

Des nez électroniques pour diagnostiquer des pathologies par analyse de composés gazeux dans l'haleine de patients

L'analyse d'haleine

Détecter des maladies en utilisant l'air exhalé n'est pas un nouveau concept. La médecine traditionnelle chinoise faisait le lien entre odeur de l'haleine et état de santé. De même, Socrate associait une odeur sucrée au diabète, une odeur de poisson aux problèmes de foie, une odeur d'urine aux dysfonctionnements des reins. L'approche moderne vient dans les années 1970 avec le développement de la chromatographie en phase gazeuse [1]. Cette technologie a permis de mettre en évidence plus d'un millier de composés gazeux (organiques ou non) dans l'haleine. Il a été montré que la composition gazeuse de l'air exhalé peut être reliée à l'état métabolique du corps. Il est donc possible de relier la composition gazeuse de l'air exhalé avec des perturbations biochimiques engendrées par des pathologies (cancers, maladies des reins, du foie, etc.) ; ce nouveau domaine scientifique est appelé **exhalomique**. Ainsi pour chaque pathologie, on peut mettre en évidence une signature chimique particulière de l'haleine de patients. Les techniques de la chimie analytique moderne permettent d'identifier et de quantifier ces biomarqueurs à l'état de traces et font partie des méthodes de référence pour cette application [2]. Cependant, leur utilisation demande des personnels hautement qualifiés et leurs coûts limitent leur usage dans une pratique quotidienne de la médecine. Pour ces raisons, la demande est forte pour des instruments peu chers, portables, fiables, faciles d'utilisation, donnant les résultats en temps réel pour réaliser des diagnostics précoces et non invasifs de maladies. Dans ce cadre, les nez électroniques apparaissent comme des technologies émergentes très prometteuses.

Nez électronique

Un nez électronique ne fournit pas d'informations sur la composition de l'haleine, mais il est entraîné à détecter une empreinte numérique de l'haleine en utilisant des méthodes de reconnaissance de formes. Il est composé d'une matrice de capteurs électroniques, d'un système d'acquisition et de traitement des données et d'un algorithme de classification permettant de donner les résultats de l'analyse (figure 1).

Nous avons appliqué ces principes à la détection de l'ammoniac dans l'haleine qui est l'un des biomarqueurs de l'insuffisance rénale chronique.

L'ammoniac, un biomarqueur de l'insuffisance rénale

Pour des personnes en bonne santé, l'ammoniac est converti en urée dans le foie. L'urée est alors transportée via le flux sanguin et éliminée dans l'urine par les reins. Pour les personnes atteintes d'insuffisance rénale chronique, l'urée accumulée est dégradée par uréase salivaire en ammoniac qui se retrouve dans l'air exhalé. L'ammoniac constitue donc un marqueur d'anomalie dans l'élimination des déchets azotés. La mesure de concentration de l'ammoniac dans l'haleine peut donc être un outil simple, rapide et non invasif pour la détection de l'insuffisance rénale. Les concentrations d'ammoniac à mesurer sont de

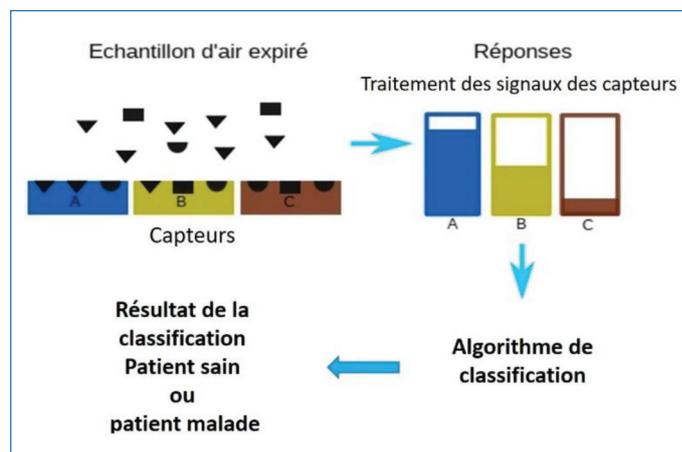


Figure 1 - Architecture simplifiée d'un nez électronique.

