UNIVERSITÉ DE NANTES
UFR SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

ANNÉE 2018 **N° 45**

THÈSE

pour le

DIPLÔME D'ÉTAT

DE DOCTEUR EN PHARMACIE

par

Clotilde PORTEAU

Présentée et soutenue publiquement le 19 octobre 2018

Les capacités olfactives des chiens ouvrent de nouvelles perspectives dans le dépistage du cancer

Président : Mme Sylvie PIESSARD, Professeur de Chimie Thérapeutique

Membres du jury : Mr François LANG, Professeur de Pharmacologie
Mme Brigitte MAURY-DUMOULIN, Docteur en Pharmacie

REMERCIEMENTS

A Monsieur Lang,

Je vous remercie d'avoir accepté de m'encadrer pour ce travail, pour vos conseils, le partage de vos connaissances et de vos compétences, vos remarques et votre disponibilité, mais aussi d'avoir su me restreindre : sans vous, cette thèse aurait été bien trop longue, tant ce sujet me passionne. Sincères remerciements.

A Madame Piessard,

Je vous remercie de me faire l'honneur d'accepter de présider ce jury de thèse et de juger mon travail. Je vous remercie également pour la qualité de vos enseignements durant mes études.

A Madame Brigitte Maury-Dumoulin,

Je te remercie d'avoir accepté de faire partie de ce jury. Merci d'avoir toujours été un maître de stage si agréable, de m'avoir inculqué les valeurs et la richesse du métier de Pharmacien d'officine. Merci de m'avoir enrichie du partage de tes connaissances et de m'avoir fait confiance depuis ma deuxième année.

A Albine Guénot,

Merci infiniment de m'avoir permise de contacter le projet KDOG.

A Isabelle Fromantin, qui est à l'origine du projet KDOG.

Merci pour l'intérêt que vous avez porté à mon travail, d'avoir répondu à mes questions avec tant de rapidité et de disponibilité. J'espère très sincèrement que vous réunirez tous les fonds nécessaires pour l'étude clinique. Cela est si peu, mais je vous soutiens très profondément. J'admire votre persévérance et votre détermination. J'attends avec impatience l'article à paraître.

A la Pharmacie des Achards,

Merci de m'avoir si bien intégrée et formée depuis ma deuxième année. C'était un réel plaisir de travailler avec vous tous.

MERCI à mes parents, pour votre soutien irremplaçable. Les mots ne sont pas suffisants, ni à la hauteur de tout ce que vous avez fait pour moi. Merci pour votre soutien irréprochable, pour tous vos sacrifices, votre patience infinie et d'avoir su tant me rassurer. Sans vous, je ne serai probablement pas en train d'écrire les derniers mots de cette thèse, car je n'aurai sûrement jamais franchi le cap de la PACES. Rien ni personne ne peut remplacer des parents.

A ma sœur Aurore, merci de m'avoir si souvent remotivée durant les périodes de révisions, tu m'as appris à ne jamais baisser les bras mais à toujours rester positive. C'est maintenant à moi de prendre la relève et de t'encourager aussi bien que tu l'as fait pour moi, afin que tu obtiennes ce concours vétérinaire. N'oublie jamais : « I can, I will, I must ».

A Vincent, pour ton infinie patience, tu as su supporter mes humeurs mais aussi me divertir durant ces dernières semaines de travail difficiles, mais pas que, merci pour toutes tes idées quotidiennes inépuisables qui nous font passer de si bons moments. Et maintenant… je te souhaite bon courage pour ta thèse ☺.

A ma Famille : Tatie, Arnaud, Timothée, Antonin, Jacqueline : « loin des yeux mais près du cœur », avec toute mon affection.

A ma Mamie : merci pour toutes tes chaleureuses cartes d'encouragements. Je souhaite sincèrement que tu retrouves la santé, et rapidement !

Merci à Maman et Bénédicte : les deux meilleures relectrices ! Merci pour tout votre temps consacré à relire cette thèse attentivement et d'avoir grandement participé à la qualité de cet écrit. Merci à Alexiane pour tous tes précieux conseils, de m'avoir guidée et éclaircie tout au long de cette thèse. Merci à Victor de m'avoir traduit les vidéos en anglais.

A la rue Serpentine : Alain et Brigitte : car tu n'es pas qu'une simple maître de stage à mes yeux. Claire : tu es comme une grand-mère pour moi, merci pour toutes tes gaufres et ces moments de partage avec Diane, Inès et Pierre : ensemble, nous avons passé de merveilleux étés.

A mes amis :

Alexiane *et Aurélien*, Aude, Lucie *et Valentin*, Victor, Robin *et Mickaël*, Wassim mon binôme, Mathilde : sans vous, ces études n'auraient pas eu la même saveur. Nos moments ensemble sont si agréables et j'espère qu'ils seront encore nombreux.

A Marie, Sophie et Fannie : de précieuses amies d'enfance. J'espère que nous continuerons longtemps à nous retrouver et à agrémenter notre fameux carnet.

A Clémence et Alizée : mes miss potins préférées des Sables.

A l'équipe de choc : Anaïs, Fred et Lilian : pour votre pédagogie, mais aussi votre bonne humeur et nos moments amicaux. Vous êtes bien plus que de simples collègues.

REMERCIEMENTS……2

PLAN……4

TABLE DES ILLUSTRATIONS……15

INTRODUCTION……19

PREMIERE PARTIE : Les capacités olfactives des chiens……20

I. LE CHIEN 20
A. Les généralités 20
1. Les origines du chien domestique ; *Canis familiaris* 20
2. Les races canines : 344 races 21
a) La nomenclature des races de la FCI 22
b) Le Berger Belge Malinois 23
(1) Le Berger Belge Malinois : historique 24
(2) Le Berger Belge Malinois : standard d'après la FCI (18) 24
(3) Le Berger Belge Malinois : portrait et chien d'utilité 25
(4) Le Berger Belge Malinois : roi du ring 26
c) Les Bergers Belges Malinois : des chiens-héros 27
II. LA STRUCTURE ET LE FONCTIONNEMENT DE L'APPAREIL OLFACTIF CHEZ LE CHIEN 30
A. Les bases anatomo-histologiques du système olfactif principal 30
1. Les narines 30
a) La description anatomique 30
b) La charpente cartilagineuse 31
c) La musculature 32
d) Le vestibule nasal 32
2. Les cavités nasales 32
a) La structure anatomique 32
b) Les cornets nasaux 33
c) Les méats 34
d) Le labyrinthe ethmoïdal 34
3. Les sinus paranasaux 35
a) Le sinus maxillaire 35
b) Le sinus frontal 35

c) Les variations raciales 36
4. La vascularisation 36
5. La muqueuse olfactive 37
a) La muqueuse olfactive 37
b) Le mucus 38
c) Les cellules de soutien 38
d) Les cellules basales 38
e) Les cellules neurosensorielles 38
6. Les centres olfactifs 40
a) Le bulbe olfactif : centre olfactif primaire 42
(1) Les cellules nerveuses du bulbe olfactif 42
(2) Les sept strates du bulbe olfactif 44
b) Le bulbe olfactif accessoire 45
7. Les centres olfactifs secondaires 46
8. Les centres olfactifs supérieurs 46
B. Le système olfactif « accessoire » 47
1. L'organe voméro-nasal ou l'organe de Jacobson (41) 47
a) La morphologie de l'organe voméro-nasal 47
b) Les neurones et les récepteurs voméro-nasaux 48
c) Les projections voméro-nasales 50
d) La transduction du signal 50
e) Les rôles de l'organe voméro-nasal (41) 50
f) Les phéromones : des molécules hautement spécifiques (42) 51
(1) La perception des phéromones 52
(2) La synthèse des phéromones 53
(3) Les phéromones et la communication 53
2. L'organe septal de Masera 54
3. Le ganglion de Grueneberg (46) 55
4. La sensibilité trigéminale 56
C. La physiologie de l'olfaction 57
1. De la molécule odorante au stimulus olfactif 57
a) La molécule odorante 57
b) Le transport jusqu'à l'appareil olfactif 59

(1) La voie nasale ou orthonasale 59
(2) La voie rétronasale 60
c) Les OBP : odorant-binding-proteins (34) 60
2. La réception d'un signal olfactif et la liaison molécule odorante – récepteur olfactif : MO-RO 62
3. La transduction du signal olfactif 63
a) La voie de l'adénosine 3',5'-monophosphate cyclique (AMPc) 64
b) La voie de l'inositol 1,4,5-triphosphate (IP3) 64
4. La transmission et le codage du signal olfactif 65
a) La transmission de l'information olfactive 65
b) Le codage de l'information olfactive 65
5. L'intégration des signaux 66
6. Les effets de l'apprentissage 67
III. LES RECEPTEURS OLFACTIFS CANINS ET LEUR GENOME 68
A. La découverte des RO 68
B. La structure des RO 68
C. Le génome des RO 71
1. Les gènes et les pseudogènes 71
a) La régulation de l'expression des gènes de RO 72
b) L'organisation génomique des gènes de RO 72
c) L'évolution des répertoires des gènes de RO 72
2. La comparaison des différents répertoires des RO canins 73
3. Le polymorphisme des gènes de RO 74
a) Le polymorphisme de type SNP 74
b) L'impact fonctionnel du polymorphisme 75
IV. LES CARACTERISTIQUES DE LA SENSATION OLFACTIVE CHEZ LE CHIEN 76
A. La discrimination quantitative 76
1. Le seuil de perception olfactif 76
2. Le temps de latence 76
3. Les variations d'intensité 77
4. Le phénomène d'adaptation et de fatigue 77
5. Le phénomène de persistance 78
B. La discrimination qualitative 78

V. LES FACTEURS INFLUENCANT L'ACUITE OLFACTIVE ET L'APPLICATION AUX CHIENS D'UTILITE 81
A. Les facteurs individuels et physiologiques 81
1. L'individu et la race 81
a) L'acuité olfactive canine parmi les autres mammifères 81
b) L'acuité olfactive des différentes races canines 82
c) Les critères de choix de la race 82
d) Le choix de l'individu 84
(1) Les critères de choix de l'individu 84
(2) Les méthodes de sélection 84
2. L'âge 86
3. Le sexe 86
4. La nutrition 87
5. L'exercice et l'état physique 88
B. Les facteurs non physiologiques 89

DEUXIEME PARTIE : Les cancers dépistés grâce à l'odorat des chiens et les effluves libérés lors des processus de carcinogenèse 91

I. LES CANCERS : GENERALITES 91
A. Le ou les cancer(s) 91
B. L'épidémiologie des cancers en France 91
II. LES ORIGINES DU CONCEPT DE LA DETECTION OLFACTIVE CANINE 94
A. 1989 : un mélanome 94
B. 2001 : un carcinome basocellulaire peut en cacher un autre 95
C. Des cas de détections canines olfactives qui s'enchaînent 95
1. Le cancer du sein 95
2. Un mélanome derrière l'oreille 95
III. LES CANCERS ACTUELLEMENT DEPISTES GRÂCE A L'ODORAT CANIN 97
A. Préambule 97
1. La classification de la réponse des chiens 97
a) La sensibilité et la spécificité 97
b) La valeur prédictive positive et la valeur prédictive négative 97
2. L'entraînement des chiens 98

a) L'histoire du *clicker-training* 98
b) L'effet cognitif du *clicker-training* 99
B. Le cancer de la peau : mélanome 99
1. L'exposition aux rayonnements ultraviolets 99
2. « *Evidence for canine olfactory detection of melanoma* », novembre 2004 100
3. « *Canine olfactory detection of malignant melanoma* », octobre 2013 101
C. Le cancer de la vessie 102
1. « *Olfactory detection of human bladder cancer by dogs: proof of principle study* », septembre 2004 102
a) Objectif 103
b) Matériels et méthodes 103
(1) Les chiens et l'entraînement 103
(2) Le recrutement des patients 103
(3) L'échantillonnage 104
c) Résultats 104
d) Conclusion 105
D. Le cancer du poumon 105
1. Le diagnostic 105
2. McCulloch M. et *al*, mars 2006 ; Ehmann R. et *al*, mars 2012 ; Amundsen T. et *al,* mars 2014 106
a) Objectifs 106
b) Matériels et méthodes 107
(1) Le recrutement des patients 107
(2) L'échantillonnage 109
(3) Les chiens et l'entraînement 110
c) Résultats 112
(1) Les résultats de McCulloch et *al*, 2006 112
(2) Les résultats d'Amundsen et *al,* 2014 113
(3) Les résultats d'Ehmann et *al,* 2012 114
(4) Exceptions du protocole de McCulloh et *al,* 2006 116
(5) Des facteurs potentiellement sources de confusion 116
d) Conclusion 117
E. Le cancer des ovaires 117
1. Le dépistage et le diagnostic actuels 117

2. Horvath G et *al,* juin 2008 ; novembre 2010 119
a) Objectif 119
b) Matériels et méthodes 119
(1) L'échantillonnage 119
(2) Les chiens et l'entraînement 120
c) Résultats : Horvath G. et *al, 2008* 120
(1) Tests en simple aveugle des tumeurs ovariennes versus des tissus contrôles sains 121
(2) Tests en simple aveugle des tumeurs ovariennes versus d'autres tumeurs gynécologiques et contrôles sains 121
(3) Tests en double aveugle des tumeurs ovariennes versus des tissus contrôles sains 121
d) Résultats : Horvath G. et *al,* 2010 122
e) Conclusion 123
F. Le cancer colorectal 124
1. Le dépistage actuel 124
a) Le programme national de dépistage organisé du cancer colorectal 124
b) Le test de recherche de sang occulte dans les selles : RSOS 125
2. « *Colorectal cancer screening with odour material by canine scent detection* », juin 2011 126
a) Objectif 126
b) Matériels et méthodes 126
(1) Le recrutement des patients 126
(2) Le chien et l'entraînement 126
(3) L'échantillonnage 127
(4) Les emplacements des échantillons 127
c) Résultats 127
d) Conclusion 129
G. Le cancer de la prostate 129
1. La prostate 129
2. Le dépistage 130
3. Le diagnostic 131
4. « Olfactory detection of prostate cancer by dogs sniffing urine : A step forward in early diagnosis », février 2011 132
a) Objectif 132

b) Matériels et méthodes 132
(1) Le chien et l'entraînement 132
(2) Le recrutement des patients 132
(3) Les emplacements des échantillons 133
c) Résultats 134
d) Conclusion 134
5. « *Olfactory system of highly trained dogs detects prostate cancer in urine samples* », avril 2015 134
a) Objectif 135
b) Matériels et méthodes 135
c) Résultats 135
d) Conclusion 135
H. Le cancer de la thyroïde 136
1. La thyroïde et son diagnostic 136
2. « *Scent-Trained Dog Detects Thyroid Cancer in Human Urine Samples* », 2015 136
I. Synthèse et résumé 137
IV. LES EFFLUVES DEGAGES LORS D'UNE MALADIE CANCEREUSE 139
A. Le cancer du poumon 140
1. Le profil type de COV du cancer du poumon 140
2. Une corrélation éventuelle entre la détection olfactive canine et le profil type de COV du cancer du poumon 140
3. L'évaluation de l'indication des chiens aux échantillons d'air synthétique enrichi en potentiels biomarqueurs 142
B. Le cancer de la prostate 144
1. Un potentiel profil métabolomique du cancer de la prostate 144
2. La concentration de la sarcosine corrélée à la progression tumorale prostatique 145
3. L'évaluation de l'indication des chiens aux échantillons d'urine enrichie artificiellement en sarcosine 146
C. Le mélanome 148
D. Le cancer de l'ovaire 149
E. Le cancer du sein 150

TROISIEME PARTIE : Le projet KDOG, les organisations des chiens « médecins », les nez électroniques et les perspectives d'avenir..152

I. LE PROJET KDOG, CANCER DETECT GROUP 152

A. Le projet KDOG : « un pari médical audacieux » 152

1. La naissance du projet KDOG 152

1. Le cancer du sein 153

a) Le cancer du sein : le plus fréquent et mortel chez la femme 153

b) Le dépistage organisé du cancer du sein 154

2. Les objectifs du projet KDOG 154

3. Le financement du projet KDOG 155

4. Le nom et le logo de KDOG 156

5. L'équipe pluridisciplinaire du projet KDOG 156

a) Les experts cynophiles 157

b) Les chercheurs 158

c) Les soignants 158

6. Les chiens du projet KDOG 159

a) Thor 159

b) Nykios 159

c) Milou 161

d) Un Labrador 161

B. L'étude préliminaire : une réussite de 100% après 6 mois de tests 161

1. Objectifs 161

2. Matériels et méthodes 162

a) Le recrutement des patientes 162

b) L'échantillonnage 163

c) Les chiens et l'entraînement 164

3. Résultats 165

4. Conclusion, vers une étude clinique 166

C. L'étude clinique 167

1. La rédaction du protocole clinique 167

a) Le recrutement des patientes 167

b) L'échantillonnage 168

II. LES ORGANISATIONS D'ENTRAÎNEMENT DE CHIENS « Medecins » 170

A. Medical Detection Dogs, Angleterre 170
1. Les chiens renifleurs du cancer 171
a) Le cancer de la prostate 172
b) Le cancer du sein 174
c) Les cancers du côlon-rectum et du poumon 175
2. Les chiens d'assistance médicale 175
B. Le projet « Chiens de Cancer », Norvège 177
III. LES AVANTAGES, LES INCONVENIENTS ET LES PERSPECTIVES D'AVENIR DE LA DETECTION OLFACTIVE CANINE DU CANCER 178
A. Les avantages de l'utilisation des capacités olfactives canines dans le dépistage du cancer 178
1. Une méthode de diagnostic précoce 178
2. Une méthode peu coûteuse (100,161) 178
3. Une méthode rapide 179
4. Une méthode simple et non douloureuse 180
5. Une méthode fiable 180
a) Les cancers du poumon et du sein 180
b) Le cancer de l'ovaire 180
c) Le cancer colorectal 181
d) Le cancer de la prostate 181
e) Le cancer de la thyroïde 181
6. L'innocuité et la non-invasivité 182
7. Un dépistage pour tous 182
a) Les enfants 182
b) Les personnes en situation de handicap 182
B. Les inconvénients et les limites de l'utilisation des capacités olfactives canines dans le dépistage du cancer 183
1. Les limites légales 183
2. Les limites liées aux chiens 183
3. Les limites liées aux échantillons 185
a) La coexistence de plusieurs pathologies malignes 185
b) Le tabagisme 186
c) Les modalités de prélèvements des échantillons 186
(1) Les prélèvements d'haleine 186

(2) Les prélèvements d'urine 187
d) Les modalités de conservation des échantillons 187
4. Qu'en est-il des autres animaux ? 188
C. L'utilisation des capacités olfactives canines dans d'autres domaines médicaux : les chiens d'alerte médicale 188
1. Le diabète 188
a) Le diabète : définition 188
b) Les premiers faits marquants 188
c) Rebecca et Shirley 189
d) Nicklas et Nemi 190
2. Les allergies 191
3. Les autres maladies 191
IV. LES NEZ ELECTRONIQUES 192
A. NaNose : le nez électronique qui détecte et différencie 17 pathologies, de l'Institut Israëlien Technion 193
1. La conception du NaNose 193
2. Les performances du NaNose évaluées sur 17 maladies 194
3. Les performances du NaNose pour la différenciation des pathologies 195
4. L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse 196
5. Les résultats et l'interprétation 197
6. Conclusion 198
B. La conception d'un nez artificiellement intelligent selon l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) 199
C. ChemPro 100-eNose : le nez électronique qui détecte le cancer de la prostate, de l'Hôpital Universitaire Tampere en Finlande 200
D. BreathLink : le nez électronique qui détecte le cancer du sein, de la société Menssana, New Jersey aux États-Unis 201
1. Le principe du BreathLink 201
2. Les performances du BreathLink testées sur 244 femmes 202
3. « *Prediction of breast cancer risk with volatile biomarkers in breath* », juillet 2018 203
E. Odoreader : le nez électronique qui détecte le cancer de la vessie, des Universités de Bristol & Liverpool et du Bristol Urological Institute 204
F. Comparaison des performances olfactives canines et des nez électroniques 205

G. Les avantages des nez électroniques 205
H. Les défis à accomplir et les perspectives d'avenir 206

CONCLUSION.....207

LISTE DES ABREVIATIONS.....208

BIBLIOGRAPHIE.....210

TABLE DES ILLUSTRATIONS

FIGURES

Figure 1 : Les origines du chien : un loup métamorphosé aux contacts de l'homme (6) 21
Figure 2 : Des pétroglyphes représentant trois hommes avec des haches accompagnés de chiens (4) 21
Figure 3 : Le standard d'un Berger Belge Malinois (11) 24
Figure 4 : Le Berger Belge Malinois : un chien d'utilité (11) 26
Figure 5 : La première édition des Trophées des Chiens Héros par la Société Centrale Canine (14) 27
Figure 6 : Natacha Harry (présidente de la société protectrice des animaux (SPA)) remet à Nykios sa médaille sous le regard de Didier Valentin, le maître-chien du projet KDOG (16).. 28
Figure 7 : La sculpture réalisée par l'artiste peintre Nacera Kainou en mémoire à Charlot (19) 29
Figure 8 : Une truffe d'un chien en vue externe (28)..... 31
Figure 9 : La charpente cartilagineuse des narines d'un chien (25)..... 31
Figure 10 : Une coupe sagittale des cavités nasales d'un chien (30)..... 33
Figure 11 : Une coupe transversale des cornets et méats nasaux d'un chien (24) 34
Figure 12 : Une coupe transversale du labyrinthe ethmoïdal d'un chien (24) 34
Figure 13 : Une vue latérale à gauche et une vue dorsale à droite des sinus d'un chien (24) 35
Figure 14 : La vascularisation du système nasal d'un chien (32) 36
Figure 15 : Une schématisation générale du système olfactif (33)..... 37
Figure 16 : A gauche : une coupe transversale de l'épithélium olfactif. A droite : une microscopie électronique de l'extrémité dendritique d'une cellule neurosensorielle (24) 39
Figure 17 : Un schéma descriptif de l'organisation de l'épithélium olfactif chez l'homme (A- Localisation du neuroépithélium olfactif dans la cavité nasale / B- Représentation schématique de la structure de l'épithélium olfactif) (21) 40
Figure 18 : Les projections régiono-régionales entre l'épithélium olfactif et le bulbe olfactif (1,36) 41
Figure 19 : Un schéma du circuit du bulbe olfactif des vertébrés (35)..... 42
Figure 20 : Un schéma de l'organisation synaptique du bulbe olfactif principal (21) 43
Figure 21 : L'ultrastructure du bulbe olfactif (23)..... 45
Figure 22 : Les voies centrales et les centres nerveux de l'olfaction (21,24,39) 46
Figure 23 : Une coupe sagittale d'une tête de rongeur représentant le système voméro-nasal et le bulbe olfactif accessoire (21) 47
Figure 24 : Les récepteurs voméro-nasaux chez la souris (41) 49
Figure 25 : Une coupe sagittale d'une tête de rongeur représentant l'organe septal de Masera (21) 54
Figure 26 : Une coupe sagittale d'une tête de rongeur représentant le ganglion de Grueneberg (21)..... 55
Figure 27 : Les courants aériens (58,59) 60
Figure 28 : Une représentation schématique du rôle de transport des OBP (40)..... 61

Figure 29 : Les interactions entre les molécules odorantes (à gauche) et les récepteurs olfactifs (au milieu) et un schéma de l'organisation fonctionnelle d'un neurone récepteur olfactif (à droite) (62,63) 62
Figure 30 : Les deux systèmes de transduction du signal olfactif (65) 63
Figure 31 : Une cascade de transduction olfactive impliquant l'AMPc dans un neurone récepteur olfactif (63) 64
Figure 32 : L'intégration des signaux olfactifs au sein du bulbe olfactif (39) 66
Figure 33 : La structure schématique d'un récepteur olfactif de mammifère (a.a. : acides aminés hypervariables et conservés ; TM : domaines transmembranaires ; EL : boucles extracellulaires ; IL : boucles intracellulaires (40) 68
Figure 34 : La structure des protéines des récepteurs olfactifs canins (70) 69
Figure 35 : Une comparaison des structures actives et inactives d'un modèle pour les récepteurs olfactifs (40) 70
Figure 36 : Les mécanismes impliqués dans l'évolution des gènes de récepteurs olfactifs (70) 73
Figure 37 : Les variations de l'acuité olfactive selon les facteurs environnementaux (58) 89
Figure 38 : (A) Le chien du patient : un Berger Allemand - (B) La lésion du patient (105) 101
Figure 39 : Les photographies de l'étude "Canine scent detection in the diagnosis of lung cancer: revisiting a puzzling phenomenon", Ehmann et *al*, 2012 (117) 110
Figure 40 : Une photographie durant les tests olfactifs des chiens A, Jippi; B, Fröya; C, Kaos et D, Tassen (116) 113
Figure 41 : Le dépistage du cancer colorectal (112) 124
Figure 42 : Le déroulement de l'étude (123) 133
Figure 43 : Le chien Frankie et le chercheur Arny Ferrando (Arkansas University for Medical Sciences) (127) 137
Figure 44 : Un chromatogramme obtenu par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse à temps de vol (GC-TOF MS) à partir d'un échantillon d'haleine issu d'un patient atteint d'un cancer du poumon (128) 141
Figure 45 : Un graphique représentant la concentration en sarcosine en *p*mole par mg de tissu prostatique – bleu : tissu bénin (benign) - jaune : tissu d'un patient atteint d'un cancer de la prostate localisé (PCA) - rouge : tissu d'un patient atteint d'un cancer de la prostate métastatique (Mets) (132) 145
Figure 46 : La collecte des molécules volatiles par méthode Headspace Solid Phase Microextraction (HS-SPME) (137) 148
Figure 47 : A gauche : la pyridine - A droite : le 3-hexanol 149
Figure 48 : 1 : le phtalate, 2 : le butanal, 3 : la diméthylbenzamine et 4 : l'indole 149
Figure 49 : KDOG : CANCER DETECT GROUP (16) 152
Figure 50 : (A) Thor à gauche - (B) Nykios à droite (16) 159
Figure 51 : Milou (16) 161
Figure 52 : Les lingettes déposées dans les bocaux (16) 163
Figure 53 : L'un des deux Bergers Belges Malinois en train de renifler un échantillon à travers un cône (155) 165
Figure 54 : Le projet KDOG récompensé par le Prix Ruban Rose (16) 166

Figure 55 : Nykios et Milou (16) 169
Figure 56 : Medical Detection Dogs (158) 170
Figure 57 : Medical Detection Dogs, une organisation agréée (158) 170
Figure 58 : Lucy (à gauche) et Daisy (à droite) : les deux chiennes détectrices du cancer de Medical Detection Dogs (158) 172
Figure 59 : Rob Harris préparant une expérience avec Daisy dans les locaux de Medical Detection Dogs (101) 173
Figure 60 : Rob Harris préparant une expérience avec Lucy dans les locaux de Medical Detection Dogs (158) 174
Figure 61 : Rebecca et sa chienne Shirley : chien détecteur de diabète (101,158) 190
Figure 62 : Lilybelle : le « chien cacahuètes » (101,169) 191
Figure 63 : Le principe d'un capteur électronique d'haleine (160) 192
Figure 64 : Les échantillons d'haleine ont été collectés dans 14 services au sein de 9 centres cliniques, dans 5 pays différents : Israël, France, États-Unis, Lettonie et Chine (171) 194
Figure 65 : Les résultats du NaNose dans la discrimination des "paires de maladies" (171) 196
Figure 66 : L'analyse par GC-MS de 3 COV : (a) nonanal – (b) undecane – (c) isononane. Les points représentent les valeurs minimales et maximales obtenues 197
Figure 67 : La conception d'un nez artificiellement intelligent selon l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) (173) 199
Figure 68 : Le nez électronique ChemPro 100-eNose (127) 200
Figure 69 : Le nez électronique BreathLink conçu par la société Menssana (New Jersey, aux États-Unis) (175) 201
Figure 70 : Odoreader : le nez électronique qui détecte le cancer de la vessie développé par les Universités de Bristol et de Liverpool et le Bristol Urological Institute (179) 204

TABLEAUX

Tableau 1 : Résumé des caractéristiques de l'organe septal de Masera et du ganglion de Grueneberg avec les données de l'épithélium olfactif principal pour comparaison (46) 56
Tableau 2 : Le nombre de gènes et de pseudogènes de récepteurs olfactifs par espèce (63) 71
Tableau 3 : Les acuités olfactives de différentes races de chiens (24,31) 82
Tableau 4 : Les chiffres du cancer (100) 93
Tableau 5 : Les sujets de l'étude de McCulloh et *al,* 2006 (115) 108
Tableau 6 : Les caractéristiques des chiens de l'étude d'Amundsen et *al*, 2014 (116) 111
Tableau 7 : Les résultats de l'étude d'Amundsen et *al.* 2014 (116) 114
Tableau 8 : La distribution des échantillons d'haleine lors des entraînements et tout au long de l'étude (117) 115
Tableau 9 : L'indication globale des chiens (117) 115
Tableau 10 : Les résultats des chiens (117) 115
Tableau 11 : Les résultats de la détection olfactive canine en simple aveugle des échantillons des tumeurs ovariennes versus les échantillons contrôles sains (119) 121

Tableau 12 : Les résultats de la détection olfactive canine en simple aveugle des échantillons des tumeurs ovariennes versus les échantillons contrôles sains et les tumeurs autres qu'ovariennes (119) 121
Tableau 13 : Les résultats de la détection olfactive canine en double aveugle des échantillons des tumeurs ovariennes versus les échantillons contrôles sains (119) 122
Tableau 14 : La détection des odeurs canines selon la localisation et le stade du cancer colorectal (107) 128
Tableau 15 : Les caractéristiques des patients ayant fourni leur urine pour la phase des tests en double aveugle (n = 66) (123) 133
Tableau 16 : Les résultats des 33 séries lors des tests en double aveugle (123)..... 134
Tableau 17 : Un résumé des publications sur la détection olfactive canine des cancers (105) 138
Tableau 18 : La corrélation entre les COV présents dans l'haleine de patients atteints d'un cancer du poumon et les indications d'un chien (128) 142
Tableau 19 : Un tableau comparant les performances olfactives canines et celles des nez électroniques..... 205

INTRODUCTION

L'homme et le chien sont des partenaires depuis des milliers d'années à l'origine principalement pour la chasse. L'homme ayant un odorat peu développé ou plutôt atrophié par rapport à la plupart des autres animaux, a su utiliser les capacités olfactives exceptionnelles du chien pour pallier à son déficit olfactif. En effet, le système olfactif des chiens comporte 200 à 300 millions de neurones olfactifs répartis sur 200 cm² de muqueuse olfactive, contre 5 millions de ces neurones répartis sur 3 cm² de muqueuse pour l'homme. De nos jours, ces capacités olfactives sont mises à profit dans d'autres domaines que la chasse tels que : chien de recherche de produits stupéfiants, d'explosifs, d'armes, de drogues, d'avalanches, de décombres, *etc*. Une autre utilisation très récente explorée est l'utilisation de l'olfaction canine dans le diagnostic médical.

Les premiers indices de la détection olfactive canine du cancer remontent à 1989. Une dame de 44 ans décide de consulter son dermatologue car depuis plusieurs mois, son chien renifle un grain de beauté durant plusieurs minutes par jour et a même essayé de l'arracher avec ses dents. Ce comportement très insistant inquiète la propriétaire du chien qui consulte. Le grain de beauté est excisé et l'analyse histologique révèle un mélanome à un stade précoce. D'autres cas s'enchaînent.

Une autre personne consulte un médecin, intriguée par l'insistance de son chien reniflant constamment une petite lésion paraissant anodine. Le diagnostic révèle un mélanome malin.

Un homme de 66 ans consulte plusieurs médecins pour soulager une plaque d'eczéma qui le démange et évolue depuis 18 ans, sans réponse à plusieurs traitements. Un jour, il adopte un Labrador qui s'intéresse rapidement à cette lésion. L'homme consulte alors davantage de médecins qui diagnostiquent finalement un carcinome basocellulaire.

Aux États-Unis, un Teckel détecte un cancer du sein chez sa maîtresse, amenée à consulter suite à l'insistance de son chien pour sa poitrine. Chaque fois, les chiens ont perdu tout intérêt pour la partie du corps ciblée dès la tumeur retirée. Ces faits prennent de l'ampleur et l'hypothèse d'une « odeur du cancer » est évoquée. Les scientifiques se lancent à sa recherche.

Dans une première partie, nous aborderons les capacités olfactives canines. Après une présentation générale du système olfactif chez le chien, l'accent sera mis sur la génétique de leurs récepteurs olfactifs afin de comprendre pourquoi leur odorat est si performant et nous terminerons sur les facteurs susceptibles d'impacter leurs performances olfactives. Dans un second temps, nous détaillerons les publications ayant réussi à dépister le cancer grâce à l'odorat du chien puis nous évoquerons quelques biomarqueurs volatils possiblement responsables d'une signature olfactive spécifique du cancer. Pour terminer, nous aborderons le projet KDOG qui a lancé son étude clinique où des chiens sont éduqués à dépister le cancer du sein grâce à l'odeur transcutanée. Nous détaillerons les avantages mais aussi les limites de cette méthode de dépistage. Nous verrons ainsi qu'à terme, l'objectif est de remplacer les canidés par la technologie : des nez artificiellement intelligents. Mais pour cela, il est d'abord indispensable de réussir à identifier la signature odorante du cancer.

PREMIERE PARTIE : Les capacités olfactives des chiens

I. LE CHIEN

A. Les généralités

1. Les origines du chien domestique ; *Canis familiaris*

Le chien domestique : *Canis familiaris*, est un mammifère appartenant à l'ordre des carnivores, à la super-famille Canoidea et à la famille des Canidae (canidés) (1).

Le chien domestique tel que nous le connaissons aujourd'hui : *Canis familiaris* descendrait du loup. Afin de comprendre l'origine du chien, il est indispensable de visualiser l'intégralité de la famille des canidés. Cette famille réunit 14 genres avec 35 espèces. Le chien appartient au genre *Canis* qui regroupe 8 espèces. Parmi ces 8 espèces très proches génétiquement, nous retrouvons entre autres le chien (C*anis familiaris*), le loup (*Canis lupus*), le coyote (*Canis latrans*) et le chacal (*Canis aureus*). Ces 8 espèces possèdent toutes 78 chromosomes : 38 paires ainsi qu'une paire de chromosomes sexuels ce qui signifie qu'elles sont toutes interfécondes entre elles. En effet, seuls les animaux possédant un nombre de chromosomes identique peuvent se reproduire entre eux et avoir une descendance fertile (1–3).

Le chien vit au sein de la société humaine depuis la fin du Paléolithique supérieur, entre 40 000 et 12 500 ans avant Jésus-Christ. C'est depuis cette période de l'histoire qu'il serait devenu le meilleur ami de l'homme. Des peintures rupestres très anciennes ont été découvertes représentant l'homme et le chien chassant à ses côtés, ainsi que des ossements de chiens retrouvés aux côtés de défunts dans certaines tombes qui remonteraient à l'Épipaléolithique, plus de 11 000 ans avant Jésus-Christ (3,4).

Grâce à des techniques très perfectionnées étudiant la génétique, nous pouvons aujourd'hui observer les différents degrés de parenté entre les espèces. Ces techniques montrent à quel point le loup et le chien sont proches génétiquement. Mais pourquoi sont-ils aujourd'hui si différents : tant dans leurs aspects morphologiques et leurs comportements, que dans leurs relations avec l'homme ? Il existe plusieurs hypothèses à ce sujet. La plus probable est que certains loups sans doute moins bons chasseurs que d'autres, se seraient rapprochés des villages afin de se nourrir lorsque l'homme est devenu sédentaire, il y a presque 5 000 ans. Ces loups proches des campements humains ont pu peu à peu être intégrés et socialisés à l'espèce humaine. Cette dernière aurait intégré le loup dans sa nourriture mais se serait également aperçue qu'il restait meilleur chasseur qu'elle-même, une qualité utile pour sa survie. Des mutations génétiques ont alors commencé à apparaître entre le loup sauvage et le loup « apprivoisé », ce dernier ayant changé d'aspect en acquérant une taille, des dents et un cerveau plus petits. Le loup est devenu un partenaire de chasse efficace, apportant également de la sécurité comme chiens de garde, mais aussi comme chiens de travail (et probablement une réserve potentielle de viande). Une relation de confiance s'est progressivement installée et une coopération homme-loup s'est créée (1,5).

Ces changements des loups au contact de l'homme ont donc engendré des mutations génétiques ayant fait d'eux des animaux domestiques et éducables au fur et à mesure des descendances. Ces loups domestiques sont devenus progressivement des chiens, s'éloignant peu à peu des autres loups sauvages. Le chien descend donc du loup (2).

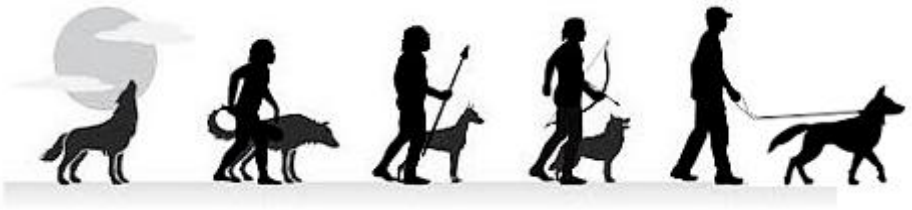

Figure 1 : Les origines du chien : un loup métamorphosé aux contacts de l'homme (6)

L'homme a pu observer les différents comportements des loups domestiqués à ses côtés. Certains loups chassant pour l'homme se sont avérés être meilleurs chasseurs que d'autres, rapides et capables de traquer une proie mais sans la tuer. Ils seraient devenus nos chiens de berger. D'autres loups ont développé des pattes palmées efficaces pour nager (chiens de sauvetage en mer) ou encore une grande taille dans un rôle de défense, *etc*. Plusieurs profils physiques, de personnalités et de comportements différents se sont dessinés. Après des milliers d'années de sélection naturelle, l'homme a sélectionné les loups selon des objectifs comportementaux et morphologiques afin de les faire se reproduire. Ces descendances seraient donc nos chiens domestiques actuels, issus de croisements rigoureux avec des aptitudes, des domaines d'utilité, des morphologies et des comportements distincts (2,3).

Figure 2 : Des pétroglyphes représentant trois hommes avec des haches accompagnés de chiens (4)

2. Les races canines : 344 races

Le terme de race tel que nous le comprenons aujourd'hui existe depuis l'Antiquité, il y a plus de 3 000 ans avant Jésus-Christ. Mais ce n'est qu'en 1850 que naît le concept de race avec des standards précis. Une race est le fruit de nombreux croisements sélectifs et réfléchis afin d'atteindre des objectifs de comportements, des aptitudes ainsi qu'un aspect morphologique distincts et souhaités. L'ensemble des races actuelles a pour origine commune une vingtaine de races seulement, à la base des grands groupes. Afin d'être reconnu de pure race, les critères auxquels doivent répondre le meilleur ami de l'homme sont si stricts que les éleveurs procèdent régulièrement à des croisements consanguins entre chiens de race pour maintenir une descendance en accord aux standards. Ce recours à la

consanguinité tend à fixer certains allèles et à favoriser l'homozygotie chez ces chiens de race, entraînant souvent des maladies génétiques (1).

La Fédération Cynologique Internationale (FCI) est l'Organisation Canine Mondiale, composée de 94 pays (un membre par pays) sous contrat, qui émettent chacun leurs pedigrees et forment leurs juges. La FCI reconnaît aujourd'hui 344 races. Créée le 22 mai 1911, son but est d'encourager et de protéger la cynologie et les chiens de pure race. La cynologie est l'étude et la connaissance du chien. La FCI comporte 5 sections qui sont ses 5 pays fondateurs. La France en fait partie et est représentée par la Société Centrale Canine (SCC) (7,8).

Créée en 1881, la SCC est la fédération dite "Société Centrale Canine pour l'amélioration des Races de Chiens en France". Elle est reconnue comme un établissement d'utilité publique par le décret du 28 avril 1914. Un établissement d'utilité publique est un organisme régi par le droit privé et dont la création a été officialisée par un décret. Cette société n'a aucune connotation commerciale mais il s'agit uniquement d'une mission de service public (9,10).

La SCC est aujourd'hui la référence en France dans le domaine cynophile. Afin d'assurer sa mission, la SCC dispose de plusieurs moyens d'actions dont la tenue du Livre des Origines Français (LOF) crée en 1885 (9).

Le Livre des Origines Français respecte la nomenclature des races officielles, imposée par la FCI, puisque tous les membres de la FCI appliquent cette nomenclature officielle. Le LOF est un registre qui répertorie les origines des chiens français de race. Seuls les chiens inscrits au LOF peuvent bénéficier de l'appellation « chien de race ». L'inscription au LOF est donc indispensable pour qu'un chien soit qualifié légalement de pure race. C'est l'unique livre généalogique officiel en France dédié à l'espèce canine (9).

Chaque race répond à un standard, établit par chaque pays « propriétaire » de la race, en collaboration avec les Commissions des Standards et Scientifiques de la FCI. Ce sont ces standards qui constituent LA référence sur laquelle se basent les juges lors de l'évaluation des chiens pour appartenir à une race (7).

a) La nomenclature des races de la FCI

La FCI distingue les races reconnues à titre définitif des races reconnues à titre provisoire. Les races reconnues à titre définitif sont au nombre de 344, classées en 10 groupes et seules celles-ci peuvent obtenir les divers titres de la FCI et prétendre au CACIB (Certificat d'Aptitude au Championnat International de Beauté de la FCI) (7,9).

➢ Les 10 groupes :

- « Groupe 1 : Chiens de berger et de bouvier (sauf chiens de bouvier suisses),
- Groupe 2 : Chiens de type Pinscher et Schnauzer - Molossoïdes et chiens de montagne et de bouvier suisses et autres races,
- Groupe 3 : Terriers,
- Groupe 4 : Teckels,
- Groupe 5 : Chiens de type Spitz et de type primitif,
- Groupe 6 : Chiens courants, Chiens de recherche au sang et Races apparentées,
- Groupe 7 : Chiens d'arrêt,
- Groupe 8 : Chiens rapporteurs de gibier - Chiens leveurs de gibier - Chiens d'eau,
- Groupe 9 : Chiens d'agrément et de compagnie,
- Groupe 10 : Lévriers. »

Il existe également la notion de « catégorie » chez les chiens, mais il ne faut pas confondre les termes de « groupe » et de « catégorie ». Le groupe fait référence à la classification officielle des races canines tandis que la catégorie correspond à l'appartenance ou non des chiens définis comme "dangereux" par la loi (9).

Nous nous intéresserons particulièrement aux Bergers Belges Malinois qui apprennent actuellement à dépister le cancer grâce à leur odorat dans l'étude clinique du projet KDOG lancée début 2018, à l'Institut Curie. Cette race canine est reconnue à titre définitif par la FCI et appartient au premier groupe réunissant les chiens de berger et de bouvier (sauf les chiens de bouvier suisses) ensuite subdivisé en 2 sections. C'est à la première section qui regroupe les chiens de berger que le Berger Belge Malinois appartient. Les chiens de race sont ensuite classés selon leur origine (7,9).

En 2017, le Berger Belge Malinois est devenu le chien préféré des français avec 12 307 inscriptions au LOF (11 267 inscriptions en 2016) ayant détrôné l'année dernière le Berger Allemand après 50 ans de règne. La seconde place est occupée par le Berger Australien avec 11 817 inscriptions en 2017, suivi de près en troisième place par le Berger Allemand : 11 049 inscriptions en 2017. Ces deux places du podium étaient inversées en 2016 (10 165 inscriptions pour les Bergers Australiens contre 10 964 inscriptions pour les Bergers Allemands) (9).

b) Le Berger Belge Malinois

Le standard officiel en vigueur du chien de Berger Belge est publié le 13 mars 2001 et provient de Belgique. C'est le Berger Belge variété « Malinois » qui nous intéresse. Les trois autres variétés sont le Berger Belge Groenendael, le Berger Belge Laekenois et le Berger Belge Tervueren. Ces quatre variétés sont toutes autorisées à prétendre au CACIB puisqu'elles sont toutes reconnues à titre définitif par la FCI depuis le 1 janvier 1956 (7,11).

Autrefois chien de berger mais aujourd'hui supplanté par le Border Collie, le Berger des Pyrénées et le Bouvier Australien, le Berger Belge Malinois brille dans de nombreuses disciplines. Brave et courageux, il est d'un précieux soutien au sein des équipes cynophiles de police, de gendarmerie et de l'armée de terre. C'est un chien de travail toujours prêt à l'action, efficace et réceptif. Le Berger Belge Malinois est aussi un remarquable chien de famille. Friand des moments de partage avec son maître et sa famille, il s'entend très bien avec les enfants : doté d'une gentillesse extrême et aimant jouer. Il ne faut cependant pas oublier que c'est un travailleur-né et un sportif qui a donc un besoin quotidien de se dépenser physiquement. Du fait de ses précieux attributs, il fait partie des chiens de race les plus populaires actuellement : tant comme compagnon que comme chien de travail dans divers domaines d'utilité (11).

(1) Le Berger Belge Malinois : historique

A la fin des années 1800 en Belgique, plusieurs chiens occupaient cette place de chien de berger. Mais nous y observions un grand polymorphisme et une forte hétérogénéité. C'est alors que le professeur Adolphe Reul, de l'Ecole de Médecine Vétérinaire de Cureghem pris la décision de rassembler un grand nombre de chiens afin de procéder à une sélection des meilleurs chiens. Il est considéré comme le fondateur de la race du chien de Berger Belge. Le 3 avril 1982, un premier standard est admis, en constante évolution afin de corriger les défauts jusqu'en 1910 où il est devenu définitif (12).

(2) Le Berger Belge Malinois : standard d'après la FCI (18)

Nous retrouvons le standard complet et détaillé du chien de Berger Belge avec un ensemble de critères très stricts et bien définis, disponible sur le site officiel de la FCI dans la fiche n°15. Le Berger Belge est de taille moyenne : 62 cm au garrot pour les mâles contre 58 cm pour les femelles avec un écart autorisé de 2 cm en moins ou de 4 cm en plus. Leur poids doit être compris entre 25 et 30 Kg pour les mâles et entre 20 et 25 Kg pour les femelles. La longueur de la tête doit être proche de 25 cm et celle du museau comprise entre 12,5 cm et 13 cm, devant être égale voire légèrement supérieure à la moitié de la longueur de la tête et sa poitrine doit descendre jusqu'au niveau des coudes (figure 3) (12).

Figure 3 : Le standard d'un Berger Belge Malinois (11)

Le Berger Belge Malinois est élégant et puissant avec une musculature sèche et forte. Il dégage une image harmonieuse, noble et impose le respect (12).

C'est la robe avec certaines particularités atypiques qui permet de distinguer les quatre variétés de Bergers Belges, tout en veillant à ce que le poil soit toujours dense, serré et de bonne texture, formant une excellente enveloppe protectrice avec le sous-poil. Le Malinois est de poils courts et sa couleur doit être uniquement fauve charbonné avec un masque noir, bien qu'un peu de blanc soit toléré au poitrail et aux doigts. Du fait d'une robe à poils courts, le Berger Belge Malinois est simple d'entretien et exige peu de besoins particuliers en terme de toilettage. De tous les Belges, c'est le plus facile d'entretien. Un brossage régulier minimum une fois par semaine est suffisant. Il jouit globalement d'une bonne santé. Vivace et très actif, il est indispensable que le Berger Belge ait une alimentation et une hydratation adaptées à ses efforts. Nous verrons justement que ces deux facteurs peuvent être des variables non négligeables en termes de capacités olfactives (11).

Tout écart par rapport à la description du standard de la fiche n°15 établie par la FCI doit être considéré comme un défaut qui sera pénalisé selon la gravité et les conséquences sur la santé et le bien-être du chien. Certains défauts définis dans cette fiche du standard peuvent entraîner l'exclusion pour appartenir à la race (12).

(3) Le Berger Belge Malinois : portrait et chien d'utilité

« Le Malinois, la Formule 1 des chiens de travail ! » Le Berger Belge Malinois est un chien qui déborde d'énergie, vigilant et dynamique avec une aptitude innée de gardien de troupeau. Il est habitué à la vie en plein air et bâti de façon à résister à d'importantes variations atmosphériques que subit le climat belge. Il s'adapte donc facilement aux intempéries grâce à son poil dense et serré. Aujourd'hui, un quart des victimes survivantes d'avalanches sont découvertes par les chiens de recherche. Le flair du Berger Belge Malinois lui permet de localiser un sinistré enseveli sous trois mètres de neige. Avec son museau allongé : c'est un chien de type mésocéphale (nous détaillerons ce terme et son impact dans la sous-partie II.A.3.c) qui dispose d'un odorat puissant capable de détecter la moindre molécule odorante. Doué d'une compréhension et d'une intelligence fulgurantes, mêlées à d'excellentes capacités physiques associant rapidité et endurance, très attachant et d'éducation facile : le Berger Belge Malinois occupe une suprématie incontestable parmi les chiens de travail. Il est au **premier rang** du classement des races canines de travail les plus utilisées parmi les équipes d'intervention et de recherche. C'est le chien préféré des équipes cynophiles. La relation entre l'animal et le maître-chien est fondamentale pour rendre efficace une équipe cynophile. Il est indispensable d'instaurer une relation d'échange, de confiance et de complicité, stimulant autant les capacités du chien que celles du maître. Chacun doit pouvoir compter sur l'autre à tout moment et le Berger Belge Malinois est particulièrement dévoué et loyal envers son maître, avec un grand désir de lui plaire. Il n'hésite jamais à le défendre et lui accorde une confiance « aveugle ». Il représente un moyen d'intervention souple face à une menace, aussi imprévisible qu'elle soit. Ses précieuses qualités font de lui une arme défensive et offensive (11).

Figure 4 : Le Berger Belge Malinois : un chien d'utilité (11)

La gendarmerie nationale en France compte 410 équipes cynophiles opérationnelles, dont 310 sont constituées de Bergers Belges Malinois. Nous retrouvons le Berger Belge Malinois dans de multiples domaines d'utilité très variés (figure 4) (11) :

- Chien d'avalanches, de décombres, de tremblements de terre, de glissements de terrain, d'effondrements d'immeubles, de catastrophes aériennes voire ferroviaires,
- Chien gardien de troupeau,
- Chien de lutte contre le trafic mondial de la drogue par les douaniers, les gendarmes et les policiers,
- Chien de l'armée de terre,
- Chien de garde et de défense pour la propriété,
- Chien de recherche d'explosifs, d'armes et de munitions,
- Chien de recherche de restes humains, de trace de sang,
- Chien de recherche de produits accélérateurs d'incendie,
- Chien de recherche médicale → **dépistage du cancer** grâce à l'odorat canin.

(4) Le Berger Belge Malinois : roi du ring

Le Berger Belge Malinois est également le « roi du Ring ». C'est le plus sportif et le plus réactif des Bergers Belges. Le ring est la discipline la plus complète de l'éducation canine qui comporte un ensemble d'épreuves permettant de dresser les chiens en leur apprenant l'obéissance, le saut d'obstacle et le mordant. Ces épreuves permettent de révéler si le chien est maîtrisé par son maître. Il existe différents niveaux pour ce brevet : chien de défense, Ring 1, Ring 2, Ring 3. Le Ring 3 est le plus haut niveau qui existe et est bien souvent une présélection des chiens pour le championnat de France. Ces manifestations se déroulent dans de nombreuses villes de France. C'est un sport qui a pour origine la Belgique, origine du Berger Belge Malinois (11,13).

c) Les Bergers Belges Malinois : des chiens-héros

La Société Centrale Canine (SCC) a décidé de récompenser le meilleur ami de l'homme lors de la première édition des « Trophées des Chiens Héros » le jeudi 7 décembre 2016. Afin d'honorer ces animaux d'exception et leur travail au quotidien : dix chiens sélectionnés parmi des centaines ont été récompensés d'un trophée des « Chiens Héros », chacun dans une catégorie différente. Face à ce grand succès, la Société Centrale Canine (SCC) a désormais décidé d'organiser les « Trophées des Chiens Héros » tous les deux ans. L'appel aux candidatures de la future édition a été lancé en 2018 (9,14).

