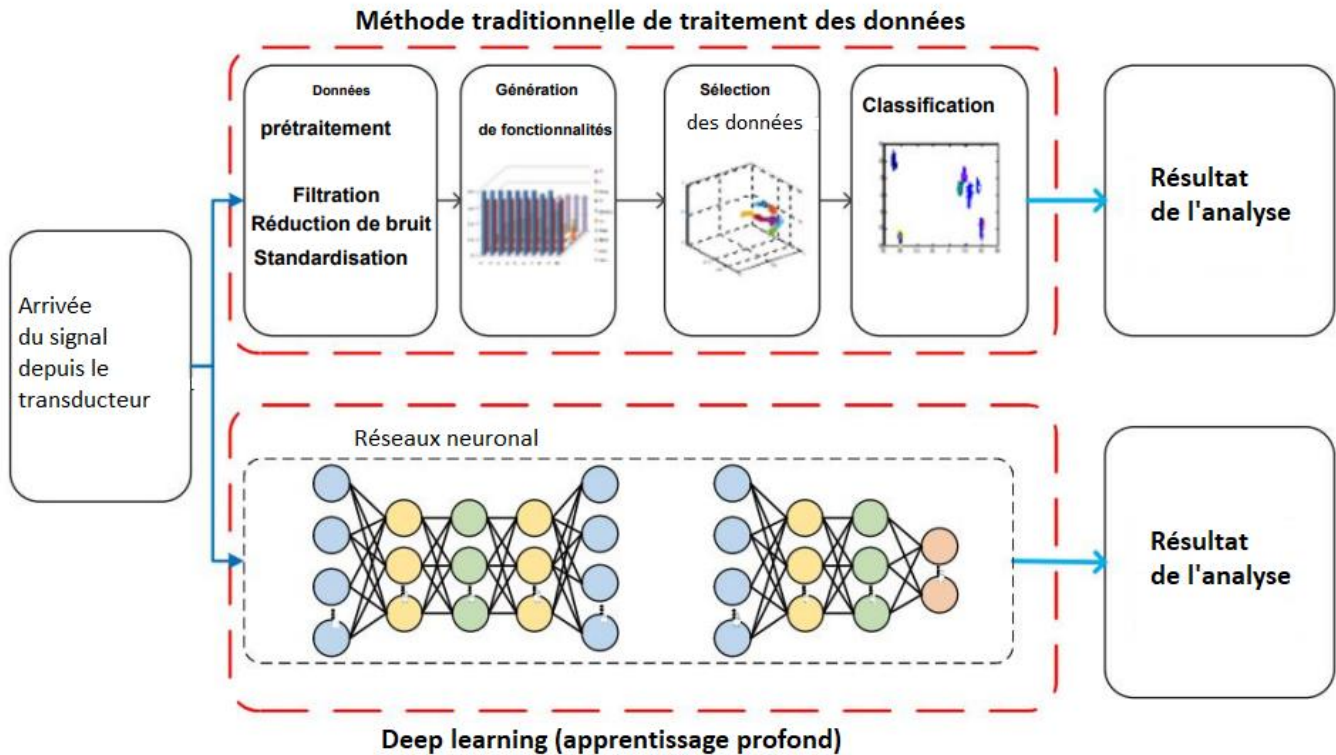
Après l'étape d'échantillonnage, l'échantillon est alors mis en contact avec le réseau de capteurs. Ce réseau est en effet constitué de plusieurs capteurs chimiques de surfaces sensibles très variées dont les propriétés vont être modifiées en présence de certains COV. Chacun de ces capteurs est capable de reconnaître un certain type de gaz et peut en mesurer la concentration dans un échantillon. Chaque capteur chimique est composé de deux parties : un récepteur et un transducteur (figure 17) (167). Le récepteur permet la réception du signal, cette réception peut être physique ou chimique selon le type de capteur utilisé. Le récepteur est couplé à une seconde

partie : le transducteur. Ce dernier permet de transformer le signal perçu en signal exploitable, c'est la transduction du signal. Il existe également un certain nombre de principes de transduction différents : optique, électrique, piézo-électrique, électrochimique, thermique, etc. (163–165)



**Figure 17: Schéma de principe de fonctionnement d'un capteur chimique (167)**

La deuxième partie constituant les nez électroniques correspond au système de traitement de l'information (figure 17, partie « intelligente ») qui permet de donner le résultat de l'analyse et ainsi établir un diagnostic. A l'heure actuelle, il existe deux méthodes de traitement de données différentes. La première est la méthode traditionnelle qui comprend une étape de prétraitement des données (réduction du bruit, normalisation, ...), une étape de sélection des données et une étape de classification. La seconde méthode est celle utilisant le Deep learning. Le Deep learning est un sous-domaine d'intelligence artificielle, c'est une méthode d'apprentissage automatique capable d'analyser des données non structurées à l'aide de dizaines de couches de réseaux de neurones. Chaque couche de neurones recevant et analysant les informations de la couche précédente à l'aide d'algorithmes (figure 18). Ce modèle de traitement d'information est particulièrement utile lorsqu'il faut traiter une grande quantité de données. Peu importe la méthode utilisée, le principe de cette étape est d'établir l'empreinte olfactive de l'échantillon identifiée par comparaison aux bases de données olfactives. Le nez électronique ne donne cependant pas la composition en COV de l'échantillon. Le rôle des algorithmes à reconnaissance de formes utilisés dans les nez électroniques est de reconnaître une empreinte olfactive spécifique à une pathologie et non pas de donner la composition en COV de l'échantillon. (166,168)



**Figure 18: Deux méthodes différentes de traitement des données des nez électroniques ([166])**

### 3.1.1.2 Les capteurs chimiques

Les capteurs chimiques sont des systèmes constitués d'une surface sensible à la reconnaissance de certains gaz avec lequel elle interagit. Cette interaction chimique est perçue par le transducteur qui traduit ensuite cette information en signal électrique. Le choix des capteurs chimiques utilisés dans la confection d'un nez électronique est donc primordial. Un grand nombre de capteurs existe, cependant seuls quelques-uns d'entre eux sont utilisables avec des échantillons en phase gazeuse. (165)

Il existe en effet différentes familles de capteurs se distinguant par le type de surface et le système de transduction utilisé. Les surfaces en polymères conducteurs ou en oxydes métalliques semi-conducteurs sont des exemples de surfaces couramment utilisées pour la confection de nez électroniques. Chacune de ces familles de capteurs possède des caractéristiques différentes: de sensibilité, de spécificité, de stabilité, de reproductivité, de temps de réponse, de robustesse, de consommation d'énergie, de coût et de possibilité d'intégrabilité dans un système portatif de nez électronique, dont voici les performances dans le tableau 9. Chaque famille de capteurs possède ainsi des avantages et des inconvénients qui lui sont propres. (18,165,169,170)

**Tableau 9: Principales familles de capteurs de gaz et leurs caractéristiques [165]**

Principales Caractéristiques	Familles de capteurs de gaz						
	Semi conducteur (MOX, FET)	Combustion catalytique (Pellistors CC)	Piézoélect. (SAW, BAW, QMB)	Electro chimique	Conduct. thermique (Pellistors CT)	Absorption infrarouge (IR, NDIR)	Photo ionisation (PID)
Sensibilité	++	+	+++	+	--	+++	++
Précision	+	+	++	+	+	+++	++
Sélectivité	-	--	-	+	--	++	-
Temps de réponse	++	+	+	-	+	-	+
Stabilité	-	-	+	--	-	+	+
Robustesse	+	+	-	--	+	++	+
Consommation énergie	++	-	-	-	-	--	--
Coût	++	++	-	+	+	--	-
Intégrabilité (pour un système portable)	++	+	+	-	+	--	++

-- Performance Très Faible ; - Faible ; + Bonne ; ++ Très Bonne

Les capteurs à semi-conducteur, occupent une place de choix dans le domaine de la détection gazeuse. En effet ils possèdent des caractéristiques particulièrement intéressantes. Ils sont constitués d'une couche sensible semi-conductive d'oxyde métallique. Ils fonctionnent par absorption de gaz en surface de l'oxyde métallique chauffé afin d'accélérer la réaction. L'absorption du gaz provoque un changement de résistance électrique de l'oxyde métallique proportionnel à la concentration en gaz de l'échantillon. La conductivité de cette couche dépend donc de la composition et de la concentration en COV de l'échantillon. (169,171)

L'analyse d'échantillons complexes comportant un grand nombre de COV différents nécessite l'emploi d'un nombre de capteurs également important chacun sensible à certains COV spécifiques, on parle de réseau de capteurs.

### 3.1.2 Les nez bioélectroniques

Il existe un deuxième type de dispositif artificiel de détection des odeurs : les nez bioélectroniques. Nous allons étudier ci-après ce qui différencie les nez bioélectroniques des nez électroniques dans leur principe de fonctionnement.

### 3.1.2.1 Principes de fonctionnement des nez bioélectroniques et récepteurs olfactifs

Les nez bioélectroniques sont des dispositifs hybrides détecteurs d'odeur. Ils fonctionnent sur le même principe que les nez électroniques classiques à la différence de la nature de la surface sensible de leurs capteurs : la surface sensible physique est remplacée par une surface sensible biologique. L'utilisation de matériaux biologiques permet de discriminer un COV cible à partir d'un mélange d'odeurs complexes avec une meilleure sélectivité qu'un capteur de nez électronique. (172,173)

En effet, la surface sensible des capteurs des nez bioélectroniques est constituée de récepteurs olfactifs (RO) biologique de nature protéique. Comme nous avons pu l'étudier dans la partie concernant l'anatomie de l'appareil olfactif du chien, les récepteurs olfactifs appartiennent à la famille des récepteurs couplés à des protéines G. L'interaction de la molécule odorante avec le récepteur olfactif active la protéine G, ce qui entraîne une cascade de signalisations jusqu'au bulbe olfactif. Afin de sélectionner des RO sensibles à un type d'odeur spécifique à une pathologie, il faut préalablement identifier les composés organiques volatils biomarqueurs d'une pathologie. Une fois ces COV mis en évidence, le principe est de trouver des récepteurs olfactifs s'activant en présence de ces COV. A la différence des nez électroniques, il est donc nécessaire de connaître les signatures olfactives des pathologies afin de mettre au point des nez bioélectroniques capables de détecter ces dernières. L'objectif est donc de sélectionner les RO les plus pertinents à la détection de chacun des COV entrant dans la composition de la signature olfactive d'une pathologie. Il est à noter qu'un même odorant peut stimuler différents récepteurs olfactifs, tandis qu'un récepteur olfactif peut être stimulé par différents odorants (figure 19). En effet les RO peuvent reconnaître une gamme de molécules odorantes partageant des caractéristiques spécifiques de plusieurs ordres : dimensions structurelles (formes et tailles de l'odorant), groupes fonctionnels, composition atomique, charge et hydrophobicité. La perception d'une odeur résulte donc du codage combinatoire entre les récepteurs olfactifs et les molécules odorantes, qui permettra de détecter des milliers d'odorants différents. A l'heure actuelle, ce sont seulement quelques récepteurs olfactifs parmi les millions de RO existants (environ 5 millions dans l'épithélium olfactif humain et environ 300 millions chez le chien) qui ont pu être étudié afin de déterminer leurs réponses aux odorants, du fait de la difficulté d'étude de ces derniers. Les nez bioélectroniques ont donc jusqu'à présent été développés à partir d'un nombre restreint de RO comprenant notamment le récepteur 17 du



rat, le récepteur OR17-40 humain, ainsi que le récepteur ODR-10 du nématode *Caenorhabditis elegans*. (163,172,174)



**Figure 19: Schéma du code combinatoire entre récepteurs olfactifs et odorants [163]**

Différentes méthodes permettent d'identifier les RO spécifiques à certains odorants afin de mettre au point un nez bioélectronique. Il est tout d'abord possible d'interroger les bases de données déjà existantes listant les odorants et les récepteurs s'activant en leur présence du fait de leur structure tridimensionnelle. Il existe trois principales bases de données dédiées aux informations relatives aux RO et à leurs ligands odorants. Il s'agit de l'ORDB (Olfactory Receptor Database), de l'HORDE (Human Olfactory Data Explorer) ainsi que de ODORactor. Il existe également d'autres méthodes expérimentales. Les chercheurs de l'équipe de Launay *et al.* ont en effet développé une technologie entièrement automatisée permettant de modéliser la structure des récepteurs olfactifs en 3 dimensions. (163,175,176)

Après avoir identifié les récepteurs olfactifs permettant de mettre en évidence la signature olfactive cible, l'objectif est de produire ces RO et de les greffer aux transducteurs du capteur des nez bioélectroniques. En effet le capteur des nez bioélectroniques est constitué de deux parties distinctes. La première partie biologique comporte le récepteur olfactif permettant la reconnaissance des odeurs d'origine biologique. Elle peut être constituée de cellules entières, de nanovésicules comme des liposomes ou de protéines réceptrices olfactives. La deuxième partie non biologique (le transducteur) est composée de nanomatériaux de différentes natures que nous détaillerons par la suite. Ensuite le principe de fonctionnement des nez bioélectroniques reste sensiblement le même que celui des nez électroniques vu précédemment. (163,173,177)

### 3.1.2.2 Les biocapteurs et stratégies de production des récepteurs olfactifs

La production des récepteurs olfactifs est donc l'étape la plus complexe dans la fabrication de nez bioélectroniques. Il existe différentes méthodes de production de ces récepteurs olfactifs que nous allons étudier ci-après.

Tout d'abord la production de RO à partir de muqueuse olfactive d'animaux n'est pas envisageable pour plusieurs raisons. Premièrement pour une raison d'éthique animale s'appuyant sur le principe des 3R (Replace, Reduce, Refine) qui vise à « Réduire » le nombre d'animaux utilisés à des fins de recherche, à « Remplacer » ce modèle de recherche par d'autres méthodes et à « Raffiner » c'est-à-dire à optimiser l'expérimentation en améliorant les conditions de vie de l'animal au maximum. La deuxième raison est pratique : les neurones sensoriels olfactifs exprimant le même type de récepteur olfactif sont dispersés sur toute la surface de l'épithélium olfactif, il serait trop laborieux de les extraire directement sur l'animal. Il est donc nécessaire d'utiliser d'autres systèmes de production. Le défi majeur est de réussir à préparer et à immobiliser les RO sur la surface solide du capteur du nez bioélectronique. Puisqu'il s'agit de RO couplés aux protéines G ils doivent être placés dans un environnement similaire à l'environnement membranaire. Ces protéines sont très hydrophobes, ce qui nécessite donc un environnement de lipides ou de détergents spécifiques permettant de garder leur intégrité. Deux méthodes de production ont été mis au point, la première consiste à utiliser des cellules entières de différentes natures (cellules de mammifères, levures) exprimant des récepteurs olfactifs recherchés, la seconde à utiliser des préparations de fractions membranaires d'origine diverse également (bactéries, virus, levures) portant des récepteurs semi-purifiés. (163,174,178)

#### a. Production de RO à partir de cellules de mammifères

La production de récepteurs olfactifs peut se faire à partir de cellules de mammifères. En effet pour la construction d'une cellule olfactive modifiée, les cellules HEK293, lignée cellulaire issue de cellules de rein embryonnaire humain peuvent être transfectées (introduction de matériel génétique exogène dans une cellule in vitro) avec le gène du récepteur olfactif à produire. Ce récepteur olfactif est alors exprimé sur la membrane de surface des cellules HEK293. Cette technique de production consiste donc à utiliser les cellules de mammifère entières greffées à un transducteur. Lorsque les cellules sont stimulées par un odorant, la transduction du signal est générée par l'activation des RO couplés aux protéines G des cellules.

Cependant cette technique nécessite de concevoir une lignée cellulaire stable dans le temps. C'est un travail fastidieux, long et onéreux. (173,179,180)

b. Production de RO à partir de bactéries

Plusieurs études ont démontré la possibilité de produire de façon massive des récepteurs olfactifs à partir de bactéries *Escherichia coli* dont celles de Sung *et al.* (2006) (180) et Bane *et al.* (2007) (181). Dans ces études, l'objectif était de surexprimer des gènes de différents récepteurs couplés aux protéines G humaines dans des bactéries *Escherichia coli*. Les gènes de ces récepteurs se retrouvent généralement exprimés sous la forme de corps d'inclusion (agrégats protéiques non ordonnés) insolubles dans la bactérie. Une fois les récepteurs olfactifs produits, les bactéries sont lysées. Plusieurs techniques de purification existent : par sonication (technique permettant de lyser les bactéries à l'aide d'ultrasons) ou par utilisation de détergents ioniques dans lesquels les corps d'inclusion sont solubles comme le LSS (Laurylsulfate de sodium). Pour exemple Sang Un Lee *et al.* ont cultivé des bactéries *Escherichia coli* exprimant le récepteur olfactif hOR2AG1. Une fois cultivées et remises en suspension, les bactéries ont été lysées par sonication durant 5 minutes. Puis la fraction insoluble contenant les récepteurs olfactifs a été recueillie par centrifugation afin d'éliminer les impuretés protéiques. La technique de production de RO à l'aide de bactéries *E. coli* est une technique performante ayant également l'avantage d'être peu coûteuse et nécessitant un temps de génération court. Les récepteurs olfactifs purifiés sont ensuite greffés à un transducteur composé de nanomatériaux. (179,181,182)

c. Production de RO à partir de levures

Il est également possible de produire des récepteurs olfactifs à partir de levures. Il a en effet été démontré que les levures *Saccharomyces cerevisiae* permettent d'exprimer des RO de mammifères. Deux méthodes de production de RO sont envisageables : la première méthode notamment mise au point par Marrakchi *et al.* (2013) utilise des cellules entières de levures de *Saccharomyces cerevisiae* exprimant le récepteur humain OR-1740 (179). Ces cellules entières de levures sont ensuite greffées à une microélectrode d'or. La transduction du signal est possible par détection des changements conductimétriques dus aux échanges ioniques produits lors de la reconnaissance entre l'odorant et le récepteur olfactif. La deuxième méthode est de produire des levures exprimant des récepteurs olfactifs qui seront ensuite désintégrées par ultrasons afin de ne récupérer que les liposomes (vésicules formées par une bicouche lipidique) produits

porteurs des récepteurs à leurs surface. Ces liposomes sont ensuite également greffés sur des électrodes d'or. Lors de la fixation de l'odorant sur son récepteur olfactif, ce dernier change de conformation, ce qui sera détecté par le nez bioélectronique par des mesures électrochimiques. Il est à noter que la durée de vie de ces liposomes est de deux jours à 4°C et de plus d'une année lorsqu'ils sont conservés à -80°C. Il est, comme pour la mise en culture d'*E. coli*, facile et peu onéreux de cultiver des levures afin de produire des RO. Par ailleurs, elles nécessitent des temps de génération courts (environ 2 heures), ce qui rend cette méthode plus simple à mettre en place que celle utilisant des cellules de mammifères. (163,174,179)

#### d. Production de RO à partir de virus infectant des cellules d'insectes

Des virus ont ces dernières années également été utilisés afin de produire des RO, notamment par le biais du système de vecteur d'expression des *Baculovirus* nommé BEVS (Baculovirus expression vector system). Le *Baculovirus* est un virus à ADN double brin entouré d'une membrane lipidique capable d'infecter différents types de cellules d'insectes. Ces cellules d'insectes nécessitent des temps de génération plus long que pour les bactéries ou les levures (environ 24h). Il s'agit d'un système facile à mettre en place en laboratoire dont le principe est d'utiliser des vecteurs viraux porteurs du matériel génétique permettant d'exprimer des récepteurs olfactifs dans leur cellule hôte. Ces vecteurs peuvent ainsi transporter ce matériel génétique d'une cellule hôte à l'autre. Ce système avait initialement été prévu pour exprimer de manière transitoire les récepteurs couplés aux protéines G. Les études utilisant cette méthode de production sur des lignées cellulaires d'insectes stables sont encore rares. La plupart du temps ce sont les lignées cellulaires Sf9 et Sf21 issues d'une espèce de lépidoptère (papillon) : le *Spodoptera frugiperda* qui sont employées. Cependant les résultats des études montrent qu'en utilisant la même stratégie d'expression, les niveaux d'expression d'un type de récepteur à l'autre sont très hétérogènes. De plus une grande partie des récepteurs produits peut se retrouver piégée dans des compartiments intracellulaires de la cellule hôte comme l'appareil de Golgi ou le réticulum endoplasmique. (179,183)

Il existe donc différents systèmes d'expression des récepteurs olfactifs couplés aux protéines G permettant ainsi de les produire afin de les utiliser dans la conception des nez bioélectroniques : cellules de mammifères, *Escherichia coli*, levures et cellules d'insectes. Les méthodes utilisant les bactéries et les levures sont cependant pour l'heure les plus simples à mettre en place, les plus performantes et les moins coûteuses.

