

► Grâce à leurs capacités olfactives développées, des animaux sont capables de détecter des odeurs associées à certaines pathologies. Récemment, des nez électroniques, consistant en des réseaux de senseurs artificiels générant une signature caractéristique aux odorants présents, par exemple dans l'haleine, permettent à l'heure actuelle de diagnostiquer des pathologies variées, à des stades précoces, et de façon fiable et non invasive. Pour bénéficier de la capacité intrinsèque et naturellement optimisée du système olfactif animal à détecter et discriminer des traces d'odorants, des dispositifs hybrides bioélectroniques sont également en développement pour le diagnostic médical. Ces divers senseurs olfactifs sont en plein essor avec des résultats prometteurs. ◀

Dès 400 avant J-C, Hippocrate avait mis en évidence le fait que les maladies modifiaient les odeurs corporelles, constituant un élément pertinent pour leur diagnostic. Certaines pratiques médicales traditionnelles recherchent ainsi ces odeurs comme indices cliniques. Aujourd'hui, le diagnostic sensoriel olfactif a fait ses preuves dans la détection et l'identification de certaines pathologies : les modifications de certaines odeurs corporelles précèdent de plusieurs années, voire décennies, l'apparition de symptômes ou autres signes cliniques. Ce diagnostic présente en outre l'avantage d'être non-invasif, sans biopsie ni endoscopie, donc utilisable répétitivement sans effets néfastes.

Les animaux, premiers détecteurs de pathologies par l'odorat

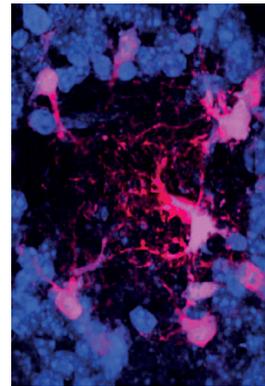
Des manifestations spontanées de chiens (*dognoseis*) confrontés à divers cancers (mélanome, cancer du sein, etc.) ont été rapportées dès 1989, mais de façon anecdotique et ponctuelle [1].

Vignette : réseau astrocytaire mis en évidence dans un glomérule olfactif (Photo © Inserm - Lisa Roux).

L'haleine et les capteurs d'odeurs

Nouveaux outils de diagnostic médical

Édith Pajot-Augy



NeuroBiologie de l'Olfaction, INRA, université Paris-Saclay, 78350 Jouy-en-Josas, France. edith.pajot@inra.fr

L'implication d'odeurs corporelles associées à ces pathologies a par la suite été mise en évidence dans l'haleine et dans des fluides biologiques de patients, selon les organes touchés par leurs cancers. En effet, la prolifération des cellules tumorales s'accompagne de modifications métaboliques qui entraînent une augmentation du taux de stress oxydatif, de la peroxydation lipidique, et une libération dans le sang de composés organiques volatils (COV) endogènes avant d'être éliminés par l'haleine, l'urine, la sueur, etc. Ces métabolites diffèrent selon la tumeur. Ils apparaissent dès les premiers stades de la maladie, alors que la lésion n'est encore que précancéreuse. Ils constituent ainsi des biomarqueurs précoces de la maladie. Le profil odorant (c'est-à-dire les quantités relatives des différents odorants) évolue selon le type et le stade du cancer [2]. Les COV constituent ainsi une signature olfactive pour diverses pathologies [3, 4] qui peut être validée par les animaux.

Des exemples d'applications possibles

Le projet Acadia¹ consiste à éduquer des chiens d'alerte à la détection de l'acétone dans l'haleine de patients diabétiques. En complément des protocoles thérapeutiques et du suivi médical des patients, cette détection constitue une prévention efficace contre les hypo/hyperglycémies et améliore la vie quotidienne des enfants diabétiques et de leurs familles. Le programme KDOG², supporté par l'Institut Curie de Paris pour le dépistage du cancer du sein, a abouti, en phase de concept en 2017 avec 2 bergers malinois flairant la sueur de 130 femmes, à une réussite de 100 %, un diagnostic supérieur à celui de la mammographie. Une étude clinique est en cours à plus grande échelle, et des essais d'application sont actuellement menés dans des pays à faible capa-

¹ <http://www.acadia-asso.org/>

² <https://kdog.curie.fr/>

cité d'accès aux soins. Facile et peu onéreux, ce dépistage pourrait également répondre aux besoins de personnes à mobilité réduite. Il permettrait, pour toutes les femmes, de réduire l'exposition aux radiations ionisantes lors des mammographies de dépistage [5].

Dans le monde, plusieurs équipes poursuivent des projets similaires de détection de cancers par des chiens entraînés [6]. Ainsi, la sensibilité de détection des odeurs dans l'haleine, pour le cancer du poumon ou celui du sein, a été rapportée être respectivement de 99 % et 88 %. Les spécificités respectives sont, elles, de 99 % et 98 % par rapport à des biopsies, quel que soit le stade de ces cancers. L'étude de Ehmann *et al.* [7], suivant un protocole strict, a confirmé que les chiens étaient capables d'identifier dans l'haleine des patients, un ensemble de COV (ou empreinte volatile) robuste et spécifique du cancer du poumon, indépendamment d'éléments pouvant perturber le diagnostic (BPCO [bronchopneumopathie chronique obstructive], tabac, nourriture, métabolites de médicaments, etc.)

Le programme APOPO³, développé dans des pays où la tuberculose a une prévalence élevée et est une cause majeure de décès, utilise quant à lui des rats de Gambie spécifiquement entraînés à déceler, dans des expectorations, les COV émis par le bacille de la tuberculose [8, 9] pour un criblage initial rapide, qui se révèle sensible (93 %) et reproductible (90 %).

Les résultats obtenus avec les animaux, même si certaines études présentent des défauts méthodologiques et reposent sur de faibles échantillons, confirment que les odeurs caractéristiques émises dans certaines pathologies peuvent aider à un diagnostic précoce, à une prise en charge rapide, un traitement plus efficace, et au suivi d'éventuelles rechutes. Cependant, les animaux nécessitent d'être formés spécifiquement, ce qui demande parfois plusieurs mois pour les chiens. Ils doivent également s'entraîner régulièrement, et leurs performances être évaluées. L'ennui, la fatigue, la faim et les distractions externes peuvent diminuer ces performances [10]. De plus, la présence des animaux en centres de soins n'est pas conventionnelle et elle peut être jugée inadaptée.

Mieux que les animaux, les nez électroniques

Le développement de dispositifs artificiels (nez électroniques ou dispositifs hybrides bioélectroniques) afin de détecter certaines odeurs ciblées [11] constitue une réponse aux difficultés posées par l'utilisation des animaux. Ces systèmes peuvent être miniaturisés, portables et connectés, et peuvent donc être utilisés dans un objectif de télémédecine.