Figure 5 : La première édition des Trophées des Chiens Héros par la Société Centrale Canine (14)

- Les chiens récompensés sont :

1. Apache → Berger Belge Malinois → catégorie du Chien de sauvetage civil
2. Charlot → « croisé » → Catégorie de la Mémoire
3. Jdony → Berger Belge Malinois → catégorie du Chien d'intervention
4. Fatou → Cavalier King Charles → catégorie du Chien d'assistance aux personnes handicapées
5. Ferwen → Berger Australien → catégorie du Chien visiteur
6. Hockey → Labrador → catégorie du Chien visiteur
7. Nurphy → Berger Belge Tervueren → catégorie du Chien de recherche de matières illicites
8. Nykios → Berger Belge Malinois → catégorie du Chien détecteur de maladies
9. Titan → Berger Belge à poil court noir → catégorie du Chien de la sécurité privée
10. Diesel → Berger Belge Malinois → Prix spécial du jury

Nous pouvons justement voir que plusieurs Bergers Belges Malinois ont été qualifiés de héros. C'est le cas de Nykios : un Berger Belge Malinois de 3 ans récompensé pour ses compétences olfactives incroyables dans la catégorie du « Chien détecteur de maladies » (figure 6). Entraîné depuis ses 18 mois (en avril 2016), par l'Institut Curie afin de dépister le cancer du sein grâce à son odorat : il a obtenu 100% de réussite. C'est dans le cadre du projet KDOG que nous développerons dans cette troisième partie de thèse, que Nykios

travaille sur une nouvelle méthode de dépistage du cancer. Il est le premier responsable de la reconnaissance du projet KDOG et de la validation des résultats par l'Académie Nationale de Médecine. Ce projet est très innovant et prometteur pour le dépistage du cancer (14,15).

Figure 6 : Natacha Harry (présidente de la société protectrice des animaux (SPA)) remet à Nykios sa médaille sous le regard de Didier Valentin, le maître-chien du projet KDOG (16)

Diesel, une femelle Berger Belge Malinois du RAID (Recherche, Assistance, Intervention, Dissuasion) de l'unité d'élite de la Police Nationale a été récompensée post-mortem. Elle fut mortellement touchée par les terroristes lors des attentats du 18 novembre 2015. Afin d'honorer son aide précieuse apportée au RAID, Diesel a reçu à titre posthume le Prix spécial du jury « pour son courage et son dévouement qui ont touché la France entière » (14).

Apache, un Berger Belge Malinois de 12 ans a été récompensé dans la catégorie du « Chien de sauvetage civil » pour son exploit réalisé lors du tremblement de terre à Haïti en janvier 2010. Pascal Vella, sapeur-pompier et Apache ont retrouvé les corps de 41 enfants coincés sous les décombres (14).

Jdony : un Berger Belge Malinois de 4 ans a été récompensé. Ce chien appartenant à l'armée de l'air s'est conduit comme un héros à deux reprises : lors d'une prise d'otages et d'une tuerie de masse puis lors d'une interception de nuit sur des terroristes alors que l'un d'entre eux tentait de s'enfuir, il a été neutralisé par Jdony qui reçu de nombreux coups violents mais n'a pas hésité à continuer d'avancer jusqu'à intercepter le terroriste (14).

Titan, un Berger Belge à poil court noir assure la sécurité avec son maître-chien et agent de sécurité cynophile : Alexandra Cosson. Il a été récompensé dans la catégorie du « Chien de la sécurité privée ». Ils veillent ensemble sur les agents et les clients de la RATP. Le binôme fait preuve de performance et d'efficacité au quotidien afin de faire régner la sécurité et la tranquillité dans les transports parisiens pas toujours paisibles où Titan a su gérer de nombreuses interventions compliquées (14).

C'est ensuite Nurphy, un sixième Berger Belge qui a été récompensé. Décédé en 2011 à l'âge de 14 ans, Nurphy a intégré la Force maritime des fusiliers marins et commandos en 1999. C'est en Afghanistan où il fut d'une aide incomparable grâce à sa découverte de nombreuses

armes et munitions. Nurphy a surtout eu le réflexe de ne pas aboyer lors de cette infiltration délicate (14).

Mettons maintenant de côté les Bergers Belges et laissons place aux autres races.

Fatou, un Cavalier King Charles de 7 ans a été récompensé dans la catégorie du « Chien d'assistance aux personnes handicapées ». Fatou est spécialisé dans le domaine de la cynothérapie : une thérapie facilitée par le chien jouant le rôle de médiateur thérapeutique. La relation patient-chien est au centre des séances et permet d'atteindre des objectifs thérapeutiques souvent spectaculaires. Depuis 6 ans, Fatou a participé à « 3812 séances de cynothérapie individuelle, à 283 séances collectives, à 157 sorties nature et à 8670 heures d'interaction patient-chien ». Ce chien est capable selon les ordres : d'obéir ou au contraire de désobéir pour le bien des patients (14,17,18).

Ce sont ensuite deux chiens ex-æquo qui ont reçu le trophée du « Chien visiteur ». Le premier est Ferwen, un Berger Australien de 7 ans et demi qui fait partie du groupement « les Chiens visiteurs du Centre » et rend visite à de très nombreux établissements : établissements d'hébergements pour personnes âgées dépendantes, Institut de Soins d'Éducation pour Enfants Polyhandicapés, *etc*. C'est pour honorer sa grande capacité d'adaptation qu'il a été récompensé par ce trophée. Le second « Chien visiteur » récompensé est Hockey : un Labrador de cinq ans. Son but est de soulager les souffrances physiques et psychologiques des personnes en fin de vie. Ce Labrador s'allonge délicatement auprès de la personne et vient poser sa tête sur son ventre où il peut rester un long moment afin d'apaiser tensions et souffrances. Nous observons que les traits des personnes se détendent, leurs mains se desserrent puis elles se laissent aller sereinement afin de partir en toute confiance (14).

Dans le cadre du centenaire de la Première Guerre Mondiale célébré cette année, la SCC a attribué le « Trophée de la Mémoire » à Charlot. De nombreux chiens très courageux se sont battus aux côtés des hommes durant ce combat. Charlot est considéré comme un héros de la Première Guerre Mondiale où il a sauvé de nombreux poilus ensevelis dans les tranchées. En cet honneur, Charlot a été décoré de la Croix de Guerre avec deux étoiles. Une sculpture a été réalisée par l'artiste Nacera Kainou en mémoire à Charlot (figure 7) (14,19).

Figure 7 : La sculpture réalisée par l'artiste peintre Nacera Kainou en mémoire à Charlot (19)

II. LA STRUCTURE ET LE FONCTIONNEMENT DE L'APPAREIL OLFACTIF CHEZ LE CHIEN

D'après Sigmund Freud, médecin neurologue autrichien et fondateur de la psychanalyse, la rupture concernant l'olfaction entre l'homme civilisé actuel et l'animal serait advenue lorsque l'homme s'est redressé et mis à marcher sur ses deux pieds. En s'éloignant du sol, l'odorat qui était jusqu'alors un sens prédominant et indispensable pour nos lointains ancêtres, se serait fortement atrophié. Freud affirmait que la régression de l'odorat était un facteur de civilisation. Mais au XXIème siècle, nombreuses sont les disciplines ayant recours au « nez » du chien. Les « spécialités » olfactives ne cessent de se multiplier : chiens détecteurs de substances et de matières inertes (gaz de combat, détecteurs de mines, d'explosifs, de stupéfiants), chiens de recherche et de sauvetage (d'avalanches, de pistage, de recherche de noyés), chiens d'alerte et de surveillance (sentinelle, d'accompagnement, patrouilleur, éclaireur), chiens d'intervention (soldat, d'assaut, de maintien de l'ordre), *etc*. (20).

Aujourd'hui, si les chiens d'utilité occupent une place aussi importante, c'est grâce à leur flair extrêmement développé et puissant. En effet, pour eux l'odorat est avant tout un moyen de communication et donc un sens indispensable contrairement aux humains, puisque nous avons privilégié et développé la parole comme moyen de communication au détriment de l'odorat.

Notre but ici n'est pas de présenter le système olfactif canin de façon détaillée, mais simplement d'en rappeler les éléments principaux utiles à la compréhension de la physiologie de l'olfaction et comprendre ainsi la supériorité de l'olfaction canine face à l'olfaction humaine. Le système olfactif est composé chez les mammifères d'un système olfactif principal et d'un système olfactif dit « accessoire » composé de l'organe voméro-nasal, de l'organe septal de Masera et du ganglion de Grueneberg.

A. Les bases anatomo-histologiques du système olfactif principal

Le système olfactif principal est composé de la muqueuse olfactive qui tapisse une partie des cavités nasales où se situent les neurones olfactifs et du bulbe olfactif qui est le premier relais synaptique permettant de distribuer le signal aux aires cérébrales afin de traiter l'information olfactive (21).

1. Les narines

a) La description anatomique

Le nez est la première structure des voies respiratoires. Le nez du chien s'appelle la truffe en raison de sa ressemblance avec le champignon du même nom. Celle-ci est glabre et généralement pigmentée. D'après le standard de la FCI, elle doit être de couleur noire pour

le Berger Belge. Elle est maintenue humide par les sécrétions des glandes de la muqueuse nasale. Elle est entaillée en son milieu par un sillon naso-labial profond et étroit : le philtrum qui est variable suivant les races. La surface du tégument de la truffe est divisée en petites aires polygonales (12,22–25).

Latéro-ventralement, nous retrouvons les ouvertures du nez : les narines. Elles sont les voies d'entrée de l'air et des substances odorantes. Leur orifice est en forme de virgule. Le bord dorsal correspond à l'aile du nez : mobile et épaisse. La queue latérale se prolonge par un faible sillon alaire (26,27).

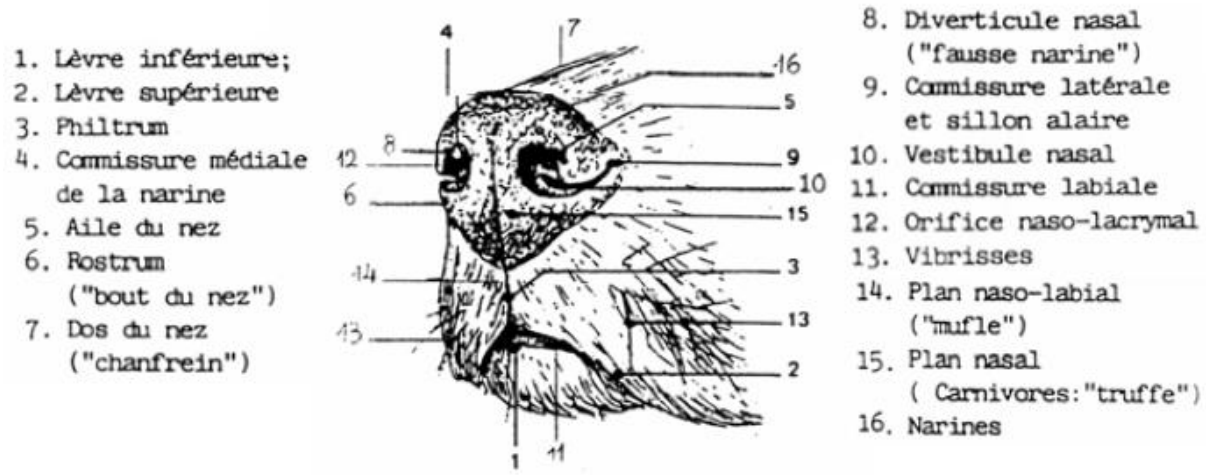

Figure 8 : Une truffe d'un chien en vue externe (28)

b) La charpente cartilagineuse

Les narines sont maintenues béantes grâce à une charpente cartilagineuse. L'aile du nez est portée par le cartilage alaire qui est le plus développé. Ce cartilage est incurvé latéralement ce qui donne à la narine sa forme de virgule et il s'avance nettement au-delà du corps de l'os incisif. Il se poursuit médialement par le cartilage septal, complété du cartilage latéral ventral et enfin du cartilage accessoire latéral, logé dans le pli alaire (23–25,27).

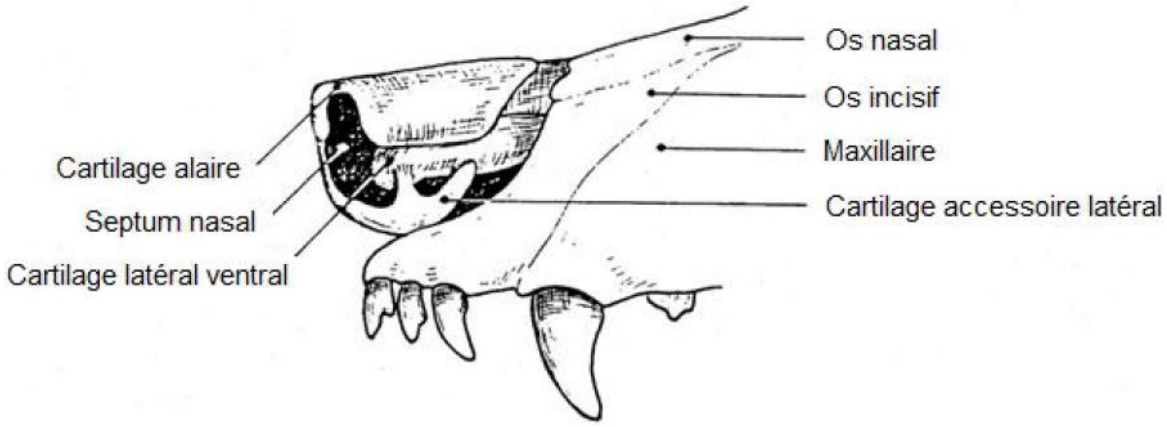

Figure 9 : La charpente cartilagineuse des narines d'un chien (25)

c) La musculature

Les mouvements des narines sont réalisés grâce à un réseau musculaire permettant au chien de maîtriser l'ouverture du calibre de ses narines. Ces muscles sont attachés aux os environnants et à la peau afin de mobiliser les cartilages en les déplaçant et les déformant. Le plus puissant est le muscle dilatateur des narines qui permet au chien de flairer. Le muscle releveur naso-labial et le muscle canin tirent le bord ventral de la narine en direction caudale. Le muscle nasal latéral quant à lui a un rôle constricteur faible de la narine (23,25,27).

d) Le vestibule nasal

Le vestibule nasal est la région qui se trouve juste à l'intérieur de chaque narine. Le vestibule nasal s'étend de la narine à la cavité nasale. Délimité par l'aile du nez et la partie mobile du septum, le vestibule du nez constitue l'entrée de la cavité nasale. Il est pourvu d'une charpente cartilagineuse qui est mobilisée par des muscles comme nous l'avons vu précédemment. Cela permet de contrôler l'air qui arrive dans les fosses nasales et de filtrer les grosses particules et les micro-organismes afin qu'ils n'atteignent pas les fosses nasales. Le canal lacrymal s'ouvre dans ce vestibule nasal par l'ostium naso-lacrymal (23–25,27,29).

2. Les cavités nasales

a) La structure anatomique

Le chien possède deux cavités nasales : une droite et une gauche, séparées par une cloison médiane composée d'os et de cartilage qui est le septum nasal.

Creusées dans les os de la tête, les cavités nasales sont allongées dans le sens crânio-caudal et s'étendent du vestibule nasal à la lame criblée de l'os ethmoïde qui les sépare de la cavité crânienne. Elles se situent au-dessus de la cavité buccale dont elles sont séparées par le palais. Elles communiquent avec le nasopharynx : la partie supérieure du pharynx par le méat-nasopharyngien qui aboutit aux choanes. Les choanes correspondent aux orifices postérieurs des cavités nasales et permettent la communication entre le nez et le pharynx (23–27,29).

Les cavités nasales assurent le passage de l'air afin de le purifier, le réchauffer, le dépoussiérer et l'humidifier lors de la respiration. Elles sont le siège de la transduction olfactive : l'ensemble des processus allant de l'arrivée d'une substance odorante jusqu'à son intégration en un message nerveux. Ces cavités sont de longueurs différentes en fonction des races de chien (voir sous-partie II.A.3.c). Chaque race canine est dotée de capacités olfactives distinctes, mais d'une façon générale : leurs cavités nasales ont atteint un stade d'évolution très avancé par rapport à celles des autres mammifères (23,24,26,27).

Chaque cavité nasale proprement dite contient les cornets et les méats nasaux. Les cavités nasales sont remplies par les cornets nasaux, situés au niveau de la paroi latérale et délimitent des petits espaces : des dépressions longitudinales appelées les méats. Les cavités nasales sont également entourées des sinus paranasaux qui sont des cavités situées dans le crâne, remplies d'air et entourant le nez comme le signifie le terme de « paranasal » (23,24,27,29).

b) Les cornets nasaux

Nous comptons trois cornets nasaux : le cornet nasal dorsal, le cornet nasal moyen et le cornet nasal ventral. Les cornets sont composés d'une lame osseuse plus ou moins enroulée et tapissée de muqueuse nasale.

Le cornet nasal ventral est d'abord étroit puis volumineux, mais relativement court et de type rameux. Il envahit le vestibule nasal à son extrémité. Il occupe les deux tiers antérieurs des cavités nasales. Pourvu de multiples lamelles osseuses enroulées ventralement, il est composé d'une lame osseuse principale poursuivie de cinq lamelles secondaires puis plusieurs lamelles tertiaires (23,24,26,27).

Le cornet nasal moyen est volumineux et s'avance jusqu'à mi-longueur de la truffe. Il correspond à la grande volute de l'ethmoïde (23,24,26,27).

Le cornet nasal dorsal quant à lui est très réduit. Il est long, fin et se résume à une seule lamelle osseuse qui n'est pas enroulée (23,24,26,27).

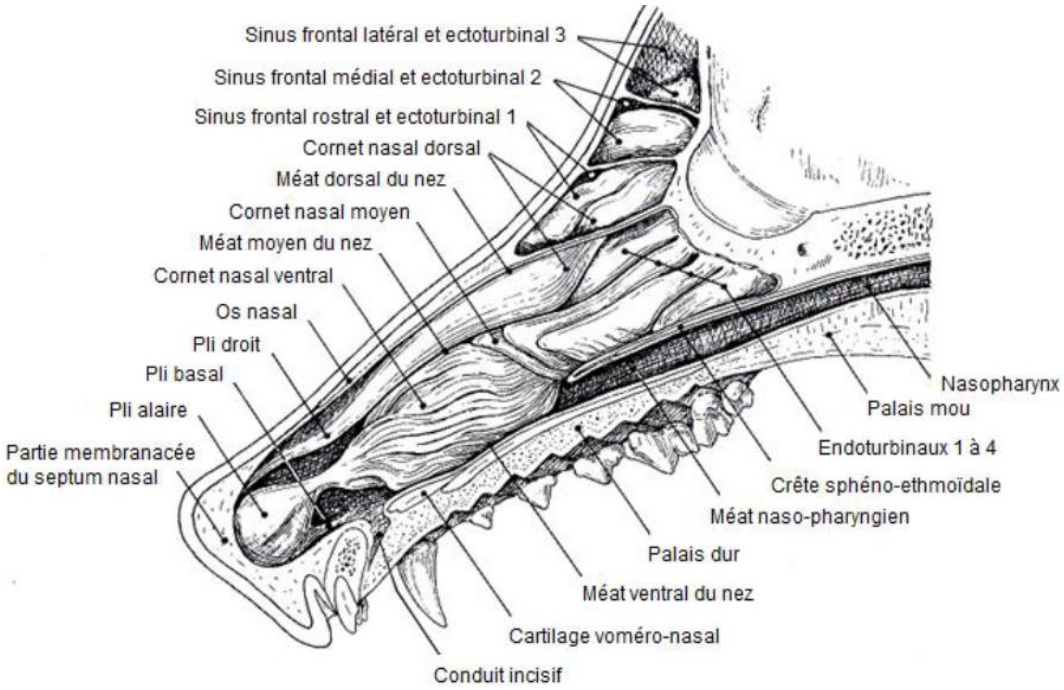

Figure 10 : Une coupe sagittale des cavités nasales d'un chien (30)

c) Les méats

Les méats sont les espaces délimités par les cornets nasaux et le septum nasal. Ces méats sont au nombre de trois : le méat dorsal étant le plus étroit, le méat moyen est large à l'avant mais étroit en son milieu, puis le méat ventral relativement court. Ils se rejoignent et communiquent grâce au méat commun (23,24,27).

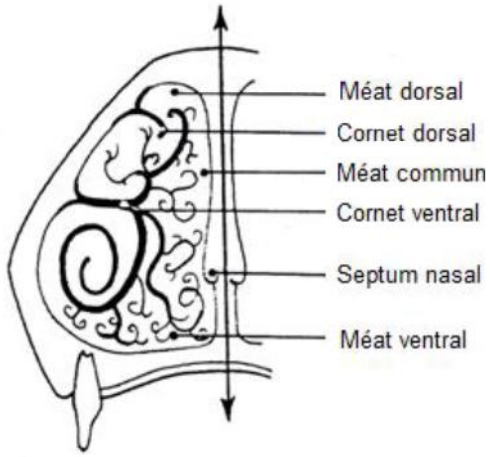

Figure 11 : Une coupe transversale des cornets et méats nasaux d'un chien (24)

d) Le labyrinthe ethmoïdal

L'extrémité postérieure des fosses nasales est divisée en deux régions : une partie dorsale olfactive et une partie ventrale respiratoire où nous retrouvons le méat naso-pharyngien. Le labyrinthe ethmoïdal correspond à la partie caudale et dorsale des fosses nasales, lieu privilégié de l'olfaction. Il est constitué de feuillets osseux enroulés sur eux-mêmes : les volutes ethmoïdales, particulièrement longues et nombreuses chez le chien et recouvertes par la muqueuse olfactive (23,24,27).

Nous distinguons deux types de volutes ethmoïdales : les volutes ethmoïdales latérales ou ectoturbinaux au nombre de six ainsi que les volutes ethmoïdales médiales ou endoturbinaux au nombre de quatre (23,24,26,27).

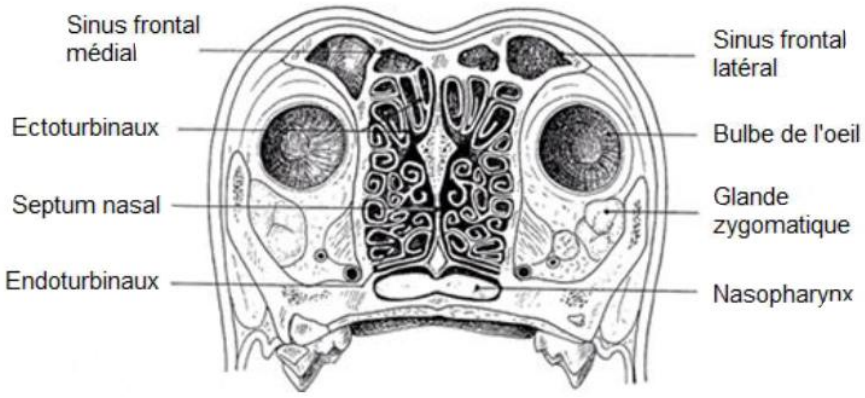

Figure 12 : Une coupe transversale du labyrinthe ethmoïdal d'un chien (24)

Nous comprenons alors que l'architecture complexe des cavités nasales est construite de telle sorte à augmenter au maximum la surface de contact avec les molécules odorantes et donc d'obtenir des capacités olfactives performantes.

3. Les sinus paranasaux

Les sinus paranasaux sont des cavités creusées dans le crâne et remplies d'air, qui communiquent entre elles ainsi qu'avec les fosses nasales. Elles se creusent dans l'épaisseur des os et s'agrandissent durant presque toute l'existence, soit par résorption du tissu spongieux ou alors par amincissement des lames osseuses environnantes. Nous parlons de cavités anfractueuses annexées aux cavités nasales signifiant profondes et sinueuses. Elles sont tapissées par la muqueuse respiratoire en continuité avec la muqueuse nasale (23,24,27).

Nous distinguons deux types de sinus paranasaux : le sinus maxillaire et le sinus frontal composé de trois compartiments : rostral, latéral et médial.

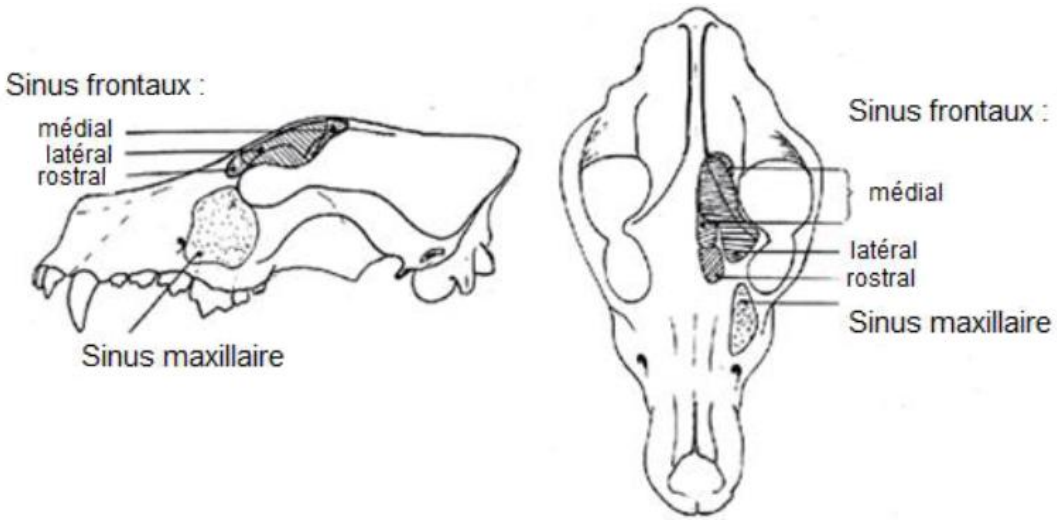

Figure 13 : Une vue latérale à gauche et une vue dorsale à droite des sinus d'un chien (24)

a) Le sinus maxillaire

Le sinus maxillaire est peu profond et s'ouvre directement dans la fosse nasale. Il est situé au-dessus de la dent carnassière (une molaire volumineuse et tranchante retrouvée chez de nombreux carnivores) et s'ouvre derrière le cornet ventral (24).

b) Le sinus frontal

Le sinus frontal quant à lui est plus sujet aux variations selon les races canines et se divise en trois parties : latérale, médiale et rostrale (24).

c) Les variations raciales

Nous distinguons trois grands types morphologiques : mésocéphale, dolichocéphale et brachycéphale. Ces variations impactent le développement de la face et du crâne. Les races dolichocéphales possèdent un sinus frontal très développé. Le Lévrier est une race dolichocéphale avec une tête très allongée, de longueur deux fois plus grande que large. Inversement, les brachycéphales disposent d'un sinus frontal plutôt réduit, la forme du crâne est globuleuse et leur mâchoire inférieure dépasse rostralement leur mâchoire supérieure. Le Boxer et le Pékinois sont des chiens de type brachycéphale. Le Berger Belge Malinois, le Berger Allemand et l'Epagneul Breton quant à eux sont de type mésocéphale. Ces chiens au museau allongé dits mésocéphales possèdent un odorat beaucoup plus performant que les chiens au museau écrasé : les brachycéphales. Ces derniers ne possèdent « que » 100 millions de cellules olfactives contre 300 millions pour les premiers. A titre de comparaison, l'homme dispose de 5 millions de cellules olfactives (24,31).

4. La vascularisation

Si l'appareil olfactif canin est si performant, c'est aussi grâce au réseau de capillaires très développé qui irrigue l'épithélium nasal. Le sang arrive dans la zone olfactive par les artères nasales et les artères ethmoïdales externes et internes. L'artère ethmoïdale externe forme un cercle artériel sur la paroi latérale de la fosse ethmoïdale et finit par s'anastomoser. Quelques branches forment un filet qui irrigue le septum nasal et les volutes. L'artère ethmoïdale interne participe à la formation de ce filet et envoie des rameaux au bulbe. Le plexus veineux est également très riche (28).

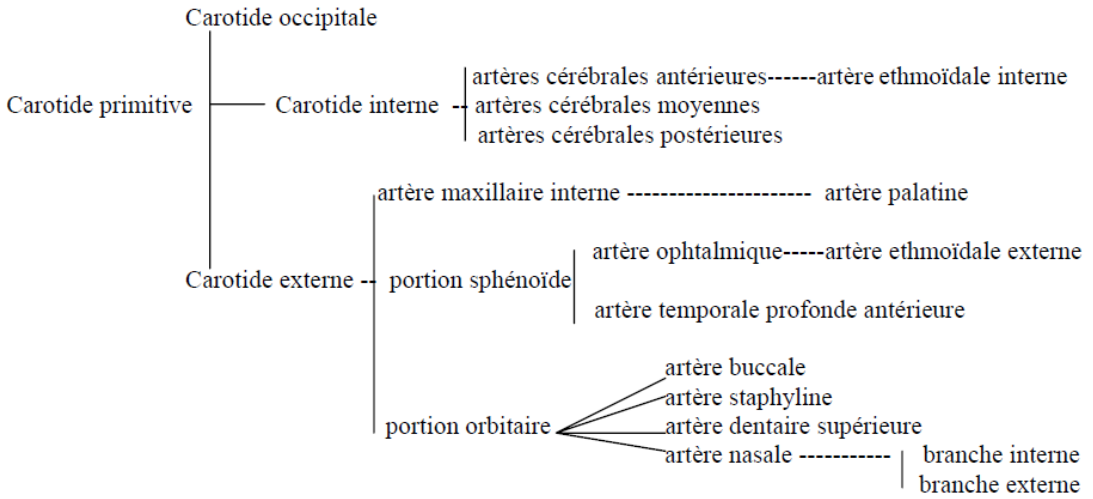

Figure 14 : La vascularisation du système nasal d'un chien (32)

5. La muqueuse olfactive

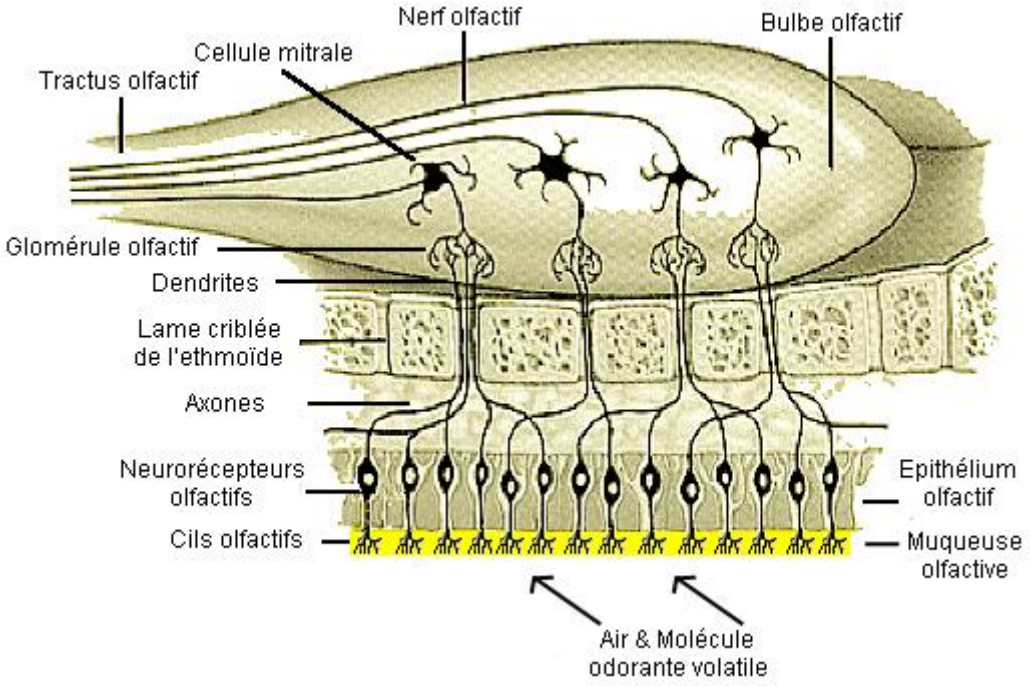

Figure 15 : Une schématisation générale du système olfactif (33)

Afin de mieux appréhender les parties suivantes, voici un schéma (figure 15) qui offre une vue globale du système olfactif. Nous partons de la muqueuse olfactive, où les neurones récepteurs olfactifs (NRO) réagissent avec les molécules odorantes au niveau de leurs cils, leurs axones traversent la lame criblée de l'ethmoïde et se rejoignent au centre olfactif primaire : le bulbe olfactif.

a) La muqueuse olfactive

La muqueuse olfactive tapisse la totalité des cavités nasales. Nous y distinguons une région respiratoire de couleur rosée voire rouge et une région olfactive de couleur brun jaunâtre du fait des caroténoïdes présents. La région olfactive est constituée d'un épithélium hautement spécialisé (épithélium olfactif ou neuroépithélium) recouvert et protégé d'un mucus, puis d'une sous-muqueuse séparée de l'épithélium par une lame basale ou lamina propria. Le neuroépithélium contient les récepteurs olfactifs que nous détaillerons dans la sous-partie III : lieu où débute le codage des signaux olfactifs (24).

Cette région olfactive recouvre les volutes ethmoïdales et une partie des sinus paranasaux. Sa surface peut atteindre jusqu'à 200 cm² chez le chien alors qu'elle ne s'étend que sur 2 à 3 cm² chez l'homme (sous-parties IV.B et V.A.1.b) !! L'étendue de cette surface conditionne en partie les capacités olfactives et explique donc la supériorité olfactive des chiens. Cette muqueuse possède un épithélium olfactif pseudostratifié et cylindrique, composé de trois types de cellules (épithéliocytes) : les cellules de soutien, les cellules basales et les cellules neurosensorielles.

b) Le mucus

La muqueuse olfactive est recouverte et protégée d'un mucus abondant afin d'éviter son dessèchement. Ce mucus est élaboré par les glandes de Bowman, situées dans la sous-muqueuse. Il assure un rôle de protection du neuroépithélium, permettant d'emprisonner et de piéger les poussières ainsi que les mico-organismes avant qu'ils n'atteignent les voies respiratoires inférieures. Ce mucus est un milieu propice pour les interactions entre les molécules odorantes et les récepteurs olfactifs. Ces interactions sont favorisées par la présence d'une famille de protéines : les OBP ou *odorant-binding-proteins*. Ces protéines appartiennent à la famille des lipocalines, comprenant d'autres protéines capables de transporter des molécules lipophiles telles que le cholestérol, les stéroïdes, *etc.* Les OBP faciliteraient la solubilisation des molécules odorantes hydrophobes présentes dans le mucus afin de les conduire aux récepteurs olfactifs. Ceci permettrait aussi une meilleure distribution des molécules odorantes en les retenant dans le mucus afin d'éviter une saturation des récepteurs olfactifs (voir sous-partie II.C.1.c) (1,34).

c) Les cellules de soutien

Les cellules de soutien sont prismatiques, hautes et pourvues d'un noyau ovalaire. Ces épithéliocytes s'étendent sur toute la hauteur de l'épithélium olfactif en formant de minces colonnes, étendues de la lame basale jusqu'à la lumière nasale (24,25).

Leur partie profonde repose sur la lame basale qui forme une sorte de pied irrégulier. Leur partie superficielle comporte de nombreuses microvillosités qui font une saillie dans la lumière nasale. Ces épithéliocytes sont juxtaposés entre les neurones olfactifs afin de les isoler tout en permettant la régulation de leur environnement ionique (24,25).

d) Les cellules basales

Les cellules basales sont irrégulières et forment une couche unique contre la lame basale. Nous pouvons distinguer deux types de cellules basales morphologiquement et topologiquement différents. Certaines sont horizontales en contact direct avec la lame basale et d'autres sont globulaires, plus superficielles et volumineuses. Elles permettent la neurogénèse des neurones olfactifs en étant leurs précurseurs immédiats (35).

e) Les cellules neurosensorielles

Les cellules neurosensorielles sont les plus nombreuses parmi les trois types d'épithéliocytes. Ce sont les neurones olfactifs. Leur nombre est estimé à environ 100 millions pour les chiens à nez court allant jusqu'à 300 millions chez ceux à nez long, contrairement aux hommes qui n'en possèdent que 5 millions !!! Nous privilégions donc des chiens à nez « long » dits mésocéphales en tant que chiens de travail (31).

Les neurones olfactifs ont une durée de vie maximale de 100 jours et sont soumis à un renouvellement permanent. Intercalés entre les épithéliocytes de soutien, ce sont des neurones bipolaires : deux prolongements cytoplasmiques partent de leur corps cellulaire (23,25).

Le prolongement axonal franchit la lame criblée de l'ethmoïde et se réunit avec ceux des millions de cellules voisines pour former les filets olfactifs afin de constituer les nerfs olfactifs qui rejoignent la substance grise du bulbe olfactif (23,25).

L'unique prolongement apical quant à lui est de nature dendritique et se termine à la surface de l'épithélium olfactif par un renflement ovoïde : la vésicule olfactive ou le bouton dendritique. Cette vésicule comporte une multitude de cils sensoriels qui baignent dans le mucus. Ces cils olfactifs sont immobiles, longs de 8 à 10 micromètres et surtout très nombreux. En effet, un chien possède 100 à 150 cils par neurone olfactif, contre seulement 6 à 8 par cellule olfactive chez l'homme. Ils permettent une large expansion de la surface réceptrice afin de piéger de façon optimale les molécules odorantes. Ces cils sont des organelles spécialisées. Les neurones olfactifs dont les cils ont été retirés ne sont alors plus stimulés par les odeurs. Les récepteurs olfactifs sont situés à la surface des cils ainsi que les enzymes clés de la cascade de signalisation. Ils permettent donc la reconnaissance et la transduction du signal olfactif (23,25,31).

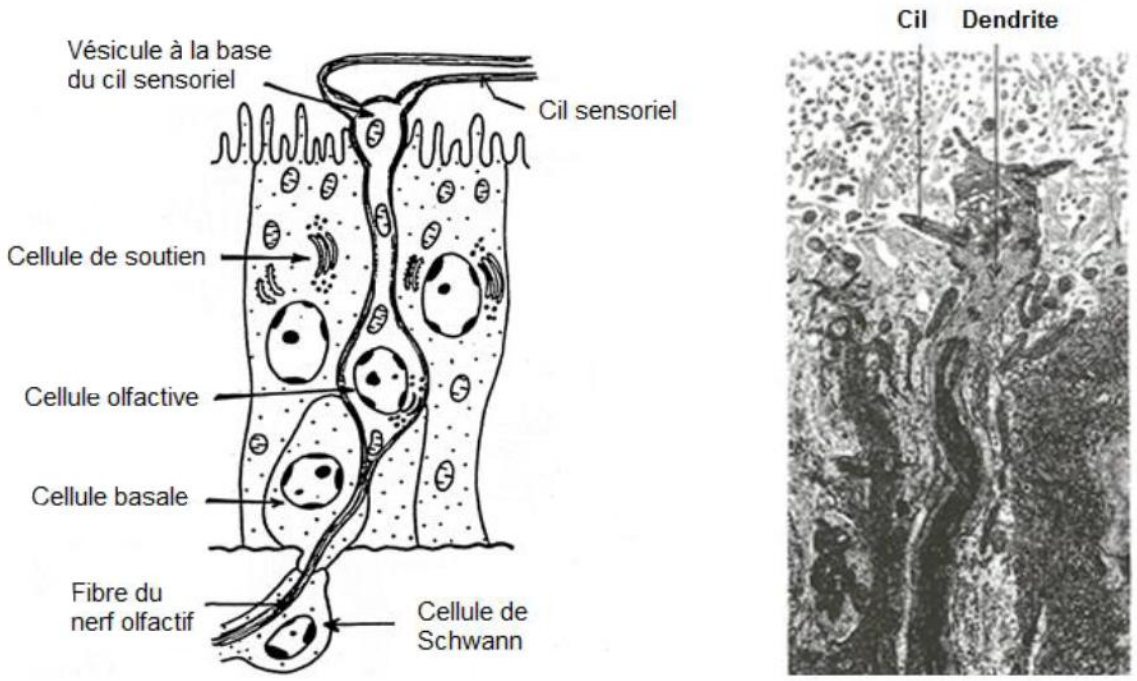

Figure 16 : A gauche : une coupe transversale de l'épithélium olfactif. A droite : une microscopie électronique de l'extrémité dendritique d'une cellule neurosensorielle (24)

6. Les centres olfactifs

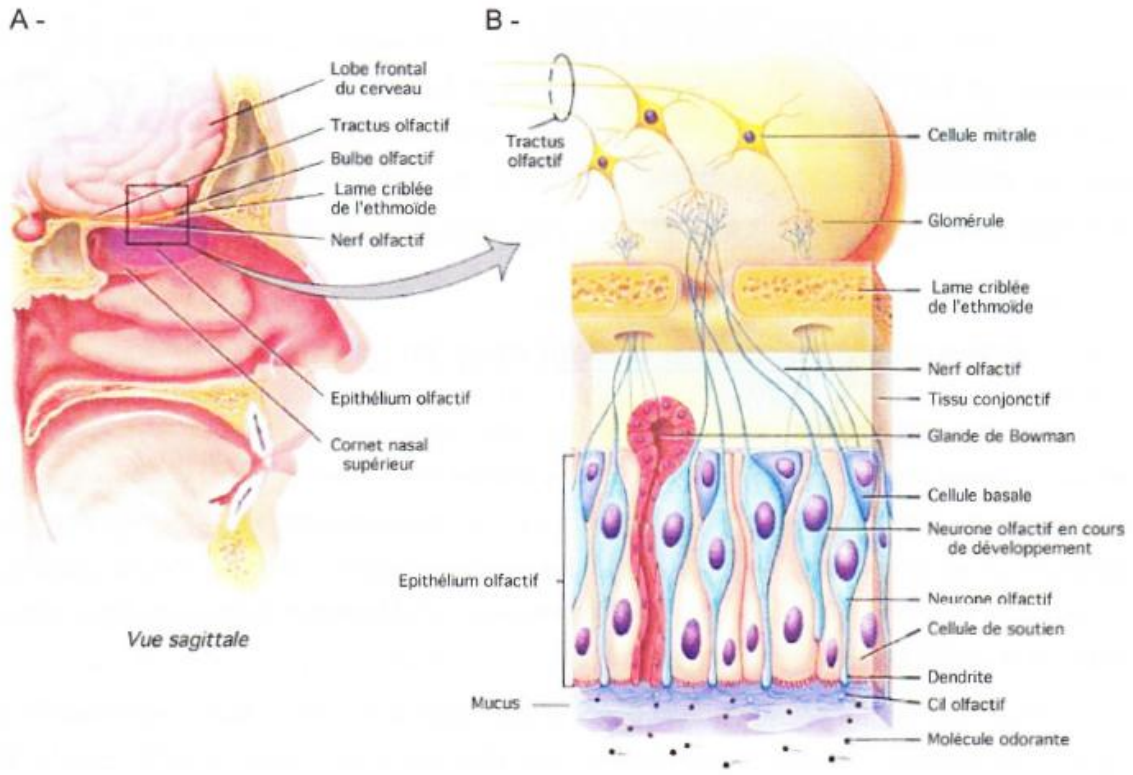

Figure 17 : Un schéma descriptif de l'organisation de l'épithélium olfactif chez l'homme (A- Localisation du neuroépithélium olfactif dans la cavité nasale / B- Représentation schématique de la structure de l'épithélium olfactif) (21)

Le système olfactif est schématiquement formé de trois couches successives : les neurones récepteurs olfactifs, le bulbe olfactif (centre olfactif primaire) et le cortex olfactif (centre olfactif secondaire) (35).

La première couche correspond aux neurones récepteurs olfactifs (NRO) situés au sein de la muqueuse olfactive où les molécules odorantes viennent s'y lier lorsqu'elles atteignent les cavités nasales. Ces neurones olfactifs sont de premier ordre. Ils envoient les signaux par le biais de leur axone unique. Un grand nombre de NRO convergent vers un plus petit nombre de cellules appelées glomérules où l'ensemble des axones de ces neurones olfactifs de premier ordre s'y rejoignent et établissent une connexion synaptique avec des neurones de second ordre (35).

C'est dans le centre olfactif primaire qu'a lieu ce premier relais synaptique entre les NRO et les neurones cérébraux de second ordre. C'est le bulbe olfactif. Le terme de glomérule n'est pas spécifique au centre olfactif primaire. Nous retrouvons ce terme utilisé dans diverses aires cérébrales. D'après la définition, un glomérule est un « ensemble de connexions synaptiques entre des terminaisons axoniques et des dendrites. C'est un complexe dendritique entouré de cellules gliales avec des limites précises ». Les glomérules sont eux-mêmes interconnectés par des neurones intrinsèques : les cellules périglomérulaires (35).

Les neurones olfactifs de premier ordre exprimant un même type de récepteur se regroupent dans un même glomérule (figure 18). Donc tous les NRO qui se terminent dans

un même glomérule expriment le même récepteur, c'est une découverte faite par Mombaerts et *al*, en 1996. Le nombre de ces NRO convergeant dans un même glomérule est estimé de 10 à 1000 fois supérieur au nombre de neurones de second ordre qui en ressortent. Donc tout en partant d'une organisation somatotopique, les projections des NRO se réorganisent de façon odotopique. En effet, les NRO exprimant à leur surface les mêmes récepteurs membranaires réagissent aux mêmes odeurs et sont situés à divers endroits de la muqueuse olfactive mais ils se réunissent dans un même glomérule du bulbe olfactif (36,37).

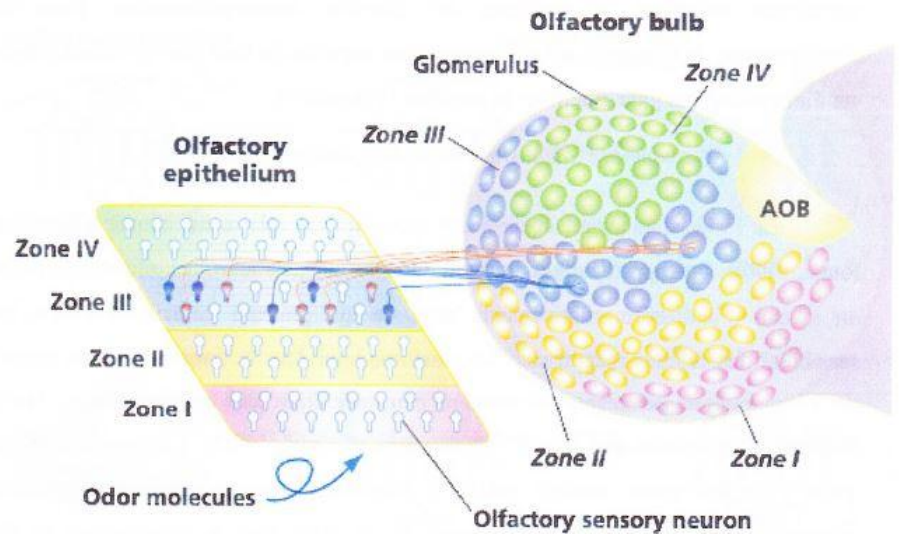

Figure 18 : Les projections régiono-régionales entre l'épithélium olfactif et le bulbe olfactif (1,36)

La seconde couche correspond au bulbe olfactif : le centre olfactif primaire.

Les neurones de second ordre transmettent à leur tour les informations olfactives aux neurones de troisième ordre : les cellules mitrales et les cellules à panache. Ces neurones de troisième ordre communiquent entre eux par des neurones intrinsèques : les cellules granulaires. Les neurones intrinsèques : autant les cellules périglomérulaires que les cellules granulaires, ne forment aucune connexion à l'extérieur des relais, ce qui les différencie des neurones de premier ou de second ordre (35).

Les cellules mitrales et les cellules à panache projettent ensuite leurs axones dans les zones primitives du cortex cérébral : des zones regroupées sous le terme de cortex olfactif. Ce dernier comprend deux voies nerveuses principales. La première voie principale dessert le cortex piriforme. Il reçoit les informations des cellules mitrales et à panache et se projette dans le thalamus médiodorsal qui lui-même se projette vers les aires orbito-frontales médiales et latérales du néocortex. Cette projection dans le néocortex est impliquée dans la perception et la discrimination olfactive. La seconde voie principale se projette dans le système limbique et est responsable des comportements émotionnels (35).

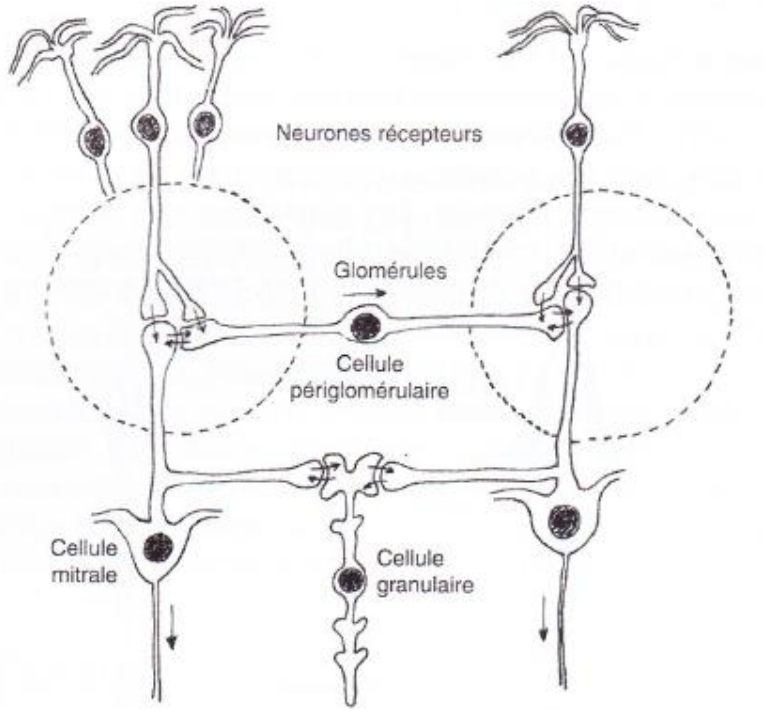

Figure 19 : Un schéma du circuit du bulbe olfactif des vertébrés (35)

a) Le bulbe olfactif : centre olfactif primaire

Les cavités nasales sont innervées par quatre nerfs : le nerf nasal, ethmoïdal, voméro-nasal et olfactif. Le nerf voméro-nasal est issu de la réunion des neurones voméro-nasaux et rejoint le bulbe olfactif accessoire (BOA) : une petite dépendance latérale du bulbe olfactif. Le nerf olfactif fait partie des douze paires de nerfs crâniens et constitue la première paire avec le nerf voméro-nasal (23–25).

Le nerf olfactif est composé de multiples petits filets nerveux issus du rassemblement de l'ensemble des axones des neurones olfactifs de premier ordre, situés au sein de la muqueuse olfactive. Ces filets nerveux permettent d'innerver la muqueuse olfactive à la face ventrale du bulbe olfactif tout en passant à travers la lame criblée de l'os ethmoïde. Cette lame osseuse est perforée de multiples petits trous. Elle sépare la partie postérieure des cavités nasales de la cavité crânienne (23–25).

Le bulbe olfactif est le centre olfactif primaire et correspond au premier relais des voies olfactives. Sa face ventrale est constituée de substance grise qui reçoit les nerfs olfactifs. Cette substance grise est composée de sept couches concentriques riches en connexions synaptiques qui renferment quatre types de cellules nerveuses (23–25).

(1) Les cellules nerveuses du bulbe olfactif

Les cellules mitrales sont les plus gros neurocytes du bulbe olfactif mais aussi les moins nombreux. Leur corps cellulaire est de forme triangulaire dont la pointe se dirige en profondeur et est prolongée par un axone épais qui atteint la substance blanche puis le

pédoncule olfactif tout en émettant des collatérales vers la surface. Leur base donne naissance à une dendrite axiale qui atteint un glomérule. Celle-ci émet également des dendrites allant jusqu'à la surface du bulbe olfactif dans sa couche glomérulaire (23,24).

Les cellules à panache contrairement aux cellules mitrales sont des petits neurocytes mais beaucoup plus nombreux. Leur disposition ressemble à celle des cellules mitrales. Leurs dendrites basales sont en revanche beaucoup plus ramifiées (23).

Les cellules granulaires sont des interneurones très nombreux. Leur corps cellulaire est arrondi avec des dendrites très ramifiées. Ces neurocytes sont dépourvus d'axone et forment des synapses dendro-dendritiques entre les dendrites basales des cellules mitrales et des cellules à panache (23).

Les cellules périglomérulaires sont également des interneurones et permettent la communication entre les glomérules (23).