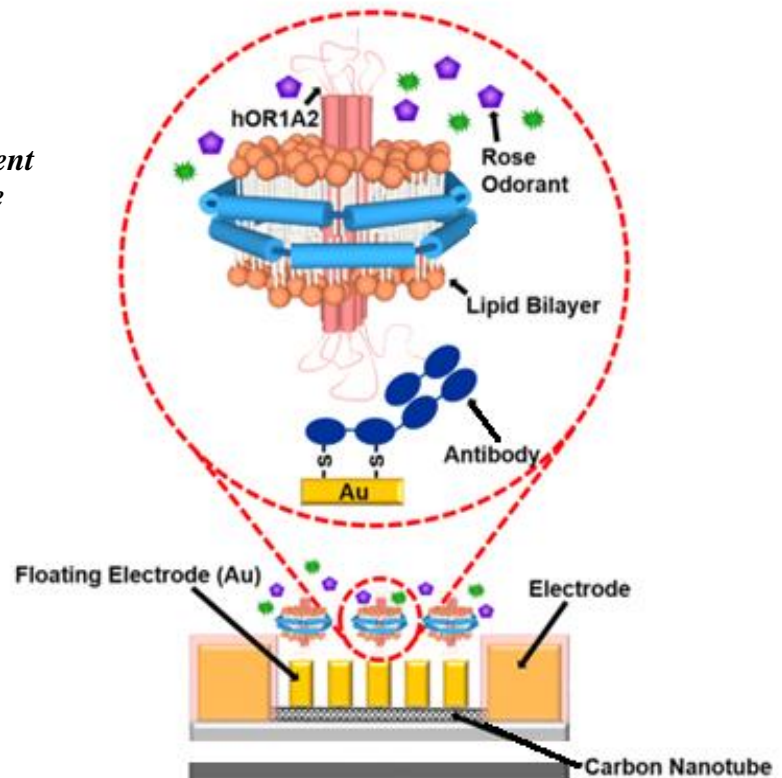
### 3.1.2.3 Partie non biologique des capteurs des nez bioélectroniques, le transducteur

La partie sensorielle du nez bioélectronique constituée de récepteurs olfactifs préalablement produits, est reliée au dispositif non biologique : le transducteur qui traduit le signal reçu en signal électrique. Au cours de ces dernières années, la capacité d'analyse de mélanges complexes d'odeurs s'est améliorée notamment grâce à l'élaboration de nouveaux matériaux utilisés dans la conception des capteurs des nez bioélectroniques. Il existe en effet différents types de technologies de transduction permettant la détection des odeurs. Nous allons étudier ci-après les technologies les plus couramment utilisées à l'heure actuelle. (177)

#### a. Nanotubes de carbone et nanotubes en polymères conducteurs

Les nanotubes de carbone ainsi que les nanotubes en polymères conducteurs sont très prometteurs dans le domaine des nez bioélectroniques du fait de leur importante conductivité électrique qui leur confère une meilleure sensibilité et une forte stabilité chimique. Ces nanotubes entrent dans la composition de transistor à effet de champ. Ce transistor comporte deux électrodes, une zone de conduction électrique composée de nanotubes de carbone ou de polymères conducteurs sur lesquels sont fixés les récepteurs olfactifs qui relie chacune des deux électrodes, une électrode de contrôle (grille) ainsi qu'un substrat. Les électrons peuvent circuler dans le nanotube (figure 20) (184).

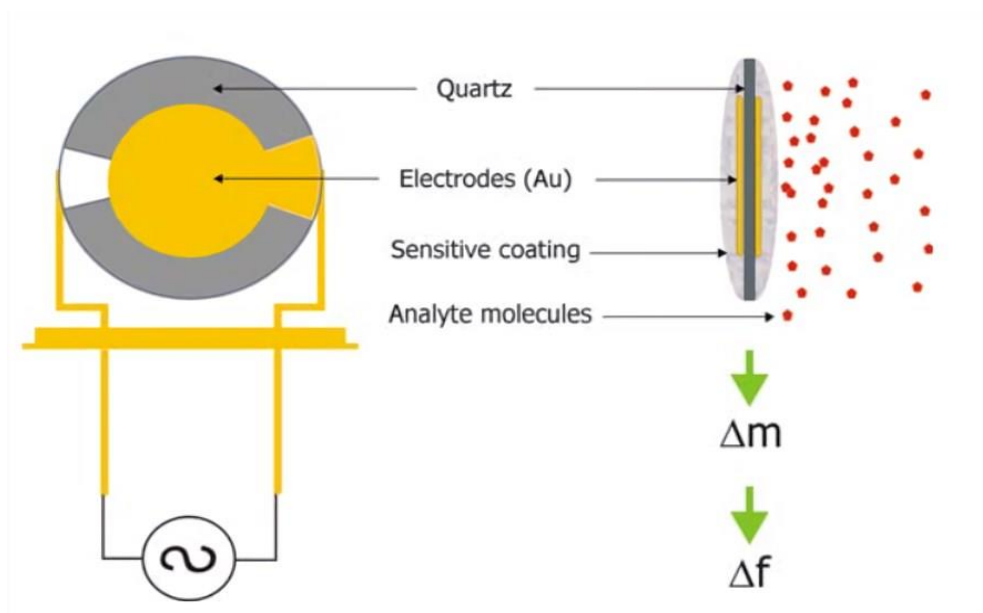
**Figure 20: Principe de fonctionnement d'un transducteur fabriqué à base de nanotube [184]**



La différence de potentiel provoquée lors de la fixation de molécules odorantes sur le RO au niveau de la troisième électrode de contrôle permet de détecter la présence d'un COV. L'inconvénient de ce système de mesure réside dans la complexité de construction de ce type de transducteurs à base de nanotubes. (179,185)

b. Microbalance à surface de quartz

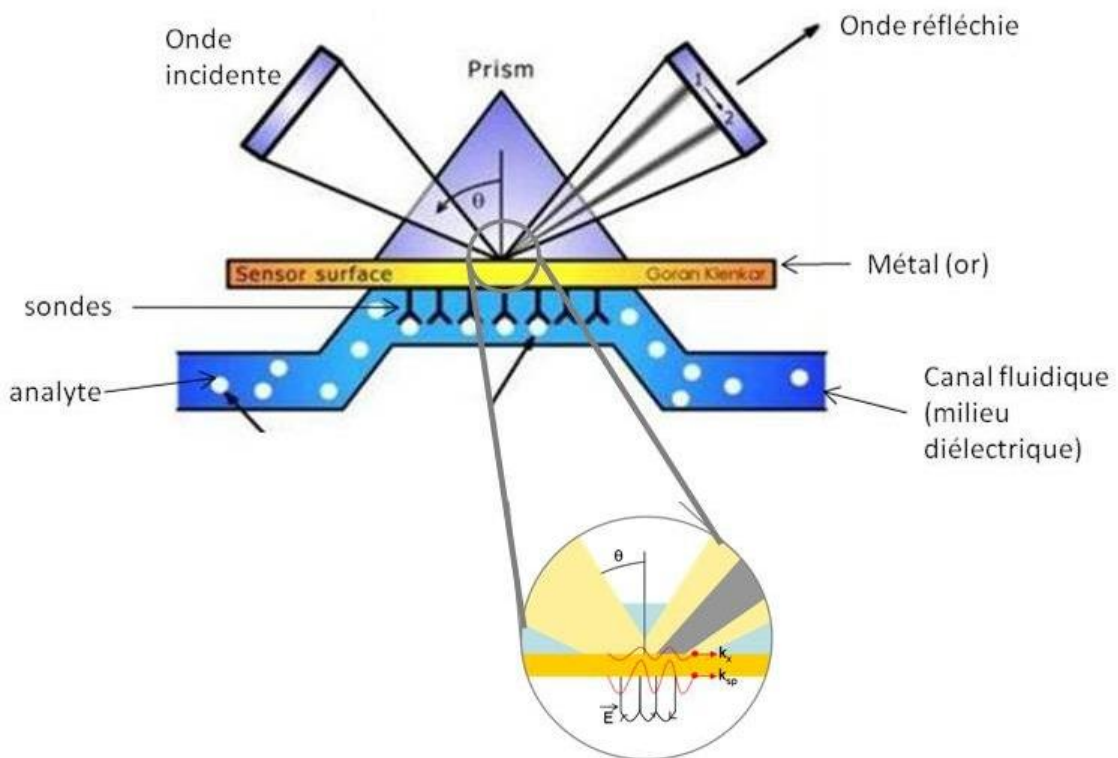
Le système de mesure de microbalance à surface de quartz (QCM en anglais) est constitué d'un cristal de quartz préalablement recouvert de récepteurs olfactifs. Le principe est de mesurer la différence de fréquence de résonance du cristal qui est proportionnelle à la variation de masse due aux molécules olfactives captées par les récepteurs olfactifs de la surface de quartz. En d'autres termes, le cristal de quartz vibre à une certaine fréquence de résonance uniforme. (figure 21) Lorsque la liaison entre l'odorant et le récepteur olfactif se fait, la masse augmente et cela entraîne alors une diminution de fréquence de résonance. Cette technique de mesure est simple et peu onéreuse à fabriquer. Elle est de haute sensibilité, et permet de détecter des COV à de faible concentration de l'ordre du ppm. Cependant sa reproductivité est modérée et le volume de la chambre de détection est limitée. (179,187)



**Figure 21: Principe de fonctionnement du système de mesure de microbalance à surface de quartz [186]**

### c. Résonance plasmonique de surface

La résonance plasmonique de surface est une technique optique ayant pour objectif de détecter un ligand (un COV dans le cadre d'un nez bioélectronique) fixé à un récepteur immobilisé sur une surface (récepteur olfactif). Elle mesure les variations de l'indice de réfraction du milieu engendrées lors de la fixation du ligand sur le RO au niveau d'une interface (figure 22). Ces mesures des variations d'intensité de l'onde réfléchie permettent d'obtenir un signal caractéristique des molécules odorantes de l'échantillon. (179,188)

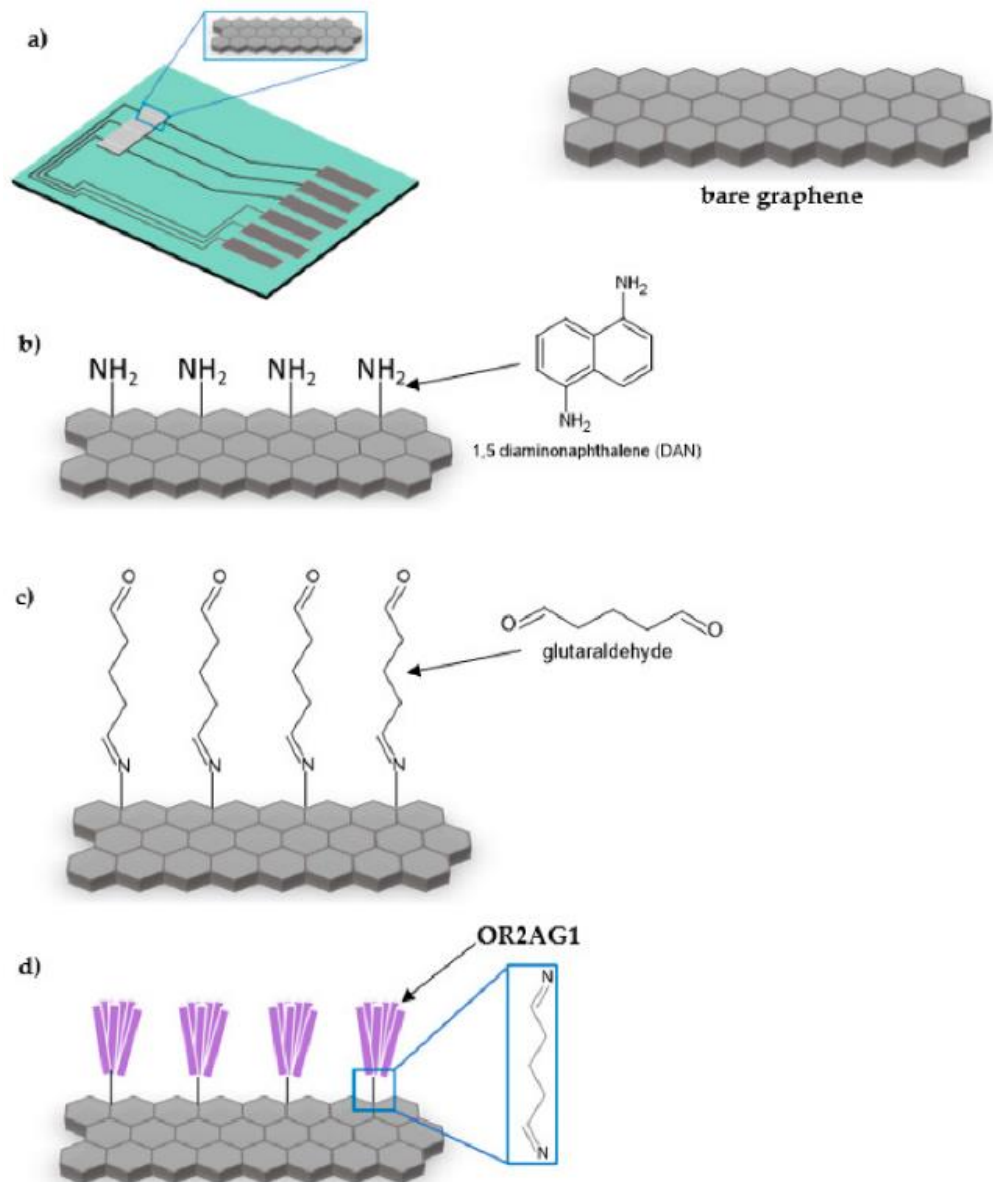


**Figure 22: Schéma du principe de fonctionnement de la résonance plasmonique de surface [188]**

### d. Graphène

L'utilisation pour les nez bioélectroniques d'une surface en graphène sur laquelle sont immobilisés les récepteurs olfactifs est également possible. Le graphène est l'un des matériaux les plus légers, composé d'atomes de carbone en nid d'abeille. Le graphène offre un potentiel de détection des COV plus important que les autres matériaux (nanotubes de carbone par exemple). Danielle M. Goodwin *et al.* ont notamment utilisé une surface en graphène en y greffant des récepteurs humains OR2AG1. Les dispositifs en graphène ont été fabriqués à partir de graphène monocouche, ensuite une solution de DAN (1,5 diamidonaphtalène) a été coulée

sur le canal de graphène, ainsi qu'une solution de glutaraldéhyde afin de pouvoir y fixer les RO (figure 23). Afin de permettre la transduction du signal, des capteurs en graphène mesurent les changements de résistance en temps réel induits par la présence de molécules odorantes sur les RO. (189,190)



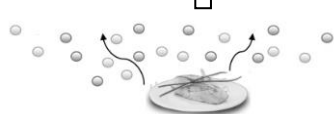
**Figure 23: Schéma du principe de fabrication d'un capteur à base de graphène) [189]**

Il existe donc différentes technologies permettant de fabriquer la partie non biologique des capteurs des nez bioélectroniques, les transducteurs, sur lesquels sont fixés les récepteurs olfactifs préalablement fabriqués.