quelques ppm (partie par millions) et même ppb (partie par milliard) ; les capteurs doivent donc être suffisamment sensibles à ces niveaux de concentration. Pour des concentrations dans l'haleine supérieures à 1,6 ppm, la personne est malade, et pour des concentrations inférieures à 1,1 ppm, la personne est en bonne santé.

Matrice de capteurs et nez électronique

Nous avons constitué une matrice de onze capteurs de nanocomposites à base de polyaniline (PANI) dont nous connaissons leurs aptitudes à détecter l'ammoniac avec des seuils de quantification de l'ordre de la dizaine de ppb et avec des sensibilités suffisantes dans la gamme de concentrations visée (voir *tableau*). L'échantillon 1 est de la PANI dopée avec de l'acide camphosphosulfonique (CSA), les deux et trois sont des composites PANI/chitosan où la PANI est dopée avec le CSA, obtenus par co-dissolution. Les autres échantillons sont des composites PANI/TiO₂ avec la PANI dopée par l'acide dodécyl benzène sulfonique (DBSA). Ces acides sulfoniques sont utilisés car ils permettent la mise en solution de la polyaniline dans sa forme conductrice. Ces matériaux présentent des morphologies et des réactivités différentes à l'ammoniac. Par exemple, les composites PANI/TiO₂ présentent une structure sous forme de cœur-écorce avec un cœur de TiO₂ de 10 nm de diamètre et une écorce de PANI de 2 nm d'épaisseur [3] ; ce type de structure permet d'amplifier la réponse des capteurs.

Sous l'effet de l'ammoniac, la PANI perd un proton et l'ammoniac est transformé en ion ammonium. Ce mécanisme correspond à un dédopage de la PANI qui induit l'augmentation de la résistance électrique du matériau. Cette réaction étant réversible, quand le matériau est remis à l'air libre, l'ammonium est transformé en ammoniac et le proton retourne sur la chaîne de polymère, restaurant ainsi sa résistance initiale.

Les expérimentations sont réalisées dans un environnement strictement contrôlé en température et humidité, avec des concentrations en ammoniac calculées et contrôlées par un analyseur de référence.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
PANI	Chit	Chit	Chit	CNT	TiO ₂					
100	20	50	75	80,3	8,7	18,9	36,1	79,2	79,2	79,2

Composition des nanocomposites utilisés pour la détection de l'ammoniac. Les chiffres indiquent le pourcentage de polyaniline dans les nanocomposites.