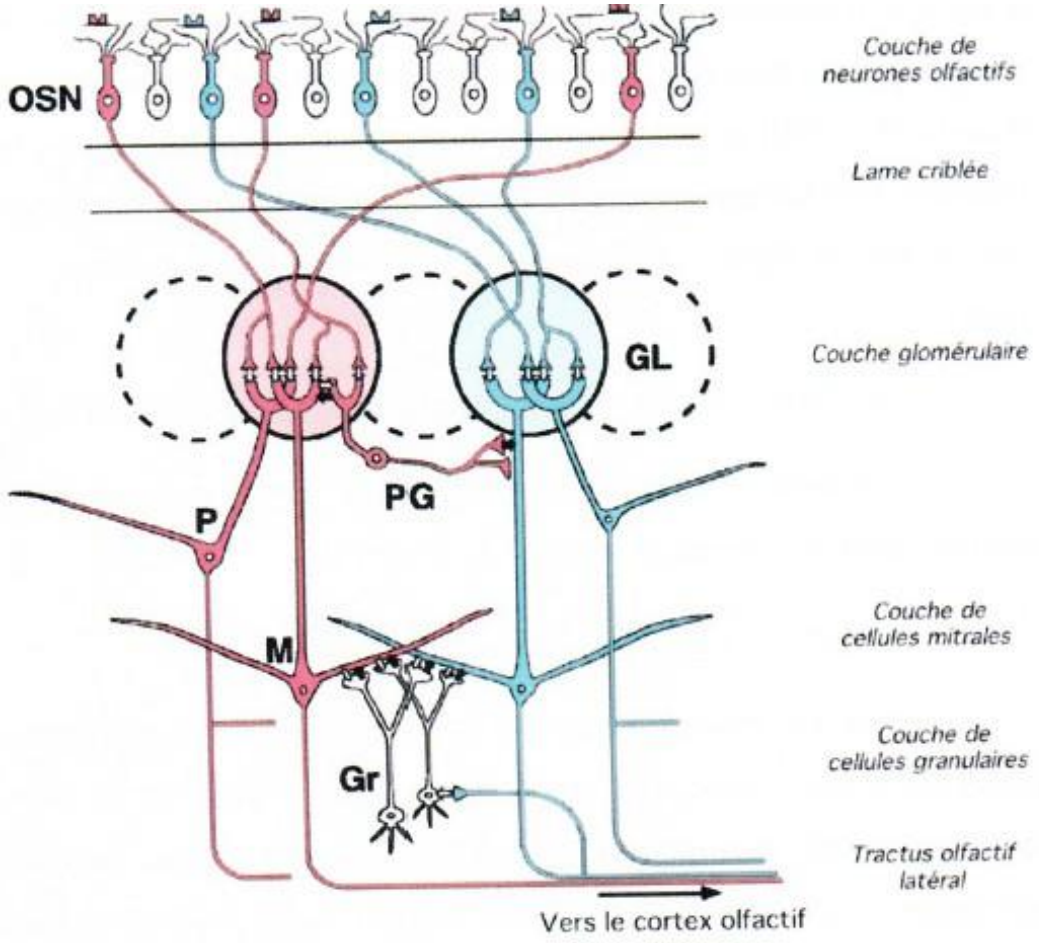

Figure 20 : Un schéma de l'organisation synaptique du bulbe olfactif principal (21)

Légende de la figure 20 : OSN : neurones olfactifs ; GL : glomérule ; PG : cellule périglomérulaire ; P : cellule à panache ; M : cellule mitrale ; Gr : cellule granulaire.

(2) Les sept strates du bulbe olfactif

Le bulbe olfactif est composé de sept couches concentriques. Nous partons de la couche la plus superficielle en allant vers la plus profonde :

- Première couche des fibres olfactives : elle est constituée d'un feutrage des fibres des neurones olfactifs. Elle s'appuie contre la lame criblée de l'os ethmoïde (23–25).
- Couche glomérulaire : Les glomérules olfactifs sont le lieu des connexions synaptiques et d'une extrême convergence entre les axones des neurones olfactifs issus de la muqueuse olfactive et les dendrites des cellules mitrales et à panache. Ces glomérules sont très volumineux et il y en aurait environ 2 000 dans le bulbe olfactif. Les cellules périglomérulaires sont les interneurones permettant une connexion entre les glomérules. Ils participent à leur constitution et sont présents dans cette strate (23,38).
- Couche plexiforme externe : Cette strate est traversée par les dendrites des cellules mitrales, des gros neurocytes du bulbe olfactif mais peu nombreux. Elle renferme les cellules à panache, des neurocytes nombreux mais plus petits comme nous l'avons décrit précédemment (24,25).
- Couche des cellules mitrales : Cette couche est composée des corps cellulaires des cellules mitrales qui épousent une forme triangulaire (24,25).
- Couche plexiforme interne : Après les dendrites puis les corps cellulaires des cellules mitrales et des cellules à panache, c'est dans cette couche que nous retrouvons logiquement leurs axones. Nous pouvons aussi y observer les dendrites des cellules granulaires dont les corps cellulaires se situent dans la couche suivante (23–25).
- Couche des grains : C'est la strate la plus épaisse du bulbe olfactif. Elle renferme les corps cellulaires des cellules granulaires. Ces neurocytes sont dépourvus d'axone et sont les interneurones des cellules mitrales et des cellules à panache. Ils ont un rôle de contrôle par feed-back entre ces cellules (23–25).
- La substance blanche : C'est la septième et dernière couche du bulbe olfactif et donc la plus profonde. Elle se compose presque exclusivement des axones des cellules mitrales et cellules à panache qui s'incurvent afin de rejoindre le pédoncule olfactif (23–25).

Le bulbe olfactif est donc un lieu d'interactions neurocytaires complexes. Nous y observons une haute convergence d'informations sensorielles. C'est le siège de la potentialisation et de la modulation des influx transmis aux centres secondaires (23).

Le bulbe olfactif est composé de deux expansions symétriques et ovalaires situées à la base du cerveau, contre la lame criblée de l'os ethmoïde et la partie rostroventrale du rhinencéphale où se trouvent les centres olfactifs secondaires (23–27).

Le bulbe olfactif se poursuit ensuite par le pédoncule olfactif qui le relie aux centres olfactifs secondaires par l'intermédiaire des tractus olfactifs latéral et médial. Les centres olfactifs secondaires se situent au sein du rhinencéphale et sont : le cortex olfactif, le lobe piriforme et les noyaux amygdaliens. Ces structures secondaires se projettent ensuite sur les centres supérieurs (23–27).

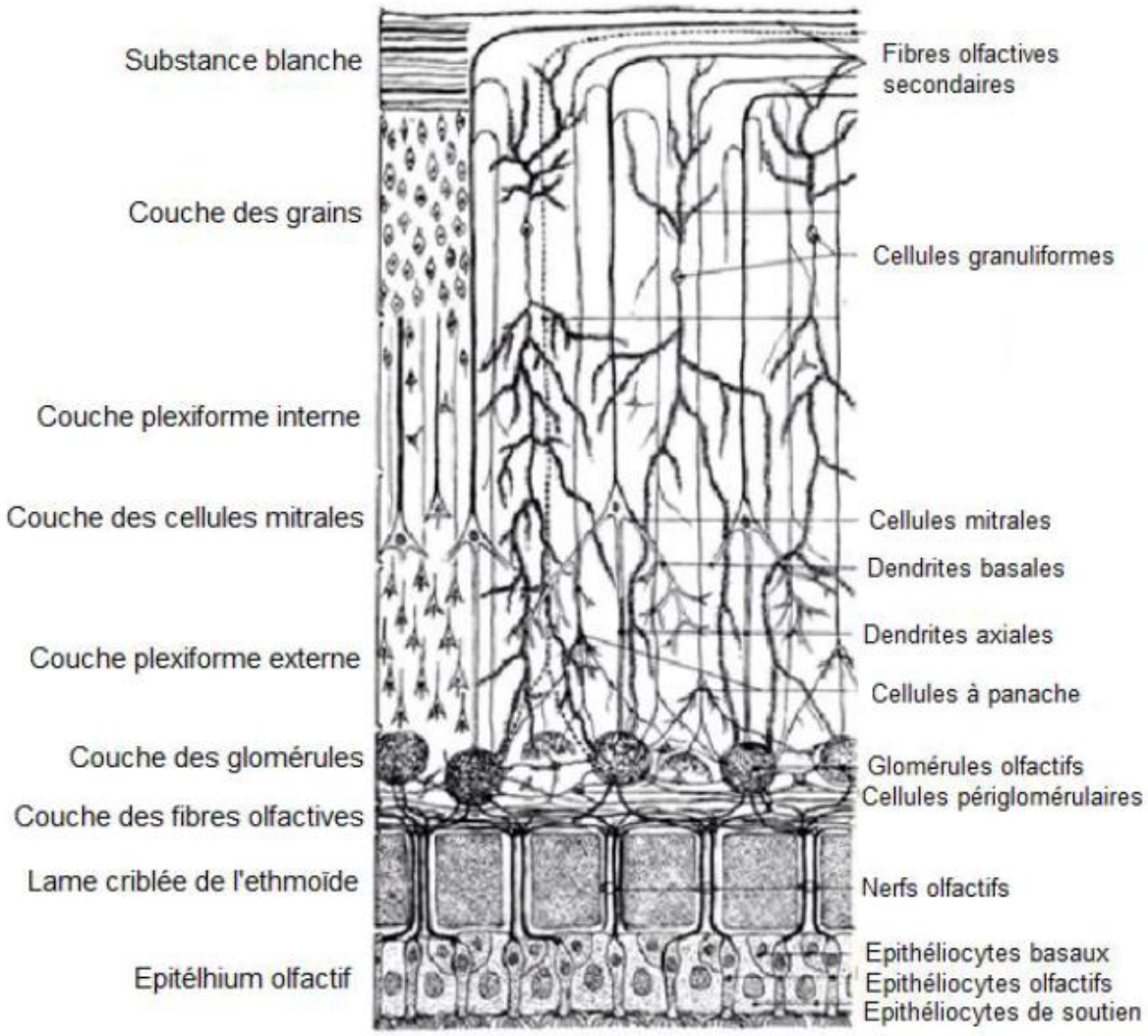

Figure 21 : L'ultrastructure du bulbe olfactif (23)

b) Le bulbe olfactif accessoire

Au même titre que l'organe voméro-nasal (sous-partie II.B.1), il appartient au système olfactif accessoire. Ce bulbe olfactif accessoire (BOA) est le centre olfactif primaire du système olfactif accessoire. C'est dans ce bulbe que convergent les axones des neurones voméro-nasaux (23).

Cette structure ressemble à celle du bulbe olfactif du système olfactif principal mais reste plus primitive. En effet, il n'y a pas de cellules à panache et les cellules mitrales sont plus dispersées. Les axones efférents du BOA passent dans le pédoncule olfactif, comme ceux du bulbe olfactif (23).

7. Les centres olfactifs secondaires

Le bulbe olfactif se poursuit donc par le pédoncule olfactif : un important faisceau qui donne les tractus olfactifs latéral et médial. Ce pédoncule est composé des axones des cellules mitrales et des cellules à panache qui sont les neurones olfactifs de troisième ordre. Une partie de ces axones efférents rejoignent les centres olfactifs secondaires et une autre partie donne lieu à des collatérales (23–25).

D'avant en arrière, les centres secondaires sont : le noyau olfactif antérieur (NOA), et plusieurs régions du cortex olfactif dont le tubercule olfactif (TO), le cortex prépiriforme (CP), le noyau du tractus olfactif latéral, le noyau cortical de l'amygdale puis le cortex entorhinal latéral (CEL) également nommé cortex piriforme (23).

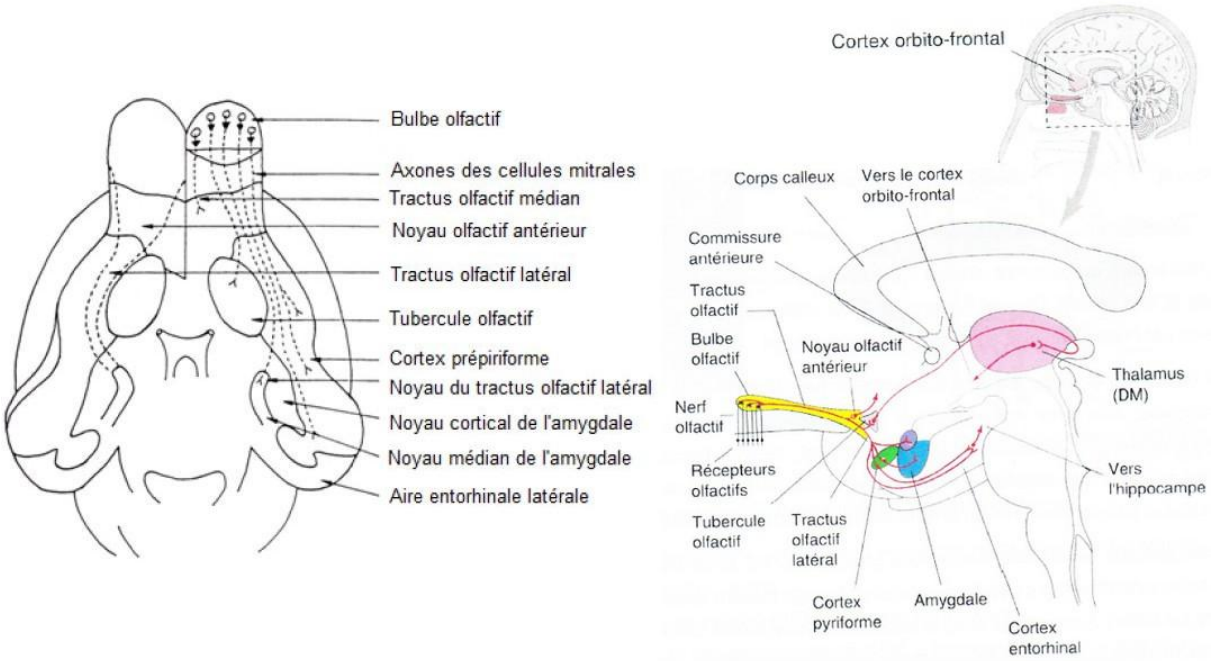

Figure 22 : Les voies centrales et les centres nerveux de l'olfaction (21,24,39)

8. Les centres olfactifs supérieurs

Les centres secondaires se projettent sur les centres supérieurs. En particulier au niveau du néocortex, sur le système limbique ainsi qu'au niveau du diencéphale avec un relais thalamique ou hypothalamique.

Le système limbique est entre autres composé de l'hippocampe et de l'amygdale. L'hippocampe est responsable de la mémoire à long terme et relié aux centres secondaires par le cortex entorhinal. L'amygdale est connectée au cortex olfactif grâce à ses noyaux corticomédians et se projette au niveau de l'hypothalamus. L'amygdale parfois appelée « cerveau émotionnel », gère les émotions dans les processus d'apprentissage. Nous comprenons alors que les odeurs peuvent être reliées à des souvenirs et solliciter des émotions (23,35).

B. Le système olfactif « accessoire »

Il est reconnu depuis fort longtemps que des substances nommées phéromones interviennent dans la communication inter-individuelle au sein d'une même espèce. Elles véhiculent de nombreuses informations : le sexe, le statut de reproduction, les comportements sexuels et sociaux et impactent le comportement et la physiologie du destinataire. La communication par les phéromones est principalement assurée par un second système olfactif dit « accessoire ». Le plus connu est l'organe voméro-nasal. Deux autres systèmes en font également partie : l'organe septal de Masera et le ganglion de Grueneberg (21,40).

En se basant sur des critères morphologiques ou topographiques, nous pouvons diviser les senseurs olfactifs en 4 neuroépithéliums : l'épithélium du système olfactif principal, l'épithélium de l'organe voméro-nasal, l'épithélium de l'organe septal de Masera et l'épithélium de l'organe de Grueneberg. Ces épithéliums représentent des simples variations morphologiques de structures spécialisées dans la perception de molécules de natures chimiques différentes et non des entités dévolues à une fonction spécifique, sinon celle d'évaluer le monde chimique environnant. Il serait sûrement plus judicieux de diviser le système olfactif en populations neuronales sans considérer leur appartenance à un organe olfactif principal ou secondaire (41).

1. L'organe voméro-nasal ou l'organe de Jacobson (41)

Cet organe en forme de croissant est situé juste au-dessus du palais, derrière les incisives, à la base du septum nasal et permet la reconnaissance des phéromones. Il est donc séparé de l'épithélium olfactif « principal ».

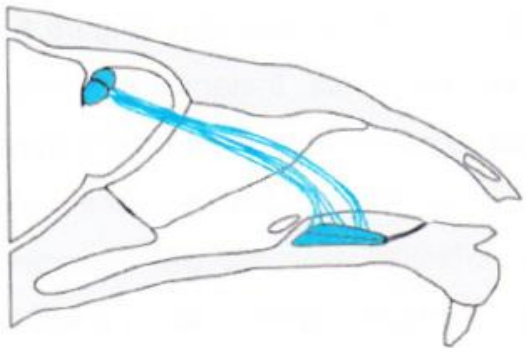

Figure 23 : Une coupe sagittale d'une tête de rongeur représentant le système voméro-nasal et le bulbe olfactif accessoire (21)

a) La morphologie de l'organe voméro-nasal

Si l'organe voméro-nasal fut observé initialement en 1703 par l'anatomiste et médecin néerlandais Frederik Ruysch. Il a surtout été (re)découvert par le danois Ludvig Jacobson en 1813 d'où son autre appellation « organe de Jacobson » (41).

L'organe voméro-nasal est un organe bilatéral, séparé par la cloison nasale. Il est présent chez les reptiles et les mammifères mais est absent chez les poissons. La morphologie et la taille du circuit voméro-nasal diffèrent selon les espèces considérées. La taille peut atteindre jusqu'à 10 cm chez l'éléphant comme être inférieure à 2 mm chez les plus petits mammifères. Chez un chien de taille moyenne, le circuit voméro-nasal est de 4 cm environ (41).

L'organe voméro-nasal se constitue d'un conduit ouvert en son centre. Nous distinguons deux conduits : le conduit voméro-nasal et le conduit incisif. Ce dernier constitue la portion antérieure du circuit et s'ouvre sur l'extérieur via un canal étroit effectuant le lien entre le monde extérieur et l'organe voméro-nasal. Cette ouverture débouche soit dans la cavité nasale ou alors dans la cavité buccale selon l'espèce, voire même parfois dans ces 2 cavités. La partie postérieure du tube en revanche est close et correspond au conduit voméro-nasal. Ce conduit est pair et situé dans le plancher de la cavité nasale. Sa face latérale est creuse tandis que sa face médiale est convexe, lui conférant ainsi un aspect général de croissant en coupe transversale (41).

L'organe voméro-nasal est protégé par une capsule cartilagineuse située à la base du septum nasal. Ce cartilage est constitué de deux feuillets entre lesquels passent les vaisseaux et les nerfs voméro-nasaux (41)

b) Les neurones et les récepteurs voméro-nasaux

Le conduit voméro-nasal est tapissé d'un épithélium pseudo-stratifié, constitué de trois types cellulaires identiques à l'épithélium olfactif : les cellules neurosensorielles qui sont les neurones voméro-nasaux, les cellules de soutien et les cellules basales. Les neurones voméro-nasaux sont bipolaires. Chaque neurone projette dans la lumière voméro-nasale une dendrite qui se termine par une structure spécialisée constituée d'une multitude de microvillosités baignant dans le mucus voméro-nasal. Nous retrouvons dans cet épithélium des cellules de soutien ainsi que des cellules progénitrices qui renouvellent les neurones sensoriels : des cellules basales (41).

Nous pouvons distinguer trois types de récepteurs exprimés par les neurones sensoriels de l'organe voméro-nasal. Ces récepteurs voméro-nasaux ont longtemps été appelés récepteurs aux phéromones par opposition aux récepteurs à odorants du système olfactif principal (41).

Le premier type de récepteurs est la famille des récepteurs V1r. Ils sont caractérisés par un segment N-terminal extracellulaire court. Seuls les neurones localisés dans la partie apicale du neuroépithélium voméro-nasal expriment ce type de récepteur. Cette famille est retrouvée chez la majorité des espèces de vertébrés. Le répertoire V1r fonctionnel est plus ou moins réduit selon les espèces. Nous retrouvons par exemple seulement sept récepteurs V1r chez le chien et encore moins chez l'homme. Mais d'autres espèces en revanche

possèdent un répertoire V1r extrêmement important : c'est le cas des opossums qui possèdent 450 gènes V1r (41).

Le second type de récepteurs est le groupe des récepteurs V2r. Leur segment N-terminal est long et leurs séquences sont proches de celles des récepteurs à calcium. Ces récepteurs sont exprimés par les neurones basaux de l'épithélium voméro-nasal. Comme les gènes de type V1r, le répertoire génique des récepteurs V2r présente une grande variabilité de séquences dans une même espèce mais surtout entre les espèces (41).

Le troisième type de récepteurs est représenté par les récepteurs à peptide formylé (FPR). Ces récepteurs sont présents chez tous les mammifères et consistent en cinq gènes exprimés exclusivement dans l'épithélium voméro-nasal (41).

Certains gènes codant pour des récepteurs olfactifs du système principal sont transcrits et présents dans le neuroépithélium de l'organe voméro-nasal. Ils peuvent être considérés comme un quatrième type de récepteurs utilisés par le système voméro-nasal (41).

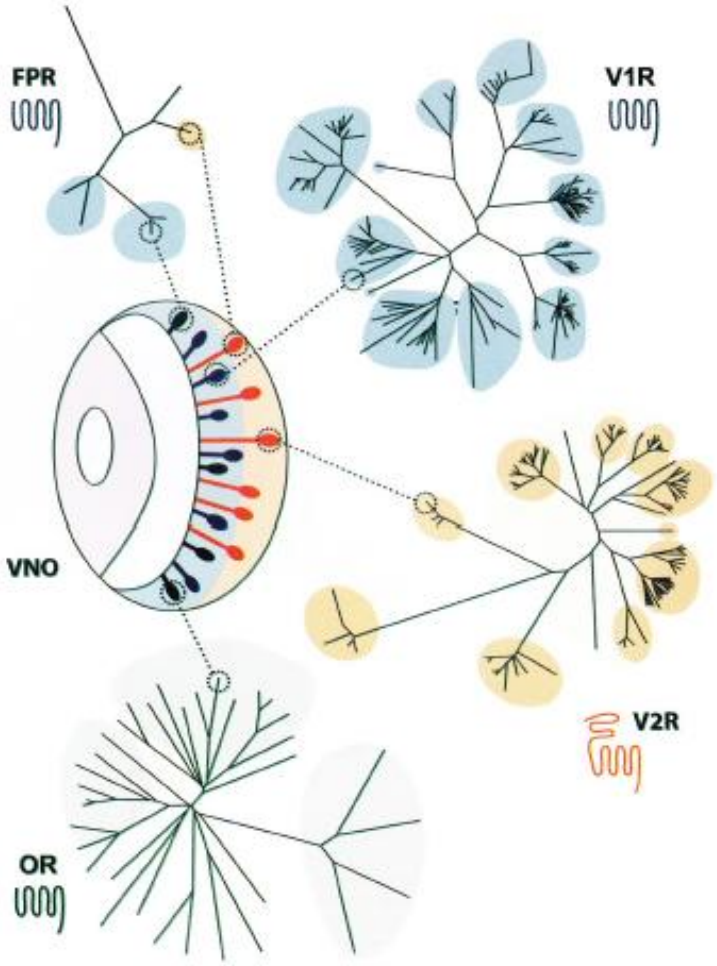

Figure 24 : Les récepteurs voméro-nasaux chez la souris (41)

c) Les projections voméro-nasales

Si les neurones de l'épithélium olfactif envoient leurs axones qui forment le nerf olfactif dans le bulbe olfactif principal, les neurones voméro-nasaux quant à eux envoient leurs projections axonales qui constituent le nerf voméro-nasal vers le bulbe olfactif accessoire (BOA) (41).

Afin de traiter les informations olfactives, le système olfactif rassemble les neurones de nature identique et fait converger les axones des neurones exprimant un même type de récepteurs. Une population de 300 à 800 neurones exprimant un récepteur de type V1r ou V2r se projettent vers 15 à 40 sites de convergence appelés glomérules dans le BOA (41).

Bien que les mécanismes de cette convergence ne soient pas totalement élucidés et la position des glomérules dans le bulbe olfactif accessoire pas entièrement définie, les zones de projection semblent être corrélées avec les types neuronaux présents dans le neuroépithélium. Les neurones apicaux V1r et basaux V2r se projettent respectivement dans les parties antérieures et postérieures du bulbe olfactif accessoire. Nous observons dans ces régions antérieures et postérieures des microdomaines formés par les neurones exprimant les sous-familles de récepteurs voméro-nasaux correspondants. Ces neurones primaires sont connectés au niveau des glomérules à des neurones secondaires appelés cellules mitrales. Les projections du bulbe olfactif accessoire atteignent ensuite l'amygdale médiane et la partie postéromédiane de l'amygdale corticale. Le circuit est ensuite connecté à l'hypothalamus (41).

d) La transduction du signal

Tous les récepteurs olfactifs (sauf quelques rares exceptions) appartiennent à la superfamille des protéines couplées à la protéine G. C'est le cas des récepteurs voméro-nasaux. En revanche, la cascade de transduction du signal de l'organe voméro-nasal diffère de celle du système olfactif principal (41).

La nature des sous-unités des protéines G de l'organe voméro-nasal varie en fonction du type de chimiorécepteur exprimé. Les neurones de l'organe voméro-nasal répondent aux stimulations phéromonales par une activation de la phospholipase C. Cette enzyme génère la production d'inositol 1,4,5-triphosphate et du messager lipidique diacylglycérol qui déclenche l'ouverture de canaux cationiques perméables au Ca^{2+}. Contrairement aux neurones olfactifs du système principal, les neurones voméro-nasaux n'utilisent pas la voie de l'adénylate cyclase (AC) et son second messager l'adénosine 3',5'-monophosphate cyclique (AMPc) (41).

e) Les rôles de l'organe voméro-nasal (41)

Le système olfactif principal a longtemps été considéré comme le système exclusif de l'apprentissage et de la perception des odeurs. Parallèlement, l'organe voméro-nasal était

perçu comme l'organe exclusif de la perception des phéromones et donc responsable des comportements stéréotypés. Mais l'organe voméro-nasal ne se limite pas seulement à ce rôle (41).

L'un des rôles majeurs du système voméro-nasal concerne les comportements liés à l'activité sexuelle. Il a été démontré que lorsque les animaux sont dépourvus de l'organe voméro-nasal : ils deviennent sexuellement moins actifs. De plus, la délétion d'une grande partie des sous-familles des récepteurs V1ra et V2rb entraîne chez les espèces mutantes : une diminution de l'activité sexuelle des mâles envers les femelles ainsi qu'un apprentissage déficient de son activité (41).

Parallèlement à ce rôle sexuel, l'organe est impliqué dans les interactions entre une proie et un prédateur. Le prédateur produit certaines protéines majeures dans son urine, dites *major urinary proteins* (MUP) qui induisent une réaction défensive chez la proie. Son émission ne favorise donc pas l'émetteur mais le receveur (41).

Le système voméro-nasal intervient également dans les relations entre la femelle et sa progéniture. Les femelles lactantes deviennent plus agressives envers les intrus alors qu'elles ne le sont pas habituellement en dehors de cette période. Cette agressivité est fortement diminuée lors d'une lésion physique ou génétique du système voméro-nasal. En réalité, beaucoup de comportements et de relations entre une femelle et sa progéniture sont impactés lors d'une lésion de l'organe voméro-nasal (41).

L'organe voméro-nasal joue donc au minimum trois rôles majeurs : l'activité sexuelle avec la reproduction, les réactions face à un prédateur et les interactions entre mère et petit (41).

f) Les phéromones : des molécules hautement spécifiques (42)

D'après la définition proposée par Karlson et Luscher en 1959, une phéromone est une substance (ou un mélange de substances) qui, après avoir été sécrétée à l'extérieur par un individu (l'émetteur), est perçue par un autre individu de la même espèce (le récepteur) chez lequel elle provoque une ou plusieurs réactions spécifiques. Ces réactions entraînent généralement une réponse hormonale et/ou émotionnelle responsable d'une modification comportementale. De façon schématique, un émetteur émet une ou des substances perçue(s) par un récepteur, responsable(s) d'une ou de plusieurs réaction(s) spécifique(s) (42).

Cette communication est présente chez les organismes très primitifs puis elle s'est complexifiée au fur et à mesure de l'évolution avec la diversification des organismes et de leurs appareils sensoriels. La transduction des signaux phéromonaux est conservée depuis les organismes unicellulaires comme les levures jusqu'aux mammifères. Elle est permise par des récepteurs olfactifs à sept domaines transmembranaires couplés à des protéines G (RCPG) (42).

Les phéromones ne sont pas des odeurs proprement dites car elles n'ont pas besoin d'être odorantes tant que le signal est une substance chimique échangée entre deux individus. Deux caractéristiques essentielles de la communication phéromonale sont la spécificité et leur caractère ubiquitaire. La spécificité signifie que chaque espèce a développé son propre système basé sur des comportements spécifiques. Si une même molécule peut être utilisée par plusieurs espèces, elle peut correspondre à des significations différentes selon l'espèce considérée. Le bouquet phéromonal final est composé d'un mélange de substances dans des proportions bien définies et stables au sein d'une espèce ce qui lui confère une grande spécificité. Il n'existe donc pas d'espèce modèle pour la communication phéromonale. La structure chimique des phéromones est complexe et variable selon le type de comportement auquel elle est associée (42).

(1) La perception des phéromones

Si les molécules odorantes sont perçues passivement par le phénomène de la respiration, ce dernier ne permet quasiment pas la détection des phéromones. L'accès des phéromones aux neurones sensoriels voméro-nasaux est très différent de celui utilisé par les substances odorantes pour atteindre les neurones sensoriels du système olfactif principal. Cet accès est permis par une opération active, permettant de s'affranchir d'une condition limitante qui affecte le système olfactif principal : la volatilité et donc la taille des molécules. Des molécules très lourdes peuvent être analysées par le système voméro-nasal contrairement au système olfactif principal. Il existe des phéromones de haut poids moléculaire : des sesquiterpènes, des stéroïdes, des hydrocarbures, des peptides ainsi que des protéines. Celles-ci sont non volatiles et échangées par un contact direct ou à une faible distance. Mais les phéromones permettent aussi la communication à de longues distances et dans ce cas, leur poids moléculaire sera plus faible afin d'être volatiles et transportées par voie aérienne (42).

Deux auteurs décrivent différemment la perception des phéromones par les chiens. Pour l'auteur Pageat, le chien réalise un comportement de Flehmen qui consiste à relever les babines supérieures afin de découvrir le méat incisif. Mais pour l'auteur Sherman Simpson, le chien effectue plutôt un comportement de « tonguing » : il halète et donne des petits coups de langue rapides et répétés contre la papille incisive du méat incisif pour transférer les phéromones à l'organe voméro-nasal (42).

Une fois transférées à l'organe voméro-nasal, les phéromones sont dissoutes dans le mucus voméro-nasal. Afin d'être correctement dissoutes dans ce mucus, les phéromones possèdent des groupements hydrophobes, car le mucus contient des protéines de liaisons spécifiques aux phéromones, les PBP « *pheromon-binding-proteins* » ayant une très forte affinité pour les molécules hydrophobes. Nous pouvons assimiler le rôle et la structure des PBP à ceux des OBP retrouvées dans le mucus des cavités nasales (sous-partie II.C.1.c) (42).

(2) La synthèse des phéromones

Les phéromones sont sécrétées par plusieurs fluides biologiques : les larmes, la salive, l'urine, le lait, la sueur, *etc*. Elles sont généralement synthétisées sous le contrôle hormonal et leur concentration peut varier au sein d'un même fluide selon le stade physiologique de l'individu émetteur/émettrice (42).

Bien qu'elles soient volatiles, les phéromones sécrétées dans l'urine ne sont pas directement libres dans l'urine. Elles sont liées aux MUP « *major urinary proteins* » ou protéines urinaires majeures, une famille de protéines synthétisées par le foie. Ces protéines appartiennent à la grande famille des lipocalines et leur structure est constituée de huit feuillets beta ce qui leur donne une forme de tonneau ouvert avec aux extrémités des hélices alpha. La poche ainsi formée permet de fixer des ligands tels que les phéromones avec une haute affinité. Ces MUP ont un rôle de stabilisateur des phéromones. Elles les libèrent lentement et progressivement permettant une longévité du marquage dans le temps et l'espace. Les MUP sont constituées d'une trentaine de gènes homologues situés sur le chromosome 4 avec un important polymorphisme génétique. Ce polymorphisme permet une signature individuelle et précise de l'animal émetteur. Cette identité est ainsi décodée par l'intermédiaire de l'organe voméro-nasal de l'animal récepteur (43–45).

(3) Les phéromones et la communication

Les mammifères possèdent donc un système olfactif général et un organe voméro-nasal (VNO) et il est admis que les phéromones agissent par l'intermédiaire du système voméro-nasal. Les chiens communiquent donc entre eux grâce aux phéromones par l'intermédiaire de l'organe voméro-nasal. Cet organe est dégénéré chez l'homme. Nous avons longtemps cru que les phéromones humaines n'existaient pas, mais des études ont démontré qu'elles existent bien chez l'homme et peuvent intervenir dans nos comportements sexuels (42).

Il est également démontré que les odeurs corporelles influencent notre comportement et notre physiologie. Elles varient selon notre état émotionnel et résultent des interactions entre les produits des glandes cutanées et de la microflore bactérienne locale. Les odeurs les mieux étudiées sont celles des stéroïdes des sécrétions axillaires dont la quantité est cinquante fois plus importante chez l'homme que chez la femme. L'androstènedione est transformée par les bactéries locales en androsténone et androsténol. La perception de l'androsténone est dépendante du sexe. En effet, les femmes sont capables de la détecter à dose faible mais plus ou moins bien selon leur cycle menstruel. Cette odeur est perçue comme positive et agréable en période d'ovulation mais au contraire, perçue comme désagréable, plus intense et plus animale en dehors de cette période. Ce phénomène n'est cependant pas observé chez les femmes sous contraception (42).

Mais les phéromones n'occupent qu'un rôle anecdotique chez l'homme car nous choisissons plutôt notre partenaire selon d'autres facteurs : socioculturels et psychologiques qui laissent peu de place à l'attraction par des signaux chimiques. Ceci explique que notre organe voméro-nasal soit resté présent mais est atrophié. Mis à part l'homme, les mammifères ont

donc développé des systèmes de communication faisant intervenir l'odorat, de plus en plus sophistiqués au cours de l'évolution. Nous comprenons donc pourquoi leurs capacités olfactives sont très développées : leur rôle n'est pas seulement olfactif mais aussi communicatif. Ceci explique que notre odorat soit considérablement réduit, puisque nous avons privilégié la parole comme moyen de communication au détriment de l'odorat (42).

2. L'organe septal de Masera

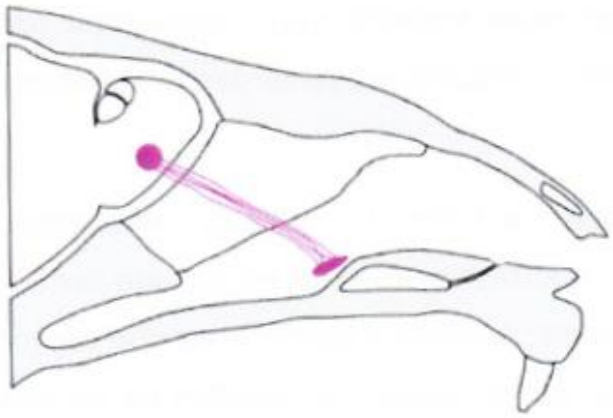

Figure 25 : Une coupe sagittale d'une tête de rongeur représentant l'organe septal de Masera (21)

En plus de la muqueuse olfactive et de l'organe voméro-nasal, certains mammifères possèdent un épithélium sensoriel supplémentaire et séparé de l'épithélium olfactif principal : « l'organe septal de Masera » (21).

L'organe septal de Masera (OS) est observé pour la première fois en 1921 par Broman puis plus précisément décrit par Rodolfo-Masera en 1943 d'où son appellation. Nous retrouvons cet organe dans les cavités nasales de nombreuses espèces de mammifères. Cet organe est bilatéral et situé à la base de la cloison nasale. Il correspond à une petite zone d'épithélium olfactif distincte de l'épithélium olfactif principal (46).

L'épithélium olfactif de l'organe septal est organisé de façon semblable à celle de l'épithélium olfactif principal. Sa structure est cependant moins développée avec un nombre moindre de couches de neurones olfactifs. Les neurones olfactifs septaux ont un corps cellulaire plus ramassé avec des dendrites plus courtes et des boutons dendritiques plus larges que ceux des neurones olfactifs principaux. L'organe septal de Masera correspond à une variabilité morphologique des neurones récepteurs olfactifs (46).

La majorité des neurones olfactifs de l'organe septal exprime les protéines de la cascade de transduction dite « classique » de l'épithélium olfactif principal, c'est-à-dire la protéine G de type *Golf* ainsi que l'adénylate cyclase (AC) de type III puis l'adénosine monophosphate cyclique (AMPc). Plus de 120 récepteurs exprimés par les neurones olfactifs septaux ont été identifiés (46).

Les neurones de l'organe septal se projettent dans le bulbe olfactif principal, comme les neurones olfactifs principaux. Quelques glomérules appelés « glomérules septaux » situés

dans les parties postérieure et ventromédiane du bulbe reçoivent exclusivement des axones issus des neurones de l'organe septal (46).

Des chercheurs ont démontré que l'organe septal répond aux molécules odorantes avec une sensibilité plus élevée et est donc réceptif à des concentrations d'odeurs plus faibles que l'organe olfactif principal. Les neurones olfactifs de l'organe septal ont un spectre très large de réponse aux molécules odorantes. Les scientifiques émettent l'hypothèse que l'organe septal aurait un rôle essentiellement d'alerte de la présence d'odeurs pour l'organisme laissant le rôle de la discrimination des odeurs au système olfactif principal (46).

3. Le ganglion de Grueneberg (46)

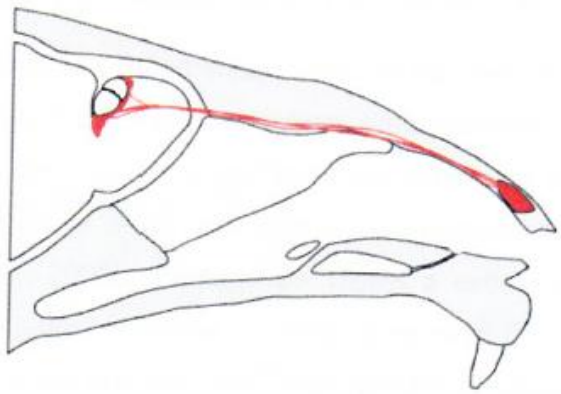

Figure 26 : Une coupe sagittale d'une tête de rongeur représentant le ganglion de Grueneberg (21)

En 1973, Grueneberg met en évidence un amas particulier de cellules dans la partie antérieure des cavités nasales, qui fut depuis appelé ganglion de Grueneberg : GG (*ou Gruneberg suivant les sources*). Ces cellules semblent être très différentes des neurones olfactifs « classiques ». Elles sont ovales et accolées entre elles en forme de grappes. Elles ne sont pas directement en contact avec les cavités nasales mais entourées par un tissu connectif composé de cellules gliales (46).

Les neurones du GG présentent des cils courts insérés directement sur le corps cellulaire et sans accès direct à l'environnement, ce qui est totalement différent des neurones olfactifs principaux. Très peu de neurones du GG expriment les mêmes récepteurs que les neurones olfactifs principaux. Ces derniers expriment l'adénylate cyclase de type III, signe de similarité fonctionnelle avec les neurones olfactifs principaux. L'autre grande partie des neurones du ganglion de Grueneberg exprime un récepteur typique de l'organe voméro-nasal : le récepteur V2r83 de la famille des récepteurs V2r-c (46).

Les chercheurs affirment que le ganglion de Grueneberg est impliqué dans la perception olfactive. Les neurones du GG projettent un prolongement qui traverse la lame criblée de l'os ethmoïde, longe la partie dorsale du bulbe olfactif et vient innerver quelques glomérules. Ces glomérules reçoivent des neurones impliqués dans les interactions mère-petit. Il est également démontré que ces neurones répondent à des phéromones d'alarme. L'activation de ces neurones peut être amplifiée par des modifications thermiques (46–48).

4. La sensibilité trigéminale

L'information sensorielle trigéminale vient compléter nos sensations olfactives et gustatives grâce à des capteurs périphériques sensibles aux informations tactiles et thermiques. Ces capteurs sont notamment présents dans les cavités nasales afin d'obtenir une perception globale d'une « odeur ». Ceci s'explique par des exemples simples et concrets. Lors d'une inspiration de menthol, l'odeur mentholée est induite par l'action des neurones de l'épithélium olfactif principal. Si seuls ces neurones étaient activés, nous obtiendrions uniquement une odeur mentholée mais sans la sensation de froid. Cette sensation de froid est permise par l'activation des fibres trigéminales nasales sensibles à la diminution de température. C'est l'intégration de l'ensemble des signaux qui nous donne l'illusion de percevoir une « odeur fraîche ». Ce même mécanisme se retrouve avec les sensations chaudes et piquantes lorsque nous percevons l'odeur de moutarde, activant les fibres trigéminales sensibles à une augmentation de température (49).

Ces sensations induites par les fibres trigéminales peuvent être thermiques (chaud ou froid) ou tactiles (piquer, picoter, *etc.*). Elles complètent l'odorat et le goût. Ces fibres appartiennent à la cinquième paire de nerfs crâniens. Elles sont la formation d'une composante motrice qui anime les muscles masticateurs et d'une composante sensorielle dont les neurones se situent dans le ganglion de Gasser (49).

Le tableau 1 résume l'ensemble des propriétés des différents organes olfactifs avec comme point de comparaison l'épithélium olfactif principal.

Tableau 1 : Résumé des caractéristiques de l'organe septal de Masera et du ganglion de Grueneberg avec les données de l'épithélium olfactif principal pour comparaison (46)

	Organe septal de Masera	Ganglion de Grueneberg	Epithélium olfactif principal
Surface totale	≈ 0,2 mm²	Volume en forme de flèche, longueur ≈ 1 000µm	≈ 200 cm²
Nombre de neurones olfactifs	≈ 20 000	Quelques centaines 700 à 900	≈ 200 millions
Récepteurs exprimés	≈ 120, dont 10 principaux	Récepteur V2r83 ++ / rares récepteurs olfactifs type MOR	Plusieurs centaines de RO différents (1 000)
Sensibles aux stimuli	Stimuli mécaniques Odorants : odeurs générales mais pas de phéromones	Stimuli thermiques (↓ T°C) Odorants : phéromones d'alarme, quelques odorants	Odeurs générales, phéromones, stimuli mécaniques, +/- autres ?
Types cellulaires	Neurones olfactifs bipolaires, cellules de soutien, cellules basales, glandes de Bowman	Neurones olfactifs non conventionnels, cellules gliales	Neurones olfactifs bipolaires, cellules de soutien, cellules basales, glandes de Bowman
Projections dans le bulbe	Bulbe olfactif principal « glomérules septaux »	Bulbe olfactif principal	Bulbe olfactif principal

C. La physiologie de l'olfaction

En 1991, Linda Buck et Richard Axel découvrent la famille des gènes codant pour les récepteurs olfactifs. Les recherches concernant les étapes de la perception et de l'intégration des odeurs connaissent alors un regain d'intérêt. Cette découverte est révolutionnaire pour la compréhension de l'olfaction et leur permet d'obtenir le Prix Nobel de Physiologie et de Médecine en 2004. C'est la plus grande famille de gènes connue à ce jour (50,51).

Les trois catégories de sensations que sont les saveurs avec le goût, les odeurs avec l'odorat ainsi que les sensations trigéminales qui viennent les compléter : relèvent toutes de ce que nous appelons la sensibilité chimique, car elles se rapportent à des propriétés moléculaires des stimuli. Cette sensibilité dite chimique vient s'opposer aux sensibilités qui mettent en jeu des propriétés physiques comme le toucher ou la vue. L'odorat est donc un sens chimique car il fait intervenir des molécules olfactives qui créent un stimulus olfactif (25,50,52,53).

Le processus de la perception chimiosensorielle olfactive comporte globalement trois étapes séquentiellement impliquées dans la formation de l'image olfactive : la détection, la transduction et l'intégration des signaux olfactifs, étapes que nous détaillerons dans cette partie.

Le système olfactif du chien est très performant. Le chien est capable de déceler une odeur et de l'analyser à partir d'une très faible concentration de molécules odorantes. L'information olfactive est un influx nerveux qui démarre par une stimulation des récepteurs olfactifs situés dans les cavités nasales et est transmis jusqu'au cortex olfactif (28).

1. De la molécule odorante au stimulus olfactif

a) La molécule odorante

Les propriétés sensorielles sont permises par l'activation des systèmes chimiosensoriels cibles des molécules et avant tout par l'accès de ces molécules à leurs détecteurs. Pour cela, ces substances doivent posséder certaines propriétés physico-chimiques déterminées et spécifiques suivant le système sensoriel cible (52).

Pour l'olfaction, les molécules odorantes sont le stimulus déclenchant (voire les phéromones si nous considérons l'organe voméro-nasal). Celles-ci doivent être volatiles, entrer en contact avec la muqueuse olfactive et posséder un pouvoir odorant. Si l'une de ces trois conditions n'est pas respectée, aucun stimulus n'est perçu (28,54).

Une première condition indispensable est la volatilité des molécules odorantes. La volatilité d'une substance correspond à sa capacité à se concentrer en phase gazeuse. C'est cette propriété qui permet aux molécules odorantes d'être véhiculées par le courant aérien inspiratoire ou expiratoire et ainsi d'atteindre les récepteurs olfactifs situés dans les cavités

nasales. La volatilité des molécules augmente en fonction de leur concentration dans un produit (23,24,28,52).

Le poids moléculaire est un autre facteur dont dépend la volatilité des molécules, souvent compris entre 17 et 300 daltons et avec des masses molaires qui s'étendent de 30g/mol à 400g/mol. La plupart des molécules odorantes sont des petites molécules dont la masse molaire est plutôt comprise entre 120g/mol et 200g/mol (24,52).

Pour une concentration donnée en molécules odorantes, l'intensité de la stimulation olfactive subit l'influence du courant aérien. Le débit du courant aérien et la concentration des molécules odorantes volatiles déterminent le nombre de molécules par unité de temps qui atteignent la muqueuse olfactive. De plus, la vitesse du courant aérien modifie qualitativement la perception olfactive. Elle va favoriser la fixation des molécules fortement solubles mais diminuer le temps de contact molécule-mucus, et donc la pénétration des molécules faiblement solubles. En résumé, le niveau de stimulation est donc fonction du nombre de molécules atteignant la muqueuse olfactive par unité de temps ; la vitesse du courant d'air (28).

Les molécules odorantes sont aussi caractérisées par leur pouvoir odorant, qui dépend de leurs propriétés physico-chimiques. Nous parlons alors d'odorité qui est l'aptitude d'un corps à émettre une odeur. La volatilité et l'odorité sont deux notions distinctes à ne pas associer systématiquement. En effet, une molécule odorante peut être très volatile sans pour autant posséder un fort pouvoir odorant. Nous pouvons donc rencontrer des molécules volatiles qui possèdent un faible pouvoir odorant et inversement : des molécules ayant un fort pouvoir odorant mais une faible volatilité. Certaines substances sont des odorants potentiels mais jugées inodores car elles ne sont pas suffisamment volatiles à température ambiante. Afin d'atteindre les récepteurs olfactifs, il est donc indispensable que les particules odorantes soient volatiles à une température ambiante (23,24,28).

Le pouvoir odorant d'une molécule n'est donc pas synonyme de l'intensité de son odeur, mais de sa capacité à générer une odeur. C'est une des conditions indispensables pour qu'une molécule soit odorante. L'odorité conditionne la capacité à stimuler les récepteurs olfactifs. Afin qu'une molécule présente une odeur, il faut donc qu'elle ait un pouvoir odorant et qu'elle soit volatile : c'est-à-dire en concentration suffisante en phase gazeuse (24,55).

Une dernière condition indispensable afin de déclencher un stimulus olfactif est l'entrée en contact des molécules odorantes avec la muqueuse olfactive. C'est ici que résident les récepteurs olfactifs qui sont à la base de la transmission du signal olfactif jusqu'aux centres supérieurs. Pour satisfaire cette condition, les substances doivent être suffisamment hydrophobes. Cette hydrophobie permet la dissolution des corps odorants dans le mucus (grâce aux OBP) des cavités nasales où baignent les cils olfactifs porteurs des récepteurs olfactifs. Il a été observé que la plupart des substances odorantes possèdent des chaînes carbonées de 5 à 12 carbones, leur conférant une certaine hydrophobie. Le caractère hydrophobe ou hydrosoluble d'une substance est reflété par la valeur du coefficient de

partage octanol dans l'eau. Ce coefficient de partage d'un composé correspond au logarithme du rapport entre la concentration à l'équilibre d'une substance dans l'octanol et la concentration à l'équilibre de cette même substance dans l'eau : c'est le Log (P). Magnen J. et Laffort P. ont notamment publié que le coefficient de partage air-eau de chaque molécule intervient dans leur aptitude à atteindre les récepteurs olfactifs à concentration seuil. Kopjar B a pu mettre en évidence que les molécules odorantes présentaient une valeur positive du coefficient de partage Log (P), la plupart du temps compris entre 2 et 5. Elles sont donc peu solubles dans l'eau. Il existe donc une relation entre le nombre d'atomes de carbones d'une molécule et la nature de l'odeur (28,52,56).

Ceci se comprend par le fait qu'une molécule odorante doit nécessairement entrer en solution dans la couche aqueuse de mucus où baignent les cils sensoriels porteurs des récepteurs olfactifs (23).

Par analogie au terme de pharmacophore, nous parlons d'odophore ou d'odotope lorsqu'il s'agit des particules odorantes. Ces termes correspondent à la partie structurale des molécules odorantes responsable de son odeur interagissant avec les récepteurs olfactifs. Il a été démontré par plusieurs études que des groupes de molécules ayant une même note odorante présentaient des éléments de structures communes mais surtout un arrangement spatial similaire de ces éléments de structures (52).

Les molécules odorantes établissent avec les récepteurs olfactifs des liaisons de type Van der Waals, souvent regroupées sous l'appellation d'interactions hydrophobes. Les substances qui portent des hétéroatomes comme des oxygènes, des azotes, *etc*., peuvent également établir des liaisons hydrogène. Il se crée également des liaisons électrostatiques entre les molécules odorantes et les segments transmembranaires des récepteurs. Le premier stade de la perception olfactive se fait donc par liaison, puis par l'activation des récepteurs olfactifs (52,57).

b) Le transport jusqu'à l'appareil olfactif

A température ambiante, les substances odorantes volatiles sont véhiculées par un courant aérien jusqu'à l'appareil olfactif dont la perception peut s'effectuer par deux voies. Nous distinguons la voie nasale qui est la voie majoritaire et la voie rétro-nasale (23–25).

(1) La voie nasale ou orthonasale

Cette première voie par laquelle nous percevons les molécules odorantes est la voie nasale dite orthonasale. C'est lorsque les molécules accèdent directement à la cavité nasale et qu'elles donnent naissance à une odeur. Lors de l'inspiration, le courant aérien gagne les fosses nasales. La majorité de cet air inhalé longe l'étage inférieur vers les choanes et atteint le nasopharynx. Mais seulement 7% des molécules qui entrent dans les fosses nasales atteignent effectivement la muqueuse sensorielle (23–25,28,52).

Lors d'une inspiration normale, le débit du courant aérien est de 100 millilitres par seconde et la vitesse de ce courant est de 1 mètre par seconde. Mais le chien peut effectuer un comportement de reniflement dans le but d'amplifier et d'accélérer la quantité de molécules odorantes inhalées. Le reniflement augmente nettement les performances du système olfactif : le débit et la vitesse du courant respiratoire sont tous deux accrus. Le débit du courant aérien est dans ce cas augmenté à 1 litre par seconde et sa vitesse à 10 mètres par seconde. De plus, le courant aérien est dévié vers le plafond des fosses nasales ce qui améliore la perception olfactive (28).

Le comportement de Flehmen (ou comportement de « tonguing » suivant les auteurs) consiste en une élévation des babines chez le chien. Le but est d'ouvrir le canal incisif aux odeurs et permet la détection des phéromones par l'organe voméro-nasal (23–25,28).