### 3.1.3 Comparaison entre nez électronique, nez bioélectronique et nez naturel

**Tableau 10: Comparaison de la structure et du principe de fonctionnement du nez électronique, bioélectronique et du nez animal (179)**

	Nez électronique	Nez bioélectronique	Nez animal
Visualisation des résultats obtenus	Détermination du profil olfactif de l'échantillon		
Obtention des résultats	↑ Comparaison des résultats par reconnaissance de formes	↑ Comparaison des résultats par analyse des COV contenus dans l'échantillon	↑ Cortex olfactif : transmission des signaux vers les régions cérébrales supérieures, génération de sensations olfactives
Traitement du signal	↑ Ordinateur : Système de collecte et de traitement des données		↑ Transport du signal à travers l'épithélium olfactif jusqu'au bulbe olfactif
Contact entre les odorants et les éléments sensibles générant un signal électrique	↑ <b>Réseau de capteurs olfactifs</b> revêtu de matériaux appropriés	↑ <b>Transducteur</b> de signal	↑ <b>Cellules réceptrices olfactives</b>
	↑ <b>Récepteurs olfactifs</b>		
Méthodes d'échantillonnage	↑ Systèmes d'échantillonnage		↑ Aspiration des molécules odorantes par les narines
Echantillon contenant les composés organiques volatils	↑ 		

Le tableau 10 (179) résume et compare les principes de fonctionnement entre les nez électroniques, bioélectroniques et le nez animal qu'il soit humain ou canin par exemple. Le fonctionnement du nez bioélectronique est d'avantage semblable au nez naturel que le nez électronique au niveau de la zone de contact entre les molécules odorantes et les éléments sensibles du dispositif, par la présence de récepteurs olfactifs naturels identiques à ceux

retrouvés dans un nez animal. Le nez électronique possède quant à lui des réseaux artificiels de capteurs olfactifs.

Il est à rappeler que le nez électronique est capable de fournir une empreinte olfactive d'un échantillon par reconnaissance de formes en comparant des bases de données sans pour autant donner la composition en COV de l'échantillon, à contrario du nez bioélectronique avec lequel la composition précise en COV de l'échantillon peut être établie à partir d'un mélange gazeux de composition complexe. (179)

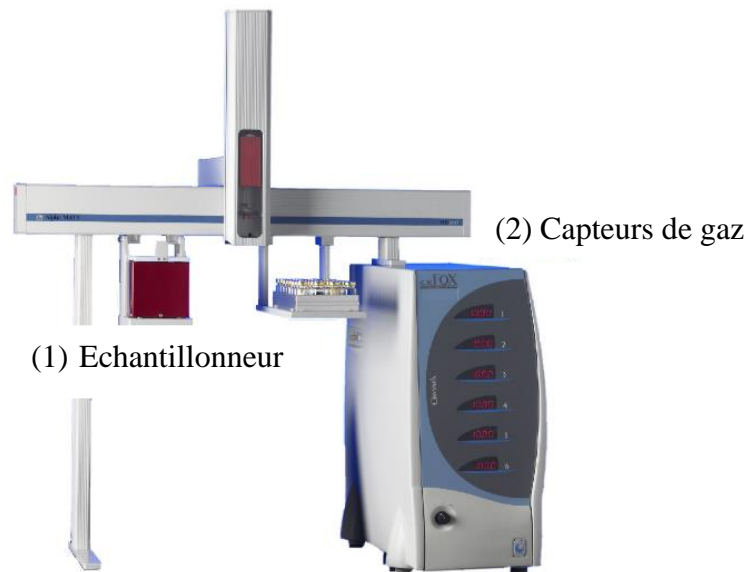
### **3.2 Nez (bio)électroniques existants**

Un grand nombre de nez électroniques sont déjà disponibles sur le marché. Certains sont utilisés dans le domaine médical mais il existe diverses autres applications aux nez électroniques notamment dans le domaine industriel (alimentation, contrôle qualité, sécurité, protection de l'environnement, etc.), d'autres sont encore en processus de validation. Nous allons répertorier ci-après les nez électroniques les plus largement utilisés dans le domaine médical dans un objectif de diagnostic de pathologies. (191)

#### **3.2.1 Les nez électroniques Alpha-MOS**

Les nez électroniques de la société Alpha-MOS ont été conçus en France, à Toulouse, en collaboration avec les universités de Warwick et de Southampton au Royaume-Unis. Il existe plusieurs modèles de nez électronique Alpha-MOS mis sur le marché dont la différence réside dans le nombre de capteurs de gaz à oxyde métallique le composant. Le Fox 2000 est le modèle composé de 6 capteurs, le Fox 3000 de 12 capteurs et le Fox 4000 de 18 capteurs de gaz. Le nez électronique Fox 4000 a déjà fait ses preuves pour le diagnostic du diabète et des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin notamment. Il est constitué d'un échantillonneur d'espace de tête automatique (partie 1 sur la figure 24 (192)) pouvant analyser jusqu'à 96 échantillons en une fois. Cette partie échantillonneur possède un espace de tête de 750 ml permettant d'accueillir des échantillons de grand volume, ainsi qu'un espace pour les boîtes de Pétri afin d'effectuer des analyses bactériologiques. Il possède ensuite une partie comportant les capteurs de gaz (partie 2), reliée à la partie informatique du nez électronique possédant un logiciel d'acquisition des données, et d'analyse statistique, disponible en anglais, français, japonais et en d'autres langues sur demande auprès du constructeur. Les conditions environnementales nécessaires à son utilisation sont une température de l'air ambiant comprise

entre 10 et 25°C. L'inconvénient de ce nez électronique réside dans sa taille, qui le rend difficilement portable. (191,192)



*Figure 24: Nez électronique Alpha-MOS Fox [192]*

### 3.2.2 Le nez électronique Cyranose 320

Le nez électronique nommé Cyranose 320 (figure 25 (193)) est le modèle de nez électronique le plus utilisé à l'heure actuelle. Son efficacité a été prouvée dans la détection d'un grand nombre de pathologies : cancers, infections bactériennes des voies respiratoires, pathologies inflammatoires des poumons et de l'intestin (asthme, MICI) par exemple. De nombreux articles de revues publiées ont utilisé cet instrument. Il est constitué d'un réseau de 32 capteurs en polymères sensible à un grand nombre de COV. Ces capteurs ont la particularité de mieux distinguer les COV à partir d'échantillons à forte teneur en humidité, ce qui le rend particulièrement intéressant pour analyser des échantillons d'haleine ou de liquides corporels. Il a de surcroît l'avantage d'être petit, léger et portable. (162,191)



*Figure 25: Nez électronique Cyranose 320 [193]*

### 3.2.3 Le nez électronique AeoNose

La société hollandaise eNose company a mis au point un nez électronique nommé AeoNose (figure 26 (194)). C'est un nez électronique analyseur d'haleine, ayant l'avantage d'être portable. Les résultats des tests sont obtenus en seulement 15 minutes avec cet appareil. Actuellement, les recherches concernant l'aeoNose se focalisent sur la détection du cancer du poumon et du cancer du côlon. Des études de validation sont en effet en cours dans différents hôpitaux de Hollande, afin d'évaluer avec précision sa spécificité dans le diagnostic de ces pathologies. D'autres études ont utilisé le nez électronique aeoNose pour d'autres pathologies dont l'épilepsie et la Covid-19. Les résultats obtenus grâce à cet appareil sont très prometteurs. (194)



**Figure 26: nez électronique AeoNose [194]**

### 3.2.4 Le nez électronique SniffPhone

Le projet Sniffphone financé par l'Union européenne dans le cadre du programme Horizon 2020 pour la recherche et l'innovation a pour objectif de développer un nez électronique compact capable de diagnostiquer précocement les cancers à partir de l'air expiré des patients (figure 27 (195)). A la différence des autres nez électroniques, celui-ci fonctionne à l'aide d'un smartphone. Cet appareil a remporté le prix de l'innovation en 2018. Depuis une deuxième version fonctionnant en Bluetooth de ce nez électronique a vu le jour. En effet l'appareil prélève un échantillon d'air expiré, puis les capteurs chimiques composés de nanomatériaux détectent la présence de COV. Il fonctionne sur batterie ne nécessitant qu'une recharge par jour. Les mesures sont ensuite envoyées en Bluetooth sur l'application Sniffphone du smartphone et sont analysées par les algorithmes de mesures. Le médecin est alors alerté si les données sont anormales. Ce projet possède un fort potentiel, en effet ce nez électronique

pourrait être le plus petit, le plus simple à utiliser, le moins cher et l'un des plus précis disponible sur le marché. (195)



*Figure 27: Nez électronique SniffPhone [195])*

### 3.2.5 Le nez bioélectronique NeOse Advance d'Aryballe

Bien que le principe de fonctionnement des nez bioélectroniques se rapprochant de celui du nez animal soit connu, et que la sensibilité de ces appareils soit très intéressante, cette technologie n'est pas encore aussi répandue que les nez électroniques classiques. Les nez bioélectroniques commercialisés se font rares. Cependant une startup française Aryballe Technologies a mis au point un nez bioélectronique universel nommé NeOse Advance doté de capteurs biochimique, certifié CE en 2021, permettant ainsi sa future commercialisation en Europe (figure 28 (196)). Ce dispositif est composé de 64 nanocapteurs biochimiques (récepteurs olfactifs) imitant ceux du nez et d'un dispositif d'analyse des mesures imitant le bulbe olfactif. Ces 63 récepteurs olfactifs lui confèrent les capacités à reconnaître des milliers d'odeurs différentes, le rendant utilisable dans beaucoup de secteurs (santé pour la détection de pathologies, parfumerie, agroalimentaire, automobile, électroménager, etc.). Entre 2019 et 2020, la startup a connu une levée de fond de 14 millions d'euros grâce à de nombreux investisseurs dont Samsung, Hyundai ou Seb. Ce nez bioélectronique utilise le principe de résonance plasmonique de surface : les COV présents dans l'échantillon se fixent sur les récepteurs olfactifs, modifiant ainsi l'indice de réfraction au niveau de l'interface. Il compare et analyse ensuite les résultats à l'aide des bases de données existantes. Son poids est de 400 grammes, et les résultats sont obtenus en moins d'une minute avec cet appareil. Il est capable de détecter, d'enregistrer et de reconnaître des données de manière plus fiable que tous les autres eNose du marché. (196,197)



*Figure 28: Nez bioélectronique NeOse ([196])*

Nous pouvons remarquer que les nez électroniques mis sur le marché sont de plus en plus compacts, portatifs, simples d'utilisation, et sensibles. De plus, le développement des nez bioélectroniques n'est que très récent et le projet NeOse Advance d'Aryballe est plus que prometteur pour l'avenir des nez bioélectroniques dans le diagnostic médical.

### **3.3 Pathologies détectables par les nez électroniques et bioélectroniques**

Toute pathologie humaine possédant une signature olfactive propre produisant des composés organiques volatils est potentiellement détectable par un nez électronique ou bioélectronique. Différents types de nez électroniques sont déjà capables de détecter un grand nombre de pathologies humaines productrices de COV dont voici une liste non exhaustive (162,163,172) :

- Les cancers (poumon, sein, peau, ovaires, prostate, colorectal)
- Le diabète
- Les pathologies infectieuses virales (Covid-19)
- Les pathologies infectieuses bactériennes (infections respiratoires, infections urinaires)
- Pathologies d'origine inflammatoire : asthme, La BPCO, maladie de Crohn, MICI
- La tuberculose

#### **3.3.1 Les cancers**

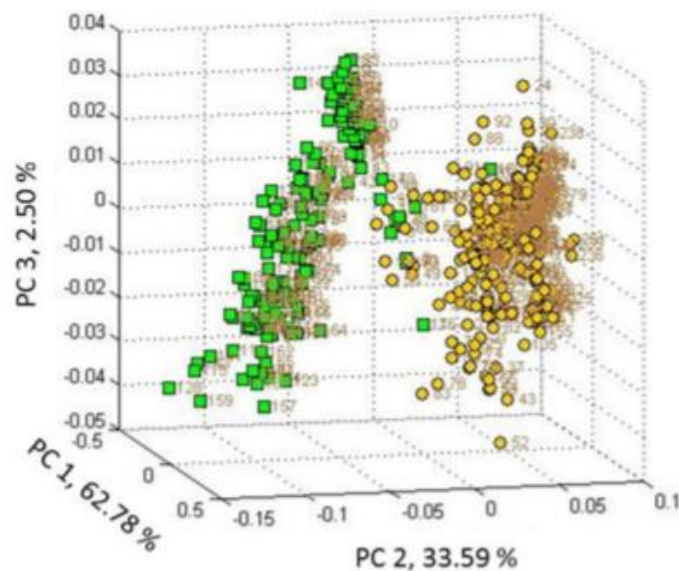
Comme nous avons pu l'étudier dans la partie « Pathologies produisant des composés organiques volatils », les cancers rejettent des COV, ces derniers peuvent être détectés à l'aide de dispositifs artificiels détecteurs d'odeurs.

Pour exemple, à l'heure actuelle, plusieurs études ont montré la possibilité de diagnostiquer un cancer du poumon à partir d'échantillons d'haleine de patients. A ce jour, ce sont les nez électroniques qui sont les plus développés dans ce domaine par rapport au nez bioélectronique dont le fonctionnement réside sur la connaissance des signatures olfactives des pathologies qui ne sont pas encore connues en détail. Les nez électroniques sont en effet capables de reconnaître un schéma de composés volatils présents dans l'haleine et de le différencier des schémas de COV de patients atteints de maladies pulmonaires non cancéreuses et de patients sains, à l'aide d'un logiciel de reconnaissance de formes. Dans l'étude de Oh *et al.* (2011), le nez électronique Cyranose a montré une sensibilité de 71,4% et une spécificité de 91,9% (198). Ces résultats sont comparables à ceux obtenus à l'aide de méthodes classiques d'analyse de gaz par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, avec les avantages de simplicité de fonctionnement et de portabilité que ne possède pas la CPG-SM. Cette étude montre donc la capacité des nez électroniques à diagnostiquer le cancer des poumons. (198)

D'autres études récentes visent à analyser la signature olfactive d'un autre type de cancer : le cancer du sein à l'aide du même nez électronique Cyranose 320. Ce dernier est déjà capable de différencier les patients sains des patients atteints du cancer du sein. Les chercheurs de l'étude de Leon-Martinez *et al.* (2020) (43) ont utilisé ce nez électronique en utilisant une approche qui vise à non plus identifier la composition précise de tous les COV, mais de mesurer après récolte des échantillons, par une analyse multivariée (dont une analyse en composantes principales) la signature olfactive d'un échantillon. Sur la figure 29 sont représentés les résultats obtenus par l'analyse en composantes principales (ACP). L'ACP permet de synthétiser les informations contenues dans un tableau de données et de mettre en évidence les similitudes entre les différentes variables. Dans cette étude, afin d'analyser la plus grande quantité de données, l'ACP a été réalisée à l'aide d'un logiciel d'analyse de données multivariés et de chimiométrie : le CDAnalysis, permettant ainsi de condenser les résultats des 32 capteurs en trois variables différentes (PC 1, PC 2, PC 3). En effet, l'ACP est une méthode d'analyse statistique de données multivariées. L'ACP synthétise des variables corrélées en nouvelles variables linéaires non corrélées des variables d'origines, appelées « composantes principales ». Cela permet de résumer l'information en diminuant le nombre de variable. Chaque nouvelle variable est alors considérée comme une dimension différente pouvant être visualisée graphiquement. Le nombre de composantes principales est toujours inférieur ou égal au nombre initial de variables. Les composantes principales sont hiérarchisées et nommées PC1, PC2, PC3,

etc. Les nuages de points dans l'espace à plusieurs dimensions sont centrés par le logiciel qui effectue également une rotation des axes afin d'orienter le plus grand selon un premier axe principal PC1. PC2 est construit dans une seconde dimension et ainsi de suite. Ces axes PC1, PC2, PC2 représentent une part de variance de plus en plus faible exprimée en proportion de variance (%) (figure 29). (43,199)

On visualise dans la figure 29, en carrés vert les modèles de signature moléculaire respiratoire des individus sains, les points orange représentent quant à eux la signature moléculaire des patients atteints de cancer du sein. Cette étude démontre la capacité du nez électronique Cyranose 320 à faire la distinction entre les sujets sains (carrés vert) et les sujets malades (points orange). (43)



**Figure 29: Signature moléculaire de patients sains (carrés vert), et de patients atteints de cancer du sein (points orange) obtenus par ACP à partir de 3 composantes principales PC1, PC2 et PC3 chacune exprimée en proportion de variance en %[43]**

Les nez électroniques ont donc la capacité de détecter la signature olfactive des différents types de cancers dont les cancers des poumons et du sein.