Les nez électroniques (ou *e-nose*) sont constitués de réseaux miniaturisés de capteurs chimiques à large spectre, avec des surfaces sensibles très variées (des polymères conducteurs, des polymères à empreinte moléculaire, des semiconducteurs à oxydes métalliques [MOS, *metal oxide semiconductor*], des nanotubes de carbone, des monocouches auto-assemblées fonctionnalisées, etc.), dont certaines propriétés sont modifiées en présence de COV. Elles sont couplées à un transducteur (électrochimique, optique, électrique, gravimétrique,

etc.) qui génère, après traitement du signal, une signature, ou empreinte, caractéristique de l'environnement odorant [12]. Cette signature sera analysée et comparée à une base de données obtenue lors d'une phase d'apprentissage.

Depuis plus de 10 ans, de nombreuses études sont menées afin d'aboutir au développement et à la commercialisation de nez électroniques dans le domaine de la détection de pathologies, en particulier par analyse de l'haleine [3]. Plusieurs équipes cherchent également à identifier les COV liés aux pathologies et aux altérations des voies métaboliques, et donc, le mécanisme reliant une observation physiopathologique à un biomarqueur exhalé prédictif spécifique [13]. La présence de ces COV à l'état de traces (10^{-9} M à 10^{-12} M) dans les échantillons provenant des patients nécessite des sensibilités que des nez électroniques peuvent atteindre.

Cependant, une limite posée par l'analyse d'haleine est le manque de répétabilité dû à l'absence de standardisation des conditions de collecte (volume, débit, réduction des contaminations potentielles), d'échantillonnage, ou de stockage et d'analyse [14-16]. L'humidité relative de l'air limite également la sensibilité, la fiabilité et la reproductibilité des capteurs en phase gazeuse, même si son effet peut être en partie compensé [17]. Certains facteurs confondants potentiels (le tabac et, dans une moindre mesure, le genre, l'âge, l'indice de masse corporelle [18] ou encore des traitements perturbant le microbiote intestinal) peuvent également modifier le profil de COV et ainsi affecter l'exactitude d'un diagnostic.

Nez électroniques et détection de pathologies par analyse d'haleine

La tuberculose

Des nez électroniques dont l'architecture est fondée sur des senseurs à oxydes métalliques (Aeonose[®]), qui sont portatifs et utilisables en postes de soins dans des zones reculées et qui ne nécessitent pas d'appareillage de collecte (ballon recueillant l'air expiré), constituent une technique peu coûteuse et facile à utiliser pour un diagnostic à partir de l'air expiré par le patient. Avec une sensibilité et une spécificité du diagnostic de respectivement 88 % et 92 % par rapport aux résultats confirmés par rétro-culture, ces dispositifs permettent de différencier efficacement, avec un test sensible et rapide, les personnes en bonne santé de celles atteintes de tuberculose, sans nécessité de prélèvements sanguins [19]. Il est à noter que ces dispositifs sont réutilisables après désorption des COV des senseurs entre les mesures par le passage d'air propre filtré sur carbone jusqu'à stabilisation.

³ <https://www.apopo.org/en/>

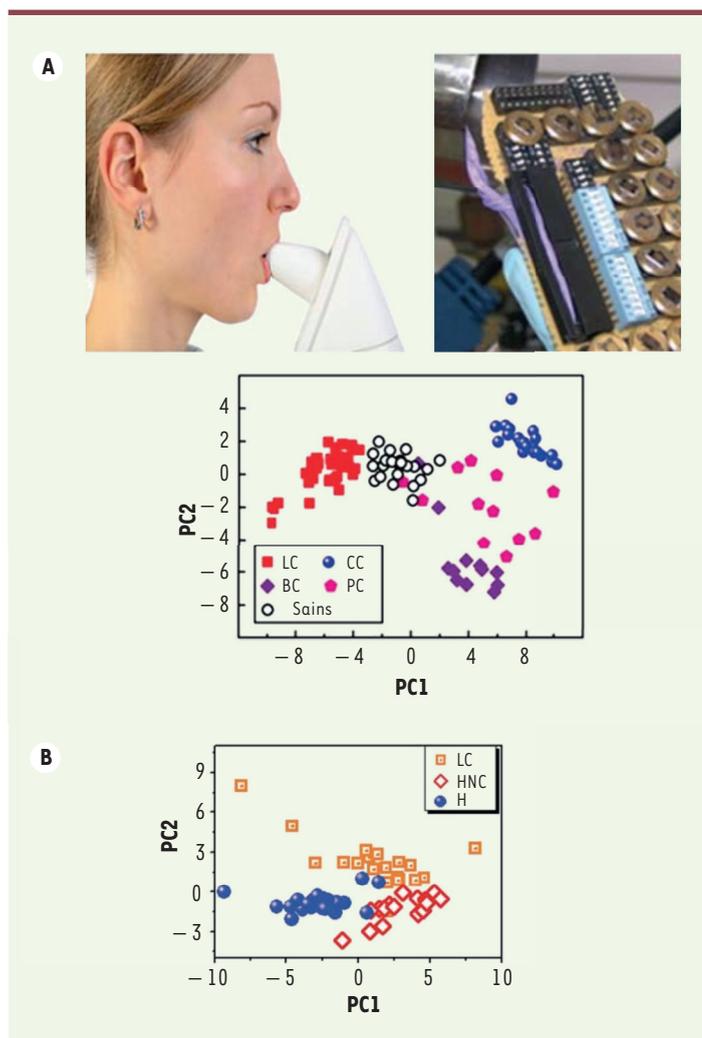


Figure 1. Prototype d'un appareil de recueil de l'air expiré : réseau de senseurs pour le diagnostic des échantillons d'haleine. **A.** Un réseau de quatorze senseurs différencie par l'haleine des individus sains de patients atteints de l'un des quatre cancers primaires les plus fréquents. **B.** Un réseau de seulement cinq senseurs parvient à détecter et différencier les patients avec des cancers de la tête et du cou (HNC, head and neck cancer), du poumon (LC, lung cancer), des individus sains (H, healthy) (analyse en composantes principales PC1 et PC2 des réponses de réseaux de capteurs) (d'après [20]).

Les cancers

De nombreuses études utilisant des nez électroniques pour l'analyse des COV dans l'haleine ont fourni des résultats prometteurs dans la détection différentielle de plusieurs cancers. Des performances très intéressantes sont atteintes en termes de sensibilité et de spécificité, et permettent des suivis de réponse à des thérapies.

Le *Na-Nose* (nanoscale artificial nose) est constitué d'un réseau de nanosenseurs développé par l'institut Technion (en Israël), à partir de nanoparticules d'or fonctionnalisées par des monocouches de thiols. Un réseau de 14 senseurs (Figure 1A) est en effet capable de différencier, par l'analyse de leur haleine, des individus sains et des patients

atteints de l'un des quatre cancers primaires les plus fréquents (poumon, sein, côlon, prostate). Un autre réseau constitué de seulement 5 senseurs (Figure 1B) parvient, lui, à détecter et différencier les patients présentant des cancers de la tête et du cou ou du poumon d'individus sains [20].