(2) La voie rétronasale

Les molécules odorantes peuvent aussi être perçues par la voie rétronasale. Les substances odorantes sont libérées dans la cavité buccale et l'air atteint alors l'appareil olfactif lors de la phase d'expiration. Cette voie contribue à la perception olfacto-gustative. Nous parlons dans ce cas généralement d'arôme plutôt que d'odeur. Nous pouvons qualifier les sensations et les substances qui en sont à l'origine par un adjectif : tel que « arôme fraise » (24,28,50,52).

Figure 27 : Les courants aériens (58,59)

c) Les OBP : odorant-binding-proteins (34)

Les *odorant-binding-proteins* (OBP) ou protéines de liaison aux odorants sont des petites protéines solubles présentes dans le mucus nasal qui recouvre l'épithélium olfactif afin de le protéger. Nous les observons chez les insectes et les vertébrés ainsi que chez l'être humain. Elles vont de 17 à 20 kDaltons chez les vertébrés et de 13 à 16 kDaltons chez les insectes (34).

Ces protéines sont sécrétées à des concentrations de l'ordre de 10 micro-molaires. Elles sont synthétisées par différentes glandes dont principalement les glandes de Bowman dans différentes zones de l'épithélium (34).

Il existe différents sous-types d'OBP au sein d'une même espèce animale, ayant une faible homologie de séquences peptidiques. Ceci s'explique par le fait que les sous-types d'OBP possèdent des propriétés de liaisons différentes et complémentaires avec les molécules odorantes (34).

Comme nous l'avons dit, les OBP appartiennent à la famille des lipocalines. C'est une famille de protéines dont la fonction principale est le transport des molécules hydrophobes. Les OBP ont la propriété de lier des odorants divers et variés tant par leur taille que par leur classe chimique. Elles lient les molécules odorantes de façon réversible et leur constante de dissociation est de l'ordre du micro-molaire. Ceci est également vrai pour les OBP humaines (34).

Les récepteurs olfactifs sont séparés de l'air par une couche de protection constituée d'une sécrétion hydrophile, formée par le mucus nasal chez les vertébrés. Ceci implique que les particules odorantes étant hydrophobes, doivent franchir cette barrière aqueuse afin d'atteindre les récepteurs olfactifs. Il est communément admis que les OBP permettent donc le transport des molécules odorantes présentes dans l'air vers les récepteurs olfactifs à travers le mucus nasal aqueux. Cette hypothèse paraît la plus plausible et est celle admise à l'heure actuelle. Ces protéines seraient apparues lors de l'adaptation à la vie terrestre. Ce rôle de transporteur est en accord avec leur affinité relativement faible pour les substances odorantes et leur présence à forte concentration dans le mucus olfactif. Une autre hypothèse proposée est que les OBP auraient un rôle de tampon ou de filtre afin de réduire la gamme d'intensités odorantes ou encore d'éliminer les molécules odorantes ayant préalablement activé les récepteurs olfactifs et donc devenues inutiles (34).

Les OBP peuvent être associées aux PBP « *pheromon-binding-proteins* » tant par leur structure chimique que par leur rôle de transporteurs de molécules hydrophobes (sous-partie II.B.1.f.1) (34).

Les OBP sont particulièrement sensibles aux évènements périrécepteurs. Ce sont tous les facteurs susceptibles de modifier la qualité ou l'intensité du signal olfactif (sous-partie V) (34).

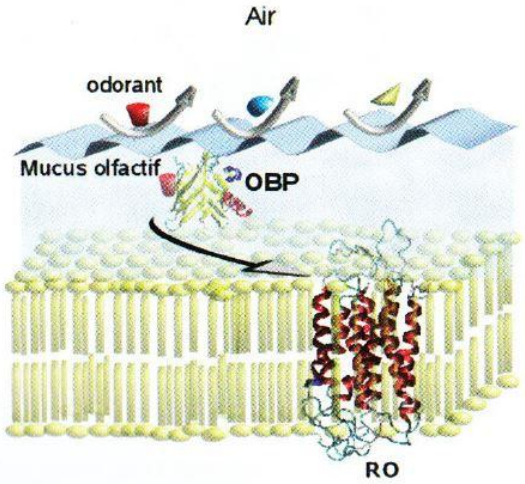

Figure 28 : Une représentation schématique du rôle de transport des OBP (40)

2. La réception d'un signal olfactif et la liaison molécule odorante – récepteur olfactif : MO-RO

La première étape de la perception chimiosensorielle olfactive correspond à la liaison des molécules odorantes (MO) avec les récepteurs olfactifs (RO) : MO-RO. Tout facteur ou mécanisme qui influe (favorise ou défavorise) les interactions des ligands avec leurs récepteurs, qui modifie les propriétés des ligands peut alors impacter la qualité ou l'intensité du signal olfactif (partie V) (52).

Comme nous l'avons vu à plusieurs reprises, les récepteurs olfactifs aux molécules odorantes sont portés par les cils des neurones olfactifs, baignant dans le mucus nasal et situés au niveau de la muqueuse nasale. Après la traversée de cette couche de mucus, sûrement transportées grâce aux OBP, les molécules odorantes atteignent enfin les récepteurs olfactifs (25,39).

Les récepteurs reconnaissent un groupement chimique spécifique des molécules odorantes : l'odotope. Les récepteurs olfactifs sont donc sélectifs d'un odotope et non d'une molécule odorante entière. Il y a alors une liaison entre ce groupement chimique des molécules odorantes et les récepteurs olfactifs : MO-RO. Cette fixation s'effectue par une liaison faible, réversible et peu spécifique. Ainsi une même molécule odorante est capable de se lier avec un grand nombre de récepteurs. De même, un récepteur peut fixer plusieurs molécules odorantes diverses. Cette fixation est de nature combinatoire, permettant d'expliquer l'identification et la discrimination de multiples odeurs. La reconnaissance d'une odeur est donc caractérisée par l'interaction entre de nombreuses molécules odorantes avec de nombreux types de récepteurs olfactifs différents (figure 29) (24,25,60–62).

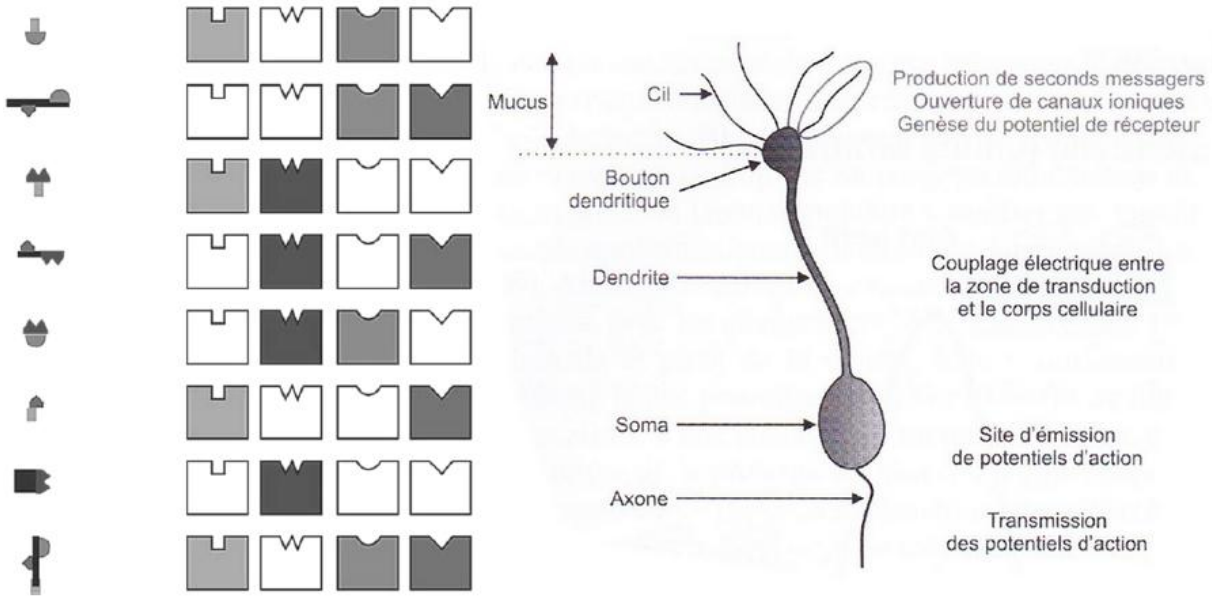

Figure 29 : Les interactions entre les molécules odorantes (à gauche) et les récepteurs olfactifs (au milieu) et un schéma de l'organisation fonctionnelle d'un neurone récepteur olfactif (à droite) (62,63)

3. La transduction du signal olfactif

La transduction olfactive regroupe l'ensemble des étapes biochimiques (avec la production de seconds messagers) et de dépolarisation (l'ouverture de canaux ioniques) qui vont de la liaison du ligand (odotope) sur le récepteur olfactif, jusqu'à l'émission de potentiels d'action par le neurone récepteur olfactif (NRO) (63).

Lorsqu'une molécule odorante se lie à un récepteur olfactif (MO-RO), nous observons l'activation de ces récepteurs. Ces récepteurs changent de conformation, activant une protéine G *Golf* hétérotrimérique composée d'une sous-unité alpha (α) et d'un complexe beta-gamma (βγ). Cette protéine G activée libère sa sous-unité α qui se dissocie du complexe βγ et déclenche une cascade enzymatique, pouvant emprunter deux systèmes parallèles avec des seconds messagers différents (24,25,62–64).

Dans chaque NRO, l'information olfactive est transformée en un courant récepteur dont l'amplitude dépend de la nature et est proportionnelle à la quantité de molécules odorantes détectées par les récepteurs olfactifs (codage en amplitude). Il en résulte une modification du potentiel de membrane dans cette zone de transduction du NRO qui va moduler l'émission de potentiels d'action (codage en fréquence). Les trains de potentiels d'action constituent la forme sous laquelle l'intensité (nombre de molécules) et les caractéristiques temporelles du signal olfactif sont encodées (63).

Deux systèmes de transduction du signal peuvent être mis en jeu parallèlement, comme illustré ci-dessous (figure 30) :

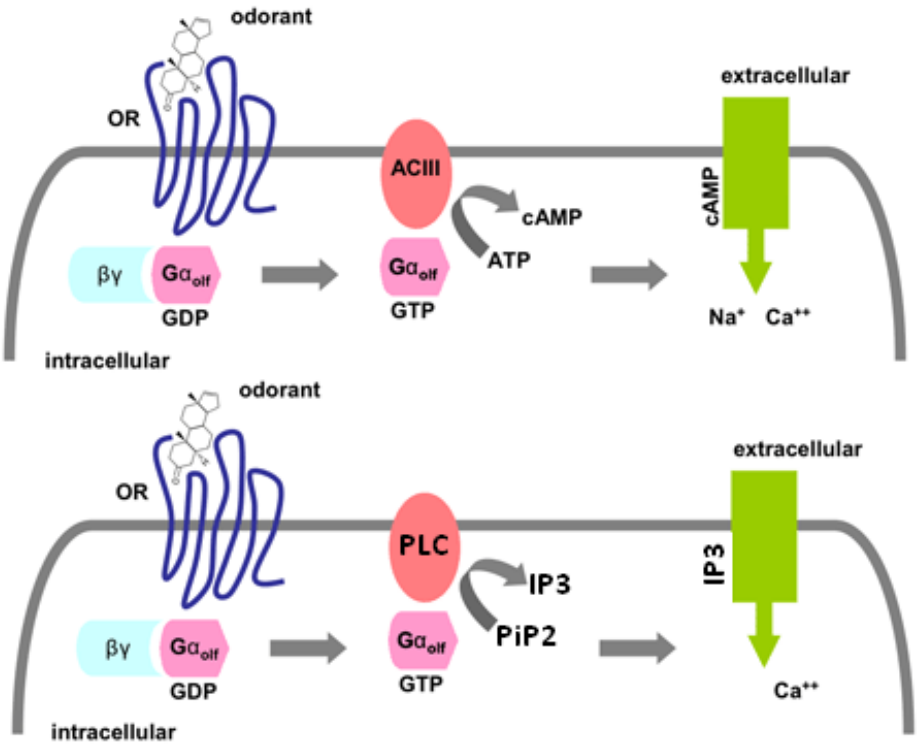

Figure 30 : Les deux systèmes de transduction du signal olfactif (65)

a) La voie de l'adénosine 3',5'-monophosphate cyclique (AMPc)

Dans cette première voie enzymatique, la sous-unité α stimule sélectivement une enzyme spécifique, l'adénylate cyclase de type III (AC), responsable de la synthèse d'adénosine 3',5'-monophosphate cyclique (AMPc) intracellulaire, à partir d'adénosine triphosphate (ATP). L'AMPc joue le rôle de second messager. En concentration suffisante, il active l'ouverture des canaux ioniques en se fixant à leur face intracellulaire. Ces canaux permettent l'entrée dans la cellule des cations sodium Na^+ et calcium Ca^{2+}, à l'origine d'une dépolarisation (figure 31) (63).

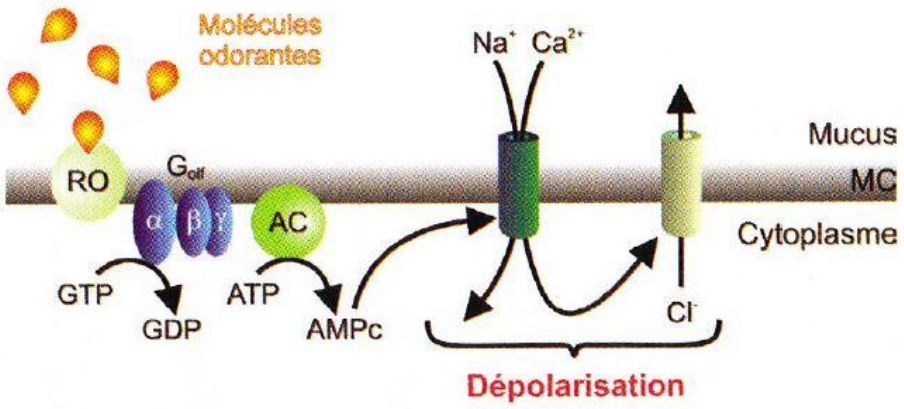

Figure 31 : Une cascade de transduction olfactive impliquant l'AMPc dans un neurone récepteur olfactif (63)

b) La voie de l'inositol 1,4,5-triphosphate (IP3)

La sous-unité α peut également activer une autre enzyme : la phospholipase C (PLC). Cette enzyme entraine la production d'un second messager intracellulaire : l'inositol 1,4,5-triphosphate (IP3) à partir de PIP2 (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate). En concentration suffisante, l'IP3 permet l'ouverture des canaux calciques, induisant l'entrée intracellulaire de Ca^{2+} à l'origine d'une dépolarisation. Cette voie est la seule utilisée par les neurones voméro-nasaux (41,63).

Il n'existe pas de lien entre la molécule odorante et le type de second messager. Dans une même cellule, les deux systèmes peuvent fonctionner parallèlement (25).

L'augmentation de la concentration de calcium Ca^{2+} au sein des cils olfactifs ouvre des canaux ioniques perméables au chlore Cl^- dépendants du Ca^{2+}. L'ouverture des canaux chlore Cl^- génère une sortie de chlore Cl^- venant amplifier la dépolarisation des neurones olfactifs. Habituellement, les canaux chlorures exercent un rôle inhibiteur car ils accentuent le potentiel de repos. Mais dans le cas des neurones olfactifs, la concentration en ions chlorures intracellulaires est tellement importante, que l'ouverture des canaux Cl^- provoque une sortie des ions Cl^- hors de la cellule. Cette sortie entraîne une dépolarisation de la membrane des neurones olfactifs qui s'ajoute à la dépolarisation due à l'entrée de sodium Na^+ et calcium Ca^{2+} (23,63).

Il existe un système d'amplification du message nerveux. Un seul complexe MO-RO peut activer des dizaines de protéines G, entraînant la production de centaines de molécules d'AMPc par seconde. Il est estimé que 3 molécules d'AMPc permettent l'ouverture d'un canal ionique permettant l'entrée intracellulaire de centaines d'ions. Ces flux d'ions issus de l'ouverture des canaux cationiques provoquent une dépolarisation de la membrane des neurones olfactifs aboutissant à la genèse d'un potentiel d'action (23).

4. La transmission et le codage du signal olfactif

a) La transmission de l'information olfactive

Le potentiel de repos de la membrane d'un neurone olfactif est d'environ -65 mV. L'influx de cations, l'entrée du sodium Na^+ et du calcium Ca^{2+} associée à la sortie d'anions chlore Cl^- au sein des cellules neurosensorielles olfactives augmentent ce potentiel qui deviendra moins négatif d'environ 20 mV. Lorsque la membrane atteint une valeur seuil, il se déclenche un potentiel d'action. Ce potentiel d'action induit par la dépolarisation de la membrane se propage le long de l'axone, jusqu'à la synapse avec la cellule mitrale ou cellule à panache dans le bulbe olfactif (23).

L'amplitude de cette dépolarisation et donc du potentiel d'action dépend de la quantité de molécules odorantes détectées par les récepteurs olfactifs ainsi que de l'affinité des MO pour les RO. Le message olfactif est encodé sous forme de trains de potentiels d'action (63).

Le signal électrique engendré par ce codage olfactif est transmis grâce aux axones des neurones olfactifs jusqu'au bulbe olfactif, premier relais des voies de l'olfaction. L'information olfactive afférente y subit un traitement neuronal complexe (24,50)

b) Le codage de l'information olfactive

Une odeur est le produit des interactions de nombreuses molécules odorantes avec de nombreux récepteurs olfactifs (MO-RO) différents, activés ou inhibés par ces molécules. Lorsque nous percevons une odeur, on distingue deux types d'informations principales : qualitative et quantitative (dite intensitive).

Le codage quantitatif dépend du nombre de récepteurs olfactifs stimulés et de la fréquence des potentiels d'action dans l'ensemble de la muqueuse olfactive. Il permet d'évaluer l'intensité de l'odeur, une odeur faible ou une odeur forte. C'est l'information intensitive et elle peut se quantifier par une concentration en molécules par litre. Nous parlons également de codages en amplitude et en fréquence. Le codage qualitatif est caractérisé par l' « image » sur la muqueuse olfactive, lue et interprétée par le cerveau. C'est l'information qualitative qui concerne la nature de l'odeur. (25,58,66).

5. L'intégration des signaux

L'influx nerveux se propage par le nerf olfactif jusqu'au bulbe olfactif. Lors de ces trois étapes successives, le bulbe olfactif modifie cette information olfactive transmise par le nerf olfactif.

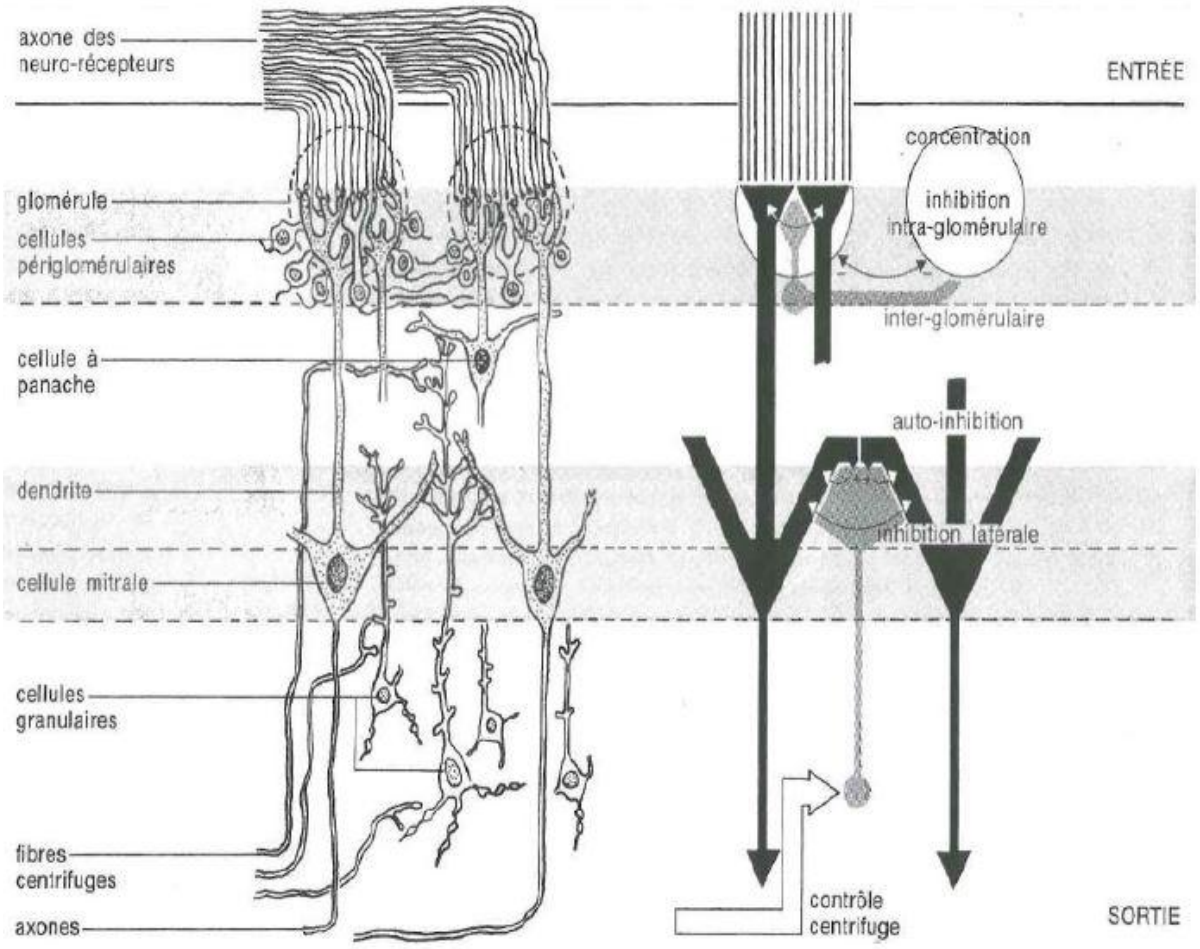

Figure 32 : L'intégration des signaux olfactifs au sein du bulbe olfactif (39)

D'une part, de très nombreux axones des neurones olfactifs issus de la muqueuse olfactive convergent vers les cellules mitrales, moins nombreuses. Cette convergence entraîne une perte d'information mais permet également son amplification (24,25,50).

D'autre part, le bulbe olfactif comporte deux types d'interneurones inhibiteurs : les cellules périglomérulaires et les cellules granulaires, qui correspondent aux deux étages d'intégration olfactive. Les cellules périglomérulaires exercent une action inhibitrice sur les cellules mitrales et les glomérules voisins. C'est donc une inhibition intra et interglomérulaire. Les cellules granulaires exercent une rétro-inhibition sur les cellules mitrales mais également une inhibition latérale des cellules mitrales voisines (24,25).

Les cellules mitrales et les cellules à panache sont l'origine des voies olfactives secondaires par l'intermédiaire du tractus olfactif latéral et médian. L'information olfactive arrive ensuite au cortex olfactif (ou rhinencéphale). Après le cortex olfactif, les projections de troisième ordre vers le néocortex peuvent comporter un relais thalamique ou hypothalamique. La voie

trans-thalamique contribue à la perception directe des odeurs et la voie trans-hypothalamique à l'intégration de la mémoire olfactive et le contrôle des comportements (24,25,39,50).

Le bulbe olfactif reçoit également des fibres d'origine centrale. Elles permettent un contrôle centrifuge de l'information olfactive et expliquent l'influence de certains facteurs mettant en jeu la motivation du sujet sur les perceptions olfactives (24,39,50).

6. Les effets de l'apprentissage

Chez les mammifères, les effets de l'apprentissage ont principalement été étudiés sur les signaux oscillatoires des potentiels de champs locaux. Des travaux ont montré que ces signaux oscillatoires étaient modifiés par l'apprentissage. Une odeur entraîne au niveau du bulbe olfactif et du cortex piriforme une carte spatio-temporelle d'oscillations γ, mais qui se modifient au cours des différentes présentations d'une même odeur. Puis ces cartes d'oscillations se stabilisent par l'apprentissage. Les cartes d'oscillations ne représenteraient donc pas uniquement l'odeur en tant que telle mais également l'information que l'animal connaît de cette odeur et comment il doit la traiter. Il apparaît également que suivant les tâches à effectuer, des animaux experts de certaines odeurs présentent des foyers bulbaires où nous observons un affaissement de certaines oscillations mais une amplification d'autres oscillations. La localisation spatiale de ces foyers dépend non seulement de la nature de l'odeur mais également de sa signification biologique. Des tests chez la souris montrent qu'au fur et à mesure que l'animal apprend à discriminer deux odeurs, les cellules commencent à répondre de façon différente à l'odeur renforcée et non renforcée. Le bulbe olfactif comporte une importante plasticité (67–69).

III. LES RECEPTEURS OLFACTIFS CANINS ET LEUR GENOME

Les récepteurs olfactifs (RO) constituent les portes d'entrée par lesquelles transite le message olfactif, apporté par les substances odorantes volatiles de l'environnement. Les RO sont exprimés aux niveaux des cils des neurones olfactifs de l'épithélium olfactif et des neurones septaux de l'organe septal de Masera (21,63).

A. La découverte des RO

Les récepteurs olfactifs (RO) ont été découverts par Linda Buck et Richard Axel en 1991. C'est grâce à l'importance de ces travaux qu'ils ont reçu le prix Nobel de Physiologie et de Médecine en 2004. C'est la plus vaste famille multigénique connue chez les mammifères. Elle représente à elle seule 3% du génome. Nous parlons même de « sous-génome olfactif » (21,70).

B. La structure des RO

Les RO appartiennent à la superfamille des récepteurs couplés aux protéines G (RCPG). Ces RCPG sont dédiés à la transduction de signaux extracellulaires très variés, dont les odeurs. Les RO sont des protéines à sept domaines transmembranaires en hélice chez les mammifères. Ces domaines sont reliés par des boucles extra et intracellulaires. L'extrémité N-terminale est extracellulaire tandis que l'extrémité C-terminale est intracellulaire (figure 33). (63,71,72).

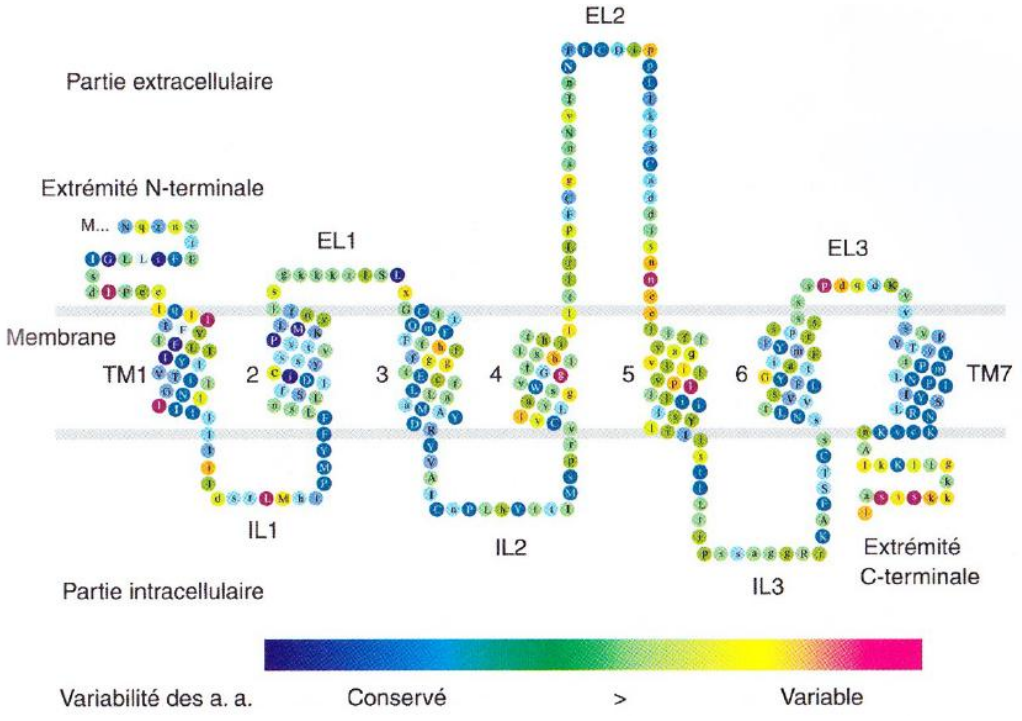

Figure 33 : La structure schématique d'un récepteur olfactif de mammifère (a.a. : acides aminés hypervariables et conservés ; TM : domaines transmembranaires ; EL : boucles extracellulaires ; IL : boucles intracellulaires (40)

Composés d'environ 300 acides aminés, les RO sont des protéines plutôt courtes et dépourvues de peptide signal. La seconde boucle extracellulaire des RO est particulièrement longue. Cette dernière possède une paire de cystéines ainsi que des séquences conservées et non partagées par les autres RCPG, ce qui en fait une famille individualisée. Ces motifs spécifiques interviennent dans les changements de conformation du récepteur lors de son activation par un ligand odorant ainsi que dans la régulation de l'activité du récepteur et ses interactions avec la protéine G. Nous pouvons citer d'autres motifs très conservés, tels que le motif LHTPMY dans la première boucle intracellulaire, MAYDRYVAIC à la fin du troisième domaine transmembranaire ou encore PMLNFP dans le septième domaine transmembranaire (63,70).

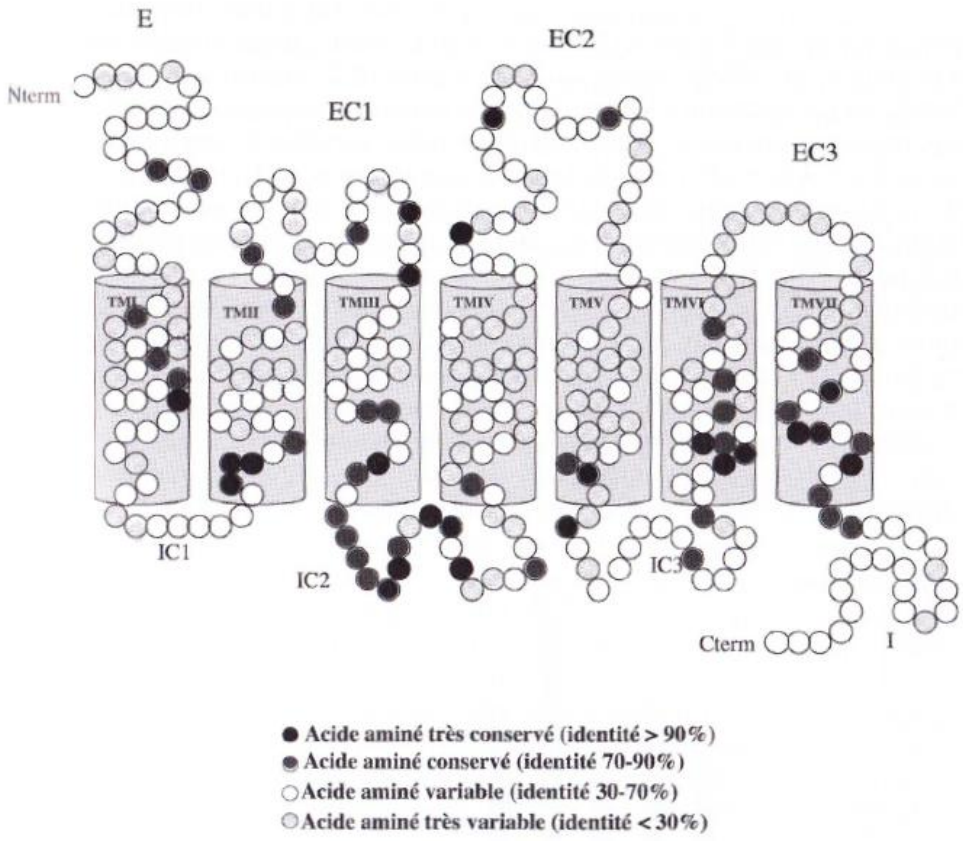

Figure 34 : La structure des protéines des récepteurs olfactifs canins (70)

Malgré certaines séquences conservées, les RO des mammifères ont une grande diversité de séquences avec des identités variant de 38 à 90%. C'est le cas de la poche de liaison aux molécules odorantes. Elle présente des acides aminés hypervariables entre paralogues (homologues au sein d'une même espèce), mais conservés entre orthologues (homologues entre espèces différentes). Ces acides aminés sont répartis sur les segments transmembranaires 3, 4, 5, 6, 7 et sur la seconde boucle extracellulaire, correspondant bien aux régions impliquées avec la molécule odorante (figure 34). Cette variabilité des poches de liaisons des RO permet de lier un large panel de molécules odorantes, tant par leur taille, leur caractère aliphatique ou cyclique que par leur hydrophobicité ou leurs groupements fonctionnels, sachant que les interactions entre corps odorants et les RO sont surtout hydrophobes et donc faibles. La spécificité des RO est également souvent faible afin

d'interagir avec un large spectre d'odorants, bien que certains RO disposent d'un répertoire de ligands odorants restreint. Inversement, une molécule odorante peut activer différents RO. Ceci rend compte d'une combinatoire au niveau périphérique qui est un premier niveau de codage des odeurs. Ainsi, un odorant active un ensemble unique de RO qui le caractérise. Mais les ensembles de RO activés par deux odorants différents peuvent se chevaucher. Par conséquent, des odorants de structures voisines peuvent être perçus différemment mais présentant des caractéristiques structurales communes (odotopes ou pharmacophores) conduisant parfois à des perceptions similaires. De plus, des odorants peuvent être des antagonistes de certains RO et augmenter alors la complexité du codage des odeurs. Lorsque la concentration d'un odorant augmente, l'ensemble des RO activés s'élargit conduisant à une perception différente des odorants en fonction de leur concentration (57,63,70,73–80).

Après la liaison odorant – récepteur olfactif, nous observons un changement global du volume du récepteur. La cinquième hélice transmembranaire s'incline et la sixième hélice bascule puis pivote. Cela leur permet d'écarter leurs extrémités cytoplasmiques et induire l'ouverture d'une crevasse permettant la liaison de la partie C-terminale du RO avec la sous-unité α de la protéine G (GαCT), le premier maillon de la cascade de transduction intracellulaire. La conformation du récepteur au repos est inactive et ne permet pas l'accès de GαCT au récepteur. Il y a donc un changement de conformation des RO lorsqu'ils sont activés (63).

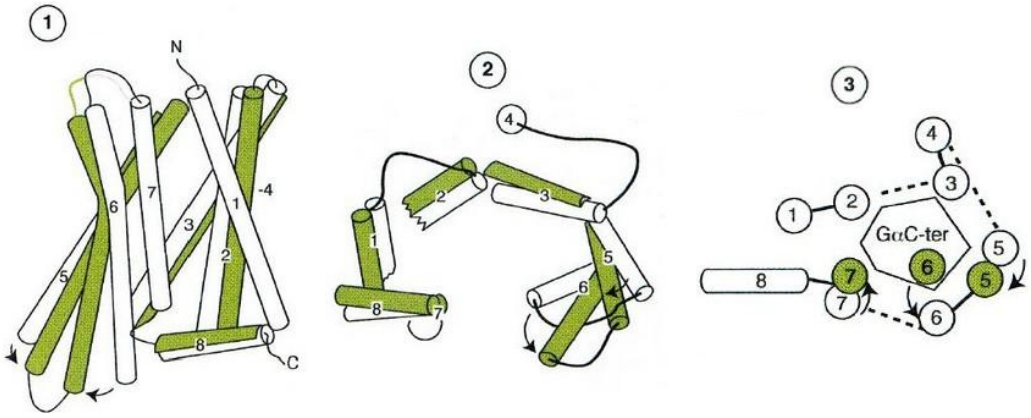

Figure 35 : Une comparaison des structures actives et inactives d'un modèle pour les récepteurs olfactifs (40)

La figure 35 représente des structures comparées d'un modèle d'opsine sous forme inactive en blanc et sous forme active en vert. Les flèches indiquent les mouvements lors de l'activation.

- 1 : Vue de côté où l'hélice transmembranaire 4 est masquée par les hélices 2 et 3.
- 2 : Vue depuis la face cytoplasmique
- 3 : Schéma de la face cytoplasmique : les mouvements des hélices 5 et 6 ouvrent une cavité permettant la liaison de la sous-unité α de la protéine G (GαC-ter). Cette forme active est stabilisée par la liaison de GαC-ter.

Les traits pleins figurent les boucles intracellulaires et les traits pointillés les boucles extracellulaires.

C. Le génome des RO

1. Les gènes et les pseudogènes

Les récepteurs olfactifs (RO) sont codés dans le génome par une large famille de gènes qui représente près de 3% du génome chez le chien. C'est la plus grande famille de gènes connue. Ces gènes ont une structure commune. Chez les vertébrés, ils sont constitués de deux exons, mais seul le second comporte la phase codante (63,70).

Les gènes des RO se distribuent en un grand nombre de « clusters » répartis sur plusieurs chromosomes. Ces clusters seraient issus de copies d'un rétrogène ancestral actif. Puis une diversification aurait ensuite eu lieu au cours de l'évolution par des duplications successives. Des gènes homologues sont observés entre plusieurs espèces et donc dérivant d'une même séquence dans le dernier ancêtre commun. C'est le cas du chien et de l'homme dont le pourcentage d'identité est supérieur à 90%. Mais les gènes ont ensuite subi de nombreuses pressions de sélection selon les espèces en fonction de leur environnement auquel elles se sont adaptées ayant conduit à une évolution de leur répertoire (63).

L'identification des répertoires complets des gènes RO a mis en évidence des similitudes et des différences entre les espèces. Le nombre total de gènes composant ce répertoire varie très largement. Si le nombre de gènes de RO varie fortement selon les espèces, la proportion de pseudogènes également. En effet, des mutations codantes et non codantes sont à l'origine de la création de pseudogènes non fonctionnels. Plus le taux de pseudogènes est élevé et moins le nombre de gènes fonctionnels de RO est important. Les primates (dont les hommes) présentent nettement moins de RO fonctionnels et bien plus de pseudogènes que les rongeurs et les chiens (tableau 2). La taille globale des répertoires et le nombre de gènes actifs sont donc très variables. Cette grande disparité s'explique par l'hypothèse que les « besoins olfactifs » ne seraient pas identiques mais spécifiques à chaque espèce. Ainsi, un nombre plus conséquent de gènes RO actifs correspondrait à une « gamme » plus étendue de molécules odorantes et/ou de mélanges odorants détectables. L'homme est considéré comme une espèce microsmate. Il aurait deux fois et demie moins de gènes RO actifs que le chien et trois fois moins que le rat, qui sont toutes les deux des espèces macrosmates. Cette pseudogénisation importante peut s'expliquer par une baisse de la pression de sélection qui s'exerce sur ces gènes, la perte de la fonction des gènes RO n'affectant par la survie de l'humain (1,63,70).

Tableau 2 : Le nombre de gènes et de pseudogènes de récepteurs olfactifs par espèce (63)

Espèces	Nombre de gènes de RO	Nombre et % de pseudogènes
Rat	1 767 gènes	560 pseudogènes : 31%
Souris	1 391 gènes	356 pseudogènes : 25%
Chien	1 094 gènes	222 pseudogènes : 20%
Homme	802 à 1000 gènes	650 pseudogènes : 65%
Chimpanzé	813 gènes	433 pseudogènes : 51%
Poisson zèbre	133 gènes	35 pseudogènes : 26%
Drosophile	62 gènes	4 pseudogènes : 6%

a) La régulation de l'expression des gènes de RO

Chaque neurone récepteur olfactif (NRO) exprime un seul type de récepteur olfactif (RO). Seul un allèle du gène de RO est exprimé : c'est une expression mono-allélique. Afin de comprendre le choix unique de RO, plusieurs mécanismes sont proposés. Une hypothèse serait qu'une région en amont des groupes de gènes de RO nommée LCR (*locus control region*) ou région H serait liée à des facteurs nucléaires, à l'origine d'une remodulation de la chromatine à proximité du groupe de gènes de RO et d'une activation d'un seul promoteur de RO par une interaction physique. Le choix du gène exprimé par un RO dépend de sa localisation au sein de l'épithélium olfactif. De plus, l'expression des gènes de RO commence dès le développement embryonnaire et serait régulée par leur localisation chromosomique. Le type de RO exprimé par un NRO dépend donc d'un ensemble de facteurs spatio-temporels et environnementaux. Dès qu'un gène de RO fonctionnel est exprimé, le RO exerce un rétrocontrôle négatif pour bloquer l'activation de l'expression d'autres gènes éventuels de RO (63,81).

b) L'organisation génomique des gènes de RO

L'organisation des gènes RO sur les génomes est particulière. Ces gènes sont répartis en un grand nombre de locus appelés « groupes ». Chez l'homme, tous les chromosomes sauf le 20 et le Y contiennent des gènes RO. Les gènes RO ont été traduits puis classés en fonction de leur analogie de séquences en acides aminés. En 1994, Ben-Arie et ses collaborateurs établissent une classification des RO, où les RO appartenant à une même famille présentent une analogie supérieure à 40%, puis 60% pour une même sous-famille. En 2004, il s'est avéré que les gènes RO d'une même sous-famille soient localisés dans un même groupe, ainsi les groupes sont composés de gènes RO relativement proches phylogénétiquement (70,82,83).

c) L'évolution des répertoires des gènes de RO

Des duplications des gènes ancestraux sont à l'origine des « groupes ». L'évolution de cette famille avec la génération de nouveaux groupes et l'expansion du répertoire des RO ont été permises par de nombreuses duplications successives à grande échelle. Les nouveaux gènes peuvent être issus de duplications de gènes. Ces dernières sont suivies du maintien de certains gènes ou alors de divergences, créant une large diversité des répertoires. Certains gènes deviennent cependant inactifs suite à des délétions ou substitutions de base voire la fusion de gènes (70,84).

L'évolution des répertoires des gènes est donc permise par les phénomènes de duplications de gènes. Ces gènes ont ensuite dérivé afin d'adapter l'espèce aux molécules odorantes environnantes. Ils différencient les espèces non pas selon leurs groupes phylogénétiques, mais selon leurs niches écologiques. Il est donc possible de séparer les mammifères aquatiques des mammifères terrestres. Les RO ont été séparés en deux classes : (70)

- ✓ La classe I : identifiée que chez les poissons,
- ✓ La classe II : retrouvée que chez les mammifères.

Une hypothèse est que les RO de classe I soient spécifiques des molécules odorantes solubles et ceux de classe II soient spécifiques des molécules odorantes volatiles (70).

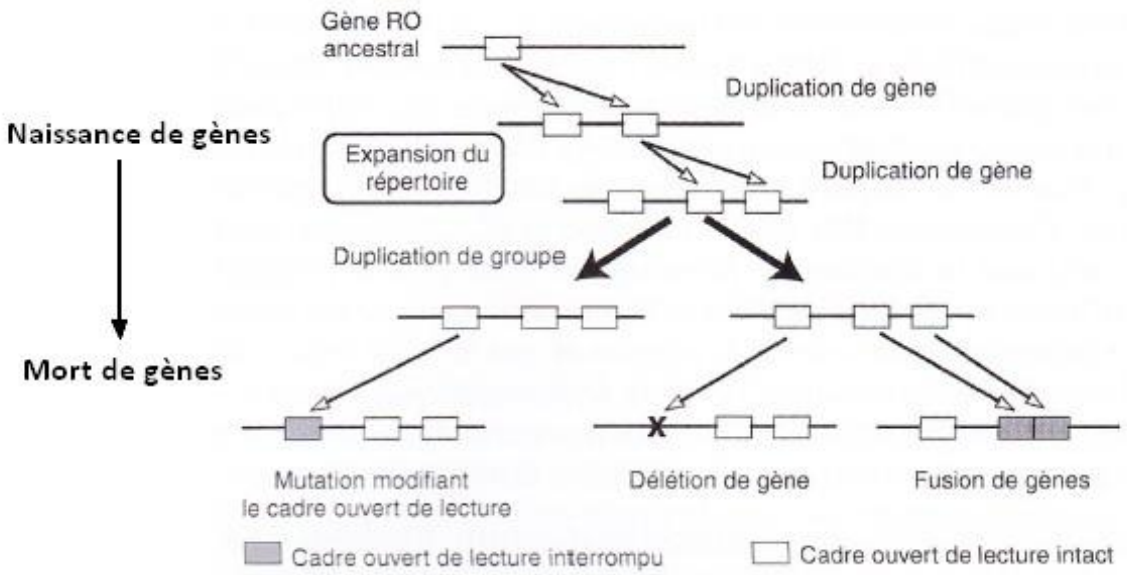

Figure 36 : Les mécanismes impliqués dans l'évolution des gènes de récepteurs olfactifs (70)

2. La comparaison des différents répertoires des RO canins

La comparaison des groupes entre plusieurs espèces révèle des groupes orthologues de gènes RO. Chez les mammifères, la majorité des groupes ont un ancêtre commun précédant la séparation entre les marsupiaux et les mammifères placentaires. La comparaison de ces répertoires de gènes de récepteurs olfactifs, tant dans leur nombre de gènes, que par leur nombre de familles et sous-familles nous informe sur l'évolution des gènes RO. Il s'avère que l'homme et le chien présentent un nombre comparable de sous-familles. Mais la moitié des sous-familles humaines est exclusivement composée de pseudogènes. Ceci est le reflet d'un grand nombre de pseudogènes chez l'homme plutôt qu'une diversification du répertoire (1,70).

Le rat possède un répertoire de gènes RO plus large que le chien : 1 767 gènes contre 1 094. Mais le nombre de sous-familles est équivalent chez ces deux espèces. Le rat possède donc plus de gènes de RO dans une même sous-famille que le chien. Un nombre plus important de gènes RO n'est donc pas synonyme d'un nombre plus important de sous-familles ni d'un répertoire plus varié (70).

3. Le polymorphisme des gènes de RO

Il existe plusieurs types de polymorphismes dans les génomes, dont principalement deux pour les gènes RO. Nous distinguons les « polymorphismes nucléotidiques simples » (SNP) incluant la substitution, délétion et insertion d'une base au sein de ces gènes et les « variations du nombre de copies » (CNV) (70).

a) Le polymorphisme de type SNP

Chez le chien, une étude réalisée sur 16 gènes RO de 95 chiens et issus de 20 races a révélé la présence de 98 SNP et 4 insertions ou délétions. Tous ces gènes analysés sont polymorphes et peuvent présenter jusqu'à 11 SNP par gène RO. Une autre étude élargie à 109 gènes RO de 48 chiens issus de 6 races a mis en évidence 710 SNP et 22 insertions ou délétions. Il s'est avéré que tous ces gènes sauf quatre étaient polymorphes et comportent jusqu'à 22 SNP. Tous les gènes RO n'ont donc pas le même degré de polymorphisme. Ce degré serait en relation avec la taille des groupes dans lesquels se situent ces gènes. En effet, les gènes les plus polymorphes sont situés dans de grands groupes tandis que les gènes peu polymorphes sont retrouvés dans de petits groupes voire se retrouvent isolés. (70,85).

Les SNP sont situés sur toute la longueur de la séquence codante des gènes RO. Il existe plus de SNP non-synonymes que de SNP synonymes. Chez le chien, plus de la moitié des SNP identifiés sont non-synonymes. Les SNP non-synonymes sont divisés en deux parties : les SNP de type faux-sens et les SNP de type non-sens. (70,85,86).

Les SNP de type faux-sens entraînent des substitutions d'acides aminés. Ces substitutions peuvent être conservatrices avec l'apparition d'AA d'un même groupe chimique ou drastiques avec des AA d'un groupe chimique différent. Les SNP de type non-sens quant à eux créent l'apparition d'un codon-stop prématuré et donc une interruption du cadre ouvert de lecture. Ce type de mutation est très largement retrouvé au sein des gènes RO et est à l'origine de la formation d'allèles pseudogènes RO : des gènes RO non fonctionnels (pseudogénisation) (70,85–87).

Un allèle pseudogène et un allèle fonctionnel peuvent donc coexister pour un même gène RO, du fait de ces mutations non-sens. Chez le chien, il a été montré qu'au sein des populations analysées, certains gènes RO possèdent un allèle avec un ORF (récepteur olfactif fermé) intact et un allèle pseudogène. Ainsi, des chiens au sein d'une même race ou issus de races différentes possèdent des pseudogènes différents. En effet, les allèles pseudogènes ségrègent au sein de la population étudiée, avec une distribution considérablement variable entre les races : certains allèles pseudogènes sont présents dans toutes les races mais d'autres sont spécifiques d'une ou plusieurs races. Ceci a pour conséquence un répertoire de gènes RO fonctionnels particulier et propre à chaque race. Cette notion peut expliquer les différentes capacités olfactives observées entre les races d'une même espèce (différentes races canines). Ce phénomène est également démontré pour les populations humaines. Le processus de pseudogénisation des gènes RO semble être un processus actif et toujours en

cours. Le statut d'un gène RO, fonctionnel ou pseudogène ne peut être définitif, puisqu'il est variable selon les individus analysés. Par exemple, chez le chien, des gènes RO initialement identifiés pseudogènes lors du séquençage du génome du boxer se sont finalement avérés être fonctionnels dans d'autres races de chiens. De même, chez l'homme, des locus de gènes RO connus pour avoir un ORF interrompu ont été étudiés dans deux populations : certains contiennent bien des pseudogènes RO, mais d'autres portent des gènes RO intacts ou des gènes RO polymorphes présentant des pseudogènes ségrégatifs (70,85,86).

b) L'impact fonctionnel du polymorphisme

Le fort polymorphisme de type SNP faux-sens des gènes RO crée une diversification des fonctions des RO. Les mutations touchant les domaines extracellulaires ou transmembranaires impliqués dans la liaison avec le ligand odorat vont affecter l'affinité aux odorants. Mais ces mutations peuvent aussi affecter les interactions intracellulaires avec les protéines impliquées dans la cascade de transduction du signal si ce sont les domaines intracellulaires dont l'interaction avec la protéine G qui sont mutés. En fonction des SNP, les variants protéiques peuvent avoir une meilleure ou une moins bonne affinité pour un odorant (70).

Les SNP non-sens et les CNV de type délétion de locus de gènes RO expliquent certainement les différences de sensibilité et de capacités olfactives constatées entre les individus d'une même espèce, puisque ces polymorphismes entraînent une perte de fonction des gènes RO touchés (70).

Nous tentons actuellement d'expliquer cette prolifération des gènes RO par l'existence dans la nature de très nombreuses substances volatiles et/ou dissoutes dont la détection voire l'identification par les animaux seraient importantes et indispensables à leur survie et permettraient également leur reproduction (70).

Mais malgré cette croyance très répandue, il ne semble pas qu'il y ait une relation forte entre la capacité olfactive et la taille du répertoire. Le terme de capacité fait référence à deux concepts. D'une part la capacité à détecter une grande variété d'odeurs composées de nombreuses molécules chimiques variées, d'autre part la sensibilité ; le seuil de détection de ces molécules. De plus, pourquoi viennent se surajouter à une large famille de gènes RO dédiés à la détection des odeurs, d'autres récepteurs tels que les V1R, V2R dédiés à ce même rôle ? A ce stade de la recherche, nous pouvons espérer que d'autres répertoires des gènes RO seront analysés. De plus, nous ignorons encore beaucoup des relations et des spécificités de reconnaissance entre ligands odorants et récepteurs (70).

IV. LES CARACTERISTIQUES DE LA SENSATION OLFACTIVE CHEZ LE CHIEN

A. La discrimination quantitative

La sensation olfactive se caractérise par deux types d'informations, quantitative concernant le nombre de molécules pour une odeur perçue comme forte ou faible et qualitative faisant référence à la nature de l'odeur (66).

1. Le seuil de perception olfactif

Par définition, le seuil de perception olfactif correspond à la plus petite concentration de molécules odorantes qui entraîne une sensation olfactive. Afin de connaître ce seuil, on procède à une analyse olfactométrique. Cette analyse consiste à déterminer le nombre de dilutions nécessaires pour qu'un échantillon odorant soit perceptible par 50% de la population. Nous obtenons alors la concentration-odeur qui représente une unité d'odeur par volume d'air (u.o./m^3) (24,25,58,88).

Ce seuil est très faible chez le chien. Il est capable de détecter des odeurs à de très faibles concentrations, de l'ordre de quelques milliers de moles par millilitre et donc à l'échelle moléculaire. C'est pourquoi il se dit que l'espèce canine possède une sensibilité moléculaire. Mais ce seuil varie grandement selon l'individu, la substance odorante et l'apprentissage. Des chiens entraînés peuvent détecter des odeurs de façon spectaculaire, d'où leur aide incontestable aux êtres humains, puisque ces seuils sont de 10^5 à 10^8 fois plus faibles chez le chien que chez l'homme (23,25,28,58).