### 3.3.2 Le diabète

Nous avons pu analyser précédemment la signature olfactive du diabète. Nous allons étudier ici la possibilité de diagnostiquer cette pathologie par l'odeur à l'aide de nez électronique. Une étude dirigée par Esfahani *et al.* en 2018, avait pour objectif de tester



l'efficacité du nez électronique Fox4000 (200). Des échantillons d'urine ont été recueillis afin d'étudier les COV urinaires biomarqueurs du diabète. Ils ont analysé 140 échantillons, 73 des patients étaient atteints de diabète de type 2 et 67 individus étaient sains. Ce nez électronique a montré sa capacité à diagnostiquer un diabète de type 2 à partir des témoins. Le nez électronique FOX4000 contient 18 capteurs de gaz, chacun sensible à un type de gaz spécifique, pour exemple : l'ammoniac, l'éthanol, le méthane, les aldéhydes. Les données ont été affichées dans un graphique courbe ROC (Receiver Operator Characteristic), qui représente la sensibilité (la capacité à détecter les diabétiques dans ce cas) en fonction de la spécificité (capacité à différencier les diabétiques des non-malades). Grâce à la courbe ROC on peut interpréter l'aire sous la courbe (ASC ou AUC en anglais), avec un maximum de cette AUC de 100%. Le nez FOX4000 a obtenu une valeur ASC égale à 0,99. Les résultats obtenus ont donc été plus que concluants. Cette étude suggère donc qu'il est possible d'utiliser des COV urinaires en phase gazeuse pour diagnostiquer et/ou surveiller le diabète avec une précision importante. (200,201)

### 3.3.3 L'épilepsie

Une première étude hollandaise de 2017 a testé l'efficacité d'un nez électronique, l'Aeonose, à distinguer des patients sains, de patients épileptiques à partir d'air expiré durant 5 minutes dans l'appareil. Les résultats ont montré une sensibilité de 0,84 et une spécificité de 0,76 ce qui est très encourageant. Cependant, une seconde étude publiée en 2020 par Dieuweke van Dartel *et al.* avait également pour objectif d'utiliser le nez électronique Aeonose, afin de faire la distinction entre l'air expiré de patients épileptiques et d'individus non malades mais les résultats obtenus sont plus mitigés. Les participants à l'étude ont aussi respiré durant 5 minutes dans le nez électronique à l'aide d'un embout buccal jetable. Les chercheurs ont dans cette étude voulu évaluer si la prise de médicaments antiépileptiques avait un impact sur la signature chimique de la pathologie. Ainsi 74 patients épileptiques ont participé à l'étude dont 7 patients n'utilisant temporairement plus de médicaments antiépileptiques, et 110 individus témoins dont 11 prenant exceptionnellement des médicaments antiépileptiques. Les résultats ont également montré une capacité du nez électronique à distinguer les patients épileptiques des personnes non-malades avec une sensibilité de 0,76 et une spécificité de 0,67%. Cependant le nez électronique n'a réussi à classer qu'un patient épileptique sur 7 sans médicament et 6 individus témoins sur 11 sans épilepsie mais avec médicaments. Le nombre de faux positifs et de faux négatifs est donc particulièrement élevé. Ce nez électronique est donc capable de différencier les patients épileptiques des témoins mais en grande partie par l'utilisation des

médicaments antiépileptiques, ce qui ne permettrait pas son utilisation dans le diagnostic de cette pathologie. L'Aeonose pourrait en revanche s'avérer utile à ce jour dans les hôpitaux, il permettrait de déterminer lors de l'arrivée d'un patient aux urgences s'il s'agit d'une crise d'épilepsie ou d'un événement psychogène d'un autre type, et ainsi de commencer un traitement adapté plus rapidement. (202)

Comme nous avons pu le voir précédemment, les études réalisées par Catala *et al.* prouvent l'existence d'une signature olfactive propre à l'épilepsie, et s'avérant différente au moment des crises et entre ces dernières (59). Nous avons également pu voir que les chiens étaient capables de détecter les crises avant qu'elles ne surviennent, pouvant ainsi prévenir leurs maîtres. Il n'existe à l'heure actuelle pas encore de nez électronique ou bioélectronique assez sensibles pouvant détecter cette pathologie et l'arrivée d'une crise mais plusieurs études sont en cours à ce sujet. L'institut La Teppe en France notamment, a lancé début 2022 un projet d'étude sur les chiens détecteurs de l'épilepsie qui pourrait également avoir pour but de développer un nez électronique. (203)

### 3.3.4 Pathologie virale : la Covid-19

Nous avons pu voir précédemment que l'infection par la Covid-19 possédait également une signature olfactive spécifique, reconnaissable par les chiens entraînés. Plusieurs études dont celle de Wintjens *et al.* parue en 2021 ont cherché à différencier grâce au nez électronique les personnes saines des personnes infectées par la Covid-19 (204). L'étude de Wintjens *et al.* a utilisé le nez électronique Aeonose contenant des capteurs d'oxyde métallique dont la conductivité change en présence de COV. Tous les participants à l'étude ont respiré durant 5 minutes dans le nez électronique. Les résultats ont été obtenus par reconnaissance de formes. La sensibilité obtenue a été de 86% et la valeur prédictive négative (probabilité que le patient dont le résultat est négatif ne soit pas malade) de 92%. Pour rappel la sensibilité des tests PCR est selon la HAS d'environ 85% et celle des tests antigéniques de 71%. Les nez électroniques sont donc capables de diagnostiquer des personnes infectées par la Covid-19 avec plus de sensibilité que les tests de diagnostic de référence, en étant peu invasif et peu coûteux. (204)

### 3.3.5 Les pathologies infectieuses bactériennes

#### 3.3.5.1 Infections respiratoires (la tuberculose et infection à *Pseudomonas aeruginosa*)

Les patients infectés par la tuberculose rejettent des COV spécifiques produits par la bactérie *Mycobacterium tuberculosis* responsable de cette infection ou par l'hôte infecté. Une revue systématique de la littérature de Saktiawati *et al.* parue en 2019 (205) a inclus 14 études analysant la possibilité de diagnostiquer la tuberculose à l'aide de nez électroniques ou d'autres appareils de test respiratoire. Les résultats regroupés ayant été obtenus par les nez électroniques sont les suivants : une sensibilité de 0,92 et une spécificité de 0,93. Tandis que sa sensibilité et la spécificité obtenues par les autres méthodes de diagnostics étaient comprises respectivement entre 0,62 et 1,00 et entre 0,11 et 0,84. Ces études montrent que les nez électroniques permettent de diagnostiquer la tuberculose avec plus de précision que les autres méthodes de diagnostic. Cependant il est à noter que cinq études n'incluaient que des sujets représentant les deux opposés du spectre clinique : témoins sains sans aucun symptôme de tuberculose et patients infectés par une tuberculose avérée symptomatique, sans traitement et avec un frottis positif. Ces échantillons ne sont pas représentatifs de la population générale où l'on retrouve des personnes infectées à différents stades de la maladie tuberculeuse et dont près de 25% a une tuberculose latente. Ces études ont par conséquent une applicabilité clinique limitée et sont susceptibles de produire des biais en donnant des résultats surestimés. Dans cette revue systématique seules 7 études incluaient des témoins souffrant d'autres infections pulmonaires. Par conséquent, bien que la capacité des nez électroniques à dépister la tuberculose n'est pas à remettre en cause, la sensibilité et la spécificité trouvée dans cette revue doivent être légèrement surestimées. Cependant, les nez électroniques ont toute leur place dans les stratégies futures de dépistage de la tuberculose, en effet ils permettraient de dépister en ambulatoire, dans les régions les plus pauvres, de façon rapide et à bas prix cette pathologie. (205)

Les nez électroniques sont également capables d'identifier des échantillons infectés par la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*. En effet Suarez-Cuartin *et al.* (2018) ont inclus dans leur étude 76 patients atteints de bronchectasies (dilatation irréversibles de portions de bronches)(206). La présence de *Pseudomonas aeruginosa* chez ces patients a été déterminée après une culture d'expectoration (recherche de bactéries dans les voies respiratoires inférieures). L'air expiré des patients a été analysé par le nez électronique Cyranose 320. Sur les 76 patients de l'étude, 27% étaient infectés par la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*. La signature olfactive des échantillons a été comparée par une analyse en composante principale.

L'ACP est une méthode permettant de synthétiser plusieurs variables sous forme graphique. Les résultats ont montré que les patients colonisés par la bactérie avaient une signature olfactive significativement différente de celles des patients colonisés par d'autres bactéries avec une précision de 89% (notamment *Haemophilus influenzae* pour 7,17% des patients) et différente également des patients sans infection avec une précision de 73%. Le nez électronique peut donc également être utilisé à des fins de diagnostic dans le cadre de suspicion d'infection à *Pseudomonas aeruginosa*. (206,207)

### 3.3.5.2 Infections urinaires

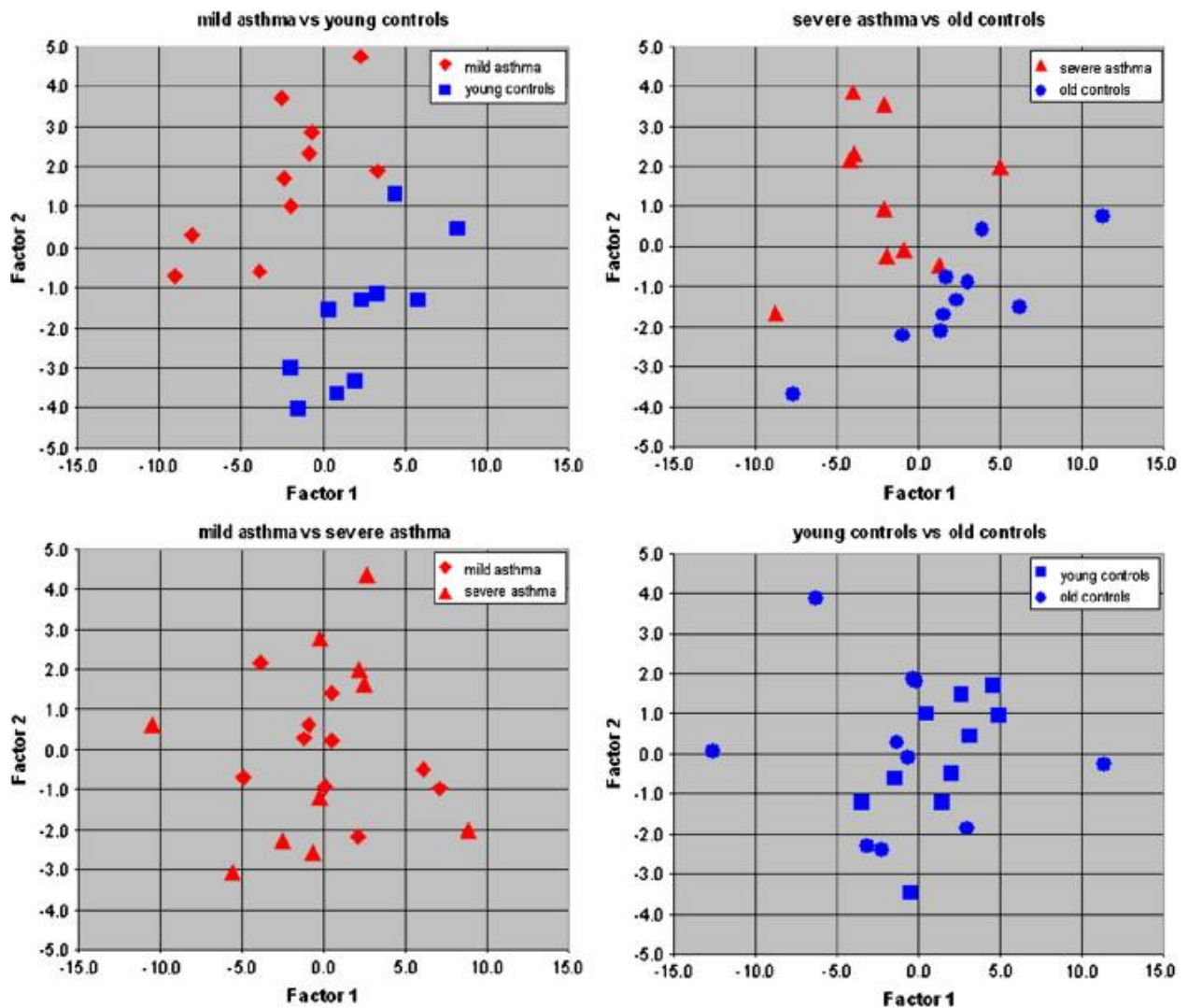
Plusieurs études ont utilisé des modèles de nez électroniques afin de diagnostiquer des infections urinaires. Pour exemple Pavlou *et al.* (2002) (208) ont utilisé un nez électronique possédant 14 capteurs en polymères conducteurs afin d'analyser lors de deux expériences différentes respectivement 25 et 45 échantillons d'urines. Dans la première expérience l'analyse à l'aide d'un réseau de neurones a permis d'identifier correctement 24 des 25 échantillons. Le nez électronique a été capable de différencier les échantillons non infectés, des échantillons infectés par *Escherichia coli*, *Proteus spp* ainsi que ceux infectés par *Staphylococcus spp*. Lors de la deuxième expérience, un seul des échantillons de patient sain a été identifié par erreur comme échantillon infecté par *E. coli*. Cette étude démontre la possibilité de diagnostiquer de façon précoce à l'aide de nez électroniques, les infections urinaires à partir d'échantillons d'urine, en identifiant le germe responsable. (208)

### 3.3.6 Les pathologies d'origine inflammatoire

#### 3.3.6.1 Asthme

Le système de nez électronique peut également être utilisé dans le diagnostic de pathologies d'origine inflammatoire. En effet le diagnostic de l'asthme à l'aide de nez électronique a notamment été effectué par Dragonieri *et al.* (2007) avec le Cyranose 320 (209). L'objectif de cette étude était de déterminer s'il était possible de différencier des échantillons d'air expiré de patients atteints d'asthme, des échantillons de personnes témoins saines. Ils ont pris 10 jeunes patients asthmatiques légers et 10 jeunes témoins (âge compris entre 19 et 34 ans), ainsi que 10 patients plus âgés atteints d'asthme sévère, et 10 témoins plus âgés (âge compris entre 38 et 62 ans). Les empreintes olfactives ont été analysées par analyse en composante principale (ACP). Cette technique a permis de synthétiser les données des 32

capteurs du nez électronique pour en donner un graphique bidimensionnel à l'aide de deux composantes principales permettant de visualiser les résultats. Ainsi les tracés obtenus par l'ACP ont permis de différencier les patients atteints d'asthme des patients sains. Cependant la distinction des patients souffrant d'asthme léger de ceux souffrant d'asthme sévère est moins apparente dans cette étude (figure 30 (209)). Le nez électronique est pour autant capable de discriminer l'air expiré de patients asthmatiques et de personnes saines. (198,209)



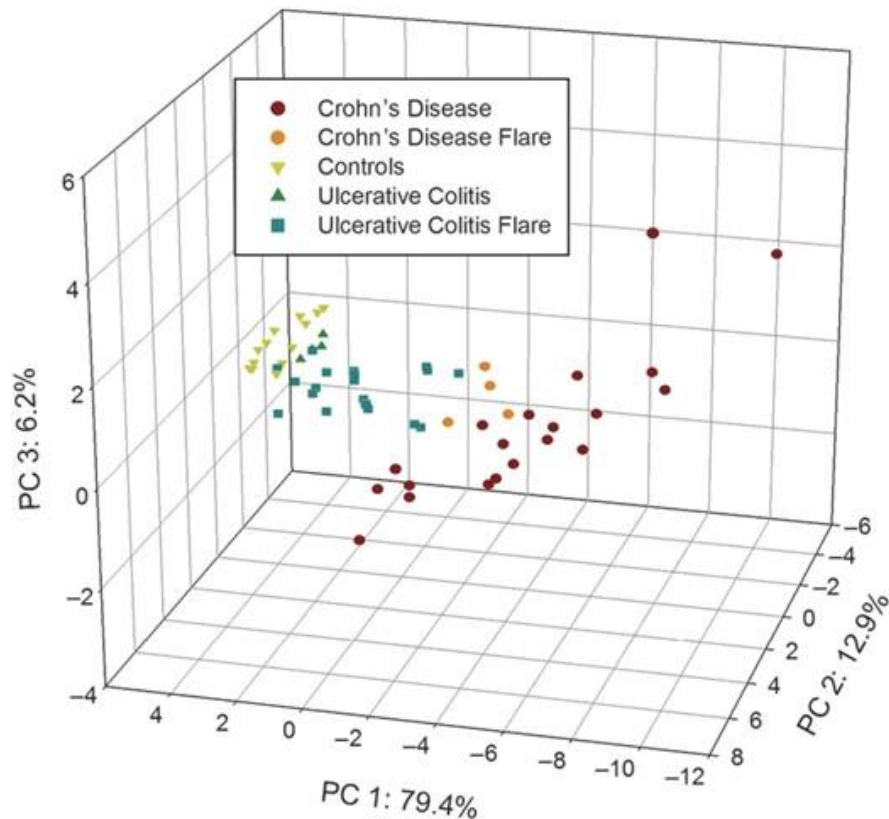
*Figure 30: Graphiques ACP bidimensionnels discriminant les patients asthmatiques légers (losange rouge) des témoins jeunes (carré bleu), les personnes asthmatiques sévères (triangle rouge) des témoins plus âgés (rond bleu), des patients asthmatiques légers et sévères et des témoins jeunes et plus âgés à l'aide de deux composantes principales (factor 1 et factor 2) [209]*

### 3.3.6.2 BPCO

Nous avons vu précédemment qu'il existait une signature olfactive spécifique à la BPCO. Dans une étude de Bragt *et al.* (2020), 364 patients atteints de BPCO ont été sélectionnés (83). Les patients présentant des exacerbations ont été identifiés. Les chercheurs ont utilisé le nez électronique SpiroNose afin de déterminer s'il était possible d'identifier des patients présentant des exacerbations de ceux n'en présentant pas. Les résultats obtenus par analyse de reconnaissance de forme ont été satisfaisants avec une sensibilité obtenue de plus de 95% et une spécificité de 99%. Le nez électronique a en effet la capacité de discriminer les patients atteints de BPCO et ayant subi une exacerbation dans les 3 mois précédant la mesure de ceux qui n'en n'ont pas fait. Cette étude datant de 2020 est la première à analyser de l'haleine expirée à l'aide d'un nez électronique. Elle suggère qu'il sera possible de suivre l'empreinte respiratoire des patients atteints de BPCO, ce qui sera utile dans le suivi de ces patients et dans la réévaluation de leur traitement. (83)

### 3.3.6.3 Maladies du tractus gastro-intestinal

Les méthodes de diagnostic conventionnelles de dépistage des maladies du tractus gastro-intestinal appelées maladies inflammatoires chroniques de l'intestin MICI (maladie de Crohn, Rectocolite hémorragique ou colites ulcéreuses) sont invasives, douloureuses pour les patients, coûteuses et longues à mettre en place. L'utilisation du nez électronique en tant que nouvel outil de diagnostic est donc intéressant. Plusieurs études ont déjà donné des résultats concluants. En effet les nez électroniques sont capables de reconnaître l'odeur de ces pathologies à partir d'échantillons de selles ou d'urines des patients. Une étude de Arasaradnam *et al.* (2013) a notamment cherché à différencier les signatures olfactives de patients atteints respectivement de maladie de Crohn et de colite ulcéreuse, de témoins sains (210). Des échantillons d'urine ont été prélevés et l'espace de tête de l'échantillon a été analysée par un nez électronique le Fox 4000. Les résultats ont été obtenus par analyse en composantes principales. Dans cette dernière les échantillons ont été catégorisés préalablement en sous-groupes cliniques. L'analyse discriminante est une autre technique statistique permettant de prédire l'appartenance d'un échantillon à différents groupes prédéfinis. Les résultats de l'ACP (figure 31 (210)) montrent qu'il existe une différence de profil de COV entre les échantillons d'individus sains, de ceux atteints respectivement de la maladie de Crohn et de colites ulcéreuses. Elle montre également une différence de profil de COV lorsque les patients connaissent une poussée de ces deux maladies. (210,211)