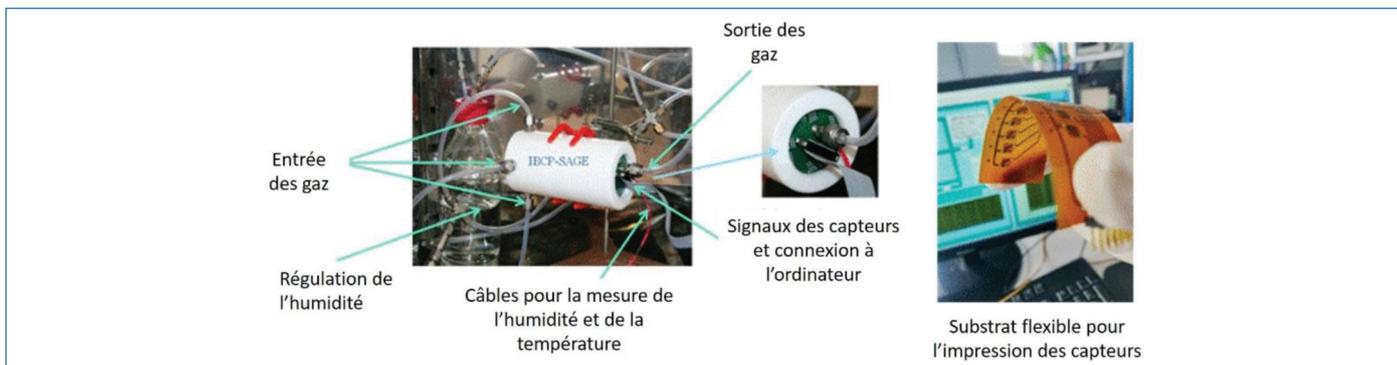


Figure 2 - Banc de caractérisation des capteurs.

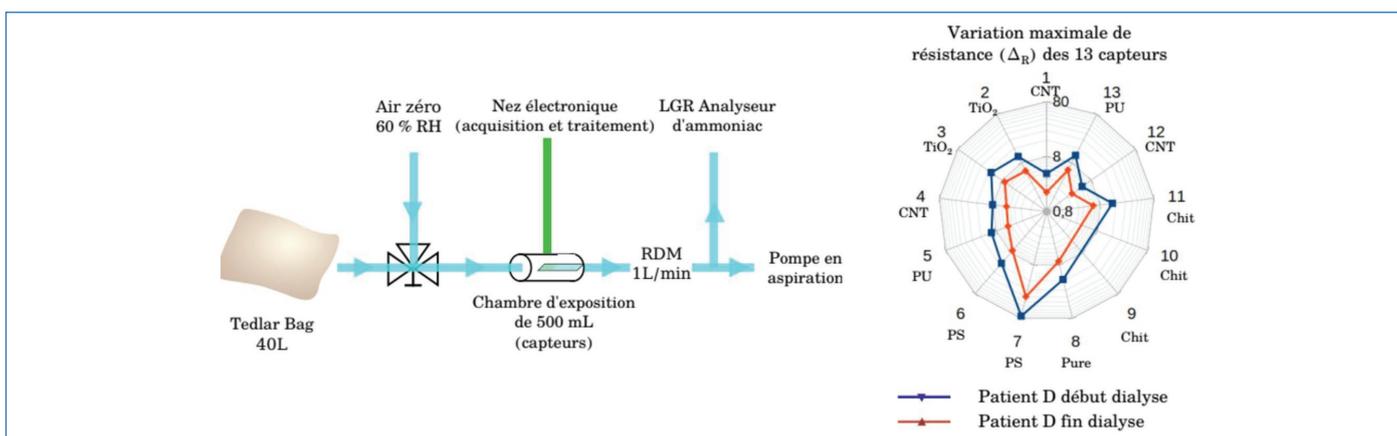


Figure 3 - Dispositif expérimental et signature électronique de l'haleine d'un patient avant et après dialyse.

La figure 2 montre le banc de caractérisation des capteurs. Ce système constitue la base du nez électronique, et nous travaillons actuellement à sa miniaturisation.

En laboratoire, les capteurs sont soumis à un mélange de gaz avec une humidité importante pour simuler l'haleine d'une personne saine. Des pulses d'ammoniac sont alors envoyés dans la gamme de concentrations correspondant aux différents états du patient (malade ou sain). À l'aide d'algorithmes d'apprentissage supervisé de type machine à vecteurs de support (SVM), les concentrations d'ammoniac correspondant aux personnes malades, en bonne santé ou incertaines ont été alors discriminées avec une précision de classification de 97 %.