2. Le temps de latence

Le temps de latence est défini comme le temps nécessaire à l'apparition de la sensation olfactive. Il correspond à la durée de la traversée du mucus par les molécules odorantes afin d'atteindre les récepteurs olfactifs qui y baignent. Le temps de latence est estimé à 0,5 seconde environ chez le chien (24,25,58).

Le temps de latence chez les insectes est beaucoup plus rapide, car leur tranduction du signal olfactif est ionotrope !! Comme nous l'avons vu précédemment, chez les vertébrés la transduction du signal se fait par la liaison d'un récepteur olfactif à une protéine G, ce qui est une transduction de type métabotrope. L'avantage de cette dernière est l'amplification du signal. Il y aurait donc une absence probable d'amplification de la réponse olfactive au sein des neurones olfactifs des insectes. Mais l'avantage de cette transduction ionotrope chez eux est la vitesse de réponse à un stimulus olfactif, bien plus rapide que celle des vertébrés. La terminaison de la réponse olfactive est également plus rapide puisqu'il suffit d'une simple dissociation de la molécule odorante avec le récepteur olfactif pour mettre fin à cette réponse alors qu'il faut produire puis ensuite éliminer les seconds messagers dans la

réponse métabotrope des vertébrés. Chez les insectes, la transduction ionotrope permet de meilleures capacités de codage temporel avec un suivi en temps réel des variations de concentrations d'une odeur. En revanche, bien que la voie de signalisation soit moins rapide chez les vertébrés à cause d'un nombre important d'acteurs impliqués, elle offre plus de sites de régulation et donc une meilleure plasticité de la réponse des neurones olfactifs (63,89).

3. Les variations d'intensité

Au-delà du seuil de perception, la sensation olfactive augmente avec l'intensité des stimulations. L'intensité de la stimulation olfactive dépend de la concentration des molécules odorantes ainsi que du débit du courant aérien, tous les deux déterminant le nombre de molécules odorantes qui atteignent les récepteurs olfactifs par unité de temps. L'intensité perçue d'une sensation olfactive ne correspond pas toujours à l'intensité « physique » de ce stimulus. Mais d'après la loi de Stevens, l'intensité de la sensation olfactive croît moins rapidement que l'intensité réelle du stimulus olfactif. Cette loi pose en effet la relation suivante : $S = k \times I^n$. Dans cette expression, S est l'intensité de la sensation olfactive ; I est l'intensité réelle du stimulus olfactif ; k et n sont deux constantes avec $n < 1$. Cela signifie bien que la perception du stimulus croît moins vite que son intensité réelle (24,25,58).

Nous estimons qu'une sensation olfactive est optimale lorsque la concentration en molécules odorantes est 10 à 15 fois supérieure au seuil de perception olfactif. De plus, l'intensité perçue d'une sensation olfactive d'un mélange de deux odeurs est inférieure à l'addition des intensités des sensations olfactives de chacune des odeurs, mais supérieure à la moyenne de ces deux intensités (24,25,28).

4. Le phénomène d'adaptation et de fatigue

Le phénomène d'adaptation est particulièrement prononcé et durable pour l'odorat. Ce phénomène peut correspondre d'une part à la diminution voire la disparition de la sensation olfactive d'un stimulus olfactif continu ou de plusieurs stimuli olfactifs rapprochés, ou d'autre part à une nécessité d'augmenter l'intensité du stimulus olfactif pour obtenir la même sensation olfactive initiale. Ce phénomène résulte d'une augmentation du seuil de perception olfactif. Plus la concentration en stimuli croît, plus nous observons un accroissement du seuil absolu (24,25,28,58).

Ce phénomène est spécifique d'un corps odorant et l'appareil olfactif reste donc sensible aux autres odeurs. Il se pose cependant la question du phénomène d'adaptation croisée : l'exposition à une molécule odorante peut-elle modifier le seuil de détection d'une autre molécule ? L'effet du phénomène d'adaptation croisée se mesure en pourcentage. D'après plusieurs études, il a été montré que pour des substances de structures proches, le phénomène d'adaptation croisée est remarquablement élevé. Le taux d'adaptation croisée

est notamment de 85% entre l'acétate d'amyle et l'acétate de benzyle. A l'inverse pour des molécules de structures très éloignées comme le nitribenzène et le benzaldéhyde, ce taux est de 40% seulement. Certains corps qui présentent des structures moléculaires très différentes mais une odeur similaire n'ont aucune adaptation croisée (par exemple les cétones et les pentadécanalides) (28).

Si nous augmentons l'intensité de la stimulation au-delà du seuil, la sensation olfactive augmente, mais plus lentement que le stimulus, puis elle diminue très vite pour finalement disparaître : c'est le phénomène de fatigue. Ce phénomène peut s'expliquer par une désactivation des récepteurs qui perdraient temporairement toute excitabilité, liée à une excessive dépolarisation ou à une saturation des récepteurs, puis une diminution progressive de la transmission du bulbe olfactif au niveau central et par une inhibition active de la part du thalamus (28).

La récupération d'une sensibilité olfactive normale peut nécessiter 3 à 30 minutes, ce qui a des conséquences importantes sur le travail des chiens de recherche. Il est indispensable de respecter les périodes de récupération olfactive des chiens, non seulement pour leurs performances olfactives mais également pour leur bien-être et leur respect (24).

5. Le phénomène de persistance

Le phénomène de persistance se traduit par le maintien de la sensation olfactive durant un temps variable même après la stimulation olfactive terminée (24).

Le phénomène de persistance correspond à un phénomène de sommation. Plusieurs concentrations de substances odorantes différentes inférieures au seuil de perception olfactif peuvent s'additionner et dépasser ce seuil afin d'êtres perçues. A condition que la concentration soit faible, l'intensité perçue peut augmenter avec le nombre d'inhalations, par un phénomène de sommation ou de potentialisation. C'est pour cette raison que le chien de pistage nécessite en moyenne une longueur de piste d'au moins 600 m pour aboutir à la diagnose de l'odeur et que s'il lui est présenté préalablement un objet imprégné de l'odeur de référence ou de l'individu : ce n'est pas seulement pour reconnaître la référence ou l'individu mais surtout pour les reconnaître plus rapidement (25,28,58).

B. La discrimination qualitative

L'information qualitative d'une odeur fait référence à la nature de cette odeur. La discrimination qualitative est la faculté de sentir et de distinguer une odeur déterminée parmi d'autres odeurs mêmes très proches. Pourquoi telle substance a telle odeur et pourquoi est-elle perçue de telle façon ? Quel mécanisme permet au chien (et à l'homme) d'attribuer une odeur à telle substance et non à une autre ? (23,28)

Certains auteurs ont tenté d'établir une classification des odeurs dites « fondamentales » par catégories. La première limite est la possibilité de décrire toutes les odeurs afin de les

répertorier, sachant que la plupart des odeurs résultent de la perception de mélanges plus ou moins complexes avec une combinatoire extrêmement importante. Il existe cependant le logiciel électronique « Flavor-Base » qui recense les données d'environ 4 000 molécules : l'origine, la note odorante, les occurrences naturelles ainsi que les données structurales et physicochimiques. La description odorante donnée par Leffingwell et Associates est complétée par de nombreuses références, dont l'une des plus anciennes et complètes bases de données des odeurs : la base d'Arctander pour une grande partie des molécules. A ce jour, il n'y a pas de classification des odeurs unanimement reconnue. Pour l'humain, l'odeur est une source d'information sur son environnement et son alimentation qui fait qu'il le classe spontanément en bonne ou mauvaise. Cette classification hédonique bipolaire constitue la structure la plus collectivement admise (28,52,90).

La capacité de discrimination olfactive du chien dépasse l'échelle moléculaire, car les différents composants de mélanges chimiques d'odeurs, même ceux très complexes (comme l' « odeur du cancer »), peuvent être discriminés et individualisés de façon précise. Le chien a cette capacité de détecter et isoler une odeur, même si elle est mélangée à d'autres. Cette capacité découle des modalités anatomiques et physiologiques canines. Elle dépend de plusieurs paramètres :

- ✓ les récepteurs de la muqueuse olfactive plus ou moins sensibles aux différents corps chimiques (c'est la plus grande famille de gènes connue à ce jour avec 1094 gènes chez le chien),
- ✓ le nombre de neurones olfactifs (200 millions en moyenne chez le chien sur une surface de 200 cm² de muqueuse olfactive contre 5 millions chez l'homme sur une surface de 2-3 cm²),
- ✓ le bulbe olfactif : la taille qu'il occupe est presque sept fois supérieure chez le chien que chez l'homme. D'ailleurs, la zone olfactive cérébrale est de 10,10% chez le chien contre seulement 0,29% chez l'homme, soit un rapport de 1 à 30 (11,28,31).

Plusieurs théories concernant la discrimination qualitative ont été avancées. La première était basée sur la structure chimique des substances, l'odeur des mercaptans et des amines est pourrie, celle des alcools est florale, celles des esters est plutôt fruitée, *etc*. Mais à l'inverse, des substances odorantes avec des structures chimiques proches ont aussi des odeurs très éloignées : le L-limonène sent le citron mais son isomère le D-limonène sent la pomme. D'autre part, des corps odorants de structures chimiques différentes peuvent dégager des odeurs proches : le citral et le gamma-phényl-valéraldéhyde sentent le citron, ou encore le butylcarbinol et le menthol sentent la menthe (23).

Une autre théorie : la théorie stéréochimique de l'olfaction énoncée par Amoore en 1963 qui concerne la configuration spatiale des molécules. Après plusieurs théories retravaillées, il trouve finalement une relation entre les odeurs des molécules, leur taille et leurs caractéristiques stéréochimiques. Cette théorie bien qu'incomplète a permis de poser les bases moléculaires pour la compréhension et la discrimination qualitative des odeurs (23).

Un récepteur olfactif peut être excité, inhibé voire ne fournir aucune réponse face à un corps odorant. Des récepteurs voisins peuvent réagir de manière opposée à une substance odorante. La perception finale d'une odeur dépend de la somme des effets des molécules odorantes sur l'ensemble des récepteurs. Le tout crée une « image » sur l'ensemble de la muqueuse, caractéristique de l'odeur perçue qui est ensuite analysée par le cerveau. Lorsque l'intensité du stimulus croît, cela entraîne une augmentation du nombre de récepteurs activés mais pouvant parfois modifier la nature des récepteurs stimulés. La qualité d'une odeur peut donc varier en fonction de son intensité (28).

Le bulbe olfactif participe à la capacité de discrimination qualitative. Il y a convergence de l'information nerveuse à son niveau, lui permettant de façonner les informations reçues afin de réduire leur similitude et d'accentuer certaines particularités. Des odeurs distinctes donnent lieu à des ondes d'amplitudes différentes dans les parties antérieures et postérieures du bulbe (28).

V. LES FACTEURS INFLUENCANT L'ACUITE OLFACTIVE ET L'APPLICATION AUX CHIENS D'UTILITE

Les troubles de l'odorat sont appelés en terme scientifique des dysosmies pouvant être de nature quantitative ou qualitative.

Les anomalies qualitatives sont :

- ✓ les parosmies : perception olfactive qui ne correspond pas au stimulus olfactif,
- ✓ les phantosmies : hallucination olfactive accompagnée d'une perception olfactive en l'absence de stimulation,
- ✓ les cacosmies : perception d'une odeur désagréable qui n'est pas censée l'être.

Les anomalies quantitatives sont :

- ✓ les hyposmies : diminution de la sensibilité aux odeurs,
- ✓ les hyperosmies : exacerbation de l'acuité olfactive,
- ✓ les anosmies : perte partielle ou totale de l'odorat.

Le fait d'observer un animal dans un cabinet vétérinaire peut déjà donner des premières informations sur sa fonction olfactive puisqu'un chien sain aime explorer et flairer un peu partout. Un vétérinaire peut effectuer un premier test en vérifiant la perméabilité des fosses nasales à l'aide d'un miroir et regarder la bonne formation de deux tâches de buée. Il existe également des tests neurologiques, puis des techniques plus développées d'olfactométrie avec la réalisation d'électro-encéphalographie et d'électro-olfactographie (32,91).

A. Les facteurs individuels et physiologiques

1. L'individu et la race

a) L'acuité olfactive canine parmi les autres mammifères

Nous distinguons les animaux microsmatiques tels que les primates et donc les hommes, des animaux macrosmatiques dont font partie les chiens, doués d'un odorat performant. Cette distinction est liée en partie à la surface de la muqueuse olfactive, au nombre de récepteurs olfactifs ainsi qu'au rapport de la zone olfactive sur le cerveau (24,32).

Parmi les vertébrés, le chien arrive en seconde position en termes de performances olfactives. Les plus performants du monde terrestre restent les rongeurs. Ils possèdent jusqu'à 1 493 voire 1 767 (selon les sources) gènes codant pour les récepteurs olfactifs, contre 1 094 gènes pour les chiens. Depuis les années 2000, des rats géants de Gambie sont formés pour la détection de mines et de la tuberculose (70).

b) L'acuité olfactive des différentes races canines

Les capacités olfactives diffèrent selon les races et les lignées de chiens. Ces différences sont dues à des variations de surface de la muqueuse olfactive (cm^2), du nombre de récepteurs olfactifs et à l'anatomie. Certaines races sont plus particulièrement réputées pour leur finesse olfactive. Il s'agit majoritairement du chien de Berger, du chien d'arrêt et des Retrievers (28).

Le nombre de récepteurs olfactifs ainsi que la surface de la muqueuse olfactive dans laquelle ils se répartissent conditionnent les performances olfactives des chiens. Le Berger Allemand et le Labrador possèdent 220 millions de récepteurs olfactifs et une muqueuse olfactive respectivement de 200 cm^2 et 190 cm^2, un Fox Terrier 147 millions pour 85,3 cm^2, un Cocker 140 millions pour 67 cm^2 et enfin un Bouledogue 100 millions pour 75 cm^2 de muqueuse olfactive. C'est le Saint-Hubert, surnommé le *limier (« bloodhound »)* qui possède le plus de récepteurs olfactifs qui peuvent atteindre les 300 millions (tableau 3) ! (24,31)

Tableau 3 : Les acuités olfactives de différentes races de chiens (24,31)

Races	Surface de la muqueuse olfactive (cm^2)	Nombre de neurones olfactifs (millions)
Saint-Hubert	*Non connue*	300
Berger Allemand	200	220
Labrador	190	220
Fox Terrier	85,3	147
Cocker	67	140
Bouledogue	75	100

Parallèlement à ces deux critères, viennent s'ajouter les caractéristiques anatomiques dont surtout la morphologie crânienne du chien. Bien que le nombre de récepteurs olfactifs soit estimé en moyenne à 200 millions chez le chien, les chiens brachycéphales comme le boxer, à « nez court » possèdent plutôt 100 millions de récepteurs olfactifs. Ils ne sont donc pas les plus performants olfactivement. Leur nez « écrasé » gêne l'écoulement du courant aérien et provoque un débit d'air plus faible. L'orientation plus latérale des narines chez les chiens mésocéphales, à « nez long » les fait bénéficier d'incroyables capacités olfactives. De plus, ils peuvent exprimer jusqu'à 300 millions de récepteurs olfactifs ! Il faut donc privilégier les chiens mésocéphales pour le travail olfactif (11,24,31,32).

L'acuité olfactive dépend également de la pigmentation de la muqueuse olfactive. Il semblerait que les chiens à robe sombre aient un meilleur odorat que les chiens à robe claire, et encore plus que des chiens albinos (24,28).

c) Les critères de choix de la race

Les qualités olfactives sont nécessaires mais insuffisantes. L'acuité olfactive n'est donc pas l'unique critère pour choisir une race parmi d'autres pour former un chien de travail. Bien que certaines races possèdent un odorat plus performant que d'autres, la sélection s'effectue principalement selon des aptitudes physiques, morphologiques et le caractère de

l'animal. Ainsi, le choix de la race du chien est un mélange de qualités optimales tenant compte non seulement des capacités olfactives mais aussi des aptitudes physiques et intellectuelles. Ces qualités diffèrent également selon les missions du chien d'utilité. Un chien de sauvetage nécessitera plus de performances physiques qu'un chien de recherche de détection de stupéfiants par exemple (24).

L'essentiel n'est donc pas seulement le nombre de cellules réceptrices, mais que le chien apprenne à se servir de son odorat lorsqu'on le lui demande et pour des odeurs qu'il n'aurait pas suivies instinctivement. Afin de réussir ces missions, les chiens d'utilité sont des races d'éducation facile, obéissantes, dociles et dotées de proportions harmonieuses (11,28).

Certaines missions requièrent d'importantes conditions physiques. C'est notamment le cas des chiens de sauvetage, de trafic, d'intervention, de sécurité, où bien souvent les chiens sont également des armes défensives. Les aptitudes physiques d'un chien de sauvetage par exemple doivent être adaptées à cette fonction. La taille doit être moyenne afin que le chien puisse se déplacer sans difficulté sur des terrains instables et irréguliers. Une petite race serait gênée pour se déplacer et risquerait de finir par peiner. Une grande race serait handicapée par son poids. Idéalement, le poids d'un chien de recherche ne devrait pas dépasser 30 à 35 Kg. Le pelage est également à prendre en compte. Les conditions météorologiques sont parfois rudes dans les zones de sauvetage. Des chiens ayant un sous poil serré et imperméable résistent mieux aux intempéries. Un poil court permet d'éviter l'accumulation d'amas de neige glacée dans le pelage. L'ensemble de ces conditions montrent que ce n'est donc pas le légendaire Saint-Bernard qui est le mieux placé, mais plutôt des races telles que le Berger Allemand, le Berger Belge Malinois voire le Border Collie, le Labrador et le Retriever (24).

Les Bergers Allemands et Bergers Belges Malinois sont les chiens préférés des équipes cynophiles. Leurs aptitudes intellectuelles, physiologiques et physiques hors normes les placent en haut du classement des races canines de travail les plus utilisées parmi les équipes d'intervention et de recherche. Leurs incroyables performances olfactives combinées à d'excellentes facultés d'adaptation et un corps taillé pour le sport et le travail rendent ces chiens indispensables dans la réalisation de nombreuses missions (6,11).

Bien que ces chiens soient d'une intelligence hors pair, la menée à bien de leurs missions dépend aussi des compétences de l'éducateur. De plus, le caractère du chien est indispensable à prendre en compte et doit correspondre à son maître / son éducateur. La relation entre un maître-chien et son chien doit être fusionnelle avec une confiance irréprochable. Le duo doit être soudé afin de ne former qu'un, permettant d'optimiser la réussite de l'équipe cynophile et la rendre efficace.

Après avoir choisi la race, il faut sélectionner les chiots. Tous ne peuvent pas devenir un chien d'utilité sous prétexte qu'ils appartiennent à telle race. Le choix du « bon » chiot conditionne en partie le succès de la future équipe cynophile (24).

d) Le choix de l'individu

(1) Les critères de choix de l'individu

N.J. Rooney, J.W. Bradshaw et H. Almey ont élaboré un questionnaire auprès de 244 maîtres-chiens au Royaume-Uni, que nous pouvons consulter dans leur publication « Attributes of specialist search dogs : a questionnaire survey of UK dog handlers and trainers » parue en 2004 qui rassemble les critères considérés comme essentiels chez un futur chien de détection. Les dix critères indispensables dont doivent bénéficier les chiots afin de les sélectionner comme futurs chiens de détection sont : l'acuité olfactive, la motivation à chercher un objet, la santé, la tendance à flairer, l'endurance, l'agilité, l'intérêt pour la récompense, la tendance à ne pas se laisser distraire (concentration), l'instinct de chasse et enfin la stabilité comportementale. Cet ensemble de qualités requises vient rappeler comme nous l'avons précisé précédemment que les performances olfactives sont nécessaires mais insuffisantes pour obtenir un bon chien de travail (24,92).

De nombreuses qualités psychologiques sont recherchées. L'une qui s'avère indispensable et d'autant plus pour les futurs chiens de sauvetage est la stabilité émotionnelle : savoir faire preuve d'une certaine « force de caractère », être combatif et volontaire. Ces qualités sont ensuite optimisées par le maître-chien, mais un bon potentiel de base est requis (24).

L'exigence d'une excellente santé paraît évidente. De nombreuses maladies canines héréditaires ou acquises sont connues entraînant plus ou moins de conséquences sur la santé des chiens. Les chiens d'utilité doivent être exempts de pathologies musculo-squelettiques, cardio-vasculaires et respiratoires. Le caractère et la personnalité du chiot sont à bien observer. En effet, l'apprentissage du travail de détection repose sur deux principes : le plaisir et le jeu. Il est communément admis qu'un chiot potentiellement futur chien de travail doit être très joueur et donc porter un intérêt particulier pour le jeu. Cet intérêt se teste facilement dès le plus jeune âge. Le chien aime faire plaisir à son maître et en échange le maître-chien récompense l'animal par un jouet. Ainsi dans l'esprit du chien, sa mission s'effectue comme un jeu et non comme un ordre de travail (24,93).

(2) Les méthodes de sélection

Sauf dans la Gendarmerie Nationale, les maîtres-chiens choisissent eux-mêmes leurs chiots. L'acquisition se fait souvent tôt : à l'âge de 2 à 3 mois auprès d'un éleveur. Mais les informations disponibles avant l'âge de trois mois sont pauvres ce qui rend la sélection difficile d'un chiot. Ces chiots sont de pure race, ce qui permet d'avoir des indications sur le potentiel futur du chiot en se basant sur les aptitudes naturelles de la race, comme l'appartenance à une race est très codifiée (partie I). Les aptitudes futures du chien peuvent être évaluées de deux façons : par sélection comportementale ou par sélection génétique (24).

- La sélection comportementale

A ce jour, aucun test spécifique destiné aux futurs chiens de recherche n'a été élaboré, contrairement aux chiens guides d'aveugles pour qui des tests spécifiques sont déjà mis en place. Le seul test conçu est destiné aux chiens déjà formés pour leurs missions. 60% des chiots ayant passé ces tests avec succès deviennent des chiens guides contre 20% pour ceux qui ont échoué. Ces résultats montrent l'intérêt de mettre en place des tests spécifiques permettant d'éliminer précocement les chiots n'ayant pas les aptitudes physiques et/ou psychologiques requises, permettant un gain d'argent et de temps. La grande majorité des tests s'adresse aux chiens adultes mais certains peuvent s'appliquer aux chiots. Nous pouvons citer par exemple le test de Campell et le test du jouet animé de Queinnec. Ces tests révèlent des informations sur le profil psychologique du chien et permettent surtout de repérer les chiots trop peureux ou trop agressifs qui sont à exclure des chiens de travail (24).

Afin de tester l'intérêt du chiot pour le jeu, le maître-chien peut prendre un « boudin » ou même une serpillère afin de jouer avec lui et apprécier sa combativité et la possessivité à son égard. Le maître-chien peut ensuite cacher cet objet puis observer la réaction du chiot afin d'évaluer l'opiniâtreté et la ténacité dans la recherche. La stabilité émotionnelle et la sensibilité sonore sont ensuite testées dans une situation stressante par le test du « coup de feu ». Le chiot est placé dans un environnement inconnu et un coup de feu est tiré. Cette situation permet d'observer l'inquiétude du chiot puis sa rapidité de récupération. Les tests peuvent ensuite être répétés afin d'évaluer la faculté d'adaptation du chiot. Si ces épreuves mettent en évidence les chiots les plus prédisposés à devenir des chiens de travail, ils ne permettent en aucun cas d'apporter une certitude absolue quant aux futures aptitudes du chiot (24).

- La sélection génétique

L'hérédité influe sur le comportement d'un chien, bien que le rôle de l'environnement reste majeur. L'idée fut de sélectionner le caractère du chien et ses aptitudes souhaitées de façon génétique et donc héréditaire. Mais il s'est avéré que contrairement aux critères anatomiques, le caractère est peu héréditaire. La sélection génétique n'a donc pas connu de véritable révolution pour choisir les chiens de travail à cause d'une faible hérédité des caractéristiques de travail. Le Professeur Jean-François Courreau a réalisé une étude génétique internationale portant sur le Berger Belge et sur un concours de chiens de défense dans sa thèse dont nous retrouvons un résumé sur Le Club Français du Chien de Berger Belge. La conclusion de ce résumé indique que « *Bien que les faibles valeurs d'héritabilité apparaissent comme un handicap pour une pratique de sélection exploitant les indices génétiques, cela semble envisageable à terme. En effet, la base de données ne correspond qu'à 11 années de concours et seules cinq d'entre elles ont fait l'objet de relevés quasi exhaustifs. Cette base peut donc être très fortement enrichie. Ceci aurait pour conséquence d'améliorer la qualité des estimations génétiques des chiens (leurs indices). Que ce soit pour le Berger Belge ou pour une autre race, les conditions semblent satisfaites aujourd'hui pour qu'émerge une sélection canine assistée par les indices génétiques* » (24,94,95).

2. L'âge

Comme chez l'homme, les capacités olfactives des chiens diminuent progressivement avec l'âge. Ceci est valable pour les autres sens (goût, ouïe, *etc*.).

D'après une publication « Troubles olfactifs et pathologie générale : analyse et revue de la littérature » écrite par J.M. Norès, B. Biacabe et P.Bonfils ; il s'avère que chez l'homme, une perte de l'odorat (anosmie) s'observe dès 65 ans chez 50% des individus, dont 25% seraient totalement anosmiques (perte totale de l'odorat). Cette perte s'aggrave après 80 ans. Après cet âge, il est estimé que 80% des individus présentent des troubles de l'odorat dont la moitié est anosmique (24).

Une seule étude relate des impacts liés à l'âge sur le système olfactif. Une atrophie ainsi qu'une dégénérescence de l'épithélium olfactif sont observées chez le chien à partir de 14 ans. Ces altérations de la muqueuse olfactive sont amplifiées chez le chien après l'âge de 17 ans. Le nombre de neurones olfactifs (estimés à 200 millions en moyenne) diminue ainsi que le nombre de cils olfactifs présents sur ces neurones, porteurs des récepteurs olfactifs. C'est également le cas des microvillosités des cellules de soutien. Il serait même envisageable que l'épithélium olfactif soit progressivement remplacé par un épithélium respiratoire. Le bulbe olfactif dégénère également avec l'âge (23,96).

Les performances olfactives des chiens sont donc variables selon leur âge. Or, la détection du cancer grâce à leurs capacités olfactives leur demande 5 ans d'entraînement et des efforts importants à fournir continuellement. Il en résulte qu'ils ne peuvent pas exercer cette activité plus de 5 ans. Nous détaillerons cette problématique dans la troisième partie, IV.B.2.

3. Le sexe

Les femmes possèdent une sensibilité olfactive bien plus élevée que les hommes. C'est également admis chez les chiens, avec des femelles plus sensibles aux odeurs que les mâles. Cependant, nous observons des fluctuations de sensibilité olfactive en fonction du cycle menstruel. Les capacités olfactives varient selon l'imprégnation hormonale avec une performance olfactive maximale au moment de l'ovulation. Nous pouvons remarquer un parallélisme entre la courbe œstrogénique de la chienne et son acuité olfactive. Un taux élevé d'œstrogènes associé à un taux bas de progestérone est favorable pour des performances olfactives optimales. Inversement, un taux bas d'œstrogènes associé à un taux élevé de progestérone affaiblit ces performances. Il apparaît qu'une gestation ou une ovariectomie supprime ces fluctuations de la sensibilité olfactive qui devient indépendante de l'imprégnation hormonale. Une gestation diminue la sensibilité olfactive alors qu'une ovariectomie l'augmente (24,25).

Chez les mâles, une injection de testostérone augmente les performances olfactives. Inversement, une castration diminue ces performances (24,25).

Parmi les chiens d'utilité, les animaux de sexe mâle sont préférés malgré des qualités olfactives légèrement supérieures des femelles. Ceci s'explique par le fait que les femelles sont non opérationnelles durant leurs chaleurs et donc sur une période de deux à trois semaines, tous les six mois et donc deux fois par an. Les femelles en chaleur sont moins concentrées sur leur mission et perturbent fortement l'intérêt pour le travail des mâles à proximité, souvent une source de conflit voire de bagarre entre eux (24).

Afin de limiter les impacts hormonaux sur les performances olfactives, la stérilisation des femelles pourrait être envisagée, mais ses effets sur l'odorat restent cependant controversés. Aux Etats-Unis, la stérilisation est tout de même pratiquée sur les chiennes d'utilité. Un article concernant les 96 chiens d'utilité ayant participé aux attentats terroristes du 11 septembre 2001, relate que parmi ces chiens : 54 étaient des mâles (56%) dont 36 castrés, et 42 étaient des femelles (44%) dont 39 stérilisées (24,97).

Actuellement, peu de femelles participent aux recherches mettant en jeu l'odorat. Pour les chiens de recherches en décombres, l'équipe cynotechnique des Sapeurs-Pompiers de L'Ain a le droit à 20% de femelles mais n'en utilise aucune. Concernant les chiens d'avalanches, les femelles ne sont plus acceptées en formation depuis 1990. Pour ce qui nous intéresse ici, les chiens formés à la détection du cancer grâce à l'odorat sont tous des mâles (24).

4. La nutrition

La prise alimentaire influe les performances olfactives. Les animaux à jeun vont plus facilement rechercher de la nourriture et essayer de déceler la présence des prédateurs, ce qui les rend systématiquement plus sensibles aux odeurs. La sensation de faim augmente donc l'acuité olfactive tandis que la satiété la diminue. L'acuité olfactive diminue également durant la digestion et plus particulièrement dans l'heure qui suit le repas. Il a été démontré que les capacités olfactives des rats à jeun sont meilleures que celles des rats rassasiés. Généralement, il est préférable de ne pas nourrir un chien juste avant son entraînement ou une mission afin d'éviter de le faire travailler durant la période postprandiale, du fait d'une acuité olfactive réduite lors de la digestion. Pour les chiens d'utilité nécessitant des performances physiques, cela permet également de diminuer le risque de torsion-dilatation de l'estomac pouvant être dramatique (24,25,98).

Comme le rappelle Aude Kroely, vétérinaire exerçant à la clinique de Montélimar ; le régime alimentaire impacte fortement les performances olfactives canines. Une étude menée par E.K. Altom, G.M. Davenport, L.J. Myers et K.A. Cummins publiée en 2003 : « Effect of dietary fat source and exercise on odorant-detecting ability of canine athletes » a comparé les performances olfactives de 18 chiens mâles de race Pointer Anglais nourris par trois régimes alimentaires variables par leurs teneurs et sources en acides gras. Les résultats démontrent qu'un régime alimentaire riche en acides gras saturés entraîne une baisse significative de l'acuité olfactive (24,25,99).

Ces résultats s'expliquent par le fait que la composition en acides gras de plusieurs tissus de l'organisme est modifiée suivant la consommation de graisses alimentaires. C'est le cas de la muqueuse intestinale, de la peau et du tissu nerveux. Nous imaginons que l'état nutritionnel impacte la composition en acides gras de l'épithélium nasal et donc sa fonctionnalité. Un régime alimentaire riche en acides gras saturés diminue donc les capacités olfactives canines. En revanche, une alimentation enrichie en acides gras insaturés permet d'améliorer l'acuité olfactive (24,25,99).

Une hydratation optimale est également incontournable. La déshydratation assèche la muqueuse nasale et altère le mucus qui la protège. Or, ce mucus est un lieu propice pour les interactions entre les molécules odorantes et les récepteurs olfactifs. Une déshydratation entraîne donc un dysfonctionnement de l'odorat. La quantité d'eau minimale pour un chien à lui apporter est de 60 mL/kg/jour mais cette quantité peut augmenter jusqu'à 300 mL/kg/jour selon les conditions (24).

Il est donc indispensable de fournir aux chiens d'utilité une bonne hydratation ainsi qu'une alimentation équilibrée et suffisante afin d'obtenir des chiens d'utilité performants, tant en acuité olfactive qu'en capacités physiques.

5. L'exercice et l'état physique

Après la nutrition des chiens d'utilité et ses impacts sur les capacités olfactives ; E.K. Altom, G.M. Davenport, L.J. Myers et K.A. Cummins ont également étudié l'influence des conditions physiques des chiens sur leur acuité olfactive. Pour cela, ils ont constitué deux groupes distincts de chiens, un groupe ne pratiquant aucun exercice physique et l'autre groupe suivant un programme d'entraînement physique. Les performances olfactives sont ensuite testées et comparées à la suite d'un même effort physique intense. Les résultats montrent que les chiens entraînés physiquement sont capables de maintenir des performances olfactives intactes, ce qui n'est pas le cas des chiens non entraînés dont l'acuité olfactive diminue jusqu'à 64% en post-effort ! En conclusion, les chiens n'ayant pas d'entraînement physique régulier ont une forte diminution de leurs capacités olfactives après un effort physique stressant. Un entraînement physique régulier et modéré permet aux chiens de maintenir leurs performances olfactives après un effort physique intense (24,99).

Un effort physique intense provoque chez un chien une augmentation de sa température corporelle. L'halètement chez la race canine est le principal moyen de refroidissement du corps. L'halètement est plus rapide après un effort physique. Or, un chien peut soit renifler soit haleter, mais ne peut en aucun cas effectuer ces deux actions simultanément. Ceci entraîne donc une diminution du reniflement, et donc une baisse du flux d'air à travers les voies nasales. Un plus faible nombre de molécules odorantes entrent alors en contact avec la muqueuse olfactive, aboutissant à des capacités olfactives amoindries. En l'absence d'entraînement physique, les performances olfactives des chiens sont donc affectées suite à une augmentation de l'halètement au détriment du reniflement. Un cercle vicieux peut se mettre en place : un effort physique prolongé entraîne un temps de recherche plus long, lui-

même responsable d'une augmentation de la durée de l'activité physique. Cependant, des chiens bien entraînés possèdent d'excellentes capacités d'adaptation au travail dans des conditions de recherche difficiles (chiens de sauvetage). Le respect du temps de repos lorsqu'il est possible (hors intervention) est donc indispensable pour les performances des chiens d'utilité, bien que la recherche sur le cancer ne requiert pas d'effort physique intense (24,25,99).

B. Les facteurs non physiologiques

Des polluants environnementaux présents sur les lieux de travail peuvent altérer les performances olfactives des chiens. Mais contrairement aux chiens de recherches en décombres et autres sinistres bien souvent exposés à des polluants toxiques, les conditions de travail pour les chiens renifleurs du cancer sont très réglementées.

Les conditions météorologiques modifient non seulement les capacités olfactives des animaux, mais aussi les particules odorantes transportées par les courants aériens. Nous nous affranchirons ici du second aspect, car contrairement aux diverses missions des chiens d'utilité qui peuvent avoir lieu en plein air (comme la recherche d'explosifs, les chiens de recherche en avalanches, de noyade, *etc.*), les échantillons à analyser des molécules odorantes lors du dépistage des cancers sont présentés aux chiens et conservés dans des conditions bien définies. Dans les publications abordées en seconde partie, les chercheurs ont parfois été contraints d'adapter leurs études en fonction des conditions météorologiques extérieures qui affectent le travail des chiens.

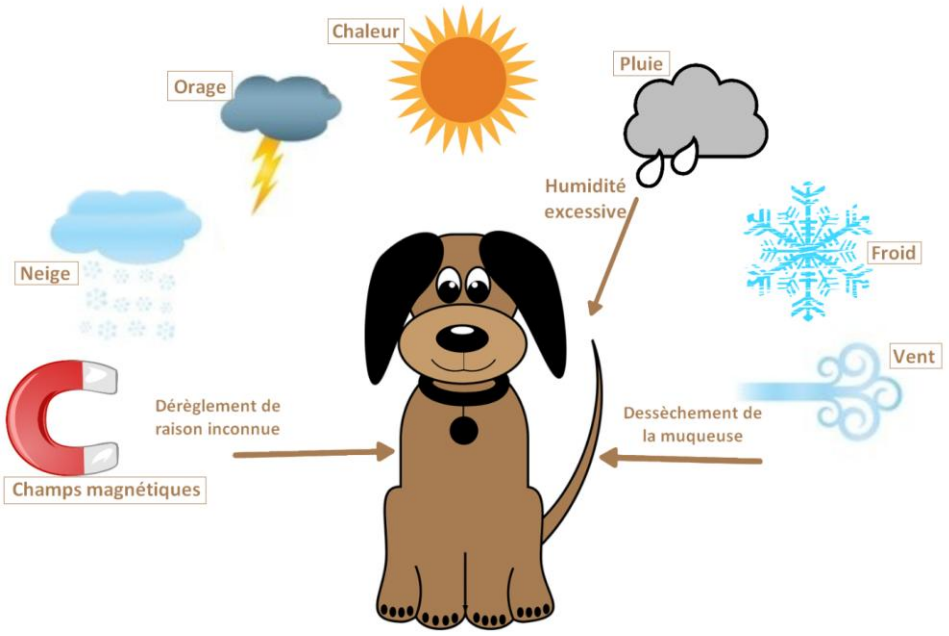

Figure 37 : Les variations de l'acuité olfactive selon les facteurs environnementaux (58)

Des températures élevées dessèchent la muqueuse olfactive ce qui abaisse l'acuité olfactive. Ce phénomène vient s'ajouter aux halètements du chien dans le but de diminuer sa température corporelle, réalisés au détriment des reniflements, ce qui diminue doublement

les performances olfactives. Le froid conserve les molécules odorantes mais la chaleur les détruit. Le vent favorise également le dessèchement de la muqueuse olfactive (23,58).

L'inhalation des flocons de neige ou des gouttelettes de pluie forme une couche liquidienne à la surface de la muqueuse olfactive, ce qui abaisse l'acuité olfactive (58).

Bien que le mécanisme d'action reste inconnu à ce jour, il semble qu'une baisse brutale de la pression atmosphérique ou des champs électromagnétiques créés par un orage, perturbent les capacités olfactives des chiens. Une pression atmosphérique élevée diminue la volatilité des molécules et rend la détection des odeurs plus compliquée (23,24,58).

Les chiens présentent donc d'excellentes capacités olfactives qui s'expliquent par des facteurs anatomiques, physiologiques et génétiques. Du fait d'une communication aisée et d'une bonne compréhension entre l'homme et le chien, le chien est un animal de choix pour de nombreux domaines d'utilité qui requièrent l'olfaction.

DEUXIEME PARTIE : Les cancers dépistés grâce à l'odorat des chiens et les effluves libérés lors des processus de carcinogenèse

I. LES CANCERS : GENERALITES

A. Le ou les cancer(s)

Le cancer est une maladie décrite depuis l'Antiquité. Le terme « cancer » provient des noms grecs « carcinos » et « carcinoma » donnés pour la première fois par Hippocrate, un médecin grec. Il donne ce nom en comparant l'aspect de certaines tumeurs dont les prolongements rappellent les pattes d'un crabe. Le nom « cancer » désigne un groupe de maladies très différentes. Nous devrions sans doute parler des cancers plutôt que du cancer (100).

Le cancer est dû à un dysfonctionnement cellulaire. Certaines cellules vont d'abord proliférer localement de façon anarchique, puis atteindre le(s) tissu(s) avoisinant(s) et à distance, créer des métastases (100).

B. L'épidémiologie des cancers en France

Depuis 2010, le cancer est la première cause de mortalité en France. 150 000 décès dûs à un cancer ont été recensés en 2017. Les projections d'incidence ont permis d'estimer à environ 400 000 nouveaux cas de cancers pour l'année 2017. Parmi ces 400 000 cas, nous distinguons 214 000 cas de cancers chez l'homme et 186 000 cas chez la femme. Le nombre de nouveaux cas de cancers ainsi que les décès augmentent. C'est une observation mathématiquement logique puisque la population française augmente ainsi que la proportion de personnes âgées. C'est pourquoi nous utiliserons des taux dits « standardisés » afin de s'affranchir des évolutions démographiques et de les comparer objectivement. Ces taux standardisés indiquent finalement une baisse d'incidence et de la mortalité chez l'homme. Cette baisse d'incidence est de -1,5%/an entre 2005 et 2012 grâce à une baisse du nombre de cancers de la prostate. Seule la mortalité baisse chez la femme car chez cette dernière, le taux d'incidence augmente malheureusement légèrement bien qu'il ait ralenti, à hauteur de + 0,2%/an (100).

Chez l'homme, les trois cancers les plus fréquents sont : le cancer de la prostate en tête, suivi par le cancer du poumon puis le cancer du côlon-rectum. Concernant les décès, c'est de loin le cancer du poumon le plus mortel qui est d'ailleurs la première cause de mortalité par cancer en France. Le cancer du côlon-rectum est le second cancer le plus mortel chez l'homme, puis vient en troisième position le cancer de la prostate (tableau 4) (100).

Chez la femme, les trois cancers les plus fréquents sont respectivement le cancer du sein, du côlon-rectum et du poumon. Ce dernier est en forte augmentation avec un nombre de nouveaux cas multiplié par sept en trente ans à cause du tabagisme : le principal facteur de risque du cancer du poumon. Si le cancer du sein est le plus fréquent chez la femme, c'est

également le plus mortel. Le cancer du poumon est le second cancer le plus mortel bien qu'il se rapproche progressivement du cancer du sein chaque année, puis vient le cancer du côlon-rectum (tableau 4) (100).

Les taux standardisés depuis 1980 montrent une baisse de la mortalité par cancer, permise grâce à des diagnostics plus précoces et des traitements plus efficaces. Mais chaque cancer ne suit pas la même évolution. Certains cancers ont une incidence et une mortalité qui diminuent : c'est le cas du cancer de l'estomac, de l'œsophage, des voies aérodigestives supérieures, du col de l'utérus et de la prostate. L'incidence du cancer du sein chez la femme augmente mais la mortalité diminue. D'autres cancers dont le mélanome cutané, le cancer du système nerveux central et le cancer du poumon chez la femme ont une incidence, et pour certains, une mortalité qui augmentent. Chez ces derniers cancers, un diagnostic plus précoce par l'odeur permettrait d'améliorer l'efficacité thérapeutique des traitements (100).

La survie nette à cinq ans peut fortement varier. Elle diffère d'abord selon la localisation cancéreuse, allant chez l'homme de 4% pour le mésothéliome pleural à 96% pour le cancer du testicule et chez la femme de 7% pour le cancer du pancréas à 98% pour celui de la thyroïde. La survie varie aussi selon l'âge et l'état de santé général au moment du diagnostic. Plus un cancer est détecté tôt et meilleures sont les chances de survie (100).

Diagnostiquer le cancer à un stade plus précoce permettrait donc de diminuer la mortalité ainsi que ses conséquences. En effet, être atteint puis guérir d'un cancer n'est pas sans impact sur la qualité de vie. En 2015, plus de trois millions de personnes de ≥ 15 ans ont eu un cancer au cours de leur vie dont 1 570 000 hommes et 1 412 000 femmes. Leur risque de cancer secondaire est augmenté en moyenne de 36% par rapport au risque de cancer de la population générale. Une étude actualisée en 2014 par l'Institut National Du Cancer révèle que deux ans après le diagnostic d'un cancer, 3 personnes sur 5 déclarent avoir conservé des séquelles de leur pathologie et 8,5% ressentent une discrimination ou un rejet dans leur entourage. Ces personnes ont une situation professionnelle dégradée. Leur taux d'emploi passe de 82% au moment du diagnostic à 61,3% deux ans après. La proportion des personnes atteintes de cancer considérées comme vivant en dessous du seuil de pauvreté passe de 20,9% au moment du diagnostic à 25,1% deux ans après (100).

Chez les enfants, le cancer est la quatrième cause de décès (20% des décès) entre 1 et 14 ans. Les leucémies sont la principale cause de cancer chez les moins de 15 ans et représentent 29% des cas (dont 80% de leucémies aiguës lymphoblastiques) suivies par les tumeurs du système nerveux central (24%) et les lymphomes (11%). Depuis quelques années, leur survie à cinq ans s'est nettement améliorée et dépasse maintenant les 80%. Certains outils de dépistage ou de suivi chez ces enfants entraînent des risques, dont le risque de cancer radio-induit dû à l'exposition répétée aux rayonnements ionisants, d'autant plus important que le sujet est jeune. Une méthode de dépistage olfactif du cancer chez les enfants pourrait être une solution à ces risques encourus (100).

Tableau 4 : Les chiffres du cancer (100)

	Hommes	Femmes
Incidence (2017)	400 000	
	214 000	186 000
Nombre de décès (2017)	150 000	
	84 000	66 000
Cancers les plus fréquents (incidence) (Projection des chiffres de 2017) * sauf prostate : chiffre de 2013	1. Prostate* (48 427 en 2013) 2. Poumon (32 260) 3. Côlon-rectum (24 035)	1. Sein (58 968) 2. Côlon-rectum (20 837) 3. Poumon (16 849)
Cancers les plus mortels (Projection des chiffres de 2017)	1. Poumon (20 815) 2. Côlon-rectum (9 294) 3. Prostate (8 207)	1. Sein (11 883) 2. Poumon (10 176) 3. Côlon-rectum (8 390)
Evolution de l'incidence (entre 2005 et 2012)	- 1,5%/an	+ 0,2%/an
Evolution de la mortalité (depuis 1980)	- 1,3%/an	- 1%/an

Aujourd'hui, nous estimons que 40% des décès liés au cancer seraient évitables. Un cancer n'est jamais le résultat d'une cause unique. Un ensemble de facteurs, susceptibles d'interagir entre eux sont à l'origine du développement de la maladie. Nous distinguons les facteurs :

- ✓ externes : liés à l'environnement ou au mode de vie comme le tabac, l'alcool, l'alimentation, *etc*.,
- ✓ internes : l'âge par exemple, car bien qu'un cancer puisse survenir à tout âge et dès la naissance, le risque augmente avec l'âge dû à une accumulation des agressions externes que subissent les cellules qui est associée à une diminution de l'efficacité des systèmes de réparation de l'ADN,
- ✓ et génétiques : il a été démontré que certaines mutations de l'ADN sont impliquées dans le développement du cancer et peuvent parfois se transmettre lors de la descendance : nous parlons alors de prédisposition génétique du cancer. Certaines personnes ont donc plus de risques de développer un cancer que d'autres. 5 à 10% des cancers seraient liés à la transmission d'une mutation héréditaire. Les mutations héréditaires prédisposant au cancer les plus connues concernent les gènes BRCA1 et BRCA2. Ils entraînent un sur-risque important de cancers du sein et de l'ovaire (100).

Le Plan cancer 2014-2019 mise sur une mobilisation en faveur de la santé des générations actuelles et futures, afin de réduire de moitié le nombre de décès par cancers liés aux facteurs de risque évitables d'ici 2034. Dans ce cadre, en tant que professionnels de santé, nous jouons un rôle essentiel, notamment sur l'information à nos patients et l'évaluation de leurs risques (100).

II. LES ORIGINES DU CONCEPT DE LA DETECTION OLFACTIVE CANINE

De multiples maladies dégagent des odeurs spécifiques. C'est depuis de nombreuses années que le personnel médical associe des odeurs avec certaines pathologies. Les médecins savaient que :

- Le typhus dégage une odeur de pain complet juste cuit,
- La rougeole sent comme des plumes justes arrachées,
- La fièvre jaune a une odeur de boucherie,
- Le scorbut s'accompagne d'une odeur de pourri,
- La mononucléose infectieuse donne une odeur acidulée,
- Une infection urinaire se caractérise par une odeur d'ammoniac,
- La schizophrénie dégage une odeur de transpiration particulière provenant du trans-2-méthyl-3-hexene (101).

Nous savons qu'une modification de notre odeur corporelle, de nos fluides comme nos urines et nos excréments peut être le signe d'une altération de notre état de santé. Autrefois, les médecins diagnostiquaient certaines maladies en examinant les liquides corporels, l'urine et les excréments. Par exemple, ils goûtaient les urines afin de déceler un diabète si elles étaient sucrées. En tant qu'humains, il est souvent difficile de percevoir des modifications subtiles des odeurs. Nous ne sommes pas tous sensibles aux mêmes variations d'odeurs et notre relation avec la personne peut modifier l'odeur perçue. Ces dernières années, nous avons eu les preuves que le chien excelle dans ce domaine et nous alerte dès qu'il en ressent le besoin. Chez certains chiens, la capacité à dépister les cancers peut être innée, chez d'autres il faut un entraînement plus ou moins long et intense (101)

Le choix de l'animal et donc du chien, puis de la race, remonte à des faits marquants, à l'origine de plusieurs publications scientifiques.

A. 1989 : un mélanome

La première publication d'une éventuelle détection olfactive d'une tumeur par le chien remonte à 1989, écrite par Williams H et Pembroke A. Une dame de 44 ans décide de consulter son dermatologue au King's College Hospital à Londres car depuis plusieurs mois son chien renifle un grain de beauté situé sur son mollet gauche, durant plusieurs minutes par jour et même à travers son pantalon. Il avait même essayé de l'arracher avec ses dents. Son animal est un mélange de Doberman et de Border Collie et ne montrait aucun intérêt pour ses autres grains de beauté. Ce comportement très insistant sur cette lésion pigmentée aboutit à l'inquiétude de la propriétaire du chien. Cette lésion est excisée et diagnostiquée : le chien avait découvert un mélanome à un stade précoce (101–103).

B. 2001 : un carcinome basocellulaire peut en cacher un autre

Douze ans après ce premier cas, Church J et Williams H publient un second article sur le sujet de la détection précoce d'un carcinome basocellulaire. C'est une patiente dont le chien (la race ne nous est pas précisée) s'est mis à renifler constamment une petite lésion dont elle ne se souciait pas. Un jour, son chien a même essayé de mordre cette lésion. Devant cette insistance, cette dame consulte un médecin qui souhaite procéder à l'exérèse de celle-ci. Les analyses diagnostiquent un mélanome malin de 1,86 mm d'épaisseur. La patiente n'a eu aucune récidive grâce à une prise en charge précoce permise par l'alerte de son chien (101,102,104).

A Nottingham en Angleterre, un homme de 66 ans présente une plaque d'eczéma sur le côté externe de sa cuisse gauche, augmentant progressivement depuis environ 18 ans à l'origine de démangeaisons. L'homme consulte différents médecins et essaie plusieurs traitements topiques : stéroïdes, antifongiques, *etc*. mais sans résultat et la lésion ne régresse pas mais persiste. Un jour, il adopte un animal de compagnie : un Labrador, nommé Parker. Ce chien s'intéresse étonnamment très rapidement à cette lésion et la renifle à travers le pantalon. L'homme consulte davantage de médecins et la lésion est un jour excisée. Il s'agissait finalement d'un carcinome basocellulaire. Après l'exérèse, Parker n'a plus jamais montré d'intérêt pour la cuisse gauche de son propriétaire (101,102,104).

C. Des cas de détections canines olfactives qui s'enchaînent

1. Le cancer du sein

A Wausa, aux États-Unis, un Teckel détecte un cancer du sein chez sa maîtresse de 44 ans, amenée à consulter suite à l'insistance de son chien pour sa poitrine (101)

2. Un mélanome derrière l'oreille

En 2013, le British Medical Journal relate le cas d'un homme de 75 ans qui décide de consulter, alerté par l'insistance de son Berger Allemand à lécher une lésion derrière son oreille. Les analyses diagnostiquent un mélanome malin. Nous détaillerons ce cas à l'origine d'une publication dans la sous-partie III. B. 3 (105).

Chaque fois, nous constatons que les chiens ont perdu tout intérêt pour la partie du corps ciblée dès la tumeur retirée (101).

Ces données peuvent paraître anecdotiques, mais elles furent à l'origine de plusieurs publications ayant découlé sur des études en double aveugle afin de déterminer si des chiens entraînés sont capables de reconnaître une pathologie donnée. Ces publications ouvrent l'hypothèse que la détection olfactive canine serait permise grâce à une signature

olfactive spécifique des cancers. Les recherches ont concerné les cancers de la peau (le mélanome), de la vessie, du poumon, du sein, des ovaires, du côlon-rectum, de la prostate et de la thyroïde. Les chiens détecteraient également d'autres maladies grâce à leurs performances olfactives incroyables : le diabète, les allergies, *etc.* Nous garderons le cancer du sein pour la troisième partie, pour lequel le projet KDOG consacre sa recherche (102).