**Figure 31: Résultats obtenues par analyse en composantes principales avec le nez électronique Fox 4000 [210]**

Les composés organiques volatils rejetés par l'organisme sont donc différents non seulement entre les deux pathologies et entre les individus sains mais aussi entre les patients ayant une poussée de leur maladie. Cette étude s'avère être la première à avoir utilisé une technique non invasive afin de détecter par les urines les patients atteints de MICI à l'aide d'un nez électronique. La pertinence de l'utilisation de cette nouvelle technique de diagnostic est forte, étant donnée le nombre de tests invasifs qu'il est aujourd'hui nécessaire d'effectuer afin de diagnostiquer une MICI, sachant que ces méthodes de diagnostic ne sont pas capables de distinguer de manière aussi précise les différents types de MICI et les poussées en cours. (210)

En conclusion, l'intérêt envers les nez électroniques utilisés dans le diagnostic médical est grandissant ces dernières années. En effet les résultats obtenus sont prometteurs, et cette technique de diagnostic est particulièrement intéressante du fait de son faible coût, de sa simplicité d'utilisation et de la possibilité d'effectuer des analyses en ambulatoire. Cependant il faut s'assurer que les méthodes de diagnostic à l'aide de nez (bio)électroniques répondent à un certain nombre de critères avant de pouvoir être validés et approuvés pour être utilisés en pratique clinique. Tout d'abord les paramètres analytiques doivent être satisfaisants (possédé

un seuil de détection relativement bas) et la sensibilité et la spécificité des tests réalisés doivent être élevés. Il faut s'assurer que le dispositif soit résistant aux changements de matrice d'échantillon. De plus ses dispositifs doivent à terme être utilisés en ambulatoire, il est donc nécessaire d'avoir une possibilité d'exécution fiable dans un environnement moins contrôlé qu'en laboratoire. Des efforts sont encore à fournir afin de normaliser de manière universelle les nez électroniques et de standardiser les protocoles d'échantillonnages afin d'obtenir des résultats reproductibles. Il faudrait également normaliser les conditions de stockage des échantillons lorsqu'ils sont nécessaires (échantillons d'urine ou de selles par exemple), ainsi que les méthodes analytiques afin de pouvoir comparer les données entre les différentes études. Des recherches complémentaires sont encore nécessaires afin de connaître avec précision la composition en composés organiques volatils des signatures olfactives des différentes pathologies, cela permettrait de développer la technologie de nez bioélectroniques qui nécessite pour être fonctionnelle de connaître les biomarqueurs des pathologies. (211)

### **3.4 Avantages et limites liés à l'utilisation des nez (bio)électroniques**

#### **3.4.1 Avantages**

L'utilisation des nez (bio)électroniques dans le diagnostic médical possède de nombreux avantages dont la plupart sont communs à l'utilisation des chiens d'aide médical.

##### **3.4.1.1 Le caractère non invasif de cette méthode de dépistage**

L'utilisation des nez (bio)électroniques pour le diagnostic médical a l'avantage d'être, comme pour les méthodes de dépistage à l'aide de chiens d'assistance, non invasive et non douloureuse. Les nez (bio)électroniques utilisent soit directement l'air expiré des patients, soit des échantillons d'urines, de selles ou d'autres liquides corporels.

##### **3.4.1.2 Une méthode de diagnostic rapide**

Là où les techniques de chimie analytique classiques nécessitent une préparation des échantillons à analyser, les nez (bio)électroniques permettent d'effectuer une analyse rapide, sans préparation préalable. Le résultat des analyses peut être connue en seulement quelques minutes contre plusieurs heures ou jours avec les méthodes de dépistage classiques. (177)



#### 3.4.1.3 Des résultats simples à interpréter

Les résultats obtenus par les nez (bio)électroniques sont simples d'interprétation. En effet les méthodes couramment utilisées d'analyses statistiques (analyse en composantes principales et analyse factorielle discriminante) synthétisent les informations à l'aide de graphiques permettant de visualiser rapidement les résultats.

#### 3.4.1.4 Une méthode accessible en ambulatoire

Les nez (bio)électroniques sont légers et portables. Ils peuvent alors être utilisés en ambulatoire, au chevet des patients, ou afin d'effectuer du dépistage de masse notamment dans les pays pauvres pour le dépistage du paludisme par exemple. (177)

#### 3.4.1.5 Une méthode de diagnostic fiable

Les nez (bio)électroniques sont capables de détecter les composés organiques volatils à des concentrations de l'ordre du ppm. Les différentes études que nous avons pu analyser évaluant la fiabilité de l'utilisation de ces dispositifs dans le diagnostic médical ont trouvé des spécificités et des sensibilités élevées pouvant être supérieures aux techniques de diagnostic classiques.

#### 3.4.1.6 Les avantages que ne possèdent pas la méthode de diagnostic à l'aide de chiens

A contrario des chiens dont le système olfactif se fatigue et dont le temps de travail est limité à 20 minutes consécutives, les nez (bio)électroniques ont l'avantage de pouvoir être utilisés en continu. De plus leur emploi évite les inconvénients liés à la durée d'éducation des chiens, à leur entretien et aux soins devant leur être prodigués. Ils ne se heurtent pas non plus aux problèmes d'éthiques et d'hygiène de l'utilisation de chiens en milieu hospitalier. Enfin les banques de données permettant l'analyse des échantillons par les nez (bio)électroniques sont de plus en plus complètes et permettent à ces dispositifs d'être de plus en plus performants. (177)

#### 3.4.2 Limites

Les nez (bio)électroniques ne sont pas encore utilisés en routine dans le diagnostic médical. A l'heure actuelle un résultat anormal obtenu par un nez (bio)électronique est encore toujours vérifié à l'aide des méthodes classiques d'analyse. Cela est dû à l'existence de certaines

limites exposées ci-dessous que l'on devra résoudre à l'avenir, mais aussi du fait que ce soit une technologie encore récente qui doit encore faire ces preuves. (212)

#### 3.4.2.1 Le manque de répétabilité

Il n'existe pas encore de standardisation des conditions de collecte, de stockage et d'analyse des échantillons à l'aide des nez électroniques. Cela entraîne un manque de répétabilité dans les résultats obtenus, c'est-à-dire une variabilité des résultats due aux dispositifs de mesure. Il serait nécessaire d'harmoniser cette méthode de diagnostic à l'échelle internationale afin d'obtenir des résultats similaires : volume de l'échantillon, réduction des contaminations, durée et températures de stockage, méthodes d'analyse statistique utilisées etc. (163)

#### 3.4.2.2 L'humidité

L'humidité de l'air ambiant et de l'échantillon peut affecter la sensibilité et la reproductivité des capteurs de gaz. Cependant des chercheurs ont mis au point des méthodes permettant de compenser l'effet de l'humidité sur les mesures obtenues. De plus certains capteurs résistent bien à de fortes teneurs en humidité, dont ceux du nez électronique Cyranose 320. (163,213)

#### 3.4.2.3 Les limites spécifiquement liées à l'utilisation des nez électroniques

##### a. Impossibilité d'analyse des biomarqueurs spécifiques

L'analyse des échantillons obtenus par les nez électroniques ne donne pas la composition en composés organiques volatils mais est capable de reconnaître un schéma spécifique de COV à l'aide d'un logiciel de reconnaissance de formes et de bases de données. Il n'est donc pas possible de faire une analyse des biomarqueurs spécifiques d'une pathologie avec un nez électronique seul. (177)

##### b. Nécessité d'un étalonnage fréquent des capteurs de gaz

L'une des limites à l'utilisation des nez électroniques est la nécessité d'un étalonnage régulier des systèmes de capteurs. En effet les capteurs de gaz perdent en sensibilité et en spécificité au cours du temps. L'étalonnage peut être effectué de deux façons : capteur par capteur soit de façon multivariée en testant la matrice de capteurs en un seul bloc. (214,215)

#### 3.4.2.4 Les limites spécifiquement liées à l'utilisation des nez bioélectroniques

##### a. Nécessité de connaître les biomarqueurs spécifiques de la pathologie pour leur conception

Ce sont les récepteurs olfactifs biologiques entrant dans la composition des nez bioélectroniques qui rendent ces derniers aussi performants en termes de sensibilité, de spécificité et de reproductibilité, mais c'est également ce qui les rend particulièrement difficiles à développer. La signature olfactive de la pathologie à diagnostiquer doit être connue ainsi que les combinaisons récepteurs olfactifs/odorants. (216)

##### b. Durée de conservation des biocapteurs

De plus, le défi majeur dans le développement futur des nez bioélectroniques concerne la durée de conservation des biocapteurs. En effet les récepteurs olfactifs biologiques sont biodégradables et ont une durée de vie limitée. Il est donc déterminant de développer un substrat idéal permettant une conservation longue et qualitative des biocapteurs. Une autre approche serait d'utiliser un système d'échantillonnage peu cher à usage unique. (179)

Il existe donc deux types de dispositifs détecteurs d'odeurs différents : les nez électroniques et les nez bioélectroniques. A l'heure actuelle ce sont les nez électroniques les plus développés, il en existe déjà un grand nombre capable de détecter de nombreuses pathologies différentes. Cependant les nez bioélectroniques avec leur grande sensibilité ont toute leur place dans l'avenir du diagnostic médical. Ces deux dispositifs permettent d'effectuer un diagnostic rapide, simple, sensible, en ambulatoire. Il est néanmoins nécessaire, pour que leur utilisation passe en premier plan dans divers diagnostics, d'effectuer des tests de sensibilité, de spécificité et de répétabilité à plus grand échelle et d'effectuer une harmonisation mondiale de ces systèmes de mesures.

## Conclusion

Les objectifs de cette thèse étaient de dresser un état des lieux des connaissances scientifiques actuelles au sujet des signatures olfactives des pathologies, de mettre en évidence les capacités olfactives des chiens à détecter ces dernières, ainsi que de faire une synthèse des données actuelles sur les nouvelles méthodes de dépistage à l'aide de nez électroniques et bioélectroniques en s'intéressant à leur avenir dans le diagnostic médical.

Dans une première partie nous avons pu étudier les composés organiques volatils endogènes excrétés par le corps humain sain dans l'air expiré et dans les différents fluides corporels, et dont le nombre avoisine les mille neuf cents. L'analyse de ces COV excrétés chez les individus sains a ensuite permis d'évaluer les COV spécifiques à la présence d'une pathologie, soit par leur présence anormale ou soit par des concentrations différentes (plus élevées ou plus basses) de celles retrouvées chez un individu en bonne santé. Nous nous sommes alors intéressés aux différentes voies de formation connues des COV endogènes dans l'organisme, notamment dues au stress oxydant, entraînant des réactions chimiques en chaîne, donnant in fine des molécules de masse molaire de plus en plus faible et enfin des COV. Puis nous avons ensuite fait le point sur les principales pathologies humaines productrices de COV en analysant les études s'intéressant à leurs signatures olfactives respectives. En effet, ces dernières décennies les chercheurs ont réussi à identifier les principales molécules volatiles rejetées chez les individus malades à l'aide notamment de la CPG-SM. Nous avons alors analysé ces COV rejetés par différentes pathologies telles que les cancers, le diabète, l'épilepsie mais aussi les pathologies infectieuses et les pathologies à l'origine d'inflammations chroniques.

La seconde partie de ce travail a consisté à évaluer la capacité des chiens à détecter ces COV. Nous avons pu constater que leur anatomie et leur physiologie toute particulière leur conférait cette aptitude exceptionnelle à détecter les COV à des concentrations très faibles de l'ordre du ppb voir du ppt. Nous avons cependant constaté qu'il existait des facteurs influençant ces performances olfactives, telles que la morphologie du museau, les différences comportementales d'une race à l'autre, l'âge du chien, son régime alimentaire, son état de santé et les conditions environnementales qui l'entoure. Nous avons pu identifier 4 races de chiens possédant toutes les caractéristiques nécessaires pour être des excellents chiens détecteurs de pathologies et chiens d'assistance. Il s'agit des labradors retriever, des goldens retriever, des caniches royaux ainsi que des labradoodles. Nous avons également fait une étude

bibliographique apportant des résultats très encourageants quant à leur capacité à détecter de nombreuses pathologies par l'odeur et à nous en avertir, avec des sensibilités et des spécificités élevées. Puis nous avons fait le point sur les organismes et associations existantes formant les chiens d'assistance, chacune possédant leur propre programme de formation.

Dans une dernière partie, un aperçu des principes de fonctionnement et de fabrication des nez électroniques et bioélectroniques a été présenté, ainsi que leurs applications dans le diagnostic médical des pathologies productrices de COV. Les résultats obtenus dans les différentes études sont prometteurs et l'intérêt envers ces nouvelles méthodes de dépistage est grandissant ces dernières années.

Ces recherches bibliographiques ont permis de cerner les enjeux et les avantages du diagnostic de pathologies et de suivi des patients à l'aide des composés organiques volatils. En effet, les différents résultats des études ont permis de valider cette approche de diagnostic et de suivi, par les chiens ainsi que par les nez électroniques et bioélectroniques. Nous avons pu voir que ces deux méthodes respectives étaient capables de détecter, à de très faibles concentrations les biomarqueurs spécifiques des pathologies. De plus elles possèdent de nombreux avantages à contrario des méthodes de dépistage classique. Elles se révèlent être non invasives, peu coûteuses, rapides, simples à interpréter, accessibles en ambulatoire et fiables.

La perspective d'utiliser des chiens dans le domaine médical n'est que récente. Ainsi, le nombre de chien formé par an en France est encore très limité. Les associations ne sont pas nombreuses, elles sont de plus relativement récentes mais elles possèdent alors une belle marge de progression. ACADIA par exemple forme chaque année un nombre de plus en plus important de chiens d'assistance pour personnes diabétiques. Des projets comme celui de KDOG pour le cancer du sein, ayant pour objectif de former des chiens détecteurs de pathologies, sont de plus en plus nombreux à voir le jour ces dernières années.

De plus, les différents types de nez électroniques et bioélectroniques font également petit à petit leurs preuves dans le diagnostic médical. Si certains sont déjà opérationnels comme les nez électroniques FOX 4000, Cyranose 320, ou l'AeoNose par exemple, d'autres, tels que les nez bioélectroniques utilisant des récepteurs olfactifs biologiques doivent encore connaître des ajustements afin de transformer les dispositifs expérimentaux existants déjà très performants, en nouvelles technologies pouvant également être mises sur le marché. Il est en effet à noter que l'avenir des nez bioélectroniques, utilisant des récepteurs olfactifs biologiques comme élément de détection des COV, dans le diagnostic médical est très prometteur. En effet, leur

grand avantage par rapport aux nez électroniques est leur capacité à donner la composition exacte en COV des échantillons, même à de très faibles concentrations et avec une sensibilité inégalable.

D'autre part, cette thèse n'a pas pu être complètement exhaustive concernant l'ensemble des pathologies productrices de COV. L'objectif a été de présenter les principales pathologies dont les signatures olfactives avaient été scientifiquement établies et dont il existait des études sur leur potentielle possibilité d'être détectable par les chiens et les nez (bio)électroniques. Certaines pathologies telles que les pathologies rénales, hépatiques ou neurodégénératives par exemple, n'ont pas été abordées dans cette thèse, par choix, par manque de données scientifiques. En effet, beaucoup d'études concernant les pathologies productrices de COV sont encore en cours. Il serait donc intéressant, dans quelques années de réévaluer toutes les nouvelles connaissances scientifiques existantes à ce sujet.

Par ailleurs, il reste encore un certain nombre de défis à résoudre afin de généraliser l'utilisation de ces techniques de diagnostic à plus grande échelle :

- Il serait tout d'abord nécessaire d'accroître les connaissances actuelles sur les signatures olfactives des pathologies, et notamment sur la composition exacte en COV constituant ces signatures olfactives. Les études pour certaines pathologies ne sont encore que peu nombreuses et effectuées sur un nombre de personnes limité.
- Il reste encore beaucoup de voies de formation de COV dans l'organisme inexploitées à ce jour.
- Il reste également beaucoup de pathologies dont la signature olfactive potentielle n'a pas encore été étudiée.
- Il n'existe pas encore de processus standardisés d'éducation et de formation des chiens, tout comme de procédures standardisées pour le recueil et l'analyse des échantillons par les nez (bio)électroniques. Il serait nécessaire d'harmoniser ces méthodes de diagnostic afin d'obtenir des résultats reproductibles.
- Par la suite, il serait intéressant de créer des banques de données standardisées à l'échelle internationale associant les pathologies à leurs signatures olfactives.

Les perspectives d'avenir de ces méthodes de diagnostic et de suivi des patients à partir de l'analyse des COV biomarqueurs sont importantes, tant les recherches sont nombreuses et prometteuses dans ce domaine.