Pour valider la démarche, l'haleine de patients atteints d'insuffisance rénale a été recueillie dans des sacs Tedlar avant et après la dialyse. Dans cette démarche, on considère qu'avant dialyse, la situation est représentative d'un patient malade et que juste après dialyse, le sang étant purifié, on obtient un état représentatif d'un patient sain. Les échantillons d'haleine sont alors envoyés vers le nez électronique pour analyse [4] (figure 3). Sur ce dispositif, on envoie à débit constant l'air provenant du sac Tedlar sur le nez électronique ; les concentrations sont vérifiées par un analyseur d'ammoniac de référence (LGR). Sur un petit nombre de patients, une signature électronique correspondant à l'état du patient a été mise en évidence. La courbe en bleu représente la réponse des treize capteurs du nez pour un patient avant dialyse et celle en rouge la réponse des mêmes capteurs et du même patient après dialyse (figure 3). Cela montre l'efficacité de la dialyse qui diminue la concentration en ammoniac dans l'haleine du patient et la capacité du nez électronique à discriminer les états du patient. Ces premiers résultats sont encourageants.

Cependant, la détection d'un seul composé n'est pas suffisante car elle peut donner lieu à de faux diagnostics. En effet, l'élévation du taux d'ammoniac dans l'haleine peut également être un indice de plusieurs autres pathologies telles que la cirrhose du foie, l'hépatite, l'encéphalopathie hépatique, l'asthme, l'halitose ou les ulcères gastro-duodénaux [5]. C'est pourquoi nous avons entrepris une étude approfondie de recherche de biomarqueurs de l'insuffisance rénale par chromatographie en phase gazeuse, méthode de chimie analytique de référence (GC-MS), en collaboration avec le service de néphrologie du CHU de Lille. Il a été mis en évidence un certain nombre de composés organiques volatils susceptibles d'être symptomatiques de l'insuffisance rénale chronique [6]. Cette étude va nous permettre d'insérer dans le nez électronique d'autres formulations de capteurs aptes à détecter ces nouveaux biomarqueurs, pour améliorer son efficacité et la précision du diagnostic.

- [1] L. Pauling *et al.*, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **1978**, *68*, p. 2374-376.
- [2] B. Buszewski, M. Keszy, T. Ligor, A. Amann, *Human exhaled air analytics: biomarkers of diseases*, *Biomed. Chromatogr.*, **2007**, *21*, p. 553-566.
- [3] S. Mikhaylov, J.-L. Wojkiewicz *et al.*, *Ammonia/amines electronic gas sensors based on hybrid polyaniline-TiO₂ nanocomposites. The influence of titania and the surface active doping acid*, *RSC Advances*, **2015**, *5*, p. 20218-2226.
- [4] P. Le Maout, J.-L. Wojkiewicz *et al.*, *Polyaniline nanocomposites based sensor array for breath ammonia analysis. Portable e-nose approach to noninvasive diagnosis of chronic kidney disease*, *Sens. Actuators, B. Chem.*, **2018**, *274*, p. 616-626.
- [5] S. Bevc *et al.*, *Measurement of breath ammonia for detection of patients with chronic kidney disease*, *Clin. Nephrol.*, **2017**, *88*, 514-517.
- [6] M. Akiki, J.-L. Wojkiewicz *et al.*, *Detection of VOC biomarkers specific to chronic kidney disease by analysis of exhaled air from dialysis patients at advanced stages*, *Digital Breath Biopsy Conference 2020*, 10-11 nov. **2020**.

Cette fiche a été réalisée par **Jean-Luc WOJKIEWICZ***, **Caroline DUC** et **Nathalie REDON**, enseignants-chercheurs au Centre Energie Environnement (IMT Lille Douai) suite à la thèse de Paul Le Maout (IMT Atlantique, équipe de Cyril Lahuec). La recherche de biomarqueurs par GC-MS est réalisée par Nadine Locoge, professeure, et Maria Akiki, doctorante (IMT Lille Douai en collaboration avec le CHU de Lille).

* jean-luc.wojkiewicz@imt-lille-douai.fr

Les fiches « Un point sur » sont coordonnées par Jean-Pierre FOULON (jpfoulon@wanadoo.fr). Elles sont regroupées et en téléchargement libre sur www.lactualitechimique.org.