III. LES CANCERS ACTUELLEMENT DEPISTES GRÂCE A L'ODORAT CANIN

A. Préambule

1. La classification de la réponse des chiens

Les publications que nous allons présenter dans cette sous-partie se sont déroulées pour la majorité en double aveugle : l'identité des échantillons (tumoral ou contrôle sain) fut rendue aveugle au chien, au maître-chien, aux manipulateurs et aux assistants de laboratoire. Certaines études ont réalisé les essais en simple aveugle et en double aveugle afin de mesurer l'impact de cette variable.

Lors des résultats, nous parlerons avec les termes de statistiques suivants :

a) La sensibilité et la spécificité

La prévalence d'une maladie M est la proportion de personnes atteintes de cette maladie M = $P(M^+)$ (106).

Lors d'un test destiné à dépister une maladie M : la sensibilité du test correspond à la probabilité que le test soit positif (+) quand la personne est malade (M+) = $P(T^+|M^+)$. C'est la proportion d'échantillons positifs cibles « cancers » correctement identifiés par le chien parmi le nombre total des échantillons « cancers » à identifier. C'est donc la capacité à reconnaître à M+ (106).

La spécificité du test correspond à la probabilité que le test soit négatif (-) lorsque la personne n'est pas malade (M-) = $P(T^-|M^-)$. C'est la proportion d'échantillons négatifs témoins négativement indiquée par le chien parmi le nombre total des échantillons réellement témoins. C'est donc la capacité à reconnaître M- (106).

b) La valeur prédictive positive et la valeur prédictive négative

Mais quelle est la capacité d'un test à prévoir l'état de santé réel d'un individu ? Nous parlerons alors de valeur prédictive positive (VPP) et de valeur prédictive négative (VPN) pour connaître cette capacité (106).

La VPP correspond à la probabilité que la personne soit effectivement malade M+ lorsque nous détectons la présence de tel signe dans le test T. La VPP est égale à $P(M^+|T^+)$ (106).

La VPN correspond à la probabilité que la personne soit effectivement saine M- lorsque nous détectons une absence de tel signe dans le test T. La VPN est égale à $P(M^-|T^-)$ (106).

Les réponses données par les chiens dans les publications suivantes sont :

- ❖ Réponses correctes :
- ✓ Le chien renifle l'échantillon cancéreux et l'indique (généralement en s'asseyant) devant un échantillon « cancer » dit cible → C'est un vrai positif, compté dans le calcul de sensibilité.
- ✓ Le chien renifle l'échantillon témoin et ne l'indique pas → C'est un vrai négatif, compté dans le calcul de spécificité.

- ❖ Réponses incorrectes :
- ✓ Le chien renifle un échantillon et l'indique comme étant un échantillon cible tumoral, mais qui ne l'est pas → C'est un faux positif.
- ✓ Le chien renifle mais n'indique pas un échantillon cancéreux → C'est un faux négatif.

- ❖ Une hésitation :

Une hésitation est considérée comme une réaction incomplète aux échantillons de cancer ou de contrôles, soit faussement positive ou négative suivant une hésitation devant un échantillon cancer ou contrôle (107).

2. L'entraînement des chiens

Les formations des chiens ont été plus ou moins longues suivant les études. Certains chiens avaient des aptitudes préalables à la détection olfactive comme la femelle Labrador Retriever formée pour la détection du cancer colorectal (Sonoda H. *et al*, 2011) et le Berger Belge Malinois entraîné à diagnostiquer le cancer de la prostate (Jean-Nicolas Cornu *et al,* 2011) mais d'autres pas du tout tels que les 6 chiens de l'étude de Carolyn Willis *et al* en 2004 qui ont appris à dépister le cancer de la vessie. Une grande méthode d'entraînement connue dans le monde animal est la méthode du *clicker-training*. Nous la retrouvons lors de la publication en 2004 pour dépister le cancer de la vessie, en 2006 pour les cancers du poumon et du sein et enfin en 2011 pour détecter le cancer de la prostate. C'est également la méthode de formation utilisée par le projet KDOG et par Medical Detection Dogs (troisième partie).

a) L'histoire du *clicker-training*

C'est en entraînant des dauphins à sauter qu'il a fallu trouver un signal permettant d'indiquer à distance au dauphin qu'il réalisait bien ce que nous attendions de lui, puisque nous ne pouvions pas lui donner sa récompense (un poisson) au moment du comportement attendu. Le « clic » émis grâce à un sifflet permettait au dauphin de comprendre ce que nous attendions de lui puis de revenir au bord chercher sa récompense (108).

b) L'effet cognitif du *clicker-training*

Le *clicker-training* est un renforcement positif. Le « clic » est produit par un cliquet (*clicker*) qui marque le moment où le chien doit réaliser le comportement que nous attendons de lui immédiatement suivi d'une récompense alimentaire. Le clic signifie donc « une récompense arrive en raison du comportement que tu viens de produire ». Comme le clic n'est pas accompagné de paraverbal, il donne toujours le même message contrairement à la voix (108).

Le chien produit le comportement, par exemple « assis » et dès qu'il s'assied nous réalisons le « clic ». La procédure est répétée jusqu'à ce que le chien l'intègre et répète le comportement attendu sans faute. L'éducateur introduit ensuite le code, ici le mot « assis » afin d'associer le comportement avec le code. Cette procédure est également répétée jusqu'à ce que le chien l'intègre. Une fois que le comportement est appris, il n'a plus besoin d'être cliqué à chaque fois ni récompensé par l'alimentation sauf de temps en temps afin qu'il garde parfaitement le comportement en mémoire (108).

B. Le cancer de la peau : mélanome

En 2015, 14 325 nouveaux cas estimés de mélanomes cutanés ont été recensés, dont 7 083 hommes et 7 242 femmes ainsi que 1 773 décès estimés : 1 033 hommes et 740 femmes. S'il n'est pas métastasé, c'est un cancer de bon pronostic avec une survie nette standardisée sur l'âge à 5 ans de 91% (89% chez l'homme et 93% chez la femme) et de 83% à 10 ans (81% chez l'homme et 85% chez la femme). Mais la survie d'un mélanome métastatique est très courte avec une médiane de survie de 8 mois sans traitement. Plus un mélanome est dépisté tard et plus les chances de survie diminuent d'où l'importance d'un diagnostic précoce. L'un des objectifs principaux de la détection olfactive canine est de développer une méthode de dépistage plus précoce que celles utilisées aujourd'hui (100).

L'incidence du mélanome doublait tous les dix ans jusqu'à 2005. Aucun autre cancer ne connaissait une telle augmentation. Cette forte augmentation s'est ralentie grâce à l'adoption des mesures de prévention mais continue de progresser. La mortalité s'est stabilisée chez l'homme (+0,1%/an) et baisse (-1,8%/an) chez la femme grâce aux compagnes de prévention et de dépistage (100).

1. L'exposition aux rayonnements ultraviolets

Une surexposition aux rayonnements ultraviolets naturels et artificiels est un facteur de risque majeur de survenue de cancer cutané. En tant que professionnels de santé, nous devons être capables de différencier un naevius d'un mélanome. Communément appelé « grain de beauté », un naevius est bénin et correspond à une prolifération de mélanocytes. Le mélanome est malin et se développe aux dépends des mélanocytes. Bien qu'il n'existe pas de critère absolu, la règle ABCDE est bien connue pour les distinguer : l'**A**symétrie, des **B**ords

irréguliers, une **C**ouleur inhomogène, un **D**iamètre > 5 mm et l'**E**volution, sans doute le critère le plus important et uniquement rapporté par le patient, sont tous des facteurs de risque (109).

Il est donc de notre rôle de rappeler à nos patients les conseils de prévention. Lors d'un dépistage tardif, le mélanome est souvent plus épais avec un risque augmenté de métastases et de récidives. Depuis 2018, certaines officines proposent un dépistage de cancer de la peau. Ce service n'est proposé que dans certaines villes mais il devrait s'étendre à tout le territoire. Le pharmacien prend en photo le grain de beauté suspect et l'envoie à un dermatologue. La réponse demande quinze jours. Ce dépistage coûte 28€ et n'est ni remboursé par la caisse primaire d'assurance maladie ni par les complémentaires de santé. Ce dépistage est en partenariat avec le Syndicat National des Dermatologues-Vénéréologues (SNDV). Ce syndicat propose également une journée nationale de dépistage des cancers de la peau. Lors de cette journée, des centres de dépistages sont mis en place où les dermatologues bénévoles se mobilisent dans toutes les régions de France et examinent tous les patients qui s'y présentent, bénéficiant ainsi d'une consultation gratuite et anonyme. La journée nationale de 2015 du SNDV avait permis de diagnostiquer près de 2 650 lésions cancéreuses dont près de 2 000 carcinomes basocellulaires, plus de 500 mélanomes et près de 140 carcinomes épidermoïdes (100,110).

2. « *Evidence for canine olfactory detection of melanoma* », novembre 2004

Ces chiens capables de flairer des mélanomes grâce à leurs performances olfactives incroyables ont suscité beaucoup d'intérêts de la part des médias. Si la truffe aiguisée du chien avait déjà fait ses preuves dans de nombreux domaines, l'olfaction canine n'avait été encore jamais utilisée dans la recherche médicale. C'est suite à la publication de John Church et Hywel Williams « Another sniffer dog for the clinic? » qui relate les premiers chiens capables de dépister des maladies grâce à leur olfaction (présentés dans la sous-partie « II. Les origines du concept de la détection olfactive canine »), que la dermatologue Cognetta en Floride aux États-Unis s'associe avec Duane Pickel, retraité après 33 ans d'expérience dans l'entraînement des chiens lors de la guerre au Vietnam (104).

Ensemble, ils débutent la première étude d'une détection olfactive canine du mélanome et entraînent deux chiens : un Schnauzer Moyen mâle et une Golden Retriever femelle selon la méthode de formation utilisée pour les chiens détecteurs de drogues et d'explosifs (101,111).

L'entraînement fut jugé efficace dès lors que les deux chiens trouvèrent rapidement, grâce à l'odorat et sans jamais se tromper, les échantillons de tissus de mélanomes cachés sur des volontaires sains. Les tests ont alors commencé. Sept patients ont été présentés au chien (A). Chez cinq patients, le chien (A) est venu confirmer le diagnostic clinique de mélanome suspecté par la dermatologue et ensuite confirmé par une biopsie. Le chien (A) a également décelé un mélanome chez un sixième patient chez qui le diagnostic clinique n'évoquait

pourtant pas de mélanome mais dont la biopsie a confirmé le choix de l'animal. Cependant, ni le chien ni la dermatologue n'ont dépisté de mélanome pour le septième patient chez qui l'analyse anatomopathologique a pourtant confirmé la présence d'un mélanome. La sensibilité était donc de 85,7% (111).

Le chien (B) a exploré 4 des 7 patients. Pour chaque patient, la réponse du chien (B) venait confirmer celle du chien (A) (111).

3. « *Canine olfactory detection of malignant melanoma* », octobre 2013

Le phénomène commence à être intégré par la communauté scientifique : les chiens seraient effectivement capables de dépister les cancers grâce à leur flair hors du commun. Comment les chiens détectent-ils le cancer? Le cancer a-t-il réellement une odeur ?

La présente publication relate l'histoire d'un homme de 75 ans venant consulter à la clinique de dermatologie, inquiet car son chien lèche de façon persistante une lésion asymptomatique et inconnue du patient derrière son oreille droite. Son chien est un Berger Allemand adopté 4 ans auparavant dans un centre de secours mais dont l'histoire et l'âge sont inconnus (figure 38 (A)). Le patient avait été diagnostiqué 4 ans plus tôt d'un myélome multiple traité par chimiothérapie et radiothérapie. Cet homme présentait des antécédents d'exposition solaire importante, d'eczéma durant l'adolescence et n'avait aucun antécédent familial de maladie de peau ni de mélanome. Lors de la consultation, il apparaît que le patient est en rechute lente de son précédent myélome (105).

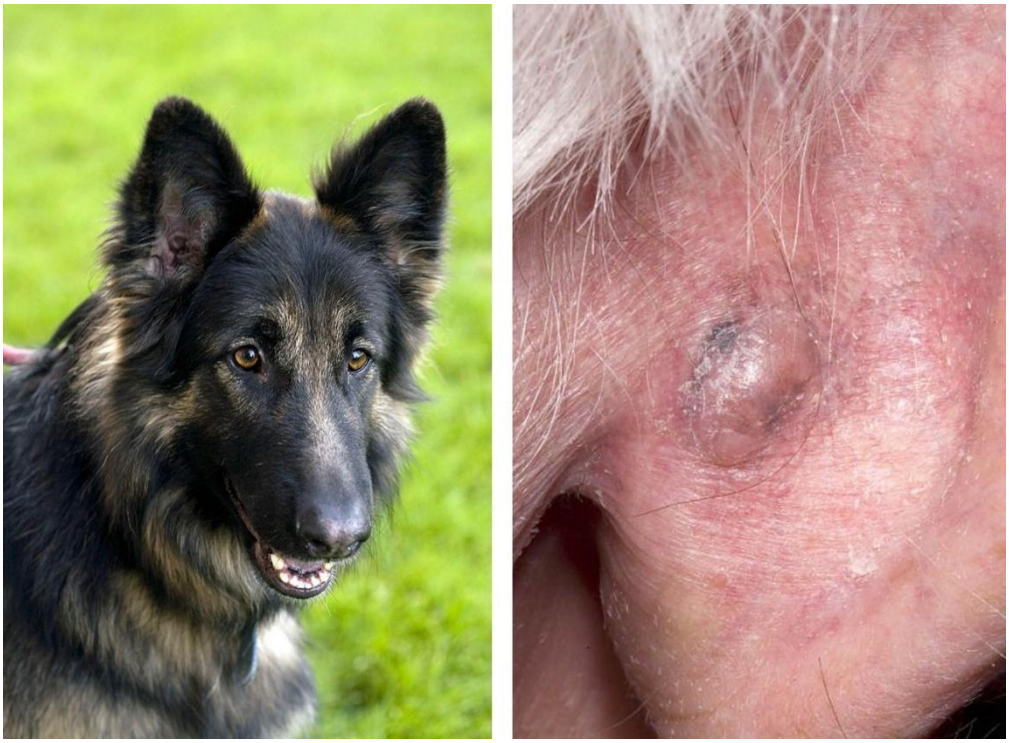

Figure 38 : (A) Le chien du patient : un Berger Allemand - (B) La lésion du patient (105)

L'examen clinique diagnostique une lésion sèche, squameuse et nodulaire dans le sillon post-auriculaire droit. La biopsie confirme un mélanome malin ulcéré invasif d'une épaisseur estimée à 2,5 mm grâce à l'indice de Breslow (figure 38 (B)). Il fut ensuite retiré par une excision locale de 1 cm de large. Une greffe cutanée a été réalisée (105).

Malheureusement, des lésions lytiques ont été observées dans le squelette axial associées au myélome du patient. Le patient a eu un suivi dermatologique régulier jusqu'à sa mort, 11 mois après la progression de son myélome multiple (105).

Dans cette présente étude, la lésion était ulcérée. Nous pourrions penser que le chien a dépisté la lésion grâce à l'ulcération, dégageant une odeur différente du reste de la peau, plutôt que de détecter des composés chimiques odorants spécifiques du mélanome. Dans leur publication, Church et Williams n'avaient pas commenté si les mélanomes étaient ulcérés ou non. Dans leur étude, la dermatologue Cognetta et Duane Pickel avaient intégré des patients atteints de mélanomes non ulcérés. Il semblerait donc que les chiens détectent effectivement l'odeur du mélanome plutôt qu'une autre odeur due à un autre processus. De plus, les autres publications abordant la détection olfactive canine testée sur d'autres cancers suggèrent l'existence d'une signature olfactive spécifique due à la malignité (105).

C. Le cancer de la vessie

Le cancer de la vessie est le quatrième cancer le plus fréquent chez l'homme. D'après les chiffres des projections de 2017, il aurait touché 10 684 hommes et 2 654 femmes qui sont beaucoup moins atteintes par ce cancer. Il est à l'origine d'environ 5 000 décès par an, 3 778 hommes et 1 235 femmes en sont décédés en 2017 (112).

1. « *Olfactory detection of human bladder cancer by dogs: proof of principle study* », septembre 2004

La chercheuse Carolyn Willis et ses collègues de l'hôpital d'Amersham à Buckinghamshire (Angleterre) réalisent la première grande étude scientifique afin d'observer si les chiens peuvent détecter le cancer de la vessie grâce à leur odorat. Elle souhaite vérifier l'hypothèse d'une éventuelle détection olfactive canine des maladies malignes, suggérée par Williams et Pembroke en 1989 à l'origine d'une seconde publication sur le sujet en 2001 relatant un mélanome dépisté par un chien. En 2004, le concept est encore anecdotique mais plausible. Les tumeurs libèrent des composés organiques volatils (COV) susceptibles d'émettre une odeur. Même présents en quantité infime, les chiens pourraient détecter leur présence grâce à leurs capacités olfactives inégalées (103,104,113).

a) Objectif

En 2004, le but était de mener une étude simple et rigoureuse afin de répondre à cette interrogation : « Les chiens peuvent-ils être entraînés à détecter le cancer de la vessie plus efficacement que le ferait le hasard ? ». L'idée d'une éventuelle utilité en clinique n'était pas encore présente. Les chercheurs ont porté leur intérêt pour le cancer de la vessie et de part sa localisation tumorale, ils ont supposé que les composés organiques volatils seraient libérés dans l'urine, facilement recueillie et présentée aux chiens. Les capacités de 6 chiens entraînés à détecter le cancer de la vessie ont été évaluées en comparant leurs taux de réussite à ceux attendus par le hasard. Les chiens devaient choisir une urine « cible » de cancer placée au hasard parmi six témoins lors des expériences (113).

b) Matériels et méthodes

(1) Les chiens et l'entraînement

Ce sont 6 chiens qui ont été entraînés durant 7 mois : un Epagneul Nain Papillon (♀, 7 ans), 3 Cockers Spaniels Anglais (2 ♀, 2 et 5 ans ; 1 ♂, 1,5 ans), une Labrador (♀, 7 ans) ainsi qu'un « bâtard » (♂, 6 ans). Les chercheurs n'ont volontairement pas inclus de chien ayant une aptitude particulière à la discrimination des odeurs. L'Epagneul et les 3 Cockers ont été entraînés sur des urines liquides justes décongelées tandis que la Labrador et le « bâtard » ont uniquement été confrontés à des urines sèches. Nous verrons ainsi si la conservation et la forme de présentation des fluides impactent le dépistage olfactif (113).

L'objectif de la formation était de rendre les chiens capables de différencier l'urine des patients atteints du cancer de la vessie de ceux témoins en bonne santé. L'entraînement a été réalisé grâce à la méthode du *clicker-training*. L'urine des patients atteints du cancer de la vessie était présentée successivement contre : de l'eau, de l'urine diluée de patients sains, de l'urine non diluée de ces témoins, de l'urine accompagnée d'une hématurie de femmes menstruées et enfin de l'urine de patients atteints de maladies urologiques bénignes récentes ou actuelles. Les chiens ont appris à « alerter » ou « indiquer » l'échantillon tumoral parmi une série, chacune composée de 7 échantillons : 1 échantillon cible « cancer » toujours accompagné de 6 échantillons contrôles. Les chiens ont également été entraînés à ignorer les urines des individus fumeurs (113).

(2) Le recrutement des patients

Les patients ont été recrutés aux hôpitaux du Buckinghamshire Hospitals NHS Trust et les contrôles sains parmi le personnel et leurs familles. Tous ont accordé leur consentement écrit et éclairé. 36 patients présentant un cancer de la vessie (récent ou non) ont été inclus : 23 hommes (48 à 90 ans, âge moyen de 69 ans) et 13 femmes (49 à 90 ans, âge moyen de 74 ans). 108 individus sains ont participé : 54 hommes (18 à 85 ans, âge moyen de 45 ans) et 54 femmes (18 à 85 ans, âge moyen de 40 ans). Les personnes de plus de 30 ans ont dû réaliser une cytoscopie afin d'exclure toute malignité vésicale et les hommes de plus de 50 ans ont

été inclus à condition d'avoir réalisé une histologie récente de la prostate. Toute personne avec un antécédent de maladie urologique maligne a été exclue. Des antécédents d'autres tumeurs malignes étaient acceptés à condition que la personne soit considérée indemne. Aucune exclusion ne concernait l'alimentation, l'ethnie, l'alcool, le tabac, les cycles menstruels et les médicaments (113).

(3) L'échantillonnage

Après prélèvement, les urines étaient placées au réfrigérateur puis congelées à – 40°C durant 5 mois dans des flacons en verre. Les urines ont ensuite été décongelées, pipetées sur du papier filtre dans des boîtes de Pétri et immédiatement présentées pour quatre chiens à l'état humide et pour les deux autres chiens, séchées durant quatre semaines à température ambiante (113).

Lors de l'étude, 9 séries ont été réalisées. Chacune était constituée d'un échantillon cancer (9 au total) et de 6 échantillons témoins (54 au total). Tous les autres échantillons ont servi aux entraînements. La tâche à réaliser était donc la même qu'en entraînement mais avec des échantillons totalement nouveaux (113).

Chaque échantillon était dans une boîte de Pétri numérotée de A à G totalement au hasard. Des échantillons frais et nouveaux dans d'autres ordres aléatoires ont été utilisés pour chaque série et chaque chien. Il a été demandé aux chiens de renifler chaque échantillon et d'indiquer l'urine cible. Des gants jetables en vinyle ont été utilisés à chaque fois qu'un nouvel échantillon d'urine a été manipulé afin d'empêcher la contamination croisée. Lors d'une série, chaque chien avait donc à analyser 7 échantillons d'urines placés dans des boîtes de Pétri puis se coucher devant l'urine d'une personne atteinte du cancer vésical (101,113).

c) Résultats

Les résultats principaux consistaient à comparer la réussite moyenne des chiens à la valeur attendue par le hasard. Au terme de l'étude, les chiens ont détecté avec succès 41% des échantillons de patients atteints d'un cancer de la vessie en reniflant leurs urines. Ce résultat est très supérieur à un choix fait uniquement par le hasard où le résultat attendu serait de 14%. Les 4 chiens entraînés sur des urines humides ont obtenu de meilleurs résultats (50% de réussite) que les 2 chiens testés sur urines sèches (32% de réussite). Le processus de déshydratation entraînerait donc une perte des composés organiques volatils indispensables pour la signature odorante spécifique du cancer (113).

Les chiens ont été confrontés dès les entraînements à des échantillons de contrôles contenant certains éléments susceptibles d'être présents dans l'urine des patients atteints du cancer de la vessie afin de leur apprendre à ignorer des odeurs non cancéreuses. Cela a conduit à l'inclusion d'échantillons d'urine de patients atteints de diabète pour contrôler le

glucose, de cystite chronique pour traiter l'influence des leucocytes et des femmes en bonne santé ayant leurs règles pour contrôler le sang. Du fait de la prévalence de l'hyperplasie bénigne de la prostate compte tenu de l'âge des hommes les plus susceptibles d'avoir un cancer de la vessie, cette condition a également été inclue. Durant l'entraînement, plusieurs chiens ont indiqué comme cancéreux un échantillon pourtant recruté comme témoin. Cela a préoccupé les scientifiques qui décidèrent de réaliser des examens complémentaires au patient à qui ils ont découvert une tumeur maligne sur le rein droit (113).

d) Conclusion

Cette étude confirme les affirmations faites sur les chiens qui sont donc capables de dépister le cancer grâce à leurs performances olfactives hors du commun (113).

D. Le cancer du poumon

Le cancer du poumon est le plus meurtrier. Il représente 20,4% des décès par cancer. Une personne sur cinq décédée d'un cancer, meurt du cancer du poumon. D'après les projections des chiffres de 2017, l'incidence atteint les 49 000 nouveaux cas, dont 32 260 hommes et 16 849 femmes. Le cancer du poumon est à l'origine de 31 000 décès, dont 20 815 hommes et 10 176 femmes. Bien que les femmes soient moins touchées, le cancer du poumon atteint et tue de plus en plus de femmes chaque année chez qui l'incidence et la mortalité ont respectivement augmenté de +5,4%/an et +4,6%/an durant la période 2005-2012 alors qu'elles ont diminué respectivement de -0,3%/an et de -2,2%/an en moyenne chez les hommes. C'est à cause d'une conduite à risque majeure qui augmente chez ces dernières : le tabagisme (114).

La survie nette standardisée sur l'âge à 5 ans est de 17% (16% chez l'homme et 20% chez la femme) et à 10 ans de 10% (9% chez l'homme et 13% chez la femme). C'est un cancer de mauvais pronostic. La prévention des conduites à risque permettrait de diminuer l'incidence et la mortalité du cancer du poumon dont le tabac est le facteur de risque principal. L'âge médian au décès est de 68 ans (114).

1. Le diagnostic

Le cancer du poumon se développe à partir des cellules des bronches. Nous distinguons deux principaux types de cancers pulmonaires suivant l'origine des cellules atteintes : les cancers bronchiques non à petites cellules (85%, CBNPC) et les cancers bronchiques à petites cellules (15%, CBPC). Leurs progressions et sensibilités aux traitements sont différentes d'où l'importance de les différencier lors du diagnostic (100).

« Le bilan diagnostique repose notamment sur :

- ✓ Un examen clinique ayant comme objectifs de faire un bilan sur l'état général, évaluer les antécédents médicaux et les facteurs de risque dont un éventuel tabagisme.
- ✓ Une radiographie du thorax permettant d'observer des anomalies pulmonaires bien qu'elle ne puisse pas connaitre leur nature (bénigne ou maligne) et peut parfois passer à côté de certaines anomalies.
- ✓ Un scanner thoracique afin de repérer de façon plus précise la présence ou non d'une anomalie, même de petite taille (jusqu'à 1 millimètre), connaître sa taille et sa localisation mais qui n'obtiendra aucune indication sur le type de cellules. Le scanner permet de visualiser si les ganglions lymphatiques à proximité sont anormalement gros mais ne donne pas d'information sur une éventuelle atteinte cancéreuse.
- ✓ Une fibroscopie bronchique grâce à un tube fin pourvu d'un signal lumineux, souple et relié à une caméra, est introduit par une narine à l'intérieur de la trachée et des bronches.
- ✓ Une biopsie est réalisée si besoin afin de prélever des échantillons de tissus pour une analyse anatomo-pathologique et déterminer la nature cancéreuse ou non (100) ».

2. McCulloch M. et *al*, mars 2006 ; Ehmann R. et *al*, mars 2012 ; Amundsen T. et *al,* mars 2014

a) Objectifs

Michael McCulloch, chercheur en oncologie de la Pine Street Foundation en Californie aux États-Unis et ses collaborateurs rappellent qu'une détection plus précoce du cancer serait souhaitable. Plus un cancer est dépisté tôt et plus les chances de survie augmentent, permettant d'instaurer des traitements plus tôt et à doses moins toxiques. Les chercheurs sont donc en quête d'un dépistage précoce, peu coûteux et indolore, et le dépistage canin par l'odeur commence à beaucoup les intéresser (115).

Dans le cancer du poumon, la radiographie des poumons et la cytologie des expectorations ont chacune un taux élevé de faux négatifs. Ces méthodes passent à côté de nombreux cancers pulmonaires à un stade précoce. Si le scanner est capable de détecter des lésions jusqu'à 1 mm de diamètre, il a également un taux non négligeable de faux positifs conduisant à certaines interventions chirurgicales inutiles. La détection précoce suivie d'une résection chirurgicale de la tumeur pulmonaire permet la meilleure survie voire guérison à long terme (115).

Concernant le cancer du sein, il est indéniable que la mammographie dépiste une grande majorité des cancers du sein et réduit la mortalité de cette maladie. Mais la mammographie n'est pas sans risque et détecte aussi des lésions non cancéreuses à l'origine d'examens supplémentaires inutiles et responsables d'une anxiété chez la patiente. De plus, une

mammographie détectera mal les lésions cancéreuses chez les femmes ayant un tissu mammaire dense (115).

Une méthode de diagnostic plus fiable et plus précoce, alternative à ces méthodes de diagnostic actuelles serait la bienvenue. La détection olfactive canine pourrait être cette alternative recherchée. Le chien serait capable de détecter et d'isoler l'odeur du cancer, même mélangée parmi d'autres et présente à très faible concentration (115).

Dans cette étude, les scientifiques ont plusieurs objectifs :

- ✓ évaluer si des chiens sans aucune formation préalable aux odeurs sont capables d'être rapidement formés à l'identification de la détection de l'odeur du cancer en sentant des échantillons d'haleine de patients atteints des cancers du poumon et du sein face à des échantillons d'abord vides,
- ✓ observer si les chiens réussissent à différencier les échantillons d'haleine de patients atteints du cancer de ceux en bonne santé,
- ✓ examiner si le diagnostic des chiens est influencé par le stade de la maladie, l'âge, le tabagisme et l'alimentation des patients cancéreux et témoins (115).

En Norvège de 2006 à 2009, Turid Buvik de l'école canine de Trondheim a collaboré avec l'équipe de Tore Amundsen, chercheur à l'hôpital de Saint Olav afin de réaliser une étude supplémentaire portant sur la détection olfactive canine du cancer du poumon en utilisant l'haleine et l'urine de patients. L'objectif était de répondre à une interrogation laissée en suspens lors de l'étude en 2006 de McCulloch et *al*. : est-ce que les chiens sont capables de distinguer les individus atteints d'une maladie maligne de ceux malades mais de façon bénigne (116) ?

En 2012, Ehmann et *al*. avaient réalisé une étude similaire deux ans plus tôt, dont l'objectif essentiel était de répondre à l'interrogation suivante : Les chiens renifleurs peuvent-ils discriminer les lésions pulmonaires bénignes d'un cancer du poumon (117) ?

b) Matériels et méthodes

(1) Le recrutement des patients

Lors de l'étude en 2006 de McCulloch et *al*. : les patients éligibles étaient des hommes et des femmes de plus de 18 ans ayant reçu une biopsie très récente diagnostiquant un cancer du poumon ou du sein. Les traitements n'ont débuté chez ces patients qu'après les recueils d'haleine pour ne pas impacter les prélèvements. Afin d'observer si les chiens sont capables de détecter le cancer à tous stades et dès les plus précoces, les chercheurs ont veillé à recruter des patients avec tous les stades tumoraux. Chaque patient a rempli un questionnaire afin d'évaluer ultérieurement les facteurs susceptibles d'influencer les odeurs de l'haleine : âge, tabagisme actuel ou passé, diabète, soins dentaires récents, repas consommé. 55 patients atteints du cancer du poumon ont été recrutés (âge médian de 59 ans) : 35 hommes et 20 femmes ainsi que 31 patients atteints d'un cancer du sein (âge

médian de 55 ans) : 1 homme et 30 femmes. 83 patients volontaires sains « contrôles » ont été recrutés : 41 hommes et 42 femmes (âge médian de 50 ans) (tableau 5) (115).

Tableau 5 : Les sujets de l'étude de McCulloh et *al*, 2006 (115)

Diagnostic et histologie		Stade	Nombre de patients	Hommes	Femmes	Âge médian
Cancer bronchique non à petites cellules (CBNPC)	Adénocarcinome	I	4	4	0	
		II	9	7	2	
		III	10	4	6	
		IV	16	8	8	
	Squameux	II	6	3	3	
		III	4	3	1	
		IV	6	6	0	
	Tous		55	35	20	59 (43-87)
Cancer du sein	Adénocarcinome	I	8	0	8	
		II	6	1	5	
		III	12	0	12	
		IV	4	0	4	
	Lobulaire	III	1	0	1	
	Tous		31	1	30	55 (39-73)
Donneurs sains			83	41	42	50 (22-79)

En 2014, Amundsen et *al* ont inclus dans l'étude 93 patients, admis à l'hôpital de Saint Olav, non sélectionnés pour un cancer du poumon, mais venant consulter pour une maladie pulmonaire avec une suspicion de cancer mais sans connaître la malignité ou non de la pathologie lors de l'inclusion. Pour chacun des patients, des échantillons d'urine et d'haleine ont été recueillis. Les diagnostics de cancer du poumon ont été établis à partir de biopsies et classés en 4 groupes : non cancéreux, cancer bronchique à petites cellules (CBPC), cancer bronchique non à petites cellules (CBNPC) et autres (carcinoïde pulmonaire, mésothéliome ou métastase pulmonaire et d'autres néoplasies primaires). Les patients testés négatifs pour une maladie pulmonaire maligne ont été suivis pendant trois ans afin de détecter toute apparition future de cancer (116).

Les caractéristiques de la malignité, des habitudes tabagiques, d'une maladie concomitante et de la fonction pulmonaire étaient représentatives de la population générale. La population étudiée était une population hétérogène en termes de troubles pulmonaires. Parmi les 93 patients : 63 (67,7%) avaient une maladie maligne des poumons et 30 (32,3%) n'avaient pas de malignité pulmonaire. Parmi les 63 patients : 4 patients (4,3%) présentaient des métastases pulmonaires dues à d'autres tumeurs solides et 59 (63,4%) étaient atteints du cancer du poumon (dont 8 (13,8%) d'un co-cancer) : 13 cancers CBPC, 40 cancers CBNPC, 2 carcinoïdes pulmonaires, 1 mésothéliome et 3 non confirmés. Le terme « non confirmés » était utilisé pour les tumeurs déterminées cliniquement et radiologiquement comme étant un cancer du poumon et traitées comme telles mais qui n'ont pas été vérifiées histologiquement pour diverses raisons. 14 patients étaient au stade I, 5 au stade II, 17 au stade III et 23 au stade IV. L'âge médian des sujets était de 70 ans (extrêmes : 44-89 ans) pour le groupe cancéreux et de 67 ans (extrêmes : 44-84 ans) pour le groupe non cancéreux (116).

En 2012, Ehmann et *al,* ont recruté 220 volontaires : des individus en bonne santé, des patients atteints du cancer du poumon confirmé par une biopsie et d'autres atteints de bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) afin de prélever leur haleine. Les critères d'inclusion étaient d'être un homme ou une femme, âgé(e)s de 18 à 80 ans et obtenir leur consentement écrit et éclairé. Les critères d'exclusion étaient une affection maligne autre que le cancer du poumon suspectée ou confirmée, une chirurgie thoracique antérieure et toute intervention médicale au niveau de la poitrine ou des voies respiratoires au cours des 14 jours précédents. Finalement ce dernier critère d'exclusion n'a pas été respecté puisque les chercheurs ont dû inclure des patients ayant subi une bronchoscopie diagnostique au cours des 14 derniers jours pour obtenir un nombre suffisant de patients (117).

(2) L'échantillonnage

En 2006, McCulloch et *al*. ont demandé aux donateurs d'expirer 3 à 5 fois à travers le tube profondément sans que cela devienne inconfortable pour eux. Le recueil s'est interrompu si les patients devenaient essoufflés, toussaient ou souhaitaient arrêter. Les prélèvements par patients allaient de 4 à 18, tous recueillis en une seule visite avec la précision de la force d'expiration du sujet : plutôt « douce » ou « forte » (nous verrons que cela a une importance sur la composition de l'haleine, troisième partie : III.B.3.c.1). Les échantillons d'haleine ont été placés dans des tubes en polypropylène, scellés puis conservés à température ambiante jusqu'à leur présentation aux chiens (115).

En 2014, Amundsen et *al.* ont tenu à ce que les prélèvements soient recueillis avant tout examen diagnostic ou curatif et au minimum quatre heures après un repas ou après avoir fumé (intervalles de 4 à 12H). Pour les échantillons d'haleine, les patients ont expiré fortement trois fois à travers des « filtres d'exhalation » stériles ensuite conservés à froid dans des récipients spécialement nettoyés et scellés. Une heure avant le test olfactif, les filtres ont été remis à température ambiante. Pour l'urine, 10 mL ont été prélevés par patient puis congelés à – 20°C dans des cryotubes. Une heure avant le test olfactif, les urines ont été décongelées à température ambiante. Les premiers entraînements des tests olfactifs ont été réalisés entre 2 et 4 semaines après les recueils d'échantillons qui furent recongelés pour la seconde phase de tests (après un entraînement intensif) 6 à 30 mois après la collecte : de juin à novembre 2009 (116).

En 2012, Ehmann et *al,* ont demandé à chaque participant d'expirer cinq fois à travers un tube en le tenant à mains nues (figure 39 a) et b)). Aucune restriction particulière ne concernait cette fois l'alimentation avant le prélèvement ou le tabagisme. Aucun intervalle de temps minimal n'a été requis, cependant ces intervalles ont été précieusement notés. Les tubes ont été bouchés, étiquetés et stockés à température ambiante dans une armoire étanche à la lumière jusqu'à ce qu'ils soient testés et reniflés par les chiens. Les antécédents des patients, l'administration d'éventuels médicaments et les données clinicopathologiques ont été analysés pour identifier des biais potentiels ou des facteurs de confusion des odeurs (117).

Les tubes ont été classés en trois 3 groupes A, B et C :

- A : en bonne santé, n = 110
- B : atteints du cancer du poumon après confirmation par histologie, n = 60
- C : BPCO, n = 50 (117).

Figure 39 : Les photographies de l'étude "Canine scent detection in the diagnosis of lung cancer: revisiting a puzzling phenomenon", Ehmann et *al*, 2012 (117)

(3) Les chiens et l'entraînement

En 2006, McCulloch et *al*. ont recruté 5 chiens âgés de 7 à 18 mois : 3 Labradors Retrievers (2 mâles et 1 femelle) et 2 Chiens d'Eau Portugais (1 mâle et 1 femelle). Les chiens provenaient de propriétaires bénévoles ou de l'association des chiens guides pour aveugles de San Rafael en Californie, ayant reçu une formation particulière d'obéissance et sélectionnés pour leur volonté à renifler des objets sans cesse et répondre correctement aux commandes. La formation était basée sur la récompense d'une collation alimentaire associée à la méthode du *clicker-training* décrite précédemment. La commande était « Go to work ». Bien évidemment, les chiens étaient respectés et traités correctement, logés dans un chenil propre et ventilé avec de l'eau à volonté et une alimentation rigoureuse accompagnée de friandises. En effet, l'alimentation influence les capacités olfactives des chiens (première partie : V.A.4). Entre chaque séance, ils étaient libres de jouer selon leurs envies, ayant accès à une grande cour de jeux. Des vétérinaires ont veillé à leur bonne santé et aucun effet indésirable n'est survenu durant l'étude (115).

Chaque phase d'entraînement était terminée lorsque chaque chien distinguait correctement l'échantillon d'haleine du patient cancéreux lors de 30 séries consécutives composées d'un échantillon cible et de quatre échantillons contrôles (115).

Lors de la phase 1, l'emplacement de l'échantillon cible du cancer était connu par les deux expérimentateurs et formateurs. Les quatre autres échantillons étaient des tubes vierges totalement vides et non utilisés pour un quelconque recueil d'haleine. Afin d'encourager les chiens à renifler les échantillons, un petit morceau de nourriture était caché dans la station contenant l'échantillon d'haleine de cancer. Pour les entraîner à indiquer cet échantillon cible, un enquêteur déclenchait la commande « sit » dès que le chien sentait l'échantillon puis le félicitait avec une récompense alimentaire (115).

Durant la phase 2, seuls les expérimentateurs connaissaient la position de l'échantillon cible. Les formateurs n'ont encouragé les chiens qu'avec les commandes « go to work » et « sit ». Le chien n'était félicité et récompensé que s'il indiquait correctement l'échantillon cible tumoral où se trouvait la nourriture. Lors d'une indication incorrecte par le chien : le maître-chien restait silencieux, ne disait aucune félicitation et le réprimandait légèrement en disant « no(n) ». Les échantillons utilisés pour les phases 1 et 2 n'ont évidemment pas été réutilisés puisqu'ils étaient contaminés par des odeurs de nourriture (115).

La phase 3 de l'entraînement était identique à la phase 2 sauf qu'aucune nourriture n'était cachée dans les stations contenant l'échantillon cible. Ces 3 phases avaient pour buts d'entraîner les chiens à détecter et reconnaître les échantillons d'haleine de patients cancéreux. Durant ces 3 phases de formation, les échantillons d'haleine de 27 patients atteints du cancer du poumon, 25 patients atteints du cancer du sein et 66 contrôles ont été utilisés (115).

En 2014, Amundsen et *al.* ont initialement choisi trois chiens: Kaos, Jippi et Tassen. Malheureusement Tassen est tombé malade pendant l'étude et a été remplacé par Fröya (tableau 6) (116).

Tableau 6 : Les caractéristiques des chiens de l'étude d'Amundsen et *al*, 2014 (116)

	Kaos	Jippi	Tassen	Fröya
Race	Berger Belge	Border Collie	Teckel	Rottweiler
Sexe	Mâle	Mâle	Mâle	Femelle
Âge	8 ans	4 ans	8 ans	3 ans
Formation(s) préalable(s)	Suivi des odeurs, des personnes disparues, des polluants environnementaux	Suivi des odeurs, des polluants environnementaux	Suivi des odeurs	Suivi des odeurs

Pour entraîner les chiens à reconnaître l'odeur du cancer du poumon : des échantillons de tumeurs issues de biopsies ont été utilisées. Un morceau d'une tumeur était placé dans un filet métallique au sein d'un récipient scellé contenant à l'intérieur soit un tampon de laine ou de coton stériles afin de les imprégner de l'odeur tumorale. Les deux supports ont montré une efficacité identique lors des tests (116).

Comme contrôles témoins négatifs pour l'entraînement des chiens, des échantillons d'haleine et d'urine issus de 20 individus en bonne santé ont été utilisés (116).

Les chiens ont donc tout d'abord appris la signature odorante du cancer du poumon grâce aux échantillons cibles tumoraux puis à distinguer les odeurs tumorales des odeurs saines. Ils n'ont cependant pas appris à différencier d'autres odeurs lors des entraînements. Les animaux ont tous suivi la même formation et ont été entraînés deux fois par semaine pendant toute la durée de l'étude de 2006 à 2009. Mais lors des tests intermédiaires en 2007 (1*), la sensibilité était insatisfaisante et l'entraînement a donc été intensifié à quatre séances par semaine (116).

Les chiens entraînés par Ehmann et *al,* furent 2 Bergers Allemands, 1 Berger Australien et 1 Labrador Retriever, formés à reconnaître l'odeur des échantillons de patients atteints du cancer du poumon par un dresseur de chiens professionnel. La formation s'est déroulée dans une pièce spécialement préparée pour cet apprentissage et différente de la pièce pour les tests. Les chiens ont été formés pour indiquer un tube positif cible tumoral en se couchant sur le sol devant ce tube. Chaque tube contenant un échantillon d'haleine n'a été utilisé qu'une seule fois pour empêcher la reconnaissance et la mémorisation des odeurs (117).

c) Résultats

Les 3 études se sont toutes déroulées en double aveugle : ni le maître-chien, ni les gestionnaires, ni les expérimentateurs ne connaissaient l'emplacement de l'échantillon cible tumoral. Ils n'ont donc pas pu activer le *clicker* après une indication juste de la part du chien et le récompenser. Ce n'est qu'après avoir conduit le chien hors de la pièce qu'il a pu être récompensé lors d'une bonne indication. De plus, afin d'empêcher les chiens de mémoriser l'emplacement de l'échantillon cible, sa position parmi la série était aléatoire et changeait selon une table de nombres aléatoires.

(1) Les résultats de McCulloch et *al*, 2006

L'haleine de 28 patients atteints du cancer du poumon, 6 patients atteints du cancer du sein et 17 témoins a été utilisée. Pour les calculs de sensibilité et de spécificité, chaque réponse des chiens a été comptabilisée et comparée aux résultats des biopsies. Les chiens ont reniflé chaque échantillon et pourraient donc potentiellement indiquer plusieurs échantillons au sein d'une même série mais cela ne s'est jamais produit (115).

Pour le cancer du poumon, la sensibilité et la spécificité du dépistage olfactif canin grâce à l'haleine étaient de 99%. Concernant le cancer du sein, la sensibilité était de 88% et la spécificité de 98%. Pour tous les stades de la maladie, que ce soit un stade précoce ou tardif, les sensibilités et spécificités étaient similaires. Après avoir comparé chaque série des 5 chiens, il n'y a pas eu de différence significative entre les 5 chiens. (115).

(2) Les résultats d'Amundsen et *al,* 2014

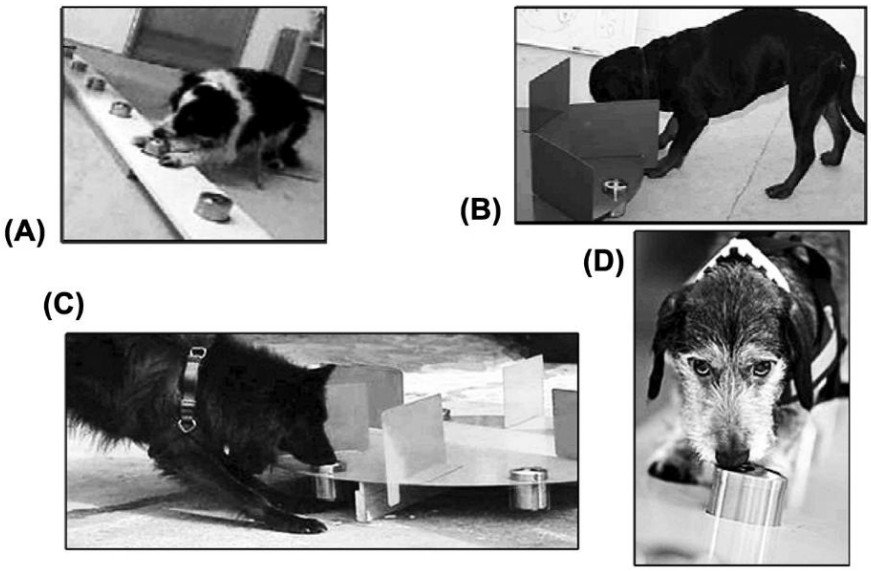

Figure 40 : Une photographie durant les tests olfactifs des chiens A, Jippi; B, Fröya; C, Kaos et D, Tassen (116)

Chaque série se composait de 6 échantillons à renifler dont un seul était cancéreux. Les tests d'analyse d'urine ou d'haleine ont été réalisés séparément (116).

Une première analyse (1*) a été réalisée en 2007 avec 46 patients parmi les 93 mais les résultats furent insatisfaisants. Les chiens avaient jusqu'ici suivi deux entraînements par semaine. Ils ont alors subi une intensification d'entraînement à raison de quatre entraînements par semaine. C'est à ce moment que Tassen est tombé malade et a été remplacé par Froÿa (116).

Une seconde étude d'analyse des échantillons d'haleine a été réalisée après un entraînement intensif des chiens (2*) en 2008. Cependant, si la spécificité a été améliorée, ce n'est pas le cas de la sensibilité (116).

Les tests olfactifs d'analyse d'urine ont également été réalisés en deux parties, la première (3*) après l'entraînement basique des chiens au nombre de 2 par semaine en 2008 puis la seconde (4*) en 2009 après l'entraînement intensif. Chaque analyse comportait 77 patients car 16 n'ont pas réussi à fournir le volume requis pour l'étude (116).

Lors des entraînements les chiens détectaient avec une sensibilité de 99% les échantillons de patients atteints du cancer du poumon face à des échantillons témoins de patients sains. Mais dans cette présente étude, nous retrouvions des patients atteints de maladies bénignes pulmonaires parmi les échantillons témoins. Les chiens ont alors nettement baissé en réussite lorsqu'ils devaient distinguer les maladies malignes et bénignes. L'intensification des entraînements n'a pas permis de remédier à cette baisse de réussite. Nous retrouvons les résultats complets dans le tableau 7 ci-après (116).

Tableau 7 : Les résultats de l'étude d'Amundsen et *al.* 2014 (116)

	Kaos	Jippi	Tassen	Fröya	Total
Première analyse (1*) en 2007 des échantillons d'haleine (n = 46 patients)					
Sensibilité (%)	67,6%	61,8%	67,6%	X	64,7% (70% CBNPC et (55,6% CBPC)
Spécificité (%)	16,7%	8,3%	16,7%	X	8,3% (3,3% CBNPC et 8,3% CBPC)
Deuxième analyse (2*) en 2008 des échantillons d'haleine (n = 40 patients)					
Sensibilité (%)	76%	64%	X	56%	56% (60% CBNPC et 100% CBPC)
Spécificité (%)	33,3%	33,3%	X	53,3%	33,3% (33,3% CBNPC et 33,3% CBPC)
Première analyse (3*) en 2008 des échantillons d'urine (n = 77 patients)					
Sensibilité (%)	66%	69,8%	X	64,2%	73,6% (65,7% CBNPC et 90% CBPC)
Spécificité (%)	41,7%	29,2%	X	20,8%	25% (25% CBNPC et 25% CBPC)
Deuxième analyse (4*) en 2009 des échantillons d'urine (n = 77 patients)					
Sensibilité (%)	49,1%	64,2%	X	71,7%	64,2% (60% CBNPC et 80% CBPC)
Spécificité (%)	33,3%	37,5%	X	20,8%	29,2% (29,2% CBNPC et 29,2% CBPC)

(3) Les résultats d'Ehmann et *al,* 2012

Lors des entraînements, 60 échantillons de patients sains et 35 échantillons de patients atteints du cancer pulmonaire ont été utilisés et n'ont pas été réutilisés lors des trois tests de l'étude. Aucune formation n'a été réalisée pour la détection de la BPCO (117).

Lors du premier test, les chiens devaient dépister le cancer du poumon parmi quatre échantillons témoins, pour le second : les chiens devaient différencier l'échantillon cible de cancer du poumon parmi quatre autres échantillons de patients atteints de BPCO et enfin lors du troisième : les chiens devaient repérer l'échantillon cible cancéreux parmi un mélange de quatre autres échantillons de témoins sains ou de patients atteints de BPCO. Les deux premiers tests comprenaient chacun 10 séries de 5 échantillons puis 5 séries pour le troisième test. Quelque soit le test, chaque série était composée d'un seul échantillon cancéreux (tableau 8) (117).

Tableau 8 : La distribution des échantillons d'haleine lors des entraînements et tout au long de l'étude (117)

	Groupe A : Patients témoins en bonne santé	Groupe B : Patients atteints du cancer du poumon	Groupe C : Patients BPCO
Entraînement	60	35	0
Test I	40	10	0
Test II	0	10	40
Test III	10	5	10
Total	N = 110	N = 60	N = 50

Le taux de succès des quatre chiens s'étend de 68% à 84% selon les séries. Leur réussite n'était pas fonction de la précocité ou non du cancer. Cette information concorde avec les études précédentes : les chiens sont capables d'un dépistage extrêmement précoce mais ils éprouvent des difficultés à différencier le cancer du poumon des autres pathologies pulmonaires non tumorales (117).

Tableau 9 : L'indication globale des chiens (117)

	Echantillons d'haleine de volontaires sains (groupes A + C)	Echantillons d'haleine de volontaires atteints du cancer pulmonaire (groupe B)	Total
Indication positive du chien : présence de cancer	28	71	99
Indication négative du chien : absence de cancer	372	29	401
Total	400	100	500

La sensibilité globale était de 71% (71 échantillons d'haleine de patients atteints du cancer pulmonaire correctement identifiés sur un total de 100 échantillons) et la spécificité de 93% (372 échantillons témoins correctement non indiqués parmi les 400 échantillons témoins totaux). Les valeurs prédictives positives et négatives étaient respectivement de 72% et 93% (tableau 10) (117).

Tableau 10 : Les résultats des chiens (117)

	Chien 1	Chien 2	Chien 3	Chien 4	Décision de l'entreprise
Test I : Correct	7	4	6	5	
Faux	3	6	4	5	
Test II : Correct	9	8	7	8	
Faux	1	2	3	2	
Test III : Correct	5	5	4	5	
Faux	0	0	1	0	
Global : Correct	21	17	17	18	
Faux	4	8	8	7	
Pourcentage correct	84%	68%	68%	72%	
Sensibilité					0,72 (0,51-0,88)
Spécificité					0,94 (0,87-0,98)
VPP					0,75 (0,53-0,91)
VPN					0,93 (0,86-0,97)

Contre tout attente, les meilleurs résultats ont été obtenus lors du test III et les plus mauvais lors du premier test. Les scientifiques ont élaboré la « décision relative au chien d'entreprise » qui correspond à au moins trois chiens indiquant la même décision. Mais l'analyse des décisions du chien d'entreprise n'a toutefois pas amélioré les résultats, avec une sensibilité de 72%, une spécificité de 94% et des valeurs prédictives positives et négatives respectivement de 75% et 93% (tableau 10). La répartition des fumeurs actifs était similaire entre les groupes. L'inclusion des patients ayant déjà subi une bronchoscopie diagnostique n'a pas influencé la classification de l'échantillon par les chiens (117).