## Références bibliographiques

1. Diagnostic de pathologies humaines par analyse de COV [Internet]. PATHACOV. 2018 [cité 11 nov 2020]. Disponible sur: <https://pathacov-project.com/>
2. Les composés organiques volatils état des lieux : définition, sources d'émissions, exposition, effets sur la santé [Internet]. Observatoire régional de santé d'Ile-de-France. 2007 [cité 11 nov 2020]. Disponible sur: [https://www.ors-idf.org/fileadmin/DataStorageKit/ORS/Etudes/2007/Etude2007\\_1/rapport\\_cov\\_final\\_1\\_.pdf](https://www.ors-idf.org/fileadmin/DataStorageKit/ORS/Etudes/2007/Etude2007_1/rapport_cov_final_1_.pdf)
3. Cicolella A. Les composés organiques volatils (COV) : définition, classification et propriétés. *Rev Mal Respir.* 2008;25(2):155-163
4. Directive 1999/13/CE du Conseil du 11 mars 1999 relative à la réduction des émissions de composés organiques volatils dues à l'utilisation de solvants organiques dans certaines activités et installations [Internet]. Directive européenne.1999 [cité 16 nov 2020]. Disponible sur: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/ALL/?uri=celex%3A31999L0013>
5. De Lacy Costello B, Amann A, Al-Kateb H, Flynn C, Filipiak W, Khalid T, *et al.* A review of the volatiles from the healthy human body. *J Breath Res.*2014;8(1):doi:014001
6. Jochen K. Schubert WM. From highly sophisticated analytical techniques to life-saving diagnostics: Technical developments in breath analysis. *TrAC.*2006;25(7):665-73
7. Poumons et voies respiratoires [Internet]. Ligue pulmonaire Suisse. 2021 [cité 22 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.liguepulmonaire.ch/fr/preserver-les-poumons/connaissances/poumons-et-voies-respiratoires.html>
8. Filipiak W, Ruzsanyi V, Mochalski P, Filipiak A, Bajtarevic A, Ager C, *et al.* Dependence of exhaled breath composition on exogenous factors, smoking habits and exposure to air pollutants. *J Breath Res.*2012;6(3):doi:10.1088/1752-7155/6/3/ 036008
9. Furane dans les aliments – L'EFSA confirme les préoccupations pour la santé humaine [Internet]. European Food Safety Authority (EFSA). 2017 [cité 27 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.efsa.europa.eu/fr/press/news/furan-food-efsa-confirms-health-concerns>
10. King J, Mochalski P, Kupferthaler A, Unterkofler K, Koc H, Filipiak W, *et al.* Dynamic profiles of volatile organic compounds in exhaled breath as determined by a coupled PTR-MS/GC-MS study. *Physiol Meas.*2010;31(9):1169-84.
11. Dragonieri S, Quaranta VN, Carratu P, Ranieri T, Resta O. Influence of age and gender on the profile of exhaled volatile organic compounds analyzed by an electronic nose. *J Bras Pneumol.* 2016;42(2):143-5.
12. Penn DJ, Oberzaucher E, Grammer K, Fischer G, Soini HA, Wiesler D, *et al.* Individual and gender fingerprints in human body odour. *J R Soc Interface.*2007;4(13):331-40.

13. Choi MJ, Oh CH. 2nd dimensional GC-MS analysis of sweat volatile organic compounds prepared by solid phase micro-extraction. *Technol Health Care*. 2014;22(3):481-8.
14. Ashley DL, Bonin MA, Cardinali FL, McCraw JM, Holler JS, Needham LL, *et al.* Determining volatile organic compounds in human blood from a large sample population by using purge and trap gas chromatography/mass spectrometry. *Anal Chem*. 1992;64(9):1021-9.
15. Digestion - Détoxification [Internet]. Université de médecine de la Sorbonne.2020 [cité 2 oct 2021]. Disponible sur: <http://www.chups.jussieu.fr/polys/biochimie/DGbioch/POLY.Chp.6.html>
16. Soini HA, Klouckova I, Wiesler D, Oberzaucher E, Grammer K, Dixon SJ, *et al.* Analysis of volatile organic compounds in human saliva by a static sorptive extraction method and gas chromatography-mass spectrometry. *J Chem Ecol*.2010;36(9):1035-42.
17. Phillips M, Gleeson K, Hugues J. Michael B. Volatile biomarkers, non-invasive diagnosis in physiology and medicine.*Metabolites*. 1999;353(9138):1930-3.
18. Bathelier Msayif H. Nouvelles formes de dépistage et de diagnostic par analyse de l'air expiré - détection non invasive de cancers. 2018. 268.[Thèse de doctorat en Pharmacie]: [Dijon], Université de Bourgogne Franche-Comté.
19. Gardès-Albert M, Bonnefont-Rousselot D, Abedinzadeh Zohreh JD. Espèces réactives de l'oxygène. *L'Act. Chim*. 2003;270:91-6.
20. Gregis G. Etude et réalisation d'un système miniaturisé pour l'analyse de composés organiques volatils considérés comme des marqueurs chimiques du cancer du poumon. 2017. 176. [Thèse de doctorat en Sciences de la vie et de la santé spécialité chimie]: [Dijon], Université de Bourgogne Franche-Comté.
21. Déglétagne C. Acclimatations des manchots aux contraintes de l'environnement polaire: approches transcriptomique et intégrative sur le manchot Royal (*Aptenodytes patagonicus*) et le manchot Adélie (*Pygoscelis adeliae*). 2011. 238. [Thèse de doctorat en Physiologie]: [Lyon], Université de Lyon.
22. Degletagne C. Penguin acclimatization to polar environmental constraints : a transcriptomic and integrative study in King (*Aptenodytes patagonicus*) and Adélie penguins (*Pygoscelis adeliae*) . 2011. 238. [Thèse de doctorat en Physiologie]:[Lyon], Université de Lyon.
23. Migdal C, Serres M. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Med Sci* .2011;27(4):405-12.
24. Migdal C, Serres M. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant.*Med Sci*. 2011;27(4):405-12.
25. Pincemail J, Bonjean K, Cayeux K, Defraigne JO. Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutr. Clin. et Métab*.002;16(4):233-9.
26. Favier A. Stress oxydant et pathologies humaines. Elsevier.2008;64(6):390-6



27. Favier A. Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique - L'Act. Chim. 2003;(270):108-15.
28. Stress oxydant : la nutraceutique à la rescousse de nos mitochondries ! [Internet]. Nutrixeal Info. 2020 [cité 25 juin 2022]. Disponible sur: <https://nutrixeal-info.fr/stress-oxydant-la-nutraceutique-a-la-rescousse-de-nos-mitochondries/>
29. Blandine Garait. Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin® .2016. 197. [Thèse de biologie cellulaire]: [Grenoble], Université Joseph Fourier grenoble 1
30. Guichardant M, Bacot S, Molière P, Lagarde M. Les biomarqueurs de la peroxydation lipidique. OCL.2006;13(1):31-4.
31. Bogdan Calenic, Daniela Miricescu, Maria Greabu, Andrey V. Kuznetsov, Jakob Troppmair, Vera Ruzsanyi, *et al.* Oxidative stress and volatile organic compounds: interplay in pulmonary, cardio-vascular, digestive tract systems and cancer. Open Chem. J. 2015;1021-30.
32. Weitzman SA, Turk PW, Milkowski DH, Kozlowski K. Free radical adducts induce alterations in DNA cytosine methylation. PNAS.1994;91(4):1261-4.
33. Acidocétose diabétique - symptômes, causes, traitements et prévention [Internet]. VIDAL.2020 [cité 13 oct 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/maladies/metabolisme-diabete/acidocetose-diabetique.html>
34. Polycétides, acides gras et dérivés du mévalonate [Internet] Université de Montpellier Baron Jacques, Gomez Gérard. [cité 14 oct 2021]. Disponible sur: <https://tice.ac-montpellier.fr/ABCDORGA/Famille12/POLYCETIDES.htm#DEUXSEPT>
35. Dali-Youcef N, Schlienger J-L. Métabolisme de l'alcool. EMC.2012;9(2):1-7
36. Cancer du poumon : les données épidémiologiques [Internet] Institut Curie. 2021[cité 9 sept 2021]. Disponible sur: <https://curie.fr/dossier-pedagogique/cancer-du-poumon-les-donnees-epidemiologiques>
37. Martin JDM, Romain AC. Experimental evaluation of gas sensors array for the identification of complex VOC mixtures in human breath. CET.2021;85:199-205
38. Phillips M, Gleeson K, Hughes JMB, Greenberg J, Cataneo RN, Baker L, *et al.* Volatile organic compounds in breath as markers of lung cancer: a cross-sectional study. Lancet.1999;353(9168):1930-3.
39. Peng G, Tisch U, Adams O, Hakim M, Shehada N, Broza YY, *et al.* Diagnosing lung cancer in exhaled breath using gold nanoparticles. Nat Nanotechnol.2009;4(10):669-73.
40. Janssens E, van Meerbeeck JP, Lamote K. Volatile organic compounds in human matrices as lung cancer biomarkers: a systematic review. Crit Rev Oncol Hematol. 2020;153, doi: 10.1016/j.critrevonc.2020.103037

41. PATHACOV [Internet]. Eurasanté. 2021[cité 13 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.eurasante.com/projets/pathacov/>
42. Comprendre le cancer du sein [Internet]. Ameli. 2021[cité 28 oct 2021]. Disponible sur: <https://www.ameli.fr/assure/sante/themes/cancer-sein/comprendre-cancer-sein>
43. Díaz de León-Martínez L, Rodríguez-Aguilar M, Gorocica-Rosete P, Domínguez-Reyes CA, Martínez-Bustos V, Tenorio-Torres JA, *et al.* Identification of profiles of volatile organic compounds in exhaled breath by means of an electronic nose as a proposal for a screening method for breast cancer: a case-control study. *J Breath Res.* 2020;14(4), doi: 10.1088/1752-7163/aba83f.
44. Zhang Y, Guo L, Qiu Z, Lv Y, Chen G, Li E. Early diagnosis of breast cancer from exhaled breath by gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) analysis: A prospective cohort study. *J Clin Lab Anal.*2020;34(12), doi:10.1002/jcla.23526
45. Kwak J, Gallagher M, Ozdener MH, Wysocki CJ, Goldsmith BR, Isamah A, *et al.* Volatile biomarkers from human melanoma cells. *J. of Chromatogr. B.* 2013;931:90-6.
46. Pirrone F, Albertini M. Olfactory detection of cancer by trained sniffer dogs: A systematic review of the literature. *Journal of Veterinary Behavior.* 2017;19:105-17.
47. Amal H, Shi DY, Ionescu R, Zhang W, Hua QL, Pan YY, *et al.* Assessment of ovarian cancer conditions from exhaled breath. *Int J Cancer.* 2015;136(6), doi:10.1002/ijc.29166.
48. Gao Q, Su X, Annabi MH, Schreiter BR, Prince T, Ackerman A, *et al.* Application of urinary volatile organic compounds (VOCs) for the diagnosis of prostate cancer. *Clin. Genitourin. Cancer.* 2019;17(3):183-90.
49. HAS Dépistage et prévention du cancer colorectal [Internet]. Haute Autorité de Santé. 2013 [cité 4 avr 2022]. Disponible sur: [https://www.has-sante.fr/jcms/c\\_1623732/en/depistage-et-prevention-du-cancer-colorectal](https://www.has-sante.fr/jcms/c_1623732/en/depistage-et-prevention-du-cancer-colorectal)
50. Dépistage gratuit du cancer colorectal entre 50 et 74 ans [Internet] Ameli. 2022 [cité 4 avr 2022]. Disponible sur: <https://www.ameli.fr/assure/sante/themes/cancer-colorectal/depistage-gratuit-50-74-ans>
51. Altomare DF, Di Lena M, Porcelli F, Trizio L, Travaglio E, Tutino M, *et al.* Exhaled volatile organic compounds identify patients with colorectal cancer. *BJS.*2013;100(1):144-50.
52. Autosurveillance de la glycémie [Internet]. Ameli. 2021 [cité 3 nov 2021]. Disponible sur: <https://www.ameli.fr/assure/sante/themes/autosurveillance-glycemie/autosurveillance-glycemie>
53. Minh TDC, Oliver SR, Ngo J, Flores R, Midyett J, Meinardi S, *et al.* Noninvasive measurement of plasma glucose from exhaled breath in healthy and type 1 diabetic subjects. *Am J Physiol Endocrinol Metab.*2011;300(6),doi: 10.1152/ajpendo.00634.2010
54. Do Chau Minh T, Renato Galassetti P. The clinical potential of exhaled breath analysis for diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice.* 2012;97(2):195-205.

55. Wang W, Zhou W, Wang S, Huang J, Le Y, Nie S, *et al.* Accuracy of breath test for diabetes mellitus diagnosis: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open Diabetes Res Care.*2021;9(1), doi: 10.1136/bmjdr-2021-002174
56. Les différentes formes d'épilepsie chez l'adulte [Internet]. VIDAL. 2021 [cité 25 nov 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/maladies/systeme-nerveux/epilepsie/symptomes.html>
57. Épilepsie : définition, causes et facteurs favorisants [Internet]. Ameli. 2021 [cité 25 nov 2021]. Disponible sur: <https://www.ameli.fr/assure/sante/themes/epilepsie/definition-causes-facteurs-favorisants>
58. Powell NA, Ruffell A, Arnott G. The untrained response of pet dogs to human epileptic seizures. *Animals (Basel).*2021;11(8), doi:10.3390/ani11082267
59. Catala A, Levasseur-Garcia C, Pagès M, Schaff JL, Till U, Vitola Pasetto L, *et al.* Prediction and detection of human epileptic seizures based on SIFT-MS chemometric data. *Sci Rep.*2020;10,doi:10.1038/s41598-020-75478-8
60. Spectrométrie de masse SIFT-MS [Internet]. SRA Instruments. 2021 [cité 2 déc 2021]. Disponible sur: <https://www.srainstruments.fr/p/sift-ms/>
61. Maa E, Arnold J, Ninedorf K, Olsen H. Canine detection of volatile organic compounds unique to human epileptic seizure. *Epilepsy Behav.* 2021;115,doi: 10.1016/j.yebeh.2020.107690
62. Subali AD, Wiyono L, Yusuf M, Zaky MFA. The potential of volatile organic compounds-based breath analysis for COVID-19 screening: a systematic review & meta-analysis. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*2022;102(2),doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2021.115589
63. Grassin-Delyle S, Roquencourt C, Moine P, Saffroy G, Carn S, Heming N, *et al.* Metabolomics of exhaled breath in critically ill COVID-19 patients: A pilot study. *EBioMedicine.*2021;63,doi: 10.1016/j.ebiom.2020.103154.
64. Ruszkiewicz DM, Sanders D, O'Brien R, Hempel F, Reed MJ, Riepe AC, *et al.* Diagnosis of COVID-19 by analysis of breath with gas chromatography-ion mobility spectrometry - a feasibility study. *EClinicalMedicine.*2020;29-30,doi: 10.1016/j.eclinm.2020.100609.
65. Les symptômes de la tuberculose [Internet]. VIDAL. 2020 [cité 7 avr 2022]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/maladies/voies-respiratoires/tuberculose/symptomes.html>
66. Tuberculose [Internet]. Institut Pasteur. 2015 [cité 7 avr 2022]. Disponible sur: <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/tuberculose>
67. Phillips M, Cataneo RN, Condos R, Ring Erickson GA, Greenberg J, La Bombardi V, *et al.* Volatile biomarkers of pulmonary tuberculosis in the breath. *Tuberculosis.* 2007;87(1):44-52.

68. Banday KM, Pasikanti KK, Chan ECY, Singla R, Rao KVS, Chauhan VS, *et al.* Use of urine volatile organic compounds to discriminate tuberculosis patients from healthy subjects. *Anal Chem.*2011;83(14):5526-34.
69. Sethi S, Nanda R, Chakraborty T. Clinical application of volatile organic compound analysis for detecting infectious diseases. *Clin Microbiol Rev.*2013;26(3):462-75.
70. Pseudomonas aeruginosa et maladie broncho-pulmonaire chronique obstructive [Internet]. *Revue Medicale Suisse.* [cité 11 avr 2022]. Disponible sur: <https://www.revmed.ch/revue-medicale-suisse/2010/revue-medicale-suisse-272/pseudomonas-aeruginosa-et-maladie-broncho-pulmonaire-chronique-obstructive>
71. Robroeks CMHHT, van Berkel JJBN, Dallinga JW, Jöbsis Q, Zimmermann LJI, Hendriks HJE, *et al.* Metabolomics of volatile organic compounds in cystic fibrosis patients and controls. *Pediatr Res.* 2010;68(1):75-80.
72. Fernández-García M, Rojo D, Rey-Stolle F, García A, Barbas C. Metabolomic-based methods in diagnosis and monitoring infection progression. *Exp Suppl.* 2018;109:283-315.
73. Philippe Seksik. Colite à Clostridium difficile quelle prise en charge en 2019 ? [Internet]. FMC-HGE. 2019 [cité 11 avr 2022]. Disponible sur: <https://www.fmcgastro.org/texte-postu/postu-2019-paris/colite-a-clostridium-difficile-quelle-prise-en-charge-en-2019/>
74. HAS Modification de la nomenclature des actes de biologie médicale pour les actes de diagnostic biologique des infections à Clostridium difficile. [Internet].Hautes Autorité de Santé. 2016 [cité 11 avr 2022]. Disponible sur: [https://www.has-sante.fr/jcms/c\\_2607794/fr/modification-de-la-nomenclature-des-actes-de-biologie-medicale-pour-les-actes-de-diagnostic-biologique-des-infections-a-clostridium-difficile](https://www.has-sante.fr/jcms/c_2607794/fr/modification-de-la-nomenclature-des-actes-de-biologie-medicale-pour-les-actes-de-diagnostic-biologique-des-infections-a-clostridium-difficile)
75. Patel M, Fowler D, Sizer J, Walton C. Faecal volatile biomarkers of Clostridium difficile infection. *PLoS One.* 2019;14(4),doi:10.1371/journal.pone.0215256
76. Ulanowska A, Kowalkowski T, Hryniewicz K, Jackowski M, Buszewski B. Determination of volatile organic compounds in human breath for Helicobacter pylori detection by SPME-GC/MS. *Biomed Chromatogr.* 2011;25(3):391-7.
77. Résumé des caractéristiques du produit - HELIKIT 75 mg, poudre pour solution buvable [Internet]. Base de données publique des médicaments. 2021 [cité 11 avr 2022]. Disponible sur: <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=69494455&typedoc=R>
78. Lechner M, Karlseder A, Niederseer D, Lirk P, Neher A, Rieder J, *et al.* H. pylori infection increases levels of exhaled nitrate. *Helicobacter.*2005;10(5):385-90.
79. Guernion N, Ratcliffe NM, Spencer-Phillips PT, Howe RA. Identifying bacteria in human urine: current practice and the potential for rapid, near-patient diagnosis by sensing volatile organic compounds. *Clin Chem Lab Med.* 2001;39(10):893-906.
80. Dospinescu VM, Tiele A, Covington JA. Sniffing out urinary tract infection diagnosis based on volatile organic compounds and smell profile. *Biosensors.* 2020;10(8):83.