Le *SniffPhone* combine *Na-Nose* et *smartphone*. Il détecte un cancer aux stades précoces (I et II) et affiche directement un diagnostic à l'écran⁴. Une commercialisation est envisagée pour la détection du cancer de l'estomac, souvent tardivement diagnostiqué. Elle pourrait être étendue à d'autres cancers. Si le suivi des COV comme biomarqueurs pulmonaires reflétant le métabolisme du microenvironnement des cellules cancéreuses permet un diagnostic clinique précoce du cancer du poumon, de nombreux COV sont impliqués et les voies biochimiques responsables de leur production sont encore mal connues [21]. En analysant par chromatographie en phase gazeuse, GC-MS (*gas chromatography-mass spectrometry*) ou GC-SAW (*gas chromatography-surface acoustic wave*), l'haleine de femmes ayant ou non un cancer du sein, des biomarqueurs prédictifs pour le risque de ce cancer ont été précisément identifiés [22]. Des mesures en GC-SAW effectuées sur des prélèvements en ballons ultra-propres peuvent identifier en postes de soins et en six minutes, avec une précision de 79 %, des femmes ayant un cancer du sein [23].

Les pathologies neurodégénératives

En ce qui concerne les pathologies neurodégénératives, des résultats préliminaires d'analyse d'haleine, obtenus avec divers nanosenseurs, suggèrent également des applications potentielles qui permettraient des diagnostics précoces, rapides et peu coûteux.

Dès 2012, une méthode fondée sur des tests d'haleine, utilisant un réseau de capteurs à base de nanotubes de carbone et de nanoparticules d'or fonctionnalisées, a été rapportée afin d'identifier les patients atteints de la maladie d'Alzheimer (MA) ou de la maladie de Parkinson (MP). Les résultats se sont avérés significativement différents entre les groupes de patients MA et MP et les contrôles sains [24]. L'analyse par GC-MS montre qu'effectivement l'abondance moyenne de plusieurs COV varie clairement entre les 3 groupes d'individus. Ces différences dans l'haleine peuvent provenir de modifications sanguines, par échange au niveau des poumons (Figure 2A).

Un *e-nose* commercial (le *Cyranose 320* de *Smiths Detection Group Ltd*, Watford, Grande-Bretagne) utilisant différents capteurs nanocomposites, nanotubes

⁴ Projet européen H2020 : <https://www.sniffphone.eu/>

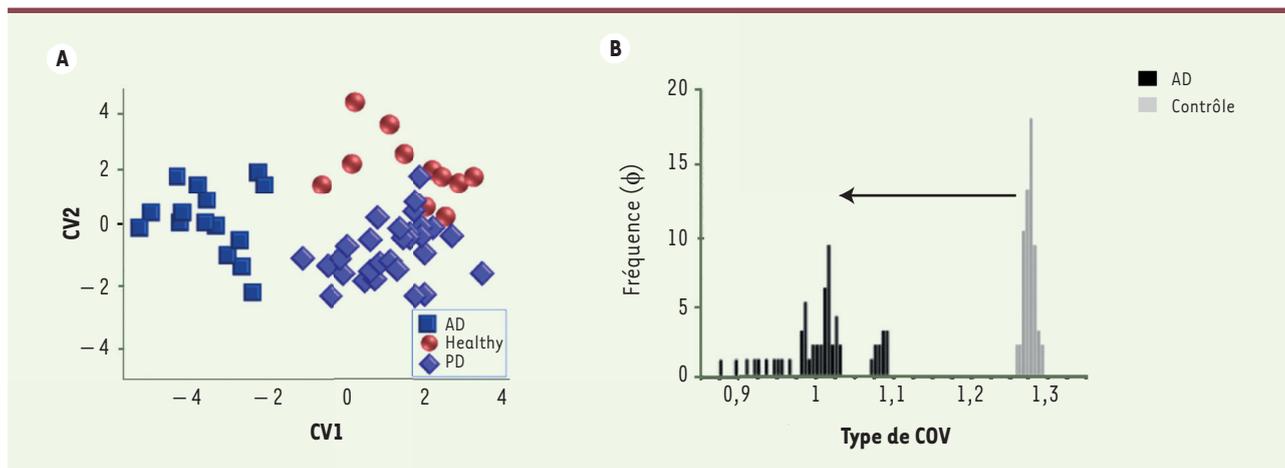


Figure 2. Analyse de l'haleine de malades ayant une maladie d'Alzheimer ou souffrant d'une maladie de Parkinson ou de contrôles sains. **A.** Par analyse discriminante des haleines, les 3 groupes (malades d'Alzheimer [AD] ou de Parkinson [PD] ou contrôles sains [Healthy]) sont bien distincts (d'après [24]). **B.** Profil de la distribution des fréquences des COV (Φ) dans l'air expiré par des individus sains (contrôle) et des patients ayant une maladie d'Alzheimer (AD). La diminution de la quantité moyenne des COV, ainsi que la modification de la distribution de leurs fréquences, témoignent d'une altération du métabolisme du cerveau (d'après [26]).

de carbone modifiés chimiquement et nanoparticules métalliques, parvient à différencier, à partir d'échantillons d'air expiré et de façon significative, des patients déjà diagnostiqués pour la MA ou la MP de contrôles sains. Des marqueurs permettant de discriminer les contrôles sains des patients présentant une MA ou une MP, avec une précision de 94 %, ont également été identifiés par spectrométrie de mobilité ionique⁵ [25].

Une étude comparative a été menée sur l'haleine de volontaires sains ou de patients atteints de MA en utilisant un autre système (le iAQ-2000 d'AppliedSensor, Warren, NJ, États-Unis) équipé de capteurs MOS (*metal oxide semi-conductor*) : la quantité moyenne de COV détectée diminue dans l'haleine des patients atteints de MA, et la distribution des fréquences des COV est modifiée (Figure 2B), témoignant d'une altération du métabolisme du cerveau, due à la mort neuronale. Ce profil peut évoluer d'un profil « sain » à un profil « pathologique » suivant les stades de la maladie. Il fournit ainsi un outil de dépistage efficace, plusieurs années avant le diagnostic de la maladie par ses manifestations typiques [26]. Ce diagnostic précoce permettrait la mise en place d'un plan de soins, d'une prise en charge médico-sociale et d'un accompagnement psychologique, ce qui pourrait retarder l'apparition de certains symptômes associés à la maladie.

Chez des patients diagnostiqués pour une sclérose en plaques, maladie neurologique chronique la plus fréquente chez les jeunes adultes, des biomarqueurs volatils (produits de décomposition issus de la peroxydation lipidique, dioxyde de soufre) ont été mis en évidence par GC-MS dans l'air expiré. En parallèle, la réponse à ces échantillons d'haleine d'un réseau de nanocapteurs fondés sur des nanoparticules d'or ou des

nanotubes de carbone fonctionnalisés, a été analysée par des réseaux neuronaux artificiels. Cette technique pourrait, à un coût abordable, remplacer l'IRM (imagerie par résonance magnétique) et l'examen des liquides céphalo-rachidiens pour le diagnostic et le suivi des différents stades de la maladie (maladie traitée, en rémission, contrôlée, ou en rechute) [27].