(4) Exceptions du protocole de McCulloh et *al,* 2006

McCulloch et *al*. ont finalement admis 3 patients déjà traités pour un cancer antérieur et en rémission lors de l'étude. Pour l'un de ces trois patients, les chiens l'ont tous classé comme échantillon cible à chaque fois. Après plusieurs examens successifs pourtant négatifs durant 1 an, les médecins lui ont finalement détecté une rechute locale, plus de 18 mois après l'identification par les chiens ! Cela en dit long sur la détection olfactive canine extrêmement précoce. Pour les deux autres patients, l'un anciennement atteint du cancer du poumon et l'autre du sein, aucun n'a été identifié comme cancéreux. Une seconde exception de protocole fut réalisée dans cette même étude : 2 patients atteints du cancer du poumon avaient déjà débuté leur chimiothérapie lors du recueil des échantillons. Il s'est avéré que les chiens les ont tous les deux indiqués avec une sensibilité amoindrie de 40,4% (115).

(5) Des facteurs potentiellement sources de confusion

Lors de l'étude de McCulloh et *al,* une majorité d'informations a été recueillie lors des prélèvements : le temps écoulé entre le recueil d'haleine et l'analyse olfactive par les chiens et certaines caractéristiques des donneurs : âge, tabagisme, diabète, infection dentaire, les aliments récemment mangés dont certains aliments susceptibles d'impacter particulièrement l'odeur de l'haleine : le poisson, les aliments épicés, l'alcool, l'agneau, le porc, le café, le thé et l'ail (115).

Il n'y avait statistiquement pas de différence significative pour les patients et les contrôles selon le temps écoulé entre l'échantillonnage et les tests olfactifs. La sensibilité et la spécificité demeurent inchangées selon l'âge des patients. Le tabagisme passé n'a pas influencé la détection du cancer du sein pour qui il n'y avait cependant pas de patients fumeurs actuels. Le tabagisme actuel a impacté la détection du cancer du poumon qui était légèrement plus faible tandis que le tabagisme passé n'a aucunement impacté le dépistage olfactif. Le dernier repas mangé avant le prélèvement n'a pas impacté la précision olfactive des chiens. La détection olfactive canine n'est donc ni impactée par le temps écoulé entre le recueil et l'analyse, ni par l'âge et ni par l'alimentation. Les chiens ont obtenu des résultats similaires ce qui laisse suggérer que plusieurs races sont capables de dépister le cancer grâce à leur olfaction. Mais nous savons que certaines races sont plus robustes et aptes à suivre des entraînements intensifs (115).

d) Conclusion

Les excellents résultats de sensibilité et de spécificité de dépistage du cancer du poumon et du sein se comparent favorablement aux méthodes de diagnostic actuellement pratiquées (115)

Les résultats obtenus par McCulloh et *al,* sont peut-être surestimés par le fait que les contrôles n'étaient seulement que des patients sains et non un large panel d'individus pouvant être atteints de diverses maladies pulmonaires versus le cancer du poumon ou des patientes atteintes d'une maladie fibrokystique du sein ou une mammite versus le cancer du sein. Il était donc nécessaire de réaliser une étude complémentaire comme ont fait Amundsen et *al*. et Ehmann et *al*. Ils ont également obtenu des résultats spectaculaires lorsqu'il s'agissait de discriminer un patient cancéreux parmi des sujets sains. Mais les chiens s'avèrent être beaucoup moins performants et éprouvent des difficultés pour distinguer les patients atteints d'une maladie maligne des patients atteints de maladies bénignes « proches » de la tumeur concernée (115–117).

Le concept du dépistage olfactif canin reste cependant très prometteur pour la détection précoce du cancer. Les chiens de McCulloh et *al,* ont dépisté une rechute locale 18 mois avant la machine ! Le tabagisme actuel modifie le dépistage olfactif canin. Il serait donc souhaitable dans le futur de tenir compte du tabagisme des patients lors des recrutements et des prélèvements des échantillons (115).

E. Le cancer des ovaires

Le cancer de l'ovaire est le septième cancer le plus fréquent et le quatrième cancer le plus mortel chez la femme. En 2017, 4 714 nouveaux cas et 3 111 décès liés au cancer de l'ovaire ont été estimés en France. Il touche plus de 205 000 femmes dans le monde chaque année. Depuis 1997, l'incidence du cancer de l'ovaire augmente légèrement tandis que la mortalité est stable. L'âge moyen du diagnostic est de 65 ans. Il se développe généralement après la ménopause. L'étiologie est génétique dans 1 cas sur 10. La survie nette à 5 ans est de 44%. Nous retrouvons plusieurs stades et différentes tumeurs ovariennes. Dans 9 cas sur 10, elles se développent à partir des cellules épithéliales : c'est un adénocarcinome, d'autres se développent plutôt à partir des follicules ovariens : les tumeurs germinales et certaines se développent à partir du tissu de soutien qui forme le corps des ovaires : les tumeurs stromales (100,112).

1. Le dépistage et le diagnostic actuels

Dans 1 cas sur 10, le cancer de l'ovaire aurait une cause génétique, dont font partie les mutations héréditaires connues des gènes BRCA1 et BRCA2. Pour cette raison, une consultation d'oncogénétique est proposée aux femmes de moins de 70 ans atteintes du

cancer de l'ovaire afin de rechercher une éventuelle cause génétique et permettre de renforcer le suivi gynécologique des femmes de l'entourage de la patiente (100).

Le cancer de l'ovaire crée peu de symptômes et reste longtemps silencieux. Cela explique que le diagnostic soit souvent tardif, une fois que les cellules cancéreuses ont atteint d'autres organes du bassin et que la maladie est à un stade avancé. Lorsque des symptômes sont ressentis, ils sont souvent peu spécifiques comme :

- Des troubles digestifs : des ballonnements, des nausées, des troubles du transit (constipation de plus d'un mois), une perte d'appétit ou une douleur à l'estomac ;
- Des troubles gynécologiques : des règles perturbées, des saignements ou des pertes vaginales anormales, des tensions dans les seins ;
- Des perturbations locales causées par la masse tumorale : des pertes urinaires, des douleurs pelviennes, une augmentation du volume de l'abdomen, une gêne abdominale : sensation de pesanteur ou d'inconfort (118).

Lors de symptômes inhabituels et persistants sans explication apparente, il est conseillé de consulter son médecin traitant. Il peut procéder à un examen clinique, demander des examens biologiques et d'imageries puis orienter vers le gynécologue. Un bon suivi gynécologique régulier permet au praticien de déceler un ovaire anormalement gros lors d'un toucher vaginal de contrôle avant qu'une pathologie n'ait le temps de progresser. Suite à cette découverte, il réalisera des examens complémentaires pour connaître l'étiologie de cette augmentation de volume et peut-être découvrir un cancer de l'ovaire précoce. En effet, lorsque nous consultons à cause de symptômes persistants, c'est généralement le signe d'une maladie déjà installée et avancée (118).

Lorsqu'un toucher vaginal est suspect, le professionnel de santé procède généralement à une échographie endovaginale. Une sonde est introduite dans le vagin afin de visualiser les ovaires permettant de repérer un éventuel kyste et en connaître la nature (bénin ou malin), la taille, la forme et le contenu. Si l'échographie endovaginale n'est pas suffisante pour déterminer ces informations avec sûreté, l'imagerie par résonance magnétique (IRM) est souvent pratiquée. Un bilan biologique permet de doser les marqueurs CA 125 et CA 19-9. Le premier est sécrété en petite quantité par les cellules de l'organisme et en plus grande quantité par les cellules tumorales. Son dosage ne permet pas d'affirmer un cancer de l'ovaire mais plus son taux est élevé et plus le risque de cancer de l'ovaire augmente. Le second marqueur permet de différencier une tumeur ovarienne d'une tumeur intestinale (118).

La biopsie est le seul examen permettant de confirmer avec certitude le diagnostic d'un cancer de l'ovaire. Elle nécessite de prélever le tissu suspect en entier et donc l'intégralité du kyste s'il y en a un, ce qui peut parfois nécessiter une ovariectomie totale. Les tissus sont observés par microscope par une analyse anatomopathologique afin de poser le diagnostic. Le diagnostic est donc souvent invasif. Des méthodes de diagnostic non invasives et plus précoces seraient d'une grande utilité dans le cancer de l'ovaire (118).

2. Horvath G et *al,* juin 2008 ; novembre 2010

a) Objectif

Après plusieurs publications portant sur la détection canine du cancer grâce à l'olfaction (le mélanome, les cancers du poumon, du sein et de la vessie), Horvath G. et ses collaborateurs se posent toujours la question d'une odeur spécifique du cancer. Pour cela, ils ont choisi le cancer de l'ovaire et réalisent deux études principales.

En 2008, Horvath G. souhaite vérifier la spécificité de l'odeur du cancer ovarien présente dans un échantillon tumoral, en formant un chien à différencier cette odeur à partir d'échantillons sains et parmi d'autres tumeurs gynécologiques proches telles que des carcinomes cervicaux, endométriaux et vulvaires (119).

En 2010, Horvath G. veut tester si l'odeur spécifique émise par le cancer de l'ovaire peut aussi être détectée dans le sang des patientes par des chiens entraînés (120).

Le médecin György Horvath réalise son étude à l'hôpital universitaire Sahlgrenska à Göteborg, en Suède. Le cancer de l'ovaire est souvent diagnostiqué tardivement et il souhaite faire de cette nouvelle méthode un outil de diagnostic précoce, peu coûteux, non invasif et approprié pour l'usage courant (101,119).

b) Matériels et méthodes

(1) L'échantillonnage

En 2008, plusieurs tumeurs ovariennes de différentes localisations au sein des ovaires à différents grades et stades ont été prélevées ainsi que d'autres tumeurs gynécologiques non ovariennes : des carcinomes cervicaux, endométriaux et vulvaires. Les échantillons issus de carcinomes ovariens étaient constitués au total de 31 types histopathologiques différents. Les échantillons de contrôles ont été prélevés à partir de tissus sains de graisse abdominale, de muscles et d'intestins grêles (119).

Tous les tissus ont été conservés à -80°C et ont été décongelés à température ambiante 15 à 30 minutes avant la formation. Les échantillons tumoraux et contrôles ont été conservés et manipulés dans des pièces séparées et stériles afin d'éviter un éventuel mélange des odeurs (119).

En 2010, différentes tumeurs ovariennes ont d'abord été prélevées afin de faire connaître aux chiens l'odeur du cancer de l'ovaire puisque nous savons grâce à l'étude de 2008 que les tumeurs libèrent l'odeur du cancer. Des échantillons de sang ont ensuite été prélevés avant toute chirurgie chez des patientes atteintes d'un cancer de l'ovaire et chez d'autres atteintes de carcinomes cervicaux, vulvaires et endométriaux. Ces échantillons ont été conservés à -80°C. L'âge médian des donneuses était de 67 ans (fourchette de 35 à 79 ans) pour les échantillons de tissus ovariens et de 63 ans (fourchette de 45 à 77ans) pour les échantillons de sang (120).

Pour les entraînements, les échantillons contrôles étaient composés de graisse abdominale, de muscles abdominaux, d'ovaires post-ménopausiques, du sang de femmes saines ou d'hommes sains et même du sang des manipulateurs. La composition des échantillons témoins n'a eu aucune influence sur l'identification des échantillons cibles par les deux chiens. L'âge médian des donneurs était de 65 ans (fourchette de 40 à 81 ans) pour les échantillons sains de tissus et de 41 ans (fourchette de 27 à 67 ans) pour les échantillons sains de sang. Les échantillons de tissus et de sang utilisés durant la période d'entraînement n'ont pas été ceux utilisés pour les tests où tous les échantillons étaient nouveaux (120).

(2) Les chiens et l'entraînement

C'est un Schnauzer Géant (Hanna) de 4 ans et demi qui réalise l'étude de 2008 puis qui participe également à celle de 2010 où il est cette fois accompagné d'un deuxième Schnauzer Géant (Lotti, 3 ans). En 2010, les deux chiens ont été entraînés durant neuf mois à détecter des échantillons de sang de patientes atteintes du cancer de l'ovaire. Entre les deux études, Hanna n'avait reniflé aucun échantillon de tumeur ovarienne et Lotti n'avait jamais senti de quelconques échantillons avant cette formation. Comme lors des publications précédentes, le/les chiens devaient marquer l'échantillon cible. Une réponse était positive lors d'une indication sans hésitation de l'échantillon tumoral mais une réponse était considérée négative dès le moindre marquage d'un échantillon contrôle (119,120).

En 2008, d'un côté les tests ont d'abord été menés en simple aveugle puis d'un autre côté, les tests ont été pratiqués en double aveugle où ni le maître-chien, ni les manipulateurs et ni les assistants de laboratoire ne connaissaient la nature des échantillons. En entraînements, le chien réussissait à identifier des stades tumoraux de plus en plus précoces. Une méthode supplémentaire a ensuite été pratiquée où un échantillon tumoral était déposé dans un bocal en verre fermé pendant 24 à 168 heures avec des tampons de coton n'impactant pas l'intégrité de l'échantillon tumoral. Le chien devait ensuite retrouver les tampons imprégnés de l'odeur cancéreuse à différentes concentrations selon les tampons. Quelles que soient les concentrations d'imprégnation d'odeurs, le chien n'a rencontré aucune difficulté à retrouver le tampon cible et réussissait à détecter les tumeurs à des stades de plus en plus précoces. Lorsque le chien était sûr de lui, identifiant rapidement à très faible concentration odorante la tumeur, les séries de tests ont pu débuter (119).

c) Résultats : Horvath G. et *al, 2008*

Les premières séries étaient composées de deux échantillons puis le nombre d'échantillons par série a été progressivement augmenté jusqu'à 5 échantillons : un échantillon tumoral et quatre échantillons contrôles. Pour l'étude, 10 échantillons par série ont été placés : 2 échantillons tumoraux et 8 échantillons contrôles. La position des échantillons tumoraux était aléatoire et changeait selon une table de nombres aléatoires (119).

(1) Tests en simple aveugle des tumeurs ovariennes versus des tissus contrôles sains

Lors des tests en simple aveugle, 10 séries ont été réalisées, représentant 20 échantillons cancéreux et 80 échantillons contrôles. Ces échantillons contrôles étaient composés de graisse intra-abdominale ou de muscles de différents individus sauf deux échantillons contrôles chacun composé d'un ovule sain post-ménopausique. Le chien a correctement identifié les 20 échantillons tumoraux : la sensibilité est de 100%. De plus, il n'a fait aucune indication positive sur les échantillons contrôles : la spécificité est de 100%. Lors des 10 séries, la probabilité que le chien identifie correctement par le simple hasard les 2 échantillons cibles de chaque série était de $1{,}02 \times 10^{-7}$ (119).

Tableau 11 : Les résultats de la détection olfactive canine en simple aveugle des échantillons des tumeurs ovariennes versus les échantillons contrôles sains (119)

Résultats des tests en simple aveugle		
	Échantillons	
Indication du chien	Tumoraux	Contrôles sains
Positif	20	0
Négatif	0	80

(2) Tests en simple aveugle des tumeurs ovariennes versus d'autres tumeurs gynécologiques et contrôles sains

Pour ces tests, quatre séries ont été réalisées avec 8 échantillons de tumeurs ovariennes et 32 échantillons contrôles dont des échantillons de tumeurs gynécologiques autres qu'ovariennes. Les 8 tumeurs ovariennes ont été indiquées correctement : la sensibilité est de 100% (8/8). Cependant, le chien a également indiqué trois échantillons tumoraux gynécologiques autres qu'ovariens : la spécificité est de 91% (29/32). La probabilité que le chien identifie correctement les 2 échantillons cibles des 4 séries par le hasard est de $2{,}56 \times 10^{-6}$ (119).

Tableau 12 : Les résultats de la détection olfactive canine en simple aveugle des échantillons des tumeurs ovariennes versus les échantillons contrôles sains et les tumeurs autres qu'ovariennes (119)

Résultats des tests en simple aveugle		
	Échantillons	
Indication du chien	Tumoraux	Contrôles sains + autres tumeurs
Positif	8	3
Négatif	0	29

(3) Tests en double aveugle des tumeurs ovariennes versus des tissus contrôles sains

Lors des tests en double aveugle, 10 séries ont été réalisées avec des nouveaux échantillons tumoraux et contrôles jamais utilisés auparavant. Les 80 échantillons contrôles sains étaient constitués d'intestin grêle, de graisse ou de muscles intra-abdominaux ainsi que 2 échantillons contrôles constitués d'ovaires ménopausiques sains (119).

Le chien a correctement identifié les 20 échantillons de tumeurs ovariennes sans difficulté : la sensibilité est de 100%. Mais l'animal a aussi indiqué un échantillon de graisse intra-abdominale et un échantillon de muscle intra-abdominal comme tumoraux : la spécificité est de 97,5% (78/80) (119).

Tableau 13 : Les résultats de la détection olfactive canine en double aveugle des échantillons des tumeurs ovariennes versus les échantillons contrôles sains (119)

Résultats des tests en double aveugle		
	Échantillons	
Indication du chien	Tumoraux	Contrôles sains
Positif	20	2
Négatif	0	78

d) Résultats : Horvath G. et *al,* 2010

Contrairement à l'étude de 2008, tous les tests ont été réalisés seulement en double aveugle. Les chiens ont été testés dans quatre grands tests sur deux jours, chacun ayant réalisé deux tests. Chaque test était composé de dix séries. Chaque série comportait 6 échantillons : un échantillon sanguin cancéreux dit cible et cinq échantillons contrôles. Comme précédemment, une réponse positive était une bonne indication de l'échantillon cible par le chien et une réponse était négative s'il indiquait un échantillon contrôle (120).

Lors du test 1, Lotti a correctement identifié les 10 échantillons de tissus cancéreux : la sensibilité est de 100%. Cependant, Lotti a indiqué deux échantillons contrôles sur 50 : la spécificité est de 96% (48/50). La probabilité que l'animal identifie correctement 8 séries sur 10 par le hasard était de $8{,}43 \times 10^{-7}$ en admettant que les deux témoins indiqués appartenaient à deux séries différentes (120).

Dans le test 2, Lotti a correctement identifié tous les échantillons sanguins cancéreux prélevés sur des patientes atteintes du cancer de l'ovaire mais a aussi indiqué deux échantillons contrôles sur 50. La sensibilité est de 100% et la spécificité est de 96% (48/50). La probabilité que l'animal identifie avec justesse 8 séries sur 10 par le hasard était de $8{,}43 \times 10^{-7}$ en admettant que les deux témoins indiqués appartenaient à deux séries différentes (120).

Lors du test 3, Hanna a parfaitement identifié tous les échantillons de tissus cancéreux. La sensibilité est de 100%. Mais l'animal a également indiqué 3 échantillons témoins dont des tumeurs gynécologiques. La spécificité est de 94% (47/50). La probabilité que le chien réussisse par le hasard 7 séries sur 10 était de $1{,}94 \times 10^{-5}$ en admettant que les trois témoins indiqués appartenaient à trois séries différentes (120).

Pour le test 4, Hanna a correctement identifié tous les échantillons sanguins cancéreux des patientes atteintes du cancer de l'ovaire et n'a indiqué aucun échantillon contrôle. La sensibilité et la spécificité sont chacune de 100%. La probabilité d'identifier par le hasard correctement tous les échantillons était de $1{,}65 \times 10^{-8}$ (120).

Les résultats ont ensuite été regroupés par types d'échantillons. Les tests tissulaires ont montré une sensibilité de 100% et une spécificité de 95% et les tests sanguins une sensibilité de 100% et une spécificité de 98% (120).

e) Conclusion

« Le cancer a une odeur ». C'est ce que souhaitaient démontrer György Horvath et ses collaborateurs. D'autres publications mettaient en évidence une détection olfactive canine du cancer mais pour eux cela ne signifiait pas nécessairement que le cancer avait une odeur, notamment lors des mélanomes. La réaction du chien n'était selon eux pas forcément spécifique à la malignité. Il est connu que la plupart des chiens et des autres animaux lèchent des lésions lors d'une inflammation (plaies, *etc*.) sur la peau de leurs propriétaires comme ils le font sur leur propre peau. Ainsi, les réactions des chiens dans les études précédentes n'étaient pour eux pas nécessairement liées à la malignité (119).

Les Schnauzers Géants ont parfaitement su repérer les échantillons tumoraux ovariens des témoins sains avec une sensibilité absolue de 100%. Les ovaires post-ménopausiques utilisés comme témoins n'ont jamais été indiqués : le chien est donc capable de différencier les ovaires bénins des ovaires malins. Une petite baisse de spécificité (100% → 97,5%) s'est révélée lors des tests en double aveugle des tumeurs ovariennes versus les contrôles sains, par rapport aux tests en simple aveugle. Il est donc préférable de toujours opter pour des tests en double aveugle afin de supprimer tout facteur de confusion entre le maître-chien et le chien (119).

Les chiens ont su différencier les tumeurs ovariennes de différents types histopathologiques des témoins sains et des autres tumeurs gynécologiques malignes : des carcinomes cervicaux, endométriaux et vulvaires et avec des résultats similaires lors de l'analyse d'échantillons tissulaires ou sanguins. Une odeur caractéristique du cancer de l'ovaire est donc présente dans le sang et non uniquement dans la tumeur. Les autres tumeurs malignes gynécologiques n'ont pas été indiquées sauf à quelques reprises par les chiens : une légère baisse de spécificité est observée lorsqu'il s'agit de différencier le cancer de l'ovaire des autres tumeurs gynécologiques, mais cependant avec de meilleurs résultats que ceux obtenus par Ehmann et *al,* 2012 et Amundsen et *al*, 2014. Cela soulève l'hypothèse que chaque cancer émet une odeur qui lui est spécifique. Il n'y aurait donc pas une odeur du cancer mais une odeur spécifique selon chaque organe atteint (119).

De plus, le chien a su repérer les tumeurs ovariennes à un stade très précoce avec autant de précision que les tumeurs avancées. Le chien réussissait à déceler très tôt que des patientes souffraient d'un cancer ovarien : 2 à 3 ans avant un diagnostic classique !!! L'utilisation du flair des chiens pourrait donc considérablement augmenter les chances de survie des patientes (119).

F. Le cancer colorectal

En France, le cancer colorectal (CCR) est le troisième cancer le plus fréquent, tous sexes confondus et la deuxième cause de décès par cancer, après le cancer du poumon. Il est le troisième cancer le plus fréquent chez l'homme et le second chez la femme (respectivement 24 035 et 20 837 nouveaux cas en 2017). C'est le deuxième cancer le plus mortel chez l'homme et le troisième chez la femme, responsable respectivement de 9 294 et 8 390 décès l'année dernière. En 2015, l'âge moyen du diagnostic était de 71 ans chez l'homme et 75 ans chez la femme. La survie nette globale est de 63% à 5 ans (62% chez l'homme et 64% chez la femme) et de 52% à 10 ans (50% chez l'homme et 54% chez la femme). Entre 2005 et 2012, l'incidence et la mortalité ont légèrement baissé tous sexes confondus, respectivement de -0,3%/an et de -1,3%/an (100,112).

1. Le dépistage actuel

a) Le programme national de dépistage organisé du cancer colorectal

Depuis 2009, est organisé le programme national de dépistage du cancer colorectal sur l'ensemble du territoire. Ce dépistage s'adresse aux femmes et aux hommes âgés de 50 à 74 ans. Ces personnes reçoivent un courrier les invitant à consulter leur médecin traitant afin qu'il leur remette le test de dépistage : un test de recherche de sang occulte dans les selles (RSOS) qui est à réaliser tous les deux ans (100).

D'après l'Institut National Du Cancer, le taux de participation au dépistage organisé était de 33,5% en 2016-2017. Cette participation est plus élevée chez les femmes et elle augmente avec l'âge. Ce programme a permis de détecter 6 211 cas de cancers colorectaux en 2016-2017 (100).

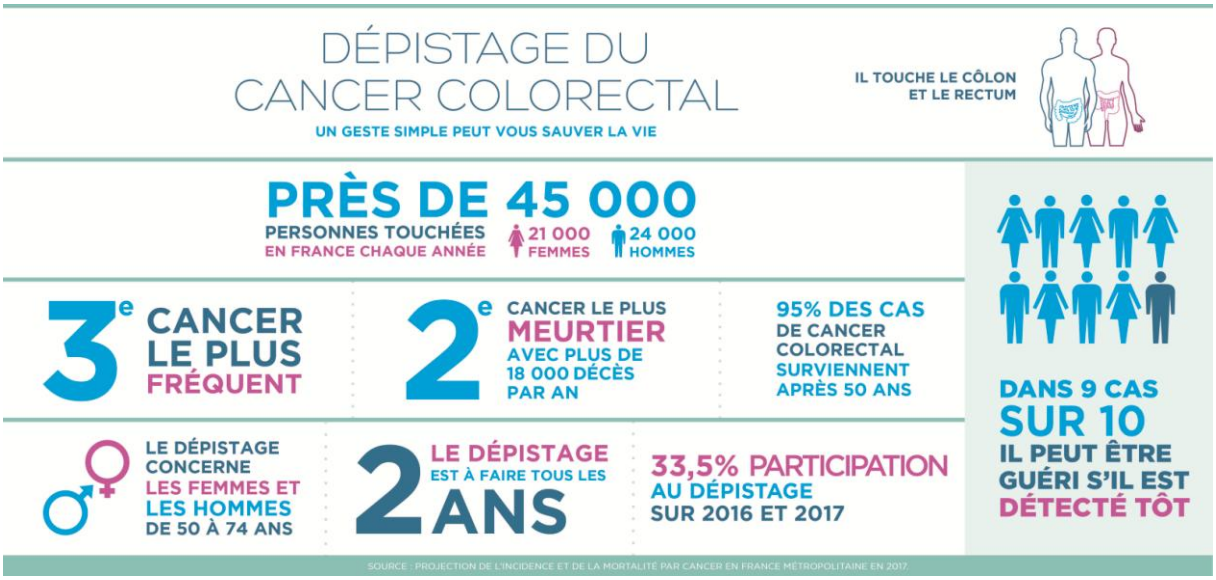

Figure 41 : Le dépistage du cancer colorectal (112)

b) Le test de recherche de sang occulte dans les selles : RSOS

Le dépistage du cancer colorectal est réalisé par un test de recherche de sang occulte dans les selles. C'est la méthode de dépistage la plus économique et non invasive du CCR. Le kit est à retirer chez le médecin traitant sauf s'il estime qu'une autre méthode de dépistage serait plus adaptée selon l'état de santé du patient, ses antécédents personnels ou familiaux : polypes, cancer, maladie du côlon, signes digestifs inhabituels et persistants voire une présence de sang dans les selles inexpliquée. Lorsque le médecin traitant remet ce test, il explique comment l'utiliser mais aussi l'intérêt et les limites de ce dépistage puis les examens à réaliser lors d'un test positif (100).

Le test permet de dépister le CCR à un stade précoce, un polype ou une lésion précancéreuse et augmente ainsi les chances de guérison et de survie d'autant plus qu'un CCR se développe lentement. Un polype est une tumeur située sur la paroi interne du côlon et/ou du rectum et peut évoluer en cancer en une dizaine d'années. Certains polypes saignent en grossissant. Le but du test est de détecter des traces de sang dans les selles qui ne sont pas visibles à l'œil nu et avant l'apparition de symptômes (100).

Ce test est à réaliser chez soi, rapide (il ne prend pas plus de 5 minutes), efficace, indolore et peu coûteux. Le kit permet de prélever de façon très hygiénique un échantillon de selles grâce à une tige qui est à replacer dans un tube hermétique. Il est ensuite à envoyer gratuitement grâce à une enveloppe T fournie dans le kit afin d'être analysé. Les résultats sont transmis sous une quinzaine de jours au patient ainsi qu'à son médecin traitant. Le test et son analyse sont pris en charge à 100% par la caisse primaire d'assurance maladie sans besoin d'avancer les frais. Une consultation supplémentaire ainsi qu'une éventuelle coloscopie lors d'un test positif seront prises en charge dans les conditions habituelles par la CPAM et la complémentaire santé (100).

Si le test est négatif (96% des cas), le médecin traitant donne rendez-vous deux ans plus tard pour réaliser un nouveau test RSOS. Certains polypes ou cancers peuvent ne pas saigner et ils ne seront pas détectés lors du test RSOS. Il ne faut donc pas hésiter à consulter si des troubles digestifs inhabituels apparaissent et/ou persistent et recommencer le test. Si le test est positif (4% des cas), c'est que le test a détecté une présence de sang dans les selles. Afin d'en connaître l'origine, le médecin traitant oriente vers un gastroentérologue pour réaliser une coloscopie. Ce n'est pas toujours alarmant : plus de 50% des coloscopies ne détectent aucune anomalie. 30 à 40% décèlent un polype et permettent de le retirer lors de cette coloscopie. Elles dépistent un cancer dans 8% des cas. Plus le dépistage est précoce et plus les chances de guérison et de survie augmentent permettant d'entreprendre un traitement rapidement (100).

Actuellement, le dépistage précoce et la coloscopie permettent de diminuer l'incidence et la mortalité du CCR. Mais la valeur prédictive positive (VPP) du RSOS n'est que de 10%. Une nouvelle méthode de dépistage du CCR avec une meilleure VPP serait nécessaire (100).

2. « *Colorectal cancer screening with odour material by canine scent detection* », juin 2011

a) Objectif

Dans leur publication de juin 2011 « Colorectal cancer screening with odour material by canine scent detection », Sonoda et ses collègues avaient l'objectif d'évaluer si la détection olfactive canine serait une méthode de dépistage efficace du cancer colorectal (CCR). Actuellement, la méthode de dépistage courante du CCR est la recherche de sang occulte dans les selles (RSOS) mais sa valeur prédictive positive (VPP) est insatisfaisante (107).

b) Matériels et méthodes

(1) Le recrutement des patients

Le recrutement des patients a eu lieu de juin 2008 à mai 2009. Nous comptons une centaine de patients atteints du CCR et environ 500 témoins volontaires sains au total. Les patients devaient être âgés de plus de 20 ans et ont été exclus : ceux ayant subi une chirurgie du cancer au cours de l'année passée, ceux n'ayant pas subi d'examen pour vérifier la rémission du cancer malgré une chirurgie datant de plus de 5 ans auparavant et ceux sous chimiothérapie au moment de l'étude (107).

Les patients ont rempli un questionnaire afin d'étudier si d'éventuels facteurs impactent les molécules volatiles responsables de la signature olfactive du cancer contenues dans l'haleine ou les selles. Les facteurs étudiés étaient : l'âge, les symptômes physiques (douleurs ou distensions lombaires, selles sanglantes, constipation, diarrhée, perte de poids), les traitements en cours et le tabagisme au cours des deux semaines précédentes (107).

(2) Le chien et l'entraînement

La chienne était une femelle Labrador Retriever âgée de 8 ans, initialement formée depuis 2003 pour le sauvetage en mer et c'est en 2005 qu'elle commence à s'entraîner comme chien de détection du cancer. La méthode d'entraînement était basée sur la récompense avec une balle de tennis. La formation du chien s'est déroulée dans une pièce non climatisée et les températures moyennes ont oscillé entre 9°C et 20°C : la période de l'étude a été fixée de novembre 2008 à juin 2009 en raison d'une baisse de concentration de la chienne durant la saison estivale. Les capacités olfactives sont influencées par la température, impactant les études cliniques (107).

(3) L'échantillonnage

La chienne a analysé et reniflé tous les échantillons d'haleine et de selles liquides pour indiquer la présence d'un CCR ou non. Des échantillons d'haleine de 100 à 200 mL ont été recueillis puis conservés à 4°C jusqu'à leur présentation au chien. Des échantillons de 50 mL de selles liquides ont été obtenus par l'aspiration des selles entre le côlon descendant et le rectum lors d'une coloscopie. Ces échantillons ont ensuite été filtrés par une succession de filtres de calibre codifié pour obtenir 1 mL d'échantillon de selles liquides qui ont été conservés à – 80°C. En 2006, McCulloh *et al*., avaient déjà utilisé l'haleine pour évaluer le dépistage canin des cancers du poumon et du sein par l'odeur mais n'avaient pas utilisé de selles liquides. Sonoda et ses collaborateurs ont émis l'hypothèse que l'odeur cancéreuse pourrait être davantage plus concentrée dans les selles liquides étant plus proches de la localisation cancéreuse (107).

(4) Les emplacements des échantillons

La disposition de chaque échantillon était précise et reproductible entre chaque série. Chaque série comportait cinq stations d'échantillons. Un filet en métal recouvrait chaque échantillon pour empêcher la chienne de les toucher directement. Chaque série était absolument toujours constituée d'un échantillon de selles liquides ou d'haleine d'un patient atteint du CCR et quatre échantillons issus de volontaires sains. Deux à quatre séries étaient réalisées par jour car au-delà, la chienne fatiguait et baissait en efficacité. Chaque échantillon n'était utilisé qu'une seule fois. La position de l'échantillon cancer parmi la série était aléatoire et changeait selon une table de nombres aléatoires, au même titre que les publications précédentes (107).

Avant de débuter une série, seul le maître-chien était présent et faisait renifler l'échantillon de selles ou d'haleine standard d'un patient atteint du CCR à la chienne pour lui remémorer l'odeur puis utilisait la commande « recherche ! » pour encourager la chienne à aller renifler les cinq échantillons de la série. Elle s'asseyait devant la station qui selon elle, contenait l'odeur du cancer. L'étude s'est déroulée en double aveugle. Afin de récompenser correctement et rapidement la Labrador Retriever, le manipulateur notait le résultat sur une carte de réponse puis le résultat était renvoyé au maître-chien afin de récompenser la chienne (107).

c) Résultats

La sensibilité et la spécificité de l'indication de la chienne étaient calculées par rapport à la confirmation diagnostique de la coloscopie. Une indication était le fait de s'asseoir devant un échantillon que la chienne jugeait comme un échantillon de cancer (107).

Au total, nous comptons :

- 168 échantillons d'haleine :
  - 36 échantillons d'haleine expirée de patients atteints de CCR,
  - 132 échantillons d'haleine expirée de volontaires sains témoins.
- 186 échantillons de selles liquides :
  - 38 échantillons de selles liquides de patients atteints de CCR,
  - 148 échantillons de selles liquides de volontaires sains témoins.

Chaque échantillon n'a été utilisé qu'une seule fois. Les caractéristiques personnelles de chaque patient cancéreux et de chaque sujet témoin étaient bien connues : environ la moitié des témoins (47% des échantillons d'haleine et 50% des échantillons de selles liquides) présentaient des polypes colorectaux. Une petite proportion des témoins (6,1% des échantillons d'haleine et 10,5% des selles liquides) avaient des saignements ou une maladie colorectale inflammatoire (107).

Tableau 14 : La détection des odeurs canines selon la localisation et le stade du cancer colorectal (107)

Localisation	Échantillons d'haleine						Échantillons de selles liquides					
	0	I	II	III	IV	Total	0	I	II	III	IV	Total
Annexe			1/1			1/1			1/1			1/1
Caecum		1/1				1/1		1/1				1/1
Côlon asencendant	1/1		3/3	4/5*	2/2	10/11*	1/1	1/1	3/3	5/5	2/2	12/12
Côlon transversal	1/1					1/1	1/1		1/1			2/2
Côlon descendant			1/1	1/1		2/2			1/1	1/1		2/2
Sigmoïde	1/1	4/5	1/1		1/1	7/8	2/2	2/2	1/1		1/1	6/6
Rectum	1/1	½	1/1	1/3	4/4	10/11	2/2	½	2/2	4/4	3/3	12/13
Double cancer du côlon sigmoïde et rectal				1/1		1/1				1/1		1/1
Total	4/4	6/8	7/7	9/10*	7/7	33/36*	6/6	5/6	9/9	11/11	6/6	37/38
Sensibilité	1	0,67	1	0,89	1	0,91	1	0,8	1	1	1	0,97
Spécificité	1	0,92	1	1	1	0,99	1	0,95	1	1	1	0,99

Une * signifie qu'une hésitation s'est produite, considérée comme une réaction incomplète face aux échantillons soit faussement positive ou négative selon une hésitation devant un échantillon cancer ou contrôle. La sensibilité du dépistage canin par l'odeur des échantillons d'haleine était de 91% et la spécificité de 99%. Pour les échantillons de selles liquides : la sensibilité et la spécificité étaient respectivement de 97% et de 99%. La sensibilité était donc légèrement supérieure pour l'analyse olfactive des selles liquides. La détection du cancer par la chienne était aussi précise pour les cancers à un stade très précoce que tardif. Son indication n'a pas été influencée par le tabagisme ou non du patient ni confondue avec une maladie colorectale bénigne ou une maladie inflammatoire (107).

d) Conclusion

Les capacités olfactives très performantes des chiens ont été testées afin d'examiner si l'odeur peut être utilisée dans le diagnostic du cancer CCR. Les résultats s'avèrent très satisfaisants. La chienne est capable de détecter l'odeur du cancer avec une extrême précision et précocité. Elle n'a pas été influencée par les maladies colorectales bénignes. Le CCR a donc une odeur spécifique et les molécules odorantes détectées par le flair canin seraient produites très tôt dans la pathogenèse du CCR. A l'avenir, l'olfaction pourrait devenir une méthode de dépistage efficace dans le CCR, mais les molécules responsables de cette odeur spécifique du CCR restent à identifier (107).

G. Le cancer de la prostate

C'est le cancer le plus fréquent chez l'homme. 48 427 nouveaux cas ont été recensés en 2013. L'incidence diminue régulièrement depuis 2005 à raison de -6%/an. D'après les projections des chiffres de 2017, le cancer de la prostate aurait tué 8 207 hommes l'année dernière. Sa mortalité diminue de -4%/an en moyenne depuis 2005. La survie nette standardisée sur l'âge à 5 ans est de 93% et de 80% à 10 ans. Bien qu'il soit le troisième cancer le plus mortel chez l'homme, c'est un cancer de bon pronostic (112,114).

1. La prostate

La prostate est une glande appartenant à l'appareil reproducteur masculin. Elle se situe sous la vessie, en avant de l'ampoule rectale et en arrière du pubis, traversée par l'urètre et recevant les canaux déférents et éjaculateurs (121).

A la puberté, elle augmente physiologiquement de volume sous l'action de la testostérone pour atteindre 3 à 4 cm et peser 15 à 20 g. Elle est hormonodépendante : son développement dépend de la stimulation par la testostérone. A un âge plus avancé, la prostate peut de nouveau augmenter de volume : nous parlons d'hypertrophie bénigne de la prostate (HBP) ou d'adénome prostatique. L'HPB est d'évolution lente et non cancéreuse. Elle débute généralement vers la trentaine mais ne s'exprime qu'à partir de la quarantaine pour concerner 50% des hommes de 60 ans et jusqu'à 90% des hommes de plus de 70 ans (121).

La prostate est une glande génitale. Elle participe à la fonction reproductrice en produisant le liquide séminal composé d'enzymes dont le PSA (antigène spécifique prostatique, une glycoprotéine produite uniquement par les cellules épithéliales de la prostate) permettant la liquéfaction du sperme. La prostate participe aussi à l'éjaculation en se contractant. Bien qu'elle soit traversée par l'urètre, elle n'a pas de rôle propre dans la miction. Du fait de sa position anatomique, elle soutient le col vésical et son augmentation de volume impacte la fermeture de la vessie et comprime l'urètre prostatique gênant ainsi la miction. Le cancer de la prostate est d'évolution lente et souvent asymptomatique. Les troubles urinaires sont

donc plus souvent dus à une HPB. Mais à un stade évolué, ce cancer peut entraîner des symptômes aspécifiques comme :

- Des besoins impérieux d'uriner,
- Une dysurie : difficulté à uriner avec la nécessité de « pousser » pour uriner,
- Une miction incomplète : gouttes « retardataires »,
- Une pollakiurie : des envies fréquentes d'uriner mais accompagnées d'une émission peu importante d'urine,
- Des brûlures mictionnelles,
- Des douleurs à l'éjaculation,
- Une hématurie : présence de sang dans les urines,
- Une hémospermie : présence de sang dans le sperme,
- Des douleurs osseuses rebelles, notamment lombaires faisant alors penser à des métastases (121).

Il est nécessaire de différencier un cancer de la prostate, d'une HPB. Le cancer de la prostate est une transformation maligne des cellules prostatiques sous la dépendance des androgènes mais le(s) facteur(s) déclenchant(s) de la prolifération cellulaire est (sont) méconnu(s). La plupart des cancers se développent dans la zone périphérique de la prostate, 15% dans la zone transitionnelle et 5% dans la zone centrale. Nous distinguons 4 stades selon la taille de la tumeur, la présence ou non de cellules cancéreuses dans les ganglions et la présence ou non de métastases (121,122).

2. Le dépistage

À ce jour, aucune agence ou autorité sanitaire dans le monde n'a rendu d'avis favorable à la mise en place d'un programme de dépistage systématique du cancer de la prostate. La première étape du dépistage est une consultation chez le médecin généraliste qui prend en compte les antécédents familiaux et personnels puis questionne sur d'éventuels symptômes. Le professionnel de santé réalise ensuite un examen clinique : le toucher rectal (TR). La prostate normale est de consistance souple, régulière et bilobée. Le toucher rectal recherche une augmentation de volume de la prostate et une consistance plus ferme que la normale, pouvant concerner une partie ou la glande entière. Attention, un TR normal n'élimine pas un cancer. Le médecin prescrit ensuite une prise de sang afin de doser l'antigène spécifique prostatique (PSA) sérique total, effectuée à distance du toucher rectal et d'un rapport sexuel pour rechercher une élévation du PSA supérieure à 4 ng/mL. Le PSA augmente en cas d'hypertrophie bénigne de la prostate, de prostatite et de cancer de la prostate. Le PSA sérique total est la somme des deux formes du PSA : la forme liée ou complexée et la forme libre. La forme liée augmente en cas de cancer et la forme libre augmente en cas d'hypertrophie bénigne de la prostate (121,122).

Les deux études majeures sur le dépistage du cancer de la prostate sont l'étude européenne ERSPC (étude randomisée européenne de dépistage du cancer de la prostate) et l'étude américaine PLCO (Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian Cancer Screening Trial) qui n'ont

pas permis de mettre en évidence des bénéfices du dosage du PSA ni du TR, ni un impact d'un dépistage ponctuel ou régulier sur la mortalité. Ni la France, ni aucun autre pays ne recommande donc le dépistage systématique du cancer de la prostate par dosage du PSA et/ou un toucher rectal (TR) qui sont les examens de première intention lors d'une suspicion de ce cancer. Le dosage du PSA et le TR comme tests de dépistage sont insuffisamment fiables. Un TR normal n'exclut pas un cancer car il permet de détecter que les tumeurs palpables. Le dosage du PSA a un fort taux de faux positifs. Un dosage anormal du PSA sur 4 est réellement un cancer de la prostate. Autrement dit dans 75% des cas, un dosage du PSA élevé n'est pas lié à un cancer de la prostate. Ce dosage rencontre aussi des faux négatifs : 10% des hommes ayant un taux faible de PSA ont un cancer de la prostate (100,122).

Ce dépistage (trop) souvent réalisé, expose à beaucoup de surdiagnostics et surtraitements. La durée d'évolution du cancer de la prostate est de 10 à 15 ans. Ce cancer évolue lentement et la majorité restent « latents » et n'auraient jamais menacé la santé d'un homme s'ils n'avaient pas été détectés par le dépistage, c'est le surdiagnostic qui peut ensuite conduire à l'administration de traitements non nécessaires : le surtraitement. La plupart des hommes qui reçoivent un diagnostic d'un cancer de la prostate choisissent tout de même de recevoir un traitement. Des examens de suivi et les traitements parfois non nécessaires ont des conséquences physiques (dysfonctionnement érectile, incontinence urinaire, troubles intestinaux) et psychologiques importantes (121,122).

Si ce dépistage n'est pas recommandé de façon systématique, il est réalisé sur une grande partie des hommes. Durant la période 2013-2015, 47,6% des hommes de plus de 40 ans, 70,8% des 50-69 ans et 90% des 65-79 ans avaient réalisé au moins un dosage sanguin du PSA. Les recommandations exigent que tout homme souhaitant réaliser ce dosage ou un TR doit être préalablement informé sur l'ensemble de la démarche de dépistage et ses conséquences. En effet, ces examens peuvent dépister un cancer de la prostate mais aussi créer de fausses alertes ou encore passer à côté d'un cancer bel et bien présent (121,122).

3. Le diagnostic

Lorsque ces examens suspectent un cancer de la prostate, le médecin généraliste oriente vers un urologue afin de réaliser une biopsie prostatique. La biopsie prostatique est le seul examen qui affirme le diagnostic de cancer prostatique. Jamais ce diagnostic n'est posé seulement par un dosage du PSA ou un TR. La biopsie prostatique consiste en un prélèvement d'environ douze fragments de tissus par voie transrectale sous anesthésie locale qui seront ensuite analysés par un anatomopathologiste. La biopsie connaît des limites et peut parfois passer à côté d'un cancer. Il se peut que le prélèvement manque la zone tumorale lors des tumeurs de petites tailles : 20% des hommes ayant une biopsie négative présentent en réalité un cancer de la prostate. De plus, la biopsie est un examen invasif, douloureux et entraîne parfois quelques complications transitoires : sang dans les urines, le sperme ou les selles dans 5% des cas et dans 1% des cas une infection ou inflammation de la prostate. Un dépistage indolore et surtout plus fiable, tel que le dépistage olfactif serait donc le bienvenu (100,122).

4. « Olfactory detection of prostate cancer by dogs sniffing urine : A step forward in early diagnosis », février 2011

a) Objectif

Face aux résultats très satisfaisants obtenus pour le mélanome, les cancers de la vessie, du poumon, du sein et colorectal, Jean-Nicolas Cornu et Olivier Cussenot, tous deux urologues-cancérologues à l'hôpital Tenon à Paris, se lancent dans une étude afin d'évaluer l'efficacité de la détection olfactive canine dans le cancer de la prostate. Le dosage du PSA et le TR ont montré leurs limites, avec 75% de faux positifs et 10% de faux négatifs. Ces chercheurs sont donc en quête d'un dépistage plus efficace et moins invasif que les méthodes actuelles (123).

b) Matériels et méthodes

(1) Le chien et l'entraînement

C'est un Berger Belge Malinois, nommé Aspirant qui a été entraîné durant plus de deux ans à reconnaître l'odeur du cancer de la prostate. Il appartenait au département vétérinaire de l'armée française, choisi parmi les jeunes chiens destinés à la formation de la détection d'explosifs (101,123).

Le premier objectif fut la reconnaissance et la différenciation entre les urines de patients atteints du cancer de la prostate face à des urines de patients sains. C'est également la méthode du *clicker-training* qui a été pratiquée, récompensant le chien avec une balle à chaque bonne reconnaissance d'urine. Le chien a appris à s'asseoir pour indiquer une urine cancéreuse. La formation s'est déroulée à temps plein d'octobre 2007 à juin 2010, 5 jours par semaine (123).

(2) Le recrutement des patients

Les hommes inclus dans l'étude étaient tous adressés à un urologue suite à un taux élevé de PSA ou à un toucher rectal anormal. Leur urine a été prélevée lors d'une première consultation avant tout examen ultérieur. Afin d'interpréter pleinement les résultats : l'âge, la taille, le poids, le taux de PSA et les données du TR de chaque patient ont été recueillis. Les patients présentant un antécédent de maladie maligne ont été exclus. Il n'y avait pas de critère d'exclusion concernant l'alcool, l'alimentation ou les traitements médicamenteux. Tous les patients ont ensuite subi une biopsie standard puis ont été classés selon le résultat histologique en 2 groupes : atteints ou non du cancer de la prostate (123).

Au total, 108 patients ont été inclus : 59 cancéreux et 49 sujets sains. Durant la phase d'entraînement, l'urine de 42 patients a été utilisée : 26 cancers et 16 contrôles. Pour les tests en double aveugle, l'urine de 66 patients a été requise : 33 cancers et 33 contrôles. Les

prélèvements d'urine ont été congelés à -4°C jusqu'à leur présentation au Berger Belge Malinois où ils ont été préalablement chauffés très lentement à 37°C (123).

Tableau 15 : Les caractéristiques des patients ayant fourni leur urine pour la phase des tests en double aveugle (n = 66) (123)

Caractéristiques	Cancers, n = 33	Contrôles, n = 33
Âge (années)	64,1 +/- 7,1 [51-77]	63,2 +/- 7,1 [51-79]
PSA (ng/mL)	11,7 +/- 15,1 [2,9-85]	8,3 +/- 4,1 [2-16,8]
Toucher rectal : Normal	23	25
Suspect	10	8

(3) Les emplacements des échantillons

Les tests en double aveugle ont consisté en plusieurs séries chacune composée de 6 échantillons : 1 échantillon cancéreux dit cible et 5 échantillons contrôles de témoins sains. Dans cette étude, les échantillons ont servi plusieurs fois (123).

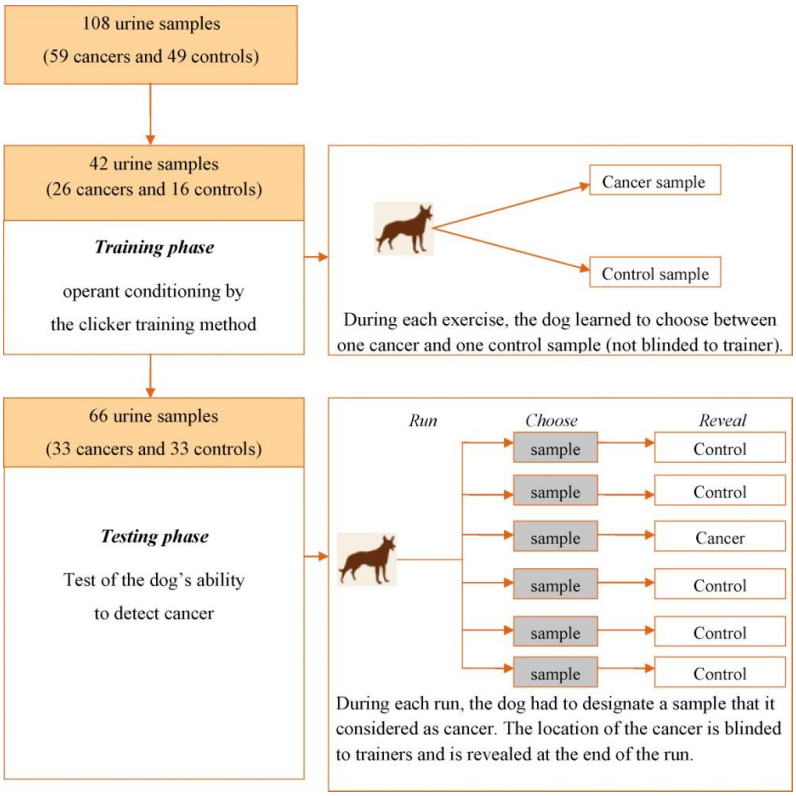

Figure 42 : Le déroulement de l'étude (123)

L'animal disposait d'une trentaine de secondes pour renifler les 6 échantillons de chaque série et s'asseoir pour indiquer l'urine cancéreuse. Chaque prélèvement était recouvert par un couvercle troué pour que le chien n'accède pas directement à l'urine. Lorsqu'un témoin fut faussement indiqué par le chien (faux positif) il a été exclu du groupe témoin pour les prochaines séries. Si un échantillon cancer ne fut pas indiqué (faux négatif) il a été représenté de nouveau au chien lors d'une série ultérieure en présence d'autres échantillons témoins (123).

c) Résultats

33 séries ont été réalisées. Le Berger Belge Malinois a indiqué correctement 30 échantillons cancéreux parmi les 33 : la sensibilité est donc de 91%. Le chien s'est assis à trois reprises devant un échantillon témoin : la spécificité est de 91%. Les échantillons contrôles classés incorrectement ont été considérés comme des faux positifs et les trois cas de cancers non indiqués par l'animal comme des faux négatifs. Les 3 échantillons de cancers non dépistés ont été de nouveau sentis lors de séries ultérieures et à chaque fois le chien les a correctement alertés. Les 3 patients dont l'urine a été indiquée faussement positive ont été de nouveau biopsiés. Parmi eux, l'un avait effectivement un cancer de la prostate non dépisté lors de la première biopsie. Le chien a donc brillamment détecté un cancer de la prostate chez l'un des sujets témoins faussement jugé en « en bonne santé » par la biopsie. Si nous corrigions cet échantillon d'urine indiqué comme faussement positif par le chien alors qu'il était finalement un vrai positif et un faux négatif de la biopsie, le chien obtient une sensibilité corrigée de 94% (123).