81. Chai HC, Chua KH. The potential use of volatile biomarkers for malaria diagnosis. diagnostics. Biosensors. 2021;11(12),doi: 10.3390/diagnostics11122244
82. Boots AW, van Berkel JJBN, Dallinga JW, Smolinska A, Wouters EF, van Schooten FJ. The versatile use of exhaled volatile organic compounds in human health and disease. J Breath Res. 2012;6(2),doi: 10.1088/1752-7155/6/2/027108
83. Van Bragt JJMH, Brinkman P, de Vries R, Vijverberg SJH, Weersink EJM, Haarman EG, *et al.* Identification of recent exacerbations in COPD patients by electronic nose. ERJ Open Res.2020;6(4),doi:10.1183/23120541.00307-2020
84. Anatomy of the dog's nose [Internet]. Medical Detection Dogs. 2020 [cité 9 mars 2021]. Disponible sur: <https://www.medicaldetectiondogs.org.uk/anatomy-of-the-dogs-nose/>
85. Catarino M. Intérêt de l'application d'un réparateur cutané Dermoscent BIO BALM® sur des chiens présentant un défaut de cornéogenèse de la truffe : étude clinique. 2014. 107. [Thèse de doctorat vétérinaire]: [Toulouse], Université Paul Sabatier.
86. Aymeric E. Les affections non tumorales de la truffe chez le chien.2004. 238. [Thèse de doctorat vétérinaire]: [Lyon 1], Université Claude-Bernard.
87. Zographos M. Les chiens pour la détection d'affections médicales. 2017. 76. [Thèse de doctorat vétérinaire]: [Créteil], Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.
88. Roqueplo C. Influence du port d'un collier antiparasitaire contenant de la deltaméthrine sur les performances olfactives du chien. 2003. 183. [Thèse de doctorat vétérinaire]: [Créteil], Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.
89. Les notes olfactives [Internet] Salveco, la chimie inspirée de l'avenir. 2015. [cité 25 juin 2022]. Disponible sur: <https://www.salveco.fr/fr/les-notes-olfactives>
90. Ruel Y. Radiographie et tomographie chez le chien et chez le chat - Imagerie des cavités nasales et des sinus. Point vétérinaire.2005;(256):74-9.
91. Rosell F. L'incroyable odorat du chien. Un sens extraordinaire au service de l'Homme. 2ème. Norvège: Ulmer; 2016. 223 p.
92. Jenkins EK, DeChant MT, Perry EB. When the nose doesn't know: canine olfactory function associated with health, management, and potential links to microbiota. Front Vet Sci.2018;5:56.
93. Porteau C. Les capacités olfactives des chiens ouvrent de nouvelles perspectives dans le dépistage du cancer. 2018. 223. [Thèse de doctorat en pharmacie]: [Nantes], Nantes Université Pôle santé.
94. Trotier D. Organe voméronasal et phéromones humaines. AFORL.2011;128(4):222-8.
95. Grosmaître X. L'organe septal de Maserà et le ganglion de Grueneberg. 1. Versailles: Editions Quae; 2012. 214p.
96. Fleischer J, Breer H. The Grueneberg ganglion: a novel sensory system in the nose. Histol Histopathol. 2010;25(7):909-15.

97. Tyson P. Dogs' Dazzling Sense of Smell [Internet]. PBS. 2012 [cité 20 janv 2022]. Disponible sur: <https://www.pbs.org/wgbh/nova/article/dogs-sense-of-smell/>
98. Morell V. The Secret of a Dog's Sniffer [Internet]. Science. 2009 [cité 20 janv 2022]. Disponible sur: <https://www.science.org/content/article/secret-dogs-sniffer>
99. Concha AR, Guest CM, Harris R, Pike TW, Feugier A, Zulch H, *et al.* Canine Olfactory Thresholds to Amyl Acetate in a Biomedical Detection Scenario. *Front Vet Sci.* 2019;5:345.
100. Danielle M, Coste M. De l'utilisé du chien dans la recherche de noyés. 2015. 129. [Thèse de doctorat vétérinaire]: [Paris], Faculté de Médecine de Créteil.
101. François M. Neurosciences cliniques : de la perception aux troubles du comportement. 1ère édition. Belgique: de boeck; 2008. 293 p.
102. Qu'est-ce que la fatigue olfactive ou fatigue nasale ? [Internet]. 2022 [cité 9 mars 2022]. Disponible sur: <https://www.rhiniteallergique.be/l-info-scientifique/qu-est-ce-que-la-fatigue-olfactive-ou-fatigue-nasale>
103. Chalard C, Thiébault JJ, Ferry B. Compensation sensorielle chez le chien: surdité et olfaction sont-elles liées ? *Lignées Elevage*, 2021;50,18-9
104. Lazarowski L, Krichbaum S, DeGreeff LE, Simon A, Singletary M, Angle C, *et al.* Methodological considerations in canine olfactory detection research. *Front. Vet. Sci.*, 2020;7,doi: 10.3389/fvets.2020.00408
105. Goux Estelle. L'olfaction canine dans le diagnostic de cancer: exemple de dépistage de cancer du sein. 2019.136.[Thèse de doctorat vétérinaire]: [Lyon 1], Université Claude Bernard.
106. Polgár Z, Kinnunen M, Újváry D, Miklósi Á, Gácsi M. A Test of canine olfactory capacity: comparing various dog breeds and wolves in a natural detection task. *PLoS One.* 2016;11(5):doi:10.1371/journal.pone.0154087.
107. Hall NJ, Glenn K, Smith DW, Wynne CDL. Performance of Pugs, German Shepherds, and Greyhounds (*Canis lupus familiaris*) on an odor-discrimination task. *J Comp Psychol.* 2015;129(3):237-46.
108. Hirai T, Kojima S, Shimada A, Umemura T, Sakai M, Itakura C. Age-related changes in the olfactory system of dogs. *Neuropathol Appl Neurobiol.*1996;22(6):531-9.
109. Angle CT, Wakshlag JJ, Gillette RL, Steury T, Haney P, Barrett J, *et al.* The effects of exercise and diet on olfactory capability in detection dogs. *J Nutr Sci.* 2014;3:doi: 10.1017/jns.2014.35.
110. Myers LJ, Hanrahan LA, Swango LJ, Nusbaum KE. Anosmia associated with canine distemper. *Am J Vet Res.*1988;49(8):1295-7.
111. Maladie de Carré chez le chien [Internet]. Centre Hospitalier Vétérinaire Frégis. 2022. [cité 20 févr 2022]. Disponible sur: <https://www.fregis.com/infos-sante/maladie-de-carre-chez-chien/>

112. Myers LJ, Nusbaum KE, Swango LJ, Hanrahan LN, Sartin E. Dysfunction of sense of smell caused by canine parainfluenza virus infection in dogs. *Am J Vet Res.* 1988;49(2):188-90.
113. Maladies vaccinables - Parainfluenza [Internet]. MSD Animal Health. 2022 [cité 24 févr 2022]. Disponible sur: <https://my.msd-animal-health.be/fr/petowners/petdetails/?specie=dog&wellnessId=2844>
114. Animaux AA pour. acariens nasaux chez le chien [Internet]. Agria Assurance pour animaux. 2022. [cité 24 févr 2022]. Disponible sur: <http://www.agria.fr/chiens/articles-chien/maladies-et-blessures/pneumonyssoides-caninum-acariens-nasaux-chez-les-chiens/>
115. CAPC. Nasal Mites [Internet]. Companion animal parasite council. 2022 [cité 24 févr 2022]. Disponible sur: <https://capcvet.org/guidelines/nasal-mites/>
116. Sen Majumder S, Bhadra A. When love is in the air: understanding why dogs tend to mate when it rains. *PLoS One.* 2015;10(12):doi:10.1371/journal.pone.0143501.
117. Kokocińska-Kusiak A, Woszczyło M, Zybala M, Maciocha J, Barłowska K, Dzieciół M. Canine olfaction: physiology, behavior, and possibilities for practical applications. *animals.*2021;11(8):2463.doi: 10.3390/ani11082463.
118. Henkin RI. Drug-induced taste and smell disorders. Incidence, mechanisms and management related primarily to treatment of sensory receptor dysfunction. *Drug Saf.* 1994;11(5):318-77.
119. Jenkins EK, Lee-Fowler TM, Angle TC, Behrend EN, Moore GE. Effects of oral administration of metronidazole and doxycycline on olfactory capabilities of explosives detection dogs. *Am J Vet Res.*2016;77(8):906-12.
120. Ramaihgari B, Pustovyy OM, Waggoner P, Beyers RJ, Wildey C, Morrison E, *et al.* Zinc nanoparticles enhance brain connectivity in the canine olfactory network: evidence from an fmri study in unrestrained awake dogs. *Front Vet Sci.* 2018;5:127.
121. Jendry P, Twele F, Meller S, Osterhaus ADME, Schalke E, Volk HA. Canine olfactory detection and its relevance to medical detection. *BMC Infect Dis.*2021;21(1):838.
122. Lippi G, Plebani M. Diabetes alert dogs: a narrative critical overview. *Clin Chem Lab Med.*2019;57(4):452-8.
123. Lindsay S, Thiyagarajah K. The impact of service dogs on children, youth and their families: A systematic review. *Disabil Health J.* 2021;14(3):101012.
124. Gonder-Frederick LA, Grabman JH, Shepard JA. Diabetes Alert Dogs (DADs): An assessment of accuracy and implications. *Diabetes Res Clin Pract.* 2017;134:121-30.
125. Martos Martinez-Caja A, De Herdt V, Boon P, Brandl U, Cock H, Parra J, *et al.* Seizure-alerting behavior in dogs owned by people experiencing seizures. *Epilepsy Behav.* 2019;94:104-11.

126. Dalziel DJ, Uthman BM, Mcgorray SP, Reep RL. Seizure-alert dogs: a review and preliminary study. *Seizure*.2003;12(2):115-20.
127. Kure S, Iida S, Yamada M, Takei H, Yamashita N, Sato Y, *et al.* Breast cancer detection from a urine sample by dog sniffing: a preliminary study for the development of a new screening device, and a literature review. *Biology (Basel)*. 2021;10(6):517.
128. Origines et avenir de KDOG | Groupe de détection du cancer KDOG [Internet]. KDOG. 2017. [cité 17 mars 2022]. Disponible sur: <https://kdog.institut-curie.org/page/origins-and-future-kdog>
129. Mazzola SM, Pirrone F, Sedda G, Gasparri R, Romano R, Spaggiari L, *et al.* Two-step investigation of lung cancer detection by sniffer dogs. *J Breath Res*.2020;14(2):026011.doi: 10.1088/1752-7163/ab716e.
130. Horvath G, Andersson H, Paulsson G. Characteristic odour in the blood reveals ovarian carcinoma. *BMC Cancer*.2010;10(1):643.
131. Salgirli Y, Sareyyupoglu B, ÖZTÜRK H, Kismali G, Alpay M, Seçilmiş Canbay H, *et al.* The role of bio-detection dogs in prevention and diagnosis of infectious disease: A systematic review. *Ank Univ Vet Fak. Derg.*2021;68:185-192
132. Bomers M, Agtmael M, Luik H, Veen M, Vandenbroucke-Grauls C, Smulders Y. Using a dog's superior olfactory sensitivity to identify *Clostridium difficile* in stools and patients: Proof of principle study. *BMJ*.2012;345:doi:10.1136/bmj.e7396.
133. Bomers MK, van Agtmael MA, Luik H, Vandenbroucke-Grauls CMJE, Smulders YM. A detection dog to identify patients with *Clostridium difficile* infection during a hospital outbreak. *J Infect*.2014;69(5):456-61.
134. Taylor MT, McCready J, Broukhanski G, Kirpalaney S, Lutz H, Powis J. Using dog scent detection as a point-of-care tool to identify toxigenic *clostridium difficile* in stool. *OFID*.2018;5(8):179.
135. Bryce E. Identifying environmental reservoirs of *Clostridium difficile* with a scent detection dog: preliminary evaluation. *J Hosp Infect*.2017;97(2):140-5.
136. Koivusalo M, Vermeiren C, Yuen J, Reeve C, Gadbois S, Katz K. Canine scent detection as a tool to distinguish meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Hosp Infect*.2017;96(1):93-5.
137. Maurer M, McCulloch M, Willey AM, Hirsch W, Dewey D. Detection of bacteriuria by canine olfaction. *OFID*.2016;3(2):doi: 10.1093/ofid/ofw051.
138. Cystite : symptômes et causes [Internet]. AMELI. 2022. [cité 28 mars 2022]. Disponible sur: <https://www.ameli.fr/assure/sante/themes/cystite/reconnaitre-cystite>
139. Dickey T, Junqueira H. Toward the use of medical scent detection dogs for COVID-19 screening. *JOM*. 2021;121(2):141-8.



140. Sakr R, Ghoub C, Rbeiz C, Lattouf V, Riachy R, Haddad C, *et al.* COVID-19 detection by dogs: from physiology to field application—a review article. *Postgrad Med J.* 2022;98(1157):212-8.
141. HAS, Tests RT-PCR salivaires : la HAS étend leur utilisation et définit les modalités pratiques de réalisation [Internet]. Haute Autorité de Santé. 2021. [cité 21 mars 2022]. Disponible sur: [https://www.has-sante.fr/jcms/p\\_3237053/fr/tests-rt-pcr-salivaires-la-has-etend-leur-utilisation-et-definit-les-modalites-pratiques-de-realisation](https://www.has-sante.fr/jcms/p_3237053/fr/tests-rt-pcr-salivaires-la-has-etend-leur-utilisation-et-definit-les-modalites-pratiques-de-realisation)
142. HAS, Revue rapide sur les tests de détection antigénique du virus SARS-CoV-2 [Internet]. Haute Autorité de Santé. 2020. [cité 21 mars 2022]. Disponible sur: [https://www.has-sante.fr/jcms/p\\_3213483/fr/revue-rapide-sur-les-tests-de-detection-antigenique-du-virus-sars-cov-2](https://www.has-sante.fr/jcms/p_3213483/fr/revue-rapide-sur-les-tests-de-detection-antigenique-du-virus-sars-cov-2)
143. Chiens de détection de la Covid-19 : des partenariats internationaux | Actualités [Internet]. Ecole nationale vétérinaire d'Alfort. 2022. [cité 21 mars 2022]. Disponible sur: <https://www.vet-alfort.fr/actualites-de-l-ecole/chiens-de-detection-de-la-covid-19-des-partenariats-internationaux>
144. Inslag, chien-renifleur, détecte le Covid-19 sur les passagers à l'aéroport de Marseille | [Internet]. Actu Marseille. 2021. [cité 21 mars 2022]. Disponible sur: [https://actu.fr/provence-alpes-cote-d-azur/marseille\\_13055/un-chien-pompier-pour-renifler-le-covid-19-sur-les-passagers-de-l-aeroport-de-marseille\\_41724989.html](https://actu.fr/provence-alpes-cote-d-azur/marseille_13055/un-chien-pompier-pour-renifler-le-covid-19-sur-les-passagers-de-l-aeroport-de-marseille_41724989.html)
145. « Une vie de chien, et un peu plus! » découvrez le quotidien de Pokaa, chien d'accompagnement social formé à la détection de maladies [Internet]. HANDI'CHIENS. 2022. [cité 21 mars 2022]. Disponible sur: [https://handichiens.org/comment-se-deroule-quotidien-de/?fbclid=IwAR0u--I1t9XuuIm8RSsKHO\\_RZTKAzS1vUI1JyEPXIT-zQYH6ZduhsJ2pvh4dna.fr/magazine-sante/2021/10/14/handi-chiens-se-devoile](https://handichiens.org/comment-se-deroule-quotidien-de/?fbclid=IwAR0u--I1t9XuuIm8RSsKHO_RZTKAzS1vUI1JyEPXIT-zQYH6ZduhsJ2pvh4dna.fr/magazine-sante/2021/10/14/handi-chiens-se-devoile)
146. Kasstan B, Hampshire K, Guest C, Logan JG, Pinder M, Williams K, *et al.* Sniff and tell: the feasibility of using bio-detection dogs as a mobile diagnostic intervention for asymptomatic malaria in sub-saharan africa. *J Biosoc Sci.* 2019;51(3):436-43.
147. Paludisme : informations et traitements [Internet] Institut Pasteur. 2022. [cité 30 mars 2022]. Disponible sur: <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/paludisme>
148. Guest C, Pinder M, Doggett M, Squires C, Affara M, Kandeh B, *et al.* Trained dogs identify people with malaria parasites by their odour. *Lancet Infect Dis.* 2019;19(6):578-80.
149. National institute of canine service and training [Internet]. NICST. 2022 [cité 20 avr 2022]. Disponible sur: <https://ourdogssavelives.org/>
150. Diabetic alert dogs of america [Internet]. dadofamerica. 2022 [cité 20 avr 2022]. Disponible sur: <https://www.diabeticalertdogsofamerica.com>
151. Welcome to medical detection dogs [Internet]. Medical Detection Dogs. 2020 [cité 20 avr 2022]. Disponible sur: <https://www.medicaldetectiondogs.org.uk/>

152. Support dogs for autism, for epilepsy, for disability [Internet]. Support Dogs. [cité 21 avr 2022]. Disponible sur: <https://www.supportdogs.org.uk/>
153. Seizure response dogs [Internet]. Paws with a cause. 2018 [cité 21 avr 2022]. Disponible sur: <https://www.pawswithacause.org/what-we-do/assistance-dogs/seizure-response-dogs/>
154. Canine Partners for Life | Service dog organization in pennsylvania [Internet]. CPL. 2022 [cité 21 avr 2022]. Disponible sur: <https://k94life.org/>
155. La confédération nationale des organisations de chiens d'aide à la personne [Internet]. CANIDEA. 2022 [cité 18 avr 2022]. Disponible sur: <http://www.canidea.fr/>
156. Acadia – Chiens d'assistance pour diabétiques [Internet]. ACADIA. 2022. [cité 18 avr 2022]. Disponible sur: <https://www.acadia-asso.org/>
157. HANDI'CHIENS - Education du chien d'assistance [Internet]. HANDICHIENS. 2022 [cité 20 avr 2022]. Disponible sur: <https://handichiens.org/>
158. Les chiens d'assistance pour personnes épileptiques [Internet]. Association Paratonnerre. 2018 [cité 20 avr 2022]. Disponible sur: <https://associationparatonnerre.org/vivre-le-fires/une-maladie-au-long-cours/les-outils-de-compensation-du-handicap/les-chiens-dalerte/>
159. ESCAPE: Education et Suivi des Chiens d'Alerte et de protection pour Personne Epileptique [Internet].escape-epilepsie [cité 20 avr 2022]. Disponible sur: <https://escape-epilepsie.jimdofree.com/>
160. HAS. Dépistage du cancer du sein [Internet]. Haute Autorité de Santé. 2013. [cité 28 avr 2022]. Disponible sur: [https://www.has-sante.fr/jcms/r\\_1501534/fr/depistage-du-cancer-du-sein](https://www.has-sante.fr/jcms/r_1501534/fr/depistage-du-cancer-du-sein)
161. LE PROJET | KDOG Cancer Detect Group [Internet].KDOGCurie.2018. [cité 1 mai 2022]. Disponible sur: <https://kdog.curie.fr/page/le-projet-0>
162. Wilson AD. applications of electronic-nose technologies for noninvasive early detection of plant, animal and human diseases. *Chemosensors*.2018;6(4):45.
163. Pajot-Augy É. L'haleine et les capteurs d'odeurs - Nouveaux outils de diagnostic médical. *Med Sci (Paris)*.2019;35(2):123-31.
164. Tropis C. Analyse et Optimisation des performances d'un capteur de gaz à base de SnO2 nanoparticulaire : Application à la détection de CO et CO2. 2009.260. [Thèse de doctorat de microélectronique]:[Toulouse]:Université de Toulouse III- Paul Sabatier
165. Menini P. Du capteur de gaz à oxydes métalliques vers les nez électroniques sans fil.2011.168. [Thèse de recherche - laboratoire d'analyse et d'architecture des systèmes du CNRS]:[Toulouse], Université Paul Sabatier de Toulouse.
166. Cheng L, Meng QH, Lilienthal AJ, Qi PF. Development of compact electronic noses: a review. *Meas Sci Technol*.2021;32(6):062002.doi:10.1088/1361-6501/abef3b.