Autres pathologies

Chez les personnes atteintes de mucoviscidose, la sécrétion d'un mucus hypervisqueux dans les poumons fournit un environnement riche qui est favorable à la prolifération de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*. Celle-ci s'accompagne de la libération de 2-aminoacétophénone, un COV détectable dans l'haleine par GC-MS. Cette odeur se révèle donc être un biomarqueur spécifique de cette infection bactérienne altérant la fonction pulmonaire et le pronostic vital des patients [28]. Une technologie électrochimique permettant la mesure de ce biomarqueur dans l'air expiré par les patients pourrait donc être développée pour constituer un outil de diagnostic rapide et aisé en poste de soins [29].

L'otorhinolaryngologie peut aussi bénéficier de diagnostics rapides et non-invasifs par l'analyse, par des nez électroniques portables utilisant la technologie GC-SAW, de l'air expiré par des patients atteints de sinusites ou d'otites. Des profils spécifiques de COV sont en effet identifiés pour différentes pathologies : sinusites bactériennes, rhinosinusites chroniques ou infections fongiques.

⁵ La spectrométrie de mobilité ionique (*ion mobility spectrometry*, IMS) est une technique d'analyse chimique en phase gazeuse. Elle consiste à soumettre des molécules ionisées à un champ électrique dans un courant de gaz.

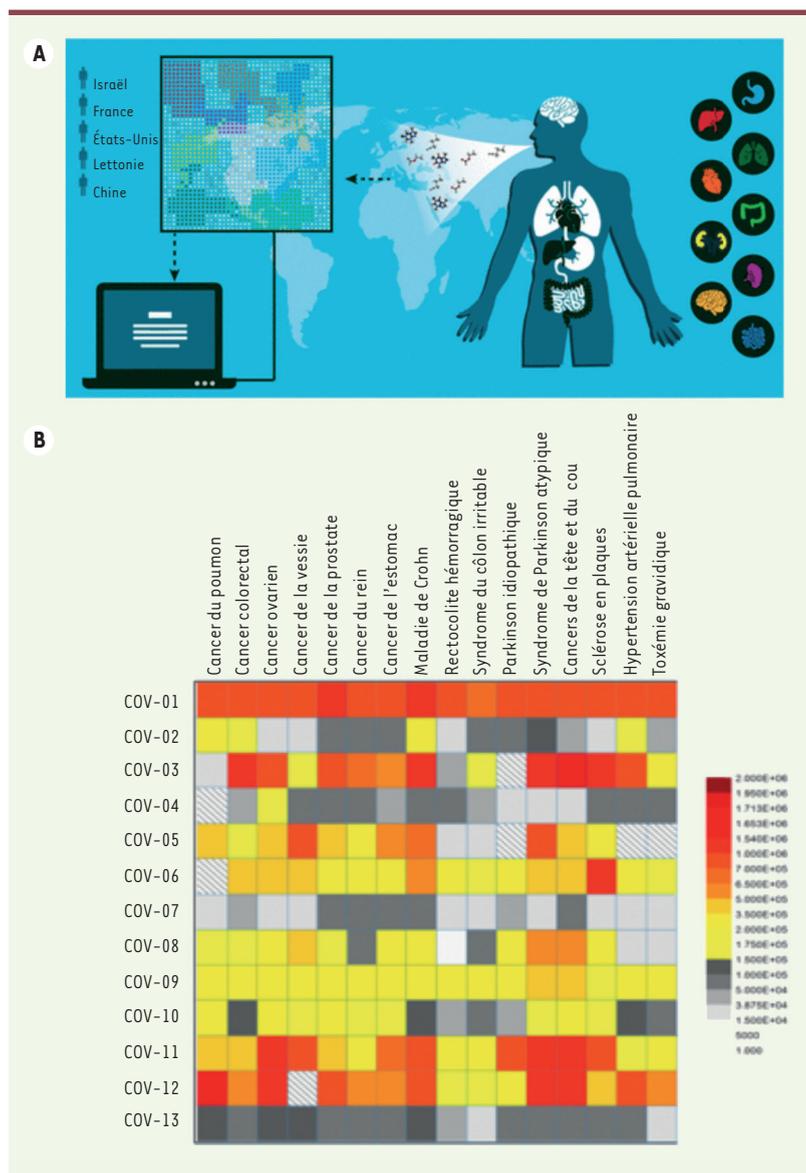


Figure 3. Étude mondiale sur les performances d'un nanoréseau pour analyse de l'haleine.

A. Représentation schématique du concept de l'étude, qui a impliqué le recueil de l'haleine de plus de 1 400 personnes atteintes ou non de 17 maladies différentes. **B.** Représentation statistique de l'analyse par GC-MS de l'haleine des patients. Il est presque impossible de différencier les maladies avec un seul COV (lignes dans la représentation graphique). Cependant, l'ensemble des COV trouvés pour une pathologie (colonnes dans la représentation graphique) est assez discriminant. Chaque pathologie a sa propre empreinte olfactive, qu'une combinaison de 13 COV sélectionnés suffit à caractériser (d'après [30]).

Diagnostiques combinés sur une gamme de pathologies

L'ensemble des dispositifs que nous avons présentés s'intéresse à la détection d'un seul type de pathologie. Un autre concept repose sur la possibilité d'utiliser un même nez électronique pour la détection et la classification de plusieurs maladies. Nakhleh *et al.* [30] ont ainsi conduit une large étude clinique impliquant les échantillons d'haleine de 600 individus sains et de 800 patients diagnostiqués

pour une pathologie parmi 17 (cancéreuses, inflammatoires, neurologiques), collectés dans 14 services hospitaliers de différents pays (Israël, France, États-Unis, Lettonie, Chine). La technologie employée reposait sur un nanoréseau artificiel intelligent fondé sur un réseau de nanotubes de carbone et sur des nanoparticules d'or fonctionnalisés. Ce dispositif a permis d'identifier un profil particulier d'haleine pour chaque maladie, avec une précision de 86 % pour leur détection et leur discrimination (Figure 3), sans effet significatif de facteurs potentiellement confondants (sexe, âge, habitudes tabagiques et localisation). Le diagnostic et la classification ainsi obtenus ont été validés par GC-MS, révélant une combinaison de 13 COV exhalés suffisante pour prédire et discriminer ces maladies. Des similitudes dans les processus physiopathologiques mis en jeu dans ces pathologies, se retrouvent dans les profils d'haleine (cancer du poumon et hypertension artérielle pulmonaire, ou cancer colorectal et maladie de Crohn).

À l'instar du *SniffPhone* pour la détection des cancers, un dispositif composé de micro-capteurs gaz, connectés à un smartphone, pourrait associer des profils d'haleines recueillies à de l'intelligence artificielle, dans le *cloud* (nuage informatique), pour la surveillance non invasive de l'état de santé des patients. La commercialisation du *Rubix Wear* était ainsi annoncée par la société *Rubix Senses & Instrumentation* (à Toulouse) pour la fin 2018⁶.

Les nez bioélectroniques, la science-fiction à portée de nez

Principe des nez bioélectroniques, ou nez électroniques bio-inspirés

Puisque les animaux sont si efficaces pour la détection des odeurs, pourquoi ne pas utiliser les capacités intrinsèques de leur système olfactif pour développer des dispositifs hybrides *bio-inspirés* ? Le remplacement des surfaces sensibles des nez électroniques par des protéines olfactives, en particulier des récepteurs olfactifs (RO), dont la fonction intrinsèque est de discriminer et de lier des COV

⁶ <https://www.lemondenumerique.com/ces-2018-le-premier-nez-electronique-connecte-pour-nous-aider-a-mieux-vivre/>

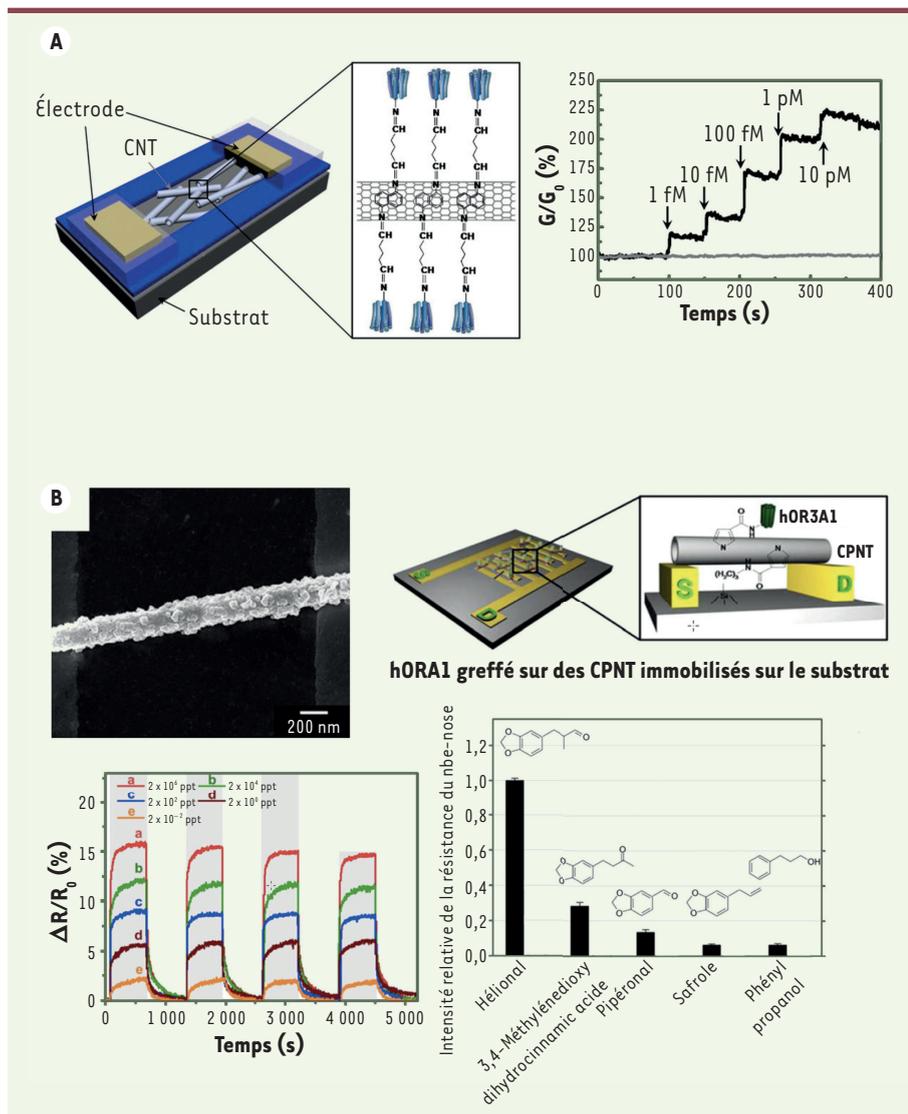


Figure 4. A. Schéma de la structure. Capteur à effet de champ (FET, field effect transistor) fondé sur des RO couplés à des nanotubes de carbone (CNT). Les RO ont été exprimés dans la bactérie *Escherichia coli*. La limite de détection du signal odorant mesuré en phase liquide est de 10^{-15} M (1 fM). L'augmentation des concentrations en composés odorants (injections successives indiquées par des flèches dans le temps) induit une augmentation du signal (G/G_0) (d'après [37]). **B. Nez bioélectronique (nbe-nose).** Dans ce dispositif, le FET est constitué de microélectrodes interdigitées sur lesquelles sont accrochés des nanotubes de polymère conducteur (CPNT) greffés avec des RO (image en microscopie à balayage). La réponse électrique du dispositif exposé à différentes concentrations d'héliional en phase gazeuse (rouge : 2×10^6 ppt, vert : 2×10^4 ppt, bleu : 2×10^2 ppt, violet : 2×10^0 ppt, orange : 2×10^{-2} ppt), odorant spécifique du RO utilisé (hOR3A1), montre une limite de détection du signal de 0,02 ppt. La réponse relative du nbe-nose à des odorants de structure similaire, normalisée à celle de l'héliional, montre une forte spécificité à cet odorant (d'après [38]).

à très faible concentration, n'a été envisagé qu'après la description relativement récente de la superfamille des RO par Richard Axel et Linda Buck⁷.

Un codage combinatoire, entre RO et odorants, permet en effet de sentir des dizaines à des centaines de milliers d'odorants, un odorant pouvant stimuler divers RO et un RO pouvant être activé par des odorants variés [41] (→).

Contrairement aux nez électroniques, la connaissance préalable du ou des COV biomarqueurs d'une pathologie est nécessaire pour concevoir ces nez bioélectroniques. Il s'agit donc ensuite d'identifier les récepteurs les plus pertinents pour détecter ces odorants marqueurs d'une maladie. Cela peut être réalisé en interrogeant des bases de données listant les odorants et les RO qu'ils activent, ou avec lesquels ils sont susceptibles d'interagir du fait de leur structure tridimensionnelle [31].

(→) Voir la Nouvelle de A. Mouret et P.M. Lledo, m/s n° 3, mars 2007, page 252

Des méthodes expérimentales d'imagerie calcique et de biologie moléculaire, à partir d'épithélium olfactif de rat, peuvent également être utilisées pour identifier les RO activés par un odorant. La modélisation de la structure tridimensionnelle des RO permet en outre d'identifier des mutations qui sont susceptibles d'optimiser l'affinité de ces récepteurs pour les odorants afin de modifier un RO « à façon » [32].

Différentes stratégies de production de récepteurs olfactifs

Lorsque les récepteurs RO ont été identifiés, il est nécessaire de les produire dans des conditions qui préservent leur fonctionnalité avant d'être greffés sur des transducteurs afin de suivre leur réponse à un signal odorant. La purification de RO à partir de muqueuse olfactive d'animaux n'est pas envisageable. L'une des

⁷ Prix Nobel de physiologie ou médecine en 2004.

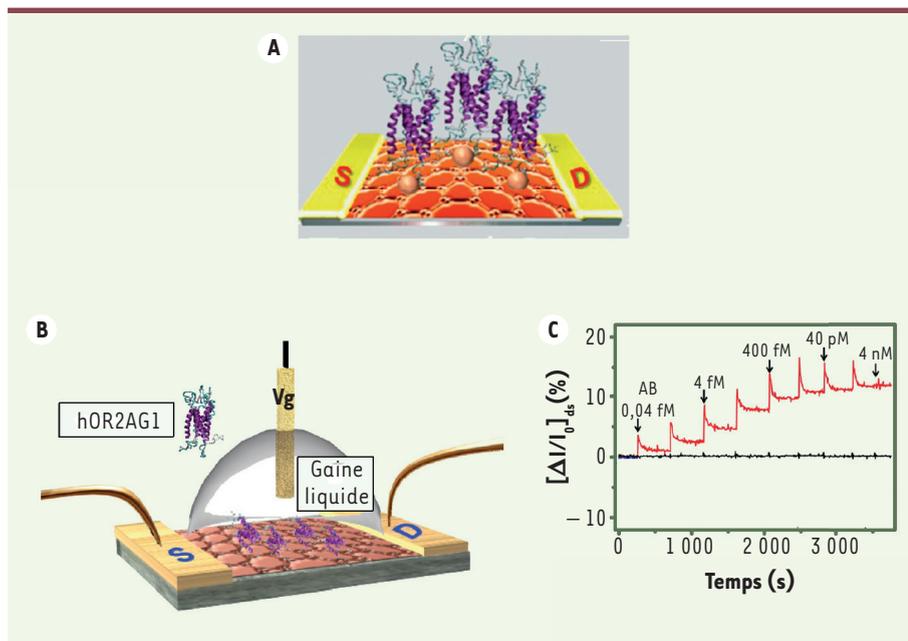


Figure 5. B-nose (bioelectronic nose).

A. Une bicouche de graphène (figurée en rouge sur le schéma) est transférée sur un film de substrat flexible, puis fonctionnalisée avec un RO (hOR2AG1), connu pour lier spécifiquement l'amyli butyrate (AB). **B.** Schéma de principe du B-nose fondé sur le FET (*field effect transistor*) résultant. **C.** Réponse en temps réel du dispositif en fonction de la concentration du ligand AB (en rouge). Le contrôle (en noir) correspond au dispositif sans RO. Le dispositif montre une réponse dose-dépendante à l'odorant, avec une limite de détection de $0,04 \cdot 10^{-15}$ M (d'après [40]).

raisons en est la dispersion des neurones sensoriels olfactifs qui expriment un même type de RO. L'autre raison est éthique. La production des RO représente donc toujours l'un des obstacles à franchir pour la fabrication de ces détecteurs *bio-inspirés*. Elle peut être réalisée dans des systèmes cellulaires qui constituent des « usines de production » (cellules de mammifères, d'insectes, bactéries, ou levures, etc.) [33], mais les conditions pratiques doivent être optimisées pour chaque récepteur olfactif. Les RO sont des protéines très hydrophobes. Ils nécessitent un environnement de lipides ou de détergents spécifiques afin que leur structure et leur fonction soient préservées. Ces récepteurs seront greffés sur des dispositifs permettant de détecter leur liaison à l'odorant [33, 34], que ce soit en milieu liquide ou en phase gazeuse, et dans ce cas utilisables avec l'haleine. Le traitement des données provenant d'un réseau de senseurs bioélectroniques sera ensuite similaire à celui d'un nez électronique.

Biocapteurs construits à partir de récepteurs olfactifs produits dans les levures ou en système acellulaire

Une stratégie consiste à produire les RO dans des levures qui seront désintégrées par ultrasons afin d'obtenir des liposomes nanométriques portant les récepteurs à leur surface. Ces liposomes seront greffés sur des électrodes d'or. La liaison de l'odorant sur le RO entraînera son changement de conformation qui sera détecté par des mesures électrochimiques. Ce dispositif discrimine un odorant ligand du RO (capable de se lier spécifiquement, avec une sensibilité de 10^{-10} M) d'un odorant sans rapport [35]. La durée de vie de ce type de senseur atteint 2 jours lorsqu'utilisé à 4 °C, une température qui améliore la préservation du récepteur et de son activité. Les RO peuvent être également conservés à -80°C, sans perte d'activité pendant plus d'un an. Les RO peuvent aussi être solubilisés, ou synthétisés en système acellulaire, ce qui favorise le repliement des protéines. Ils sont ensuite purifiés et greffés sur des micro-leviers en diamant qui permettent

de transduire le signal de liaison : quand un odorant se lie spécifiquement au récepteur, la fréquence de résonance des micro-leviers activés par un piézotransducteur augmente fortement ; actuellement, la détection d'odorant est de l'ordre de 10^{-6} M [36].

Biocapteurs construits à partir de récepteurs olfactifs produits en cellules de mammifères ou en bactéries

Certains dispositifs bioélectroniques hybrides sont conçus par greffage de nanovésicules détachées de cellules de mammifères exprimant un RO, ou des RO purifiés, sur des nanotubes de carbone ou des nanotubes de polymère conducteur, portés par des transistors à effet de champ. La liaison d'odorants sur les RO provoque dans ce cas un changement de conductance du dispositif avec des sensibilités rapportées allant jusqu'à 10^{-15} M [37] (Figure 4A). Une très bonne sélectivité entre odorants de la même famille chimique peut ainsi être atteinte, des odorants qui ne sont pas des ligands du RO considéré n'étant pas décelés, même à des concentrations 10^5 fois supérieures à celle de l'odorant ligand. Parmi ces dispositifs, le *nbe-nose* (*nanobioelectronic nose*), constitué de RO greffés sur des nanotubes de polymère conducteur (Figure 4B) s'utilise en phase gazeuse, avec une sensibilité remarquable de 0,02 ppt⁸ et une spécificité comparable avec celle du nez humain. Il serait ainsi utilisable pour des diagnostics réalisés à partir de l'haleine. Cependant, des mesures successives effectuées après rinçage à

⁸ Part per trillion (en français, partie par billion) : 1 ppt = 1 ng/kg soit 1ng/L environ.

GLOSSAIRE

Sélectivité : interaction préférentielle avec une cible particulière. Un récepteur olfactif présente une affinité plus ou moins grande selon l'odorant. Son interaction préférentielle avec un odorant plutôt qu'un autre témoigne de sa sélectivité.

Spécificité : la spécificité d'un test diagnostique indique sa capacité à identifier uniquement les personnes atteintes d'une pathologie donnée, sans classer de façon erronée des personnes saines (ou atteintes d'autres pathologies).

Sensibilité : niveau minimum de signal détectable par un dispositif. La sensibilité indique la limite de détection (LOD), c'est-à-dire la plus basse concentration produisant un signal détectable.

ACP : analyse en composantes principales. C'est une méthode d'analyse de données permettant de réduire les variables à observer, et d'optimiser la représentation des différences et similarités d'un ensemble de données selon des nouvelles variables, nommées « composantes principales ».

GC-MS : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

GC-SAW : chromatographie en phase gazeuse couplée à la détection des ondes acoustiques de surface.

l'azote gazeux montrent une légère détérioration de la performance [38]. La stabilité de ce *nbe-nose* a été évaluée pendant 10 semaines, en le conservant dans de l'air sec à 25 °C : sa sensibilité a diminué d'environ 40 % en raison de l'inactivation du récepteur ou à la destruction de la matrice de nanotubes.

Enfin d'autres transistors à effet de champ sont conçus à base de films flexibles de graphène conjugué à des RO [39, 40] (Figure 5). Ces dispositifs peuvent détecter un odorant de façon hautement sélective et ultrasensible en phase liquide (respectivement $0,1 \cdot 10^{-15}$ M et $0,04 \cdot 10^{-15}$ M). Leurs flexibilité et résistance mécanique à la flexion sont excellentes. Une faible diminution de leur sensibilité, due à la dégradation des RO, est observée au cours d'un stockage à sec et à température ambiante pendant 10 semaines.

Le développement de nez bioélectroniques, dispositifs hybrides associant à la technologie des nez électroniques les propriétés intrinsèques de sensibilité, spécificité, et reproductibilité conférées par les RO, constitue sans nul doute une voie de progrès pour le diagnostic médical par analyse de l'haleine, au-delà des utilisations des nez électroniques déjà validées. Toutefois, un inventaire approfondi des combinaisons RO-odorant utilisables, la stabilité des RO, la reproductibilité, la rapidité de réponse et le coût restent encore des questions à résoudre par des équipes multidisciplinaires avant une mise sur le marché de ces biosenseurs électroniques hybrides [34].

Conclusion

Si les compétences des animaux sont encore utilisées, différents types de nez électroniques ont désormais fait leur preuve pour détecter des maladies de nature très différentes à partir de l'haleine,

bien plus précocement que d'autres examens, qui peuvent nécessiter une instrumentation lourde. Ces développements sont porteurs de progrès tout à fait appréciables dans le domaine de la santé publique. Si certains sont déjà opérationnels, d'autres, tels que les nez bioélectroniques utilisant comme éléments sensibles des récepteurs olfactifs, requièrent encore des efforts conséquents de recherche afin de transformer des dispositifs expérimentaux en phase gazeuse en des tests sur l'haleine pour des applications médicales rapides et fiables.

La possibilité de dissocier la collecte des composants biologiques (appareillage à usage unique dans la mallette du médecin ou en poste de soins) du traitement des données (composants électroniques pour l'analyse du résultat et le diagnostic) constitue une fonctionnalité qui devrait renforcer l'intérêt médical pour les nez bioélectroniques. Toutefois, des avancées dans le domaine de l'instrumentation sont encore nécessaires pour arriver au chevet du patient, et l'innovation technologique devra permettre dans l'avenir de réduire les coûts pour une utilisation à plus grande échelle. ♦

SUMMARY

Medical diagnosis by breath analysis: odor sensors

An odor sensor is a device for detecting target odors within a mixture, used in many fields including medical diagnosis. Electronic noses are networks of olfactory sensors, consisting of a surface whose properties are modified in the presence of odors, coupled with a measurement system. Their olfactory signature is analyzed in comparison with databases. Such portable devices can monitor body odors, e.g. in the breath, so as to reliably diagnose various pathologies at an early stage and non-invasively. It is tempting to use the naturally optimized molecular recognition of odorants and intrinsic sensitivity of the animal olfactory system to detect and discriminate minute amounts of odorants. New bioelectronic hybrid devices or "bioelectronic noses" can be designed by replacing the artificial sensory elements of e-noses by proteins naturally binding odorants, particularly olfactory receptors. As in the animal olfactory system, the detection and discrimination of odorants require a network of olfactory receptors. Prototypes of such miniaturized bioelectronic noses yield promising results. ♦

LIENS D'INTÉRÊT

L'auteure déclare n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.



RÉFÉRENCES

- Williams H, Pembroke A. Sniffer dogs in the melanoma clinic ? *Lancet* 1989 ; 1 : 734.
- Pomerantz A, Blachman-Braun R, Galnares-Olalde JA, et al. The possibility of inventing new technologies in the detection of cancer by applying elements of the canine olfactory apparatus. *Med Hypotheses* 2015 ; 85 : 160-72.
- Wilson AD. Advances in electronic-nose technologies for the detection of volatile biomarker metabolites in the human breath. *Metabolites* 2015 ; 5 : 140-63.
- Das S, Pal S, Mitra M. Significance of exhaled breath test in clinical diagnosis: a special focus on the detection of diabetes mellitus. *J Med Biol Eng* 2016 ; 36 : 605-24.
- Pauwels EKJ, Foray N, Bourguignon MH. Breast cancer induced by X-Ray mammography screening? A review based on recent understanding of low-dose radiobiology. *Med Princ Pract* 2016 ; 25 : 101-9.
- Pirrone F, Albertini M. Olfactory detection of cancer by trained sniffer dogs: a systematic review of the literature. *J Vet Behav Clinical Applications and Research* 2017 ; 19 : 105-17.
- Ehmann R, Boedecker E, Friedrich U, et al. Canine scent detection in the diagnosis of lung cancer: revisiting a puzzling phenomenon. *Eur Respir J* 2012 ; 39 : 669-76.
- Mgode GF, Cox CL, Mwimanzi S, et al. Pediatric tuberculosis detection using trained African giant pouched rats. *Pediatr Res* 2018 ; 84 : 99-103.
- Poling A, Valverde E, Beyene Negussie P, et al. Active tuberculosis detection by pouched rats in 2014: More than 2,000 new patients found in two countries. *JABA* 2017 ; 50 : 165-9.
- Hackner K, Errhalt P, Mueller MR, et al. Canine scent detection for the diagnosis of lung cancer in a screening-like situation. *J Breath Res* 2016 ; 10 : 046003.
- Bijland LR, Bomers MK, Smulders YM. Smelling the diagnosis: a review on the use of scent in diagnosing disease. *Neth J Med* 2013 ; 71 : 300-7.
- Wilson A, Baietto M. Applications and advances in electronic-nose technologies. *Sensors* 2009 ; 9 : 5099.
- Mansurova M, Ebert BE, Blank LM, et al. A breath of information: the volatilome. *Curr Genet* 2018 ; 64 : 959-64.
- Davis MD, Fowler SJ, Montpetit AJ. Exhaled breath testing. A tool for the clinician and researcher. *Paediatr Res Rev* 2018 ; doi: 10.1016/j.prrv.2018.05.002.
- Doran S, Romano A, Hanna G. Optimisation of sampling parameters for standardised exhaled breath sampling. *J Breath Res* 2018 ; 12 : 01600.
- Lawal O, Ahmed WM, Nijssen TME, et al. Exhaled breath analysis: a review of breath-taking methods for off-line analysis. *Metabolomics* 2017 ; 13 : 110.
- Konvalina G, Haick H. Effect of humidity on nanoparticle-based chemiresistors: a comparison between synthetic and real-world samples. *ACS Appl Mater Interfaces* 2012 ; 4 : 317-25.
- Blanchet L, Smolinska A, Baranska A, et al. Factors that influence the volatile organic compound content in human breath. *J Breath Res* 2017 ; 11 : 016013.
- Coronel Teixeira R, Rodríguez M, Jiménez de Romero N, et al. The potential of a portable, point-of-care electronic nose to diagnose tuberculosis. *J Infect* 2017 ; 75 : 441-7.
- Tisch U, Haick H. Arrays of chemisensitive monolayer-capped metallic nanoparticles for diagnostic breath testing. *Rev Chem Eng* 2010 ; 26 : 171-9.
- Zhou J, Huang ZA, Kumar U, et al. Review of recent developments in determining volatile organic compounds in exhaled breath as biomarkers for lung cancer diagnosis. *Anal Chim Acta* 2017 ; 996 : 1-9.
- Phillips M, Cataneo RN, Cruz-Ramos JA, et al. Prediction of breast cancer risk with volatile biomarkers in breath. *Breast Cancer Res Treat* 2018 ; 170 : 343-50.
- Phillips M, Beatty JD, Cataneo RN, et al. Rapid point-of-care breath test for biomarkers of breast cancer and abnormal mammograms. *PLoS One* 2014 ; 9 : e90226.
- Tisch U, Schlesinger I, Ionescu R, et al. Detection of Alzheimer's and Parkinson's disease from exhaled breath using nanomaterial-based sensors. *Nanomedicine* 2013 ; 8 : 43-56.
- Bach JP, Gold M, Menge, D, et al. Measuring compounds in exhaled air to detect Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *PLoS One* 2015 ; 10 : e0132227.
- Mazzatenta A, Pokorski M, Sartucci F, et al. Volatile organic compounds (VOCs) fingerprint of Alzheimer's disease. *Respir Physiol Neurobiol* 2015 ; 209 : 81-4.
- Broza YY, Har-Shai L, Jeries R, et al. Exhaled breath markers for nonimaging and noninvasive measures for detection of multiple sclerosis. *ACS Chem Neurosci* 2017 ; 8 : 2402-13.
- Scott-Thomas Amy, Syhre M, Pattemore P, et al. 2-Aminoacetophenone as a potential breath biomarker for *Pseudomonas aeruginosa* in the cystic fibrosis lung. *BMC Pulm Med* 2010 ; 10 : 56.
- Metters JP, Kampouris DK, Banks CE. Electrochemistry provides a point-of-care approach for the marker indicative of *Pseudomonas aeruginosa* infection of cystic fibrosis patients. *Analyst* 2014 ; 139 : 3999-4004.
- Nakhleh MK, Amal H, Jeries R, et al. Diagnosis and classification of 17 diseases from 1404 subjects via pattern analysis of exhaled molecules. *ACS Nano* 2017 ; 11 : 112-25.
- Marengo L, Wang R, McDougal R, et al. ORDB, HORDE, ODOFactor and other on-line knowledge resources of olfactory receptor-odorant interactions. *Database (Oxford)* 2016 ; 2016 : baw132.
- Launay G, Teletchea S, Wade F, et al. Automatic modeling of mammalian olfactory receptors and docking of odorants. *PEDS* 2012 ; 25 : 377-86.
- Park TH. *Bioelectronic nose. Integration of biotechnology and nanotechnology*. Seoul : Springer, 2014 : 290 p.
- Dung TT, Oh Y, Choi SJ, et al. Applications and advances in bioelectronic noses for odour sensing. *Sensors* 2018 ; 18 : 103.
- Benilova IV, Minic Vidic J, Pajot-Augy E, et al. Electrochemical study of human olfactory receptor OR 17-40 stimulation by odorants in solution. *Mat Sci Eng C* 2008 ; 28 : 633-9.
- Manai R, Zadeh-Habchi M, Kamouni-Belghiti D, et al. Diamond micro-cantilevers as transducers for olfactory receptors-based biosensors: application to the receptors M71 and OR7D4. *Sens Actuators B Chem* 2017 ; 238 : 1199-206.
- Lee SH, Jin HJ, Song HS, et al. Bioelectronic nose with high sensitivity and selectivity using chemically functionalized carbon nanotube combined with human olfactory receptor. *J Biotechnol* 2012 ; 157 : 467-72.
- Lee SH, Kwon OS, Song HS, et al. Mimicking the human smell sensing mechanism with an artificial nose platform. *Biomaterials* 2012 ; 33 : 1722-9.
- Kwon OS, Song HS, Park SJ, et al. An ultrasensitive, selective, multiplexed superbioelectronic nose that mimics the human sense of smell. *Nano Lett* 2015 ; 15 : 6559-67.
- Park SJ, Kwon, Oh S, Lee SH, et al. Ultrasensitive flexible graphene-based field-effect transistor (FET)-type bioelectronic nose. *Nano Lett* 2012 ; 12 : 5082-90.
- Mouret A, Lledo PM. Comment le nez se connecte au cerveau. *Med Sci (Paris)* 2007 ; 23 : 252-5.

TIRÉS À PART

E. Pajot-Augy

LA FONDATION PREMUP : UN OPÉRATEUR DE TERRAIN EN PÉRINATALITÉ RECONNU POUR SON EXCELLENCE ET SON INTERDISCIPLINARITÉ

La Fondation de coopération scientifique PremUp, unique en Europe, intervient sur la prévention du handicap à la naissance, par la protection de la santé de la femme enceinte et du nouveau-né.



FONDATION DE COOPÉRATION SCIENTIFIQUE SUR LA GROSSESSE ET LA PRÉMATURITÉ



ASSISTANCE
PUBLIQUE
HÔPITAUX
DE PARIS



UNIVERSITÉ
PARIS DESCARTES

UNIVERSITÉ
PARIS UPMC
SORBONNE UNIVERSITÉS

PARIS
DIDEROT

CENTRE
HOSPITALIER
INTERCOMMUNAL
DREUIL