Tableau 16 : Les résultats des 33 séries lors des tests en double aveugle (123)

	Indication positive	Indication négative
Echantillons cancers	30	3
Echantillons témoins	3	30
Résultats	Sensibilité : 91% → *corrigée : 94%* Spécificité : 91%	

d) Conclusion

Nous avons obtenu la preuve qu'un chien spécialement formé à reconnaître l'odeur du cancer de la prostate est capable de le dépister avec une meilleure efficacité que le dosage du PSA et le TR. Le chien a même su repérer un faux négatif de la biopsie. Ces résultats suggèrent eux aussi qu'il existe une signature olfactive spécifique du cancer dont nous ne connaissons pas encore la composition chimique (123).

5. « *Olfactory system of highly trained dogs detects prostate cancer in urine samples* », avril 2015

En 2015, Gianluigi Taverna et ses collègues de l'Humanitas Research Hospital de Milan présentent leur étude lors du congrès de l'Association américaine d'urologie à Orlando (Floride) qui concerne deux chiens hautement entraînés à détecter l'odeur du cancer de la prostate dans des échantillons d'urine. Cette étude vient en prolongement de la précédente publication déjà très encourageante (124).

a) Objectif

L'objectif était de déterminer la sensibilité et la spécificité avec lesquelles le système olfactif canin rigoureusement entraîné est capable de dépister l'odeur du cancer de la prostate dans des échantillons d'urine (124).

b) Matériels et méthodes

Deux Bergers Allemands femelles de 3 ans : Zoe et Liu, initialement deux chiennes de détection d'explosifs, ont été hautement entraînées à l'identification des composés organiques volatils spécifiques du cancer de la prostate dans des échantillons d'urine. Leur formation a duré 5 mois à l'Hôpital Universitaire Italien et au Centre Vétérinaire Militaire du Ministère Italien de la Défense (124,125).

L'étude inclut 902 patients. C'est la première fois qu'une recherche sur l'olfaction canine afin de dépister le cancer s'appuie sur un nombre de tests aussi important. Parmi ces 902 patients, nous retrouvons 362 hommes atteints d'un cancer la prostate à différents stades : du cancer au stade précoce jusqu'au cancer métastatique, ainsi que 540 témoins : hommes et femmes sain(e)s, sans maladie ni tumeur prostatique (124).

c) Résultats

Nous n'avons pas eu accès à la publication détaillée. Pour la chienne n°1, la sensibilité était de 100% et la spécificité de 98,7%. Pour la chienne n°2, la sensibilité était de 98,6% et la spécificité de 97,6%. Cela signifie que les chiennes ont réussi à dépister respectivement 100% et 98,6% des échantillons tumoraux et ont correctement éliminé respectivement 98,7% et 97,6% des échantillons témoins. Au total, il y avait 16 faux positifs et 4 faux négatifs (124,125).

d) Conclusion

Cette étude confirme les études précédentes. Le système olfactif canin est capable de détecter les composés organiques volatils spécifiques du cancer de la prostate présents dans des échantillons d'urine avec des spécificités et des sensibilités élevées. La truffe du chien est d'une extrême précision ! Si des recherches similaires avaient déjà été réalisées, c'est la première fois qu'elles s'appuient sur autant de tests (124).

H. Le cancer de la thyroïde

1. La thyroïde et son diagnostic

La thyroïde est la plus volumineuse des glandes endocrines. Elle est surnommée la glande papillon, constituée de 2 lobes : un droit et un gauche réunis par l'isthme. C'est une glande située au centre et à l'avant du cou, devant la trachée et à proximité des nerfs récurrents qui commandent les cordes vocales et le larynx. L'importance de ses rapports anatomiques rend cette zone dangereuse pour son abord chirurgical. La thyroïde est une glande vitale par les hormones qu'elle sécrète et ses conséquences lors de son atteinte (100).

La plupart du temps, le cancer de la thyroïde se développe de façon asymptomatique, sans causer de gêne pour la santé. Si des symptômes apparaissent, il s'agit généralement d'une sensation de gêne au niveau du cou, une petite boule voire une douleur à la gorge, accompagnée(s) ou non d'une raucité de la voix et d'une gêne à avaler. 95% des masses formées sur la thyroïde sont des nodules bénins. Nous distinguons les nodules folliculaires, autonomes, colloïdaux et les kystes thyroïdiens. Lors du diagnostic, les professionnels de santé réalisent des examens afin de connaître la nature et l'étendue de cette masse (100).

Le médecin établit l'anamnèse du patient et palpe la thyroïde. Une échographie est réalisée systématiquement. Indolore, elle permet d'obtenir grâce aux ultrasons des images et des informations sur l'organe : le nombre de nodule(s), leur(s) taille(s), leur(s) aspect(s), leur(s) localisation(s) sur la thyroïde ainsi que sur les ganglions lymphatiques à proximité. Une analyse de sang permet de doser la TSH (thyréostimuline) et évaluer le fonctionnement de la thyroïde. Une cytoponction peut ensuite être réalisée. C'est une biopsie par aspiration à l'aiguille fine permettant de prélever des cellules thyroïdiennes pour faire une analyse anatomopathologique. Lors d'une suspicion de tumeur maligne, le nodule peut être retiré ou une ablation de la thyroïde peut être préférée (100).

2. « *Scent-Trained Dog Detects Thyroid Cancer in Human Urine Samples* », 2015

C'est en mars 2015 que les chercheurs du département de médecine de l'Université d'Arkansas ont présenté leur étude au 97ème congrès annuel des endocrinologues à San Diego. Frankie, un Berger Allemand a été entraîné durant 6 mois à détecter l'odeur du cancer de la thyroïde en sentant des échantillons d'urine des patients. Il a également appris à différencier l'odeur d'une thyroïde bénigne de celle d'une thyroïde cancéreuse (126).

34 patients ont été inclus dans l'étude. Pour chacun, un échantillon d'urine a été recueilli lors de leur première visite à la clinique thyroïdienne de l'Université d'Arkansas avant de subir une biopsie des nodules thyroïdiens suspects puis une possible intervention chirurgicale. Il a été diagnostiqué un cancer chez 15 patients et une maladie thyroïdienne bénigne chez 19 patients (126).

Figure 43 : Le chien Frankie et le chercheur Arny Ferrando (Arkansas University for Medical Sciences) (127)

Frankie a donc reniflé les 34 échantillons d'urine et devait se coucher devant les tubes d'urine de patients cancéreux et se détourner des échantillons d'urine de patients ayant une maladie bénigne. Il fut entraîné à distinguer les nodules bénins de ceux présentant des tumeurs cancéreuses. Le Berger Allemand a correctement diagnostiqué 30 patients sur 34. Le chien s'est trompé sur 4 échantillons : 2 faux positifs et 2 faux négatifs : il obtient sensibilité de 86,6% et une spécificité de 89,5%. Frankie savait qu'un échantillon bénin était réellement bénin environ 9 fois sur 10. L'olfaction canine obtient une sensibilité très légèrement inférieure à la biopsie par aspiration à l'aiguille fine qui est la méthode diagnostique utilisée pour connaître la malignité ou non des nodules thyroïdiens. L'olfaction canine a cependant l'avantage d'être non invasive et peu coûteuse. Les procédures diagnostiques actuelles pour le cancer de la thyroïde révèlent bien souvent des résultats incertains nécessitant des examens complémentaires comme des chirurgies thyroïdiennes inutiles (126).

I. Synthèse et résumé

Après avoir passé en revue les publications scientifiques majeures étudiant la détection olfactive canine, nous pouvons affirmer que les chiens sont capables de dépister le mélanome, les cancers de la vessie, du poumon, du sein, des ovaires, du côlon-rectum, de la prostate et de la thyroïde. Ces résultats encourageants ne pourraient sans doute pas être obtenus de façon aussi satisfaisante avec toutes les races de chien. Le type de chien utilisé dans l'étude peut influencer les résultats puisque les polymorphismes canins des récepteurs olfactifs conditionnent la puissance des capacités olfactives (première partie) et donc les performances de dépistage des odeurs du cancer par les chiens renifleurs. La puissance des capacités olfactives est une condition, mais l'entente et la communication au sein du binôme formé entre le chien et le maître-chien sont décisives également ainsi que l'entraînement (première partie V.A.1.c ; troisième partie III.B.2).

Tableau 17 : Un résumé des publications sur la détection olfactive canine des cancers (105)

Cancers	Les chiens formés (M : mâle / F : femelle)	Supports	Nombre de cas (exclusion des contrôles)	Sensibilité	Spécificité
Mélanome	▪ 1 Schnauzer Moyen (M) ▪ 1 Golden Retriever (F)	Mélanome in vivo	7	85,7%	X
Vessie	▪ 1 Epagneul Nain Papillon (F, 7 ans) ▪ 3 Cockers Spaniels Anglais (1,5 (M) ; 2 (F) et 5 ans (F)) ▪ 1 Labrador (F, 7 ans) ▪ 1 « bâtard » (M, 6 ans)	Urine	36 (27 en entraînement + 9 aux tests)	41%	X
Poumon	▪ 3 Labradors Retrievers (2 M et 1F)	Haleine	55 (27 en entraînement (phase 3) + 28 tests)	99%	99%
Sein	▪ 2 Chiens d'Eau Portugais (1M et 1F)	Haleine	31 (25 en entraînement (phase 3) + 6 tests)	88%	98%
Ovaires	▪ Schnauzer Géant (F, 4,5 ans) ▪ 2 Schnauzer Géants (2F : Hanna, 7 ans et Lotti, 3 ans)	Tissus : ovaires Sang	10 8 10 10	100% 100% 100% 100%	100% 91% 97,5% 98%
Colorectal	▪ 1 Labrador Retriever (F, 8 ans)	Haleine Selles liquides	32 37	91% 97%	99% 99%
Prostate	▪ Berger Belge Malinois (M)	Urine	33 (+ 26 en entraînement)	91%	91%
Thyroïde	▪ 1 Berger Allemand (M)	Urine	34	86,6%	89,5%

L'ensemble de ces expériences de la détection des cancers par l'odorat canin permet donc d'évoquer une signature odorante du cancer. Mais nous ne connaissons pas précisément les molécules responsables de cette empreinte olfactive. Au-delà des problématiques concernant l'amélioration des performances canines, ces résultats ont ouvert des pistes novatrices pour la recherche de nouveaux biomarqueurs du cancer.

Les techniques de chimie analytique seraient-elles plus performantes que les chiens pour différencier des maladies dont les signatures odorantes seraient proches (cancer du poumon et BPCO par exemple) ? Car la spécificité canine n'est pas encore suffisante pour remplacer les méthodes actuelles (Amundsen et *al,* 2014 ; Ehmann et *al,* 2012). Pour cela, nous devons d'abord progresser dans la connaissance des molécules responsables des odeurs spécifiques du cancer et réussir à les différencier. La recherche sur le métabolome est active dont le but est l'identification et la caractérisation précise de cette signature moléculaire odorante du cancer qui pourrait à l'avenir être utilisée en tant que nouveaux tests diagnostiques : une approche prometteuse, moins invasive et peut-être plus fiable que les actuelles méthodes de dépistage (102,116,117).

IV. LES EFFLUVES DEGAGES LORS D'UNE MALADIE CANCEREUSE

Le dépistage des cancers grâce à l'olfaction canine suggère fortement que « le cancer a une odeur ». L'objectif futur serait le développement d'un système de détection des odeurs : une sorte de « nez électronique ». Mais pour cela, l'identification des composés organiques volatils (COV) spécifiques de chacun des cancers détectés par l'olfaction canine est indispensable. Le concept de dépister les maladies grâce à l'odorat est donc prometteur mais encore faut-il savoir quelles molécules nous recherchons !!!

Suite aux études satisfaisantes de la détection olfactive canine du cancer, des travaux ont donc débuté avec comme objectif une identification précise des molécules odorantes responsables de la signature olfactive spécifique du processus tumoral, produit par les cellules tumorales elles-mêmes ou par une cascade d'événements cellulaires (102).

Les marqueurs sécrétés par une tumeur des indicateurs biochimiques d'une maladie cancéreuse. Ils témoignent d'une réaction de l'hôte à un envahissement tumoral. Que ce soit en oncologie ou dans d'autres domaines, les chercheurs sont en quête du marqueur idéal. Un marqueur idéal est :

- une molécule synthétisée par la tumeur avec une élévation précoce afin de permettre un diagnostic précoce,
- une molécule différente des molécules produites par les tissus sains et qui présente donc une bonne spécificité tumorale,
- mais une molécule également différente selon sa localisation d'origine afin de permettre une spécificité d'organe.

Cette molécule doit être libérée par la tumeur dans un milieu facilement accessible : l'urine, les fèces, le sang, *etc*. et dont la concentration dans ce milieu reflète l'état de la tumeur et son évolution : sa taille, sa croissance, une éventuelle récidive voire l'existence de métastases. Cette molécule doit aussi être décelable à faible concentration pour permettre un dépistage le plus précoce possible et présenter une spécificité et une sensibilité proches de 100%. Mais aucun marqueur ne répond à ces conditions à l'heure actuelle.

Les applications cliniques de ce marqueur idéal seraient multiples. En plus du dépistage, il pourrait aider au suivi thérapeutique puisque la concentration sérique des marqueurs tumoraux reflète l'efficacité thérapeutique. C'est le cas du taux de PSA qui diminue après un traitement dans le cancer de la prostate (bien qu'un taux élevé de PSA n'indique pas toujours un cancer) et de la thyroglobuline qui s'abaisse après un traitement systémique dans le cancer de la thyroïde.

A. Le cancer du poumon

1. Le profil type de COV du cancer du poumon

En 2007, des scientifiques ont cultivé des cellules épithéliales normales des voies aériennes et des cellules pulmonaires cancéreuses humaines obtenues par la résection de cancers du poumon. Avant la résection, ces mêmes patients ont fourni des échantillons d'haleine afin d'en analyser la composition moléculaire. 11 composés organiques volatils apparaissent en concentration plus importante chez les patients atteints d'un cancer du poumon que chez les patients contrôles parmi lesquels nous retrouvons des sujets sains et des sujets atteints d'une bronchite chronique. Ces chercheurs ont alors établi un profil type de composés organiques volatils (COV) du cancer pulmonaire (59).

Selon eux, ces COV seraient des produits issus des voies métaboliques retrouvées uniquement au sein des cellules cancéreuses et pourraient être d'éventuels biomarqueurs du cancer pulmonaire. Ces voies métaboliques spécifiques de la carcinogenèse produiraient ces COV dès les stades tumoraux les plus précoces. Etablir un « profil type » de COV permettrait alors de détecter un cancer aux stades tumoraux les plus précoces de la maladie (59).

2. Une corrélation éventuelle entre la détection olfactive canine et le profil type de COV du cancer du poumon

En 2012, Buszewski et *al*. ont réalisé une étude afin de comparer la détection olfactive canine à l'identification des marqueurs volatils du cancer du poumon. Ils souhaitaient savoir si ces marqueurs volatils sont ceux détectés par l'odorat du chien. Pour cela, ils ont analysé des échantillons d'haleine expirée de patients atteints d'un cancer du poumon qu'ils ont comparé à ceux des patients sains grâce à la méthode de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse à temps de vol (GC-TOF MS). C'est une méthode capable d'analyser rapidement les composés présents dans l'haleine en infime concentration (de l'ordre du nanomolaire) (128).

Au total, 73 échantillons ont été analysés par GC-TOF MS : 44 échantillons d'haleine issus de volontaires sains et 29 échantillons d'haleine de patients cancéreux pulmonaires (figure 44) (128).

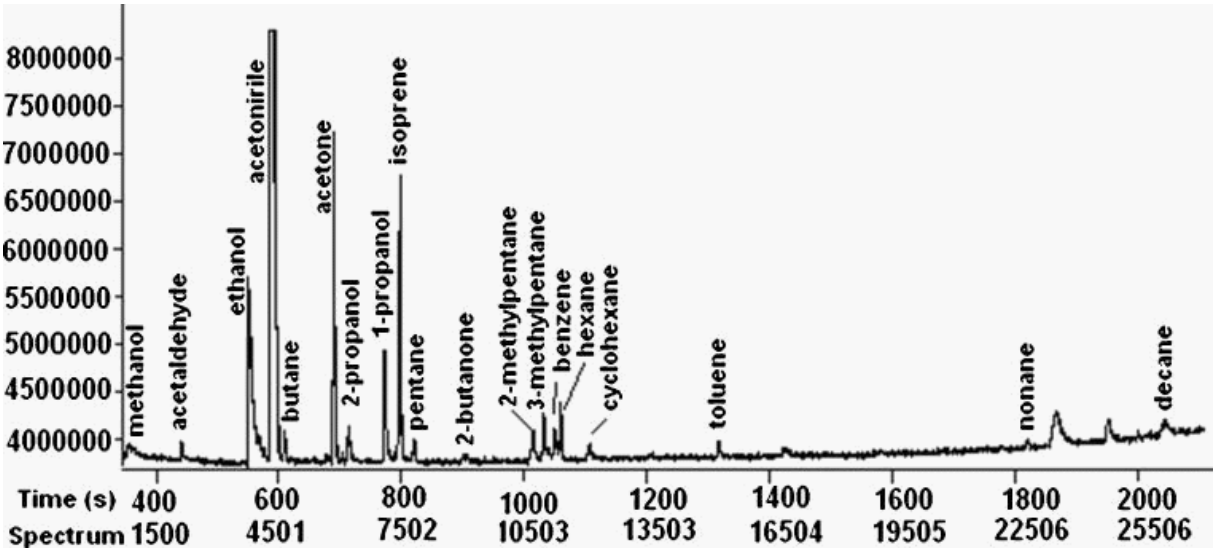

Figure 44 : Un chromatogramme obtenu par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse à temps de vol (GC-TOF MS) à partir d'un échantillon d'haleine issu d'un patient atteint d'un cancer du poumon (128)

Tous les composés moléculaires détectés dans les échantillons d'haleine « cancéreuse » ont été comparés aux échantillons d'haleine « saine ». Les chercheurs ont principalement porté leur attention sur les composés présents dans l'haleine « cancéreuse » dont la concentration était au moins de 10% supérieure à celle de l'haleine « saine ». Certains composés organiques volatils apparaissent en effet en quantité significativement plus importante chez les patients atteints d'un cancer du poumon que chez les patients sains : l'acétate d'éthyle, l'éthylbenzène, le butanal, le 2-butanone, le 2-pentanone, le 1-propanol et le 2-propanol (128).

Les profils moléculaires d'haleine ont tous été comparés à l'indication des chiens pour chaque échantillon. Les chiens étaient deux Bergers Allemands mâles spécialement entraînés de 20 et 22 mois. L'entraînement des chiens était proche de toutes les études décrites précédemment : l'étude s'est déroulée en double aveugle et les chiens ont analysé des séries composées de 1 échantillon cancéreux associé à 4 échantillons contrôles. Les chiens ont obtenu une sensibilité et une spécificité respectivement de 82,2% et 82,4% (128).

Chaque échantillon analysé par chimie analytique a donc été reniflé par les chiens et une éventuelle corrélation entre les COV présents dans l'haleine et les indications des chiens a été étudiée. Il apparaît une corrélation positive entre l'indication des chiens et la teneur des COV suivants : l'acétate d'éthyle (R = + 0,85) et le 2-pentanone (R = + 0,97). Les concentrations de l'acétonitrile (R = - 0,78), le propanal (R = - 0,87) et le 1-propanol (R = - 0,98) étaient négativement corrélées aux indications des chiens. Cela signifie que plus l'acétate d'éthyle et le 2-pentanone sont concentrés et plus l'indication du chien est forte. Inversement, plus les concentrations d'acétonitrile, de propanal et de 1-propanol sont faibles et plus l'indication du chien est forte (tableau 18) (128).

Tableau 18 : La corrélation entre les COV présents dans l'haleine de patients atteints d'un cancer du poumon et les indications d'un chien (128)

Composés organiques volatils	Corrélation avec les indications du chien *R = coefficient de corrélation*
Acétate d'éthyle	R = + 0,85
2-pentanone	R = + 0,97
Acétonitrile	R = - 0,78
propanal	R = - 0,87
1-propanol	R = - 0,98

Cependant, l'analyse des COV par un chromatogramme n'explique pas comment l'animal perçoit un mélange moléculaire. Nous ne connaissons toujours pas à quel(s) composé(s) chimique(s) les chiens répondent. Nous pensons fortement que les chiens distinguent les échantillons tumoraux des échantillons sains grâce à une signature olfactive spécifique. La signature odorante que les chiens utilisent pour la discrimination des échantillons doit être liée à des impressions olfactives spécifiques qualitatives ou quantitatives produites par un mélange de composés volatils. Ce serait donc l'ensemble d'une combinaison moléculaire dans laquelle chaque composé est présent dans une certaine concentration qui est perçu et analysé par le chien (128).

Dans une étude similaire publiée en 2016, Schallschmidt K. et *al*. suggèrent que les biomarqueurs éventuels du cancer du poumon seraient plutôt le : 1-butanol, le 2-butanone, le 2-pentanone et l'hexanal du fait d'une concentration significativement augmentée dans l'haleine des patients atteints d'un cancer du poumon par rapport à celle de patients sains (129).

3. L'évaluation de l'indication des chiens aux échantillons d'air synthétique enrichi en potentiels biomarqueurs

Le 14 mars 2018, Fischer-Tenhagen C. et *al*. procèdent à une nouvelle étude dont l'idée est de tester la réaction des chiens à des échantillons d'air synthétique enrichis en potentiels biomarqueurs présents dans l'haleine expirée de patients atteints d'un cancer pulmonaire d'après Schallschmidt K. et *al*. La concentration de chacun des 4 potentiels biomarqueurs a été choisie de façon à se rapprocher des concentrations retrouvées dans l'haleine des patients atteints d'un cancer du poumon. L'air synthétique a été enrichi de 10 µl d'une solution d'eau déminéralisée contenant du 1-butanol à 10,4 µg/L, du 2-butanone à 9,7 µg/L, du 2-pentanone à 3,2 µg/L et de l'hexanal à 5,4 µg/L (130).

Deux chiens ont été entraînés : une Labrador (♀, 5 ans) et une Caniche (♀, 3 ans) grâce à la méthode du *clicker-training* durant 80 jours à raison d'une quinzaine de séries par jour. Leur récompense lors d'une bonne indication était leur friandise préférée. Après l'entraînement terminé, l'étude en double aveugle séparée en deux tests a débuté et les chiens ont analysé les échantillons d'air synthétique en totale autonomie, sans laisse. Dans la présente étude, contrairement à la majorité des essais menés sur les chiens renifleurs du cancer, le nombre

d’échantillons positifs cancéreux pouvait varier de 0 à 4. Lorsqu'il n'y avait pas d’échantillon positif dans la série, le chien était récompensé après avoir reniflé tous les échantillons sans jamais les indiquer (130).

- ❖ 1° test : échantillons positifs d’haleine de patients atteints du cancer du poumon et échantillons négatifs d’haleine de sujets sains :
  - ➢ Labrador (♀, 5 ans) : sensibilité de 100% (9/9) et spécificité de 80% (8/10),
  - ➢ Caniche (♀, 3 ans) : sensibilité de 88,9% (8/9) et spécificité de 40% (4/10).

- ✓ 2° test : échantillons positifs d’haleine synthétique et échantillons négatifs d’haleine de sujets sains :
  - ➢ Labrador (♀, 5 ans) : sensibilité de 75% (3/4),
  - ➢ Caniche (♀, 3 ans) : sensibilité de 75% (3/4).

Le but de l’étude était d’entraîner des chiens à reconnaître et indiquer des échantillons d'haleine de patients atteints d’un cancer du poumon comme positifs puis de tester leur réponse lorsqu'ils reniflaient des échantillons d'haleines synthétiques contenant des COV potentiellement responsables de l’odeur spécifique du cancer du poumon. Dans 75% des cas, les animaux ont indiqué les échantillons d’haleine synthétique comme étant cancéreux. Nous commençons peut-être à nous rapprocher de la signature olfactive du cancer pulmonaire que les chiens reconnaissent et utilisent pour différencier les échantillons cancéreux et sains (130).

Une étude similaire menée en 2015 sur un échantillon plus large de patients : 108 patients atteints du cancer du poumon et 121 témoins (sujets sains et patients souffrant de pathologies pulmonaires non cancéreuses) suggérait qu’il y aurait également une augmentation significative des concentrations de sulfure de diméthyle, d’hexanal et de disulfure de carbone dans l’haleine des patients atteints d'un cancer du poumon mais ils n’ont pas retrouvé d’augmentation significative d’éthylbenzène, butanal, 2-butanone et 2-pentanone. Ils avaient élaboré des échantillons d’haleine synthétique mais les chiens n’avaient identifié ces échantillons qu’avec 21% de sensibilité. Peut-être avaient-ils induit les chiens en erreur suite à l’introduction d’un (ou plusieurs) composé(s) n’étant pas un/des biomarqueur(s) du cancer pulmonaire ? Les publications n’identifient pas toutes les mêmes biomarqueurs potentiels du cancer. Les modèles expérimentaux doivent exclure toute possibilité d'induire en erreur les chiens par des caractéristiques inconnues des échantillons authentiques ou enrichis (130,131).

Dans une perspective future et dans un test plus idéal, il conviendrait de tester chaque potentiel biomarqueur séparément puis combinés avec différentes concentrations et ensuite évaluer précisément les indications des chiens, afin de se rapprocher au plus près de la réelle odeur spécifique détectée par l’animal. Ces résultats suggèrent que les chiens seraient un moyen de réussir à s’approcher au plus près de la combinaison olfactive spécifique de l’odeur du cancer et ainsi identifier les biomarqueurs potentiels du cancer du poumon (130).

B. Le cancer de la prostate

En 2011, le Berger Belge Malinois entraîné par Jean-Nicolas Cornu et Olivier Cussenot obtient une sensibilité et une spécificité de 91% chacune pour dépister le cancer prostatique en reniflant des échantillons d'urine. En 2015, Taverna et *al*. dressent aussi deux chiennes à détecter le cancer prostatique en sentant des échantillons d'urine qui obtiennent une sensibilité de 100% et de 98,6% et une spécificité de 98,7% et de 97,6%. Les chiens sont donc capables de distinguer les urines cancéreuses et saines, indépendamment du volume et de l'agressivité de la tumeur. Malgré ces excellents résultats canins, nous ne sommes toujours pas parvenus à identifier les substances responsables de la détection olfactive canine. Une interrogation reste donc en suspens : quelles sont les molécules détectées dans l'urine par les chiens renifleurs ? L'identification d'éventuels biomarqueurs du cancer de la prostate permettrait de dépister ce cancer avec moins de faux-positifs (à l'origine de biopsies inutiles) et de faux-négatifs que les méthodes de dépistage actuellement pratiquées (le dosage du PSA et le TR). Ceci implique une recherche sur le métabolome qui est l'ensemble des métabolites produits et libérés dans l'urine lors du processus tumoral. Si nous décryptons les évènements moléculaires complexes caractéristiques du développement et de la progression tumorale, nous pourrions parvenir à identifier ces biomarqueurs responsables d'une signature olfactive unique qui permettent au chien de détecter les urines comme cancéreuses (132).

1. Un potentiel profil métabolomique du cancer de la prostate

Sreekumar A. et *al*. (2009) ont utilisé la chromatographie en phase liquide (puis gazeuse) à haute performance (HPLC) couplée à la spectrométrie de masse afin d'établir un potentiel profil métabolomique cellulaire et urinaire des patients atteints d'un cancer de la prostate en comparaison de témoins. Ils ont analysé 152 échantillons : 42 échantillons tissulaires prostatiques et 110 échantillons urinaires : 59 prélèvements d'urines cancéreuses après confirmation par une biopsie réalisée suite à un dosage élevé du PSA, ainsi que 51 prélèvements d'urines de témoins sains (132).

Si les auteurs ont identifié plusieurs molécules en quantité augmentée dans les urines de patients atteints d'un cancer, c'est incontestablement la concentration de la sarcosine qui apparaît être la plus élevée dans les échantillons tumoraux par rapport aux échantillons sains. La sarcosine est un dérivé N-méthylique de la glycine qui est un acide aminé. Cette information vient en accord avec des publications antérieures mettant en évidence une élévation de l'histone méthyltransférase EZH2 au sein des tumeurs prostatiques. La méthylation des acides aminés augmente au cours de la progression tumorale de la prostate (132,133).

Si nous comparons les concentrations de la sarcosine :

- La sarcosine est totalement indétectable dans les échantillons urinaires sains (**benign**),
- Les échantillons métastatiques (**Mets**) montrent des taux de sarcosine très nettement élevés,
- tandis que les échantillons dont le cancer prostatique est localisé (**PCA**) montrent une augmentation des taux de sarcosine mais moins élevés que les échantillons métastatiques (132).

La sarcosine ne serait donc pas présente physiologiquement et lorsque nous la détectons : sa concentration serait corrélée à la progression tumorale de la prostate. L'exploration de la présence et de la concentration de la sarcosine pourrait être un moyen de connaître le stade de progression tumorale prostatique (132).

2. La concentration de la sarcosine corrélée à la progression tumorale prostatique

Pour confirmer l'hypothèse d'une élévation de la sarcosine corrélée à la progression du cancer de la prostate, Sreekumar A. et *al*. ont spécifiquement analysé la sarcosine par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse dans 89 échantillons tissulaires prostatiques : (figure 45)

- 25 échantillons sains (**benign**) : le taux de sarcosine est totalement indétectable,
- 36 échantillons issus d'un cancer prostatique localisé (**PCA**) : les taux de sarcosine sont significativement élevés par rapport aux échantillons sains (**benign**),
- 28 échantillons métastatiques (**Mets**) : augmentation des taux de sarcosine encore plus importante que ceux des échantillons dont le cancer est localisé (**PCA**).

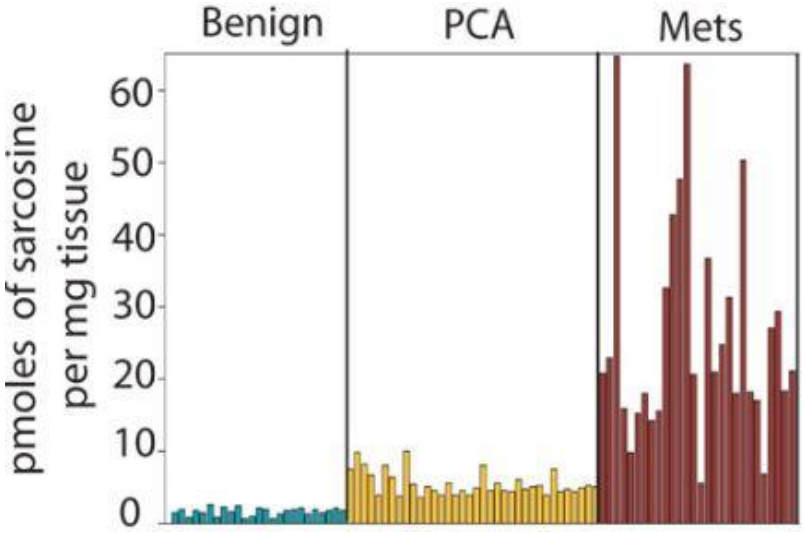

Figure 45 : Un graphique représentant la concentration en sarcosine en *p*mole par mg de tissu prostatique – bleu : tissu bénin (benign) - jaune : tissu d'un patient atteint d'un cancer de la prostate localisé (PCA) - rouge : tissu d'un patient atteint d'un cancer de la prostate métastatique (Mets) (132)

Pour chacun des échantillons dosés, la concentration de la sarcosine est effectivement corrélée avec le caractère invasif ou non de la tumeur (132).

Afin d'évaluer le potentiel de la sarcosine comme biomarqueur pour une détection précoce du cancer de la prostate et marqueur de l'agressivité tumorale, Sreekumar A. et *al*. ont dosé la sarcosine dans l'urine des patients venant réaliser une biopsie suite à un taux élevé de PSA (> 4,0 ng/mL). C'est une étude possiblement difficile car non seulement les hommes présentent un risque élevé de cancer de la prostate et de plus, une biopsie négative n'exclut pas totalement la présence de cancer (132).

Les résultats montrent une concentration de sarcosine significativement plus élevée dans l'urine des patients positifs à la biopsie par rapport aux patients négatifs à la biopsie. Un point intéressant a été mis en évidence : la sarcosine a obtenu une meilleure valeur prédictive positive (VPP) que le taux de PSA des patients dont la biopsie est effectivement positive. Le taux de sarcosine serait plus fiable qu'un dosage du taux de PSA comme moyen de dépistage du cancer de la prostate (132).

La sarcosine et ses enzymes proximales régulatrices auraient un rôle intermédiaire dans la progression tumorale. La glycine-N-méthyltransférase (GNMT) est l'enzyme responsable de la synthèse de la sarcosine à partir de la glycine. Si nous inactivons cette enzyme : le taux de sarcosine diminue et nous observons une réduction significative de la progression tumorale des cellules prostatiques. Une surexpression de l'histone méthyltransférase EZH2 au sein des cellules prostatiques saines induit une apparition puis une élévation de la sarcosine. Lorsque nous ajoutons de la sarcosine exogène ou que nous inactivons la sarcosine déshydrogénase (SARDH) qui est l'enzyme responsable de la dégradation de la sarcosine en glycine et diméthylglycine dehydrogenase (DMGDH) nous observons une augmentation du taux de sarcosine endogène ainsi qu'une invasion tumorale des cellules épithéliales initialement bénignes de la prostate (132).

La sarcosine et ses enzymes proximales semblent jouer un rôle intermédiaire dans la progression néoplasique en modulant l'invasion et la migration cellulaire (132).

3. L'évaluation de l'indication des chiens aux échantillons d'urine enrichie artificiellement en sarcosine

En 2018, Pacik D. et *al*, ont réalisé une étude dont le principe est proche de celle de Fischer-Tenhagen C. et *al*. (mars 2018) pour le cancer du poumon : pour cela ils s'appuient sur la publication de Sreekumar A. et *al*. (2009) où la sarcosine apparaît comme un éventuel biomarqueur du cancer de la prostate présent dans l'urine. Ils émettent l'hypothèse que les chiens détectent le cancer de la prostate en reniflant des échantillons d'urine grâce à la présence de la sarcosine. Ils se basent également sur leur précédente étude de 2015 où ils ont entraîné un Berger Allemand mâle depuis l'âge de 7 mois, grâce à la méthode du *clicker-training* à reconnaître l'odeur des urines du cancer prostatique dans des échantillons d'urine. Le chien avait obtenu une sensibilité de 93,5% et une spécificité de 91,6% (134,135).

En 2017, Gkotsos G. et *al*. ont dosé la sarcosine dans des échantillons d'urine de patients atteints d'un cancer de la prostate confirmé par la biopsie. L'urine a été analysée par chromatographie en phase liquide à ultra-haute performance couplée à la spectrométrie de masse (UPLC-MS / MS : *Ultrahigh Pressure Liquid Chromatography coupled with Mass Spectrometry*). Chez les patients atteints d'un cancer de la prostate, la concentration médiane de la sarcosine urinaire est de 4,3 µmol/L. Les valeurs des concentrations s'étendaient de 0,25 µmol/L à 36,4 µmol/L (136).

Si la détection olfactive des chiens dépend effectivement de la quantité de sarcosine présente dans l'urine, un chien spécialement entraîné à reconnaître l'odeur du cancer de la prostate devrait logiquement reconnaître une urine artificiellement enrichie en sarcosine comme cancéreuse. L'objectif de cette étude est donc d'observer la détection olfactive canine avec des échantillons d'urines enrichis artificiellement en sarcosine. C'est le même Berger Allemand qui reniflera l'urine artificiellement enrichie en sarcosine, offrant l'avantage d'obtenir des résultats directement comparables en termes de sensibilité et de spécificité (134).

L'urine utilisée était une urine artificielle, imitant exactement la composition de l'urine humaine masculine. L'idée d'utiliser des solutions de sarcosine diluée dans l'eau a été exclue car l'utilisation d'un nouveau solvant pourrait influencer l'odeur détectée par l'animal. L'urine de femme n'a pas non plus été utilisée pour éviter toute modification olfactive due aux hormones. Les urines artificielles ont été préparées et immédiatement reniflées par le chien pour éviter toute fluctuation des taux de sarcosine et n'ont aucunement été congelées car le processus de congélation dégrade la sarcosine. L'urine artificielle était exempte d'enzyme capable de dégrader la sarcosine en glycine (la SARDH). La sarcosine a été dosée par chromatographie échangeuse d'ions et par spectrophotométrie ultraviolet-visible avant et après l'analyse canine afin de vérifier la stabilité et détecter une éventuelle dégradation et donc fluctuation de concentration de la sarcosine. La concentration en sarcosine est donc restée stable tout au long de la détection olfactive (134).

Au total, le Berger Allemand a reniflé 180 échantillons répartis en 60 séries, chacune composée de 3 échantillons : 1 échantillon positif et 2 échantillons négatifs positionnés aléatoirement : (134)

- 60 échantillons positifs à « différents stades » ne différant uniquement que par la quantité de sarcosine ajoutée : 0,1 µmol/L, 1 µmol/L et 10,0 µmol/L.
- 120 échantillons négatifs : urine artificielle sans sarcosine.
    - 1° étape : sarcosine ajoutée à une concentration de 1 µmol/L,
        Les chiens obtiennent alors :
        - une sensibilité de 85%,
        - une spécificité de 92,5%.
    - 2° étape : sarcosine ajoutée à une concentration de 0,1 µmol/L,
        Les chiens obtiennent alors :
        - une sensibilité de 70%,
        - une spécificité de 85%.

- 3° étape : sarcosine ajoutée à une concentration de 10,0 µmol/L,

  Les chiens obtiennent alors :

  - une sensibilité de 90%,
  - une spécificité de 95%.

Plus la quantité de sarcosine ajoutée dans l'urine est élevée et meilleure est la détection olfactive canine en termes de sensibilité et de spécificité. Parallèlement, lorsque la quantité de sarcosine ajoutée dans l'urine est faible, la sensibilité et la spécificité de la détection olfactive sont nettement moins satisfaisantes (134).

La détection olfactive canine du cancer de la prostate semble donc être corrélée à la concentration en sarcosine contenue dans l'urine. La sarcosine serait la (ou l'une des) molécule(s) urinaire(s) essentiellement reconnue(s) par la truffe canine pour déterminer la présence ou non d'un cancer de la prostate (134).

C. Le mélanome

Abaffy T. et *al*. (2010) ont souhaité identifier la signature olfactive du mélanome. Pour cela, ils ont analysé grâce à la méthode de headspace et micro-extraction en phase solide (HS-SPME, figure 46) puis par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse des échantillons de naevi et de mélanomes dont le diagnostic a été confirmé par analyse histologique des biopsies. Les mélanomes étaient divers : mélanome récent superficiel ou disséminé, récidivant, nodulaire, etc. Les molécules volatiles ont été comparées en fonction de leurs différences de fréquences et d'amplitudes entre les naevi et les mélanomes (137).

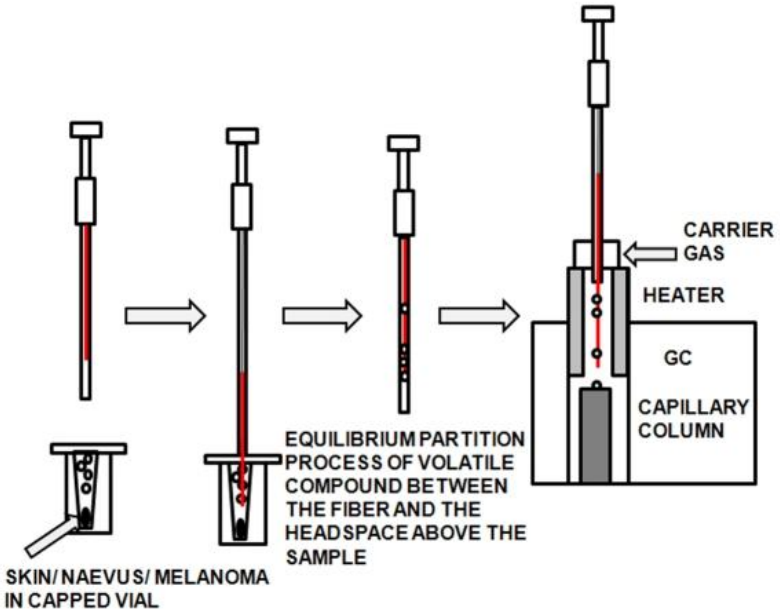

Figure 46 : La collecte des molécules volatiles par méthode Headspace Solid Phase Microextraction (HS-SPME) (137)

La figure 46 représente la collecte volatile des molécules par la méthode de headspace et micro-extraction en phase solide (HS-SPME). Des échantillons de naevi ou de mélanome sont déposés dans une petite fiole où une fibre (rouge) qui collecte les molécules volatiles de l'échantillon durant une heure. Après la collecte volatile, la fibre est rétractée et injectée dans la chromatographie en phase gazeuse (GC) (137).

D'après les chromatogrammes, certains pics se retrouvent uniquement dans les mélanomes, d'autres sont augmentés ou diminués dans les mélanomes par rapport aux naevi. Au total, 325 composés organiques volatils ont été identifiés au sein des échantillons de naevi et de mélanomes. Parmi eux, seuls la pyridine et le 3-hexanol seraient spécifiques des naevi, détectés uniquement dans ces échantillons sains (figure 47). Par ailleurs, le phtalate, le butanal, la diméthylbenzamine et l'indole semblent être spécifiques du mélanome (figure 48) et de nombreux alcanes dont des alcanes méthylés, des alcènes, des benzènes méthylés et des alcools à longue chaine (dodécanol, hexadécanol) sont significativement plus abondants dans le mélanome (137).

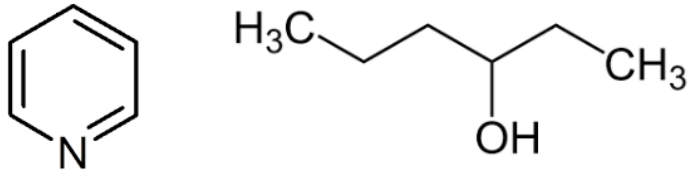

Figure 47 : A gauche : la pyridine - A droite : le 3-hexanol

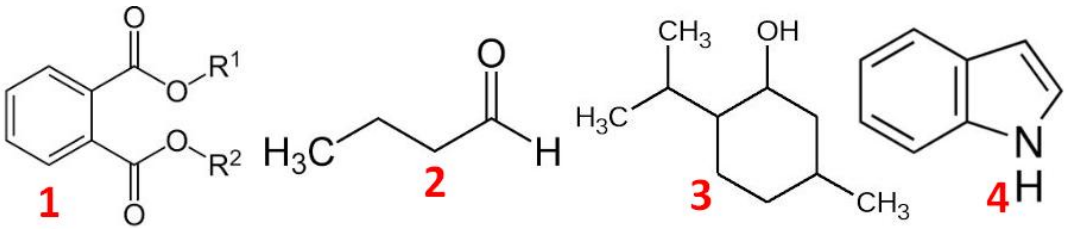

Figure 48 : 1 : le phtalate, 2 : le butanal, 3 : la diméthylbenzamine et 4 : l'indole

Nous remarquons une augmentation significative des molécules méthylées (alcanes méthylés et benzènes méthylés) dans le mélanome. Il y aurait donc un processus accru de méthylation dans le mélanome, ce qui est en accord avec les observations du cancer de la prostate où nous remarquons une méthylation des acides aminés augmentée au cours de la progression du cancer de la prostate. La présence de métabolites secondaires de la peroxydation lipidique membranaire tels que les alcanes (nonane, décane, undécane, dodécane, tridécane), les alcènes (décène, tridécène) et les aldéhydes (propanal, butanal) peut être un indicateur du stress oxydatif. Les divers types de mélanomes révèlent une expression commune des COV (137).

D. Le cancer de l'ovaire

En 2015, Amal. H. et *al*. ont réalisé une étude visant à étudier un diagnostic différentiel grâce à l'haleine des femmes atteintes d'un cancer de l'ovaire, des femmes présentant une

pathologie gynécologique bénigne et des sujets sains. Parmi les 182 patientes inclues dans l'étude, nous retrouvons : (138)

- 48 femmes atteintes d'un cancer de l'ovaire,
- 48 sujets témoins sains,
- 86 femmes présentant une pathologie gynécologique bénigne.

Pour chacune, un prélèvement d'haleine a été recueilli puis analysé par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Les COV potentiellement biomarqueurs du cancer de l'ovaire sont le décanal, le nonanal, le styrène, le 2-butanone et l'hexadécane, du fait d'un profil significativement différent dans les haleines issues de patientes atteintes d'un cancer de l'ovaire en comparaison avec les haleines « bénignes » ou « saines » (138).

Un nez artificiel ciblant ces COV présents dans l'haleine a réussi à discriminer les patientes atteintes d'un cancer de l'ovaire des femmes présentant une pathologie gynécologique bénigne avec une sensibilité et une spécificité de 71%. Le nez électronique a également su différencier les patientes atteintes d'un cancer de l'ovaire des sujets sains avec une sensibilité de 79% et une spécificité de 100% (138).

E. Le cancer du sein

Le cancer du sein s'accompagne également d'un stress oxydatif où nous observons la peroxydation lipidique des acides gras polyinsaturés des membranes entraînant une augmentation significative des alcanes et des alcanes méthylés dans l'haleine expirée des patientes atteintes d'un cancer du sein en comparaison avec des patientes saines. Les COV pourraient être également des biomarqueurs potentiels du cancer mammaire. Phillips M. et *al*, réalisent en 2003 une étude cas-témoins transversale auprès de femmes présentant une mammographie anormale et dont une biopsie est programmée (139).

Des échantillons d'haleine ont été recueillis et analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse puis comparés entre ces femmes et des femmes saines afin d'établir un profil spécifique d'alcanes méthylés du cancer du sein. Nous retrouvons majoritairement des alcanes monométhylés en C4 ou C20 dans l'haleine expirée des femmes atteintes du cancer du sein par rapport aux femmes saines. Un test respiratoire d'haleine pour ces marqueurs de stress oxydatif a été réalisé dont les résultats ont été comparés à la mammographie puis à la biopsie (139).

Le test respiratoire a été réalisé sur 51 femmes asymptomatiques présentant une mammographie anormale et dont un cancer du sein a été confirmé par une biopsie, ainsi que sur 42 femmes en bonne santé appariées selon l'âge. Le test respiratoire a dépisté correctement les femmes atteintes d'un cancer du sein et les femmes saines avec une sensibilité de 94,1% (48/51) et une spécificité de 73,8% (31/42). Concernant les femmes

dont la mammographie était anormale mais la biopsie normale et donc saines : le test respiratoire a obtenu une sensibilité de 62,7% et une spécificité de 84% (139,140).

La valeur prédictive négative (VPN) du test respiratoire de dépistage du cancer du sein est de 99,93% : légèrement supérieure à celle de la mammographie qui est de 99,89% (139).

Ce test respiratoire d'haleine pour les marqueurs du stress oxydatif a dépisté avec précision les femmes atteintes d'un cancer du sein et a même obtenu une VPN supérieure à celle d'une mammographie de dépistage. Ce test respiratoire qui dure seulement deux minutes pourrait potentiellement fournir un moyen de dépistage primaire sûr, précis et indolore du cancer du sein, mais des études de confirmation en grands groupes sont nécessaires (139).

Nous retrouvons de très nombreuses publications sur le sujet, dont l'objectif commun est l'identification des biomarqueurs volatils du cancer du sein. Nous ne savons pas encore précisément quels COV sont réellement des biomarqueurs volatils spécifiques, mais tous les biomarqueurs candidats sont compatibles avec les produits en aval de la peroxydation lipidique induite par le stress oxydatif. De plus, le cancer du sein s'accompagne d'une régulation positive de plusieurs enzymes du cytochrome p450. Ces enzymes du cytochrome p450 régulées à la hausse peuvent moduler l'abondance des COV de l'haleine, accélérer leur dégradation et donc entraîner des modifications détectables de la composition de la respiration (141,142).

Il est admis que les chiens possèdent une acuité olfactive exceptionnelle. Au cours de la croissance tumorale, il a été établi que les modifications des protéines dans les cellules malignes entraînaient une peroxydation des composants de la membrane cellulaire entraînant la libération de composés organiques volatils (COV). Des taux élevés de certains COV peuvent être associés aux tumeurs et seraient les responsables d'une signature olfactive spécifique du cancer. Alors que les recherches sur la détection des COV se poursuivent depuis des décennies, généralement basées sur la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, les performances olfactives canines surpassent actuellement largement les équivalents technologiques.

Il est presque impossible de distinguer un COV unique et donc spécifique d'une maladie. C'est plutôt l'hypothèse d'une combinaison de COV unique pour chaque cancer qui est adoptée. C'est donc un ensemble moléculaire dans lequel chaque composé est présent dans une certaine concentration qui est perçu et analysé par le chien. Une étude plus poussée sur l'olfaction canine pourrait aider à affiner la technologie. Ainsi, des chiens de détection spécialement formés seraient un outil utile pour permettre l'identification des meilleurs biomarqueurs en vue d'élaborer des systèmes électroniques de diagnostic efficaces et précoces du cancer pour améliorer le dépistage des tumeurs dont certaines sont particulièrement difficiles à détecter à un stade précoce.

Les technologies de chimie analytique sont très performantes mais ne sont pas suffisantes pour dépister le cancer. Il faut concevoir des nez artificiellement intelligents.

TROISIEME PARTIE : Le projet KDOG, les organisations des chiens « médecins », les nez électroniques et les perspectives d'avenir

I. LE PROJET KDOG, CANCER DETECT GROUP

Le projet KDOG est un programme de recherche d'innovation médicale soutenu par l'Institut Curie. L'objectif est « simple » : détecter le cancer du sein le plus précocement possible par une méthode peu coûteuse et non invasive grâce à des chiens renifleurs hautement entraînés. Nous savons maintenant que le chien sait détecter le cancer grâce à son odorat et KDOG souhaite le prouver scientifiquement (16).

Figure 49 : KDOG : CANCER DETECT GROUP (16)

A. Le projet KDOG : « un pari médical audacieux »

1. La naissance du projet KDOG

Depuis 1993, Isabelle Fromantin est infirmière à l'Institut Curie en pédiatrie et chirurgie ORL. En 2012, elle se spécialise dans les plaies chroniques. Elle s'intéresse particulièrement à l'organisation bactérienne des plaies tumorales mammaires qui ne cicatrisent pas et pourquoi ces plaies sont malodorantes. Son objectif est d'établir un lien entre la présence d'une tumeur et l'odeur qu'elle produit. Pour comprendre ce phénomène, elle collabore avec des chimistes et ils explorent ensemble les composés organiques volatils dégagés par ces plaies chroniques. Elle se lance dans des travaux de recherche et le 10 décembre 2012, elle soutient sa thèse intitulée « Etude de la flore bactérienne dans les plaies tumorales du sein : incidence des biofilms bactériens sur l'évolution des plaies et le développement d'odeurs » afin de mieux comprendre et soigner les patientes atteintes d'un cancer du sein (16).

D'un autre côté, le maître-chien Jacky Experton envoie un courrier à des dizaines d'hôpitaux dans lequel il propose d'utiliser l'odorat canin pour détecter les cancers. Seule Isabelle Fromantin s'y intéresse, dont la thèse concerne les composés odorants volatils associés aux cancers. Jacky Experton gère des missions ne laissant aucune place à l'erreur. Beaucoup viennent se former auprès de ce maître-chien pour détecter les explosifs au sein des centrales nucléaires, dans l'aviation civile (chez Air France notamment), pour la détection d'armes, des munitions, des stupéfiants, etc. et maintenant des cellules cancéreuses. Il est devenu la référence dans le domaine de la formation d'équipes cynophiles. Jacky Experton aime les défis et il se lance dans le projet KDOG en 2016. La rencontre entre cette infirmière et cet expert cynophile est déterminante. Le projet KDOG débute (non pas sans mal) en avril 2016. Une équipe pluridisciplinaire se met rapidement en place pour mener à bien ce projet (16,143).

Isabelle Fromantin et Sandra Kollender (auteure) ont collaboré durant plus d'une année afin de nous raconter le lancement du projet KDOG dans leur livre "*Blouse blanche & poils de chiens*" disponible depuis avril 2018. Isabelle décrit à quel point il a été difficile de lancer ce projet et les moments riches en émotions assimilables à des montagnes russes qu'elle a dû traverser. Elle nous explique