167. Attia G. Détection gravimétrique d'ions lourds métalliques par des dérivés de bisphénols. Corrélation entre résultats expérimentaux et modélisation par DFT. 2019.141. [Thèse de doctorat en Physique]:[République tunisienne]:Université Monastir
168. Hossam M. Deep Learning ou Apprentissage Profond : qu'est-ce que c'est ? [Internet].DataScientest. 2020 [cité 5 mai 2022]. Disponible sur: <https://datascientest.com/deep-learning-definition>
169. Debliquy M . Capteurs de gaz à semi-conducteurs [Internet]. Techniques de l'Ingénieur. 2006 [cité 5 mai 2022]. Disponible sur: <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/mesures-analyses-th1/metrologie-relative-aux-gaz-42539210/capteurs-de-gaz-a-semi-conducteurs-r2385/>
170. Bouchoul O. Capteur de gaz à nanostructure. 2012.102. [Mémoire de Magister en physique]:[Algérie]: Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohammed Boudiaf.
171. Capteurs à semi-conducteurs [Internet]. Detekta Solutions. 2017 [cité 5 mai 2022]. Disponible sur: <https://detekta.ca/capteurs-a-semi-conducteurs/>
172. Pajot-Augy E. Comment l'olfaction peut servir au diagnostic médical.NBO. 2017;35(2):123-31.
173. Ko HJ, Park TH. Bioelectronic nose and its application to smell visualization. J Med Biol Eng.2016;10(1):17.
174. Vidic J. Bioelectronic noses based on olfactory receptors, intelligent and biosensors.1.South Africa: Vernon Somerset; 2010.396p.
175. Marengo L, Wang R, McDougal R, Olender T, Twik M, Bruford E, *et al.* ORDB, HORDE, ODORactor and other on-line knowledge resources of olfactory receptor-odorant interactions. Database (Oxford). 2016;2016:doi:10.1093/database/baw132.
176. Launay G, Téletchéa S, Wade F, Pajot-Augy E, Gibrat JF, Sanz G. Automatic modeling of mammalian olfactory receptors and docking of odorants. Protein Eng Des Sel. 2012;25(8):377-86.
177. Wasilewski T, Gębicki J, Kamysz W. Bioelectronic nose: current status and perspectives. biosensors and bioelectronics.2017;87:480-94.
178. Qu'est-ce que la règle des 3 R ? · Inserm, La science pour la santé [Internet]. Inserm. 2017.[cité 9 mai 2022]. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/modeles-animaux/qu-est-regle-3-r/>
179. Xiu Z. An overview of an artificial nose system. Talanta.2018;184:93-102.
180. Jong Hwan S, Hwi Jin K, Tai Hyun P. Piezoelectric biosensor using olfactory receptor protein expressed in Escherichia coli. Biosens Bioelectron. 2006;21(10):1981-6.

181. Bane SE, Velasquez JE, Robinson AS. Expression and purification of milligram levels of inactive G-protein coupled receptors in E. coli. *Protein Expr Purif.* 2007;52(2):348-55.
182. Lee SH, Jin HJ, Song HS, Hong S, Park TH. Bioelectronic nose with high sensitivity and selectivity using chemically functionalized carbon nanotube combined with human olfactory receptor. *J Biotechnol.*2012;157(4):467-72.
183. Sarramegna V, Talmont F, Demange P, Milon A. Heterologous expression of G-protein-coupled receptors: comparison of expression systems from the standpoint of large-scale production and purification. *Cell Mol Life Sci.*2003;60(8):1529-46.
184. Lee M, Yang H, Kim D, Yang M, Park T, Hong S. Human-like smelling of a rose scent using an olfactory receptor nanodisc-based bioelectronic nose. *Scientific Reports.*2018;8(1):doi:10.1038/s41598-018-32155-1.
185. Bourgoin JP, Goffman M., Derycke V., Chimot N. Brevet : Transistor a effet de champ à nanotubes de carbone [Internet]. NIMBE (Nanosciences et Innovation pour les Matériaux la Biomédecine et l'Énergie. 2008 [cité 23 mai 2022]. Disponible sur: [https://iramis.cea.fr/nimbe/Phoce/Vie\\_des\\_labos/Ast/ast.php?t=brevet&id\\_ast=1393](https://iramis.cea.fr/nimbe/Phoce/Vie_des_labos/Ast/ast.php?t=brevet&id_ast=1393)
186. Yuwono A, Schulze Lammers P. Performance test of a sensor array - Based Odor Detection Instrument. *J Sci Res Dev.*2004;3.1-17
187. Souhir Boujday. Microbalance à cristaux de quartz [Internet]. Laboratoire de Réactivité de Surface - UMR Sorbonne Université - CNRS. 2017 [cité 23 mai 2022]. Disponible sur: <http://www.lrs.upmc.fr/fr/1-unite-de-recherche/plateforme-technique/microbalance-a-cristaux-de-quartz.html>
188. Lalo H. Réalisation d'une plateforme biopuce sans marquage basée sur la lithographie douce. 2009. 219. [Thèse de doctorat en nanophysique]:[Toulouse], Université de Toulouse
189. Goodwin DM, Walters F, Ali MM, Daghigh Ahmadi E, Guy OJ. Graphene bioelectronic nose for the detection of odorants with human olfactory receptor 2AG1. *Chemosensors.* 2021;9(7):174.
190. Duigou O. Développement de la croissance de graphène par CVD sur cobalt, analyses morphologique et structurale. 2015.151.[Thèse de doctorat de chimie]:[Paris], Université Paris Saclay.
191. Wilson AD, Baietto M. Applications and advances in electronic-nose technologies. *Sensors.*2009;9(7):5099-148.
192. About us | Alpha-mos.com [Internet]. Alpha-Mos. 2022 [cité 15 juin 2022]. Disponible sur: <https://www.alpha-mos.com/about-us>
193. Cyrano « Nose » the Smell of Success [Internet]. NASA Spinoff. 2022 [cité 26 juin 2022]. Disponible sur: <https://spinoff.nasa.gov/spinoff2001/ps4.html>
194. eNose company. Specialists in artificial olfaction [Internet]. The eNose company. 2018 [cité 15 juin 2022]. Disponible sur: <https://www.enose.nl/about-enose/>

195. SniffPhone | Téléphone intelligent pour la détection des maladies à partir de l'haleine expirée [Internet]. Sniffnose. 2018 [cité 15 juin 2022]. Disponible sur: <https://www.sniffphone.eu/>
196. Aryballe | ANALYSE DES ODEURS SIMPLES [Internet]. Aryballe.2021[cité 16 juin 2022]. Disponible sur: <https://aryballe.com/>
197. CEA. Aryballe propose un nez électronique universel [Internet]. CEA/Espace Presse. 2021 [cité 16 juin 2022]. Disponible sur: <https://www.cea.fr/presse/Pages/actualites-communiques/ntic/aryballe-propose-un-nez-electronique-universel.aspx>
198. Oh EH, Song HS, Park TH. Recent advances in electronic and bioelectronic noses and their biomedical applications. *Enzyme Microb Technol.*2011;48(6):427-37.
199. Masson M. Analyse en composantes principales face à la malédiction de la dimensionnalité [Internet]. Pensée Artificielle. 2021 [cité 26 juin 2022]. Disponible sur: <https://penseeartificielle.fr/analyse-composantes-principales-face-malediction-dimensionnalite/>
200. Esfahani S, Wicaksono A, Mozdiak E, Arasaradnam RP, Covington JA. Non-invasive diagnosis of diabetes by volatile organic compounds in urine using faims and fox4000 electronic nose. *Biosensors (Basel).*2018;8(4):121.
201. IBM. Analyse ROC [Internet]. IBM. 2021 [cité 12 nov 2021]. Disponible sur: <https://prod.ibmdocs-production-dal-6099123ce774e592a519d7c33db8265e-0000.us-south.containers.appdomain.cloud/docs/fr/spss-statistics/26.0.0?topic=features-roc-analysis>
202. Simmonds G. Un nez électronique pour diagnostiquer l'épilepsie ? [Internet]. RTflash. 2018 [cité 13 juin 2022]. Disponible sur: <https://www.rtflash.fr/nez-electronique-pour-diagnostiquer-l-epilepsie/article>
203. Recherche et Formation - Centre Médical de La Teppe [Internet]. Institut La Teppe. 2022 [cité 13 juin 2022]. Disponible sur: <https://www.teppe.org/Recherche-Formation>
204. Wintjens AGWE, Hintzen KFH, Engelen SME, Lubbers T, Savelkoul PHM, Wesseling G, *et al.* Applying the electronic nose for pre-operative SARS-CoV-2 screening. *Surg Endosc.*2021;35(12):6671-8.
205. Saktiawati AMI, Putera DD, Setyawan A, Mahendradhata Y, van der Werf TS. Diagnosis of tuberculosis through breath test: A systematic review. *EBioMedicine.* 2019;46:202-14.
206. Suarez-Cuartin G, Giner J, Merino JL, Rodrigo-Troyano A, Feliu A, Perea L, *et al.* Identification of *Pseudomonas aeruginosa* and airway bacterial colonization by an electronic nose in bronchiectasis. *Respiratory Medicine.*2018;136:111-7.
207. Licht JC, Grasmann H. Potential of the Electronic Nose for the Detection of Respiratory Diseases with and without Infection. *International Journal of Molecular Sciences.*2020;21(24):9416.

208. Pavlou AK, Magan N, McNulty C, Jones JM, Sharp D, Brown J, *et al.* Use of an electronic nose system for diagnoses of urinary tract infections. *Biosens Bioelectron*.2002;17(10):893-9.
209. Dragonieri S, Schot R, Mertens BJA, Le Cessie S, Gauw SA, Spanevello A, *et al.* An electronic nose in the discrimination of patients with asthma and controls. *J Allergy Clin Immunol*.2007;120(4):856-62.
210. Arasaradnam RP, Ouaret N, Thomas MG, Quraishi N, Heatherington E, Nwokolo CU, *et al.* A novel tool for noninvasive diagnosis and tracking of patients with inflammatory bowel disease. *IBD*.2013;19(5):999-1003.
211. Wilson AD. Application of electronic-nose technologies and voc-biomarkers for the noninvasive early diagnosis of gastrointestinal diseases. *Sensors*.2018;18(8):2613.
212. Lefrançois E, Balgobin N, Carimalo J, Chaneac C. Évaluation du potentiel d'usage des nez électroniques dans le suivi des odeurs.*Record*.2020;9:1-144
213. Wongchoosuk C, Lutz M, Kerdcharoen T. Detection and classification of human body odor using an electronic nose. *Sensors*. 2009;9(9):7234-49.
214. Le Maout P. Analyse de l'air exhalé par des matrices de capteurs nanocomposites: le nez électronique pour l'aide au diagnostic. Application aux insuffisances rénales. 2020.160.[Thèse de doctorat de mathématiques et sciences et technologies de l'information et de la communication]:[Brest], Ecole Nationale Supérieures Mines-Telecom atlantique.
215. Rudnitskaya A. Calibration update and drift correction for electronic noses and tongues. *frontiers in chemistry*.*Front Chem*. 2018;6:433, doi: 10.3389/fchem.2018.00433
216. Nau J.Y. Quand les « nez (bio)électroniques » porteront les diagnostics. *Rev Med Suisse*. 2019;643:650-1



N° d'identification :

**TITRE**

SIGNATURE OLFACTIVE DE PATHOLOGIES : EDUCATION DE CHIENS  
D'ASSISTANCE ET AVENIR DES NEZ BIOELECTRONIQUES DANS LE  
DIAGNOSTIC MEDICAL

Thèse soutenue le 08/09/2022

Par Héloïse JARLAUD

**RESUME :**

Le dépistage de pathologies à un stade précoce est un enjeu de santé publique majeur, afin d'augmenter significativement les chances de guérison des patients. Par exemple, les chances de guérison d'un cancer du sein sont de 99% lorsqu'il est dépisté à un stade précoce, contre seulement 26% à un stade tardif. De plus, le suivi des patients atteints de pathologies chroniques est également un enjeu primordial afin d'améliorer la qualité de vie de ces derniers au quotidien. Les méthodes standards de diagnostic et de suivi des patients sont souvent contraignantes, invasives, douloureuses, fastidieuses, avec de longs délais d'obtention des résultats. Dans ce contexte, les recherches sur le développement de nouvelles méthodes de diagnostic et d'accompagnement des patients dans leurs maladies se sont multipliées ces dernières années. L'idée est d'exploiter les signatures olfactives des pathologies, dans le but de diagnostiquer ces dernières, en mettant au point des techniques de diagnostic fiables, sans les inconvénients des méthodes standards déjà existantes, et d'accompagner les patients dans leurs maladies en améliorant leur qualité de vie. En effet, de nombreuses pathologies telles que les cancers, le diabète, l'épilepsie, les pathologies infectieuses (COVID-19, pathologies bactériennes et parasitaires), l'asthme, les MICI par exemple, sont productrices de composés organiques volatils (COV). Ces pathologies possèdent alors une signature olfactive propre à chacune, avec une composition et une concentration en COV produits uniques. Ces COV se retrouvent dans l'air expiré ainsi que dans les différents fluides corporels des patients (salive, sueurs, urines, selles ou sang). Les scientifiques ont alors apporté la preuve que des chiens entraînés étaient capables, grâce à leur odorat, de détecter ces signatures olfactives avec une grande fiabilité. En effet, leur anatomie et leur physiologie unique, dont leurs 200 millions de neurones récepteurs olfactifs en moyenne, contre 5 millions pour l'être humain, leur confèrent cette aptitude exceptionnelle à détecter les COV à des concentrations très faibles de l'ordre du ppb voir du ppt. Il est ainsi possible de diagnostiquer de nombreuses pathologies à l'aide de chiens d'aide médicale mais aussi de les former en tant que chiens d'assistance afin d'améliorer la qualité de vie des patients atteints de pathologies chroniques comme le diabète et l'épilepsie. De plus, l'objectif à terme est de remplacer l'emploi des chiens pouvant être contraignant en milieu médical, par la technologie : les nez électroniques et bioélectroniques. Ce sont des dispositifs de détection de gaz, possédants un système d'échantillonnage et un réseau de capteurs couplés à un système de traitement des données. De nombreuses études ont déjà obtenu des résultats très prometteurs et l'intérêt envers ces nouvelles méthodes de dépistage est grandissant ces dernières années, leur laissant entrevoir un bel avenir dans le domaine médical.

**MOTS CLES :** SIGNATURE OLFACTIVE, PATHOLOGIES HUMAINES, COMPOSES ORGANIQUES VOLATILS, DIAGNOSTIC MEDICAL, CHIENS D'ASSISTANCE, CHIENS DE DETECTION MEDICALE, NEZ ELECTRONIQUES, NEZ BIOELECTRONIQUES

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
Mme Sandrine Capizzi, Maître de conférences	LCPME UMR 7564	Expérimentale <input type="checkbox"/> Bibliographique <input checked="" type="checkbox"/> Thème <input type="checkbox"/>

**Thèmes**

①- Sciences fondamentales  
3 - Médicament  
5 -- Biologie

2 - Hygiène/Environnement  
4 - Alimentation - Nutrition  
6 - Pratique professionnelle







FACULTE DE PHARMACIE

25 AOUT 2022

## DEMANDE D'IMPRIMATUR

ARRIVEE

Date de soutenance : 8 septembre 2022

<p align="center"><b>DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE</b></p> <p>présenté par : Héloïse Jarlaud</p> <p><u>Sujet</u> : Signature olfactive de pathologies : éducation de chiens d'assistance et avenir des nez bioélectroniques dans le diagnostic médical</p> <p><u>Jury</u> :</p> <p>Président : Mme Béatrice FAIVRE, Professeur des Universités      Directeur : Mme Sandrine CAPIZZI, Maître de conférences      Juges : M. Guillaume SAUTREY, Maître de conférences      M. Loïc VAUGIER, Pharmacien</p>	<p align="center">Vu, Nancy, le 11 juillet 2022</p> <p align="center">Le Président du Jury                      Directeur de Thèse</p> <p align="center"><i>M. Béatrice FAIVRE</i>                      <i>M. Sandrine CAPIZZI</i></p>  
<p align="center">Vu et approuvé, Nancy, le 15.07.2022</p> <p align="center">Doyen de la Faculté de Pharmacie de l'Université de Lorraine,</p>  <p align="center"><i>Pr. Raphaël DEVAL</i></p>	<p align="center">Vu, Nancy, le 17 AOUT 2022</p> <p align="center">La Présidente de l'Université de Lorraine,</p>  <p align="center"><i>Hélène BOULANGER</i></p> <p>N° d'enregistrement : <i>m° 125530</i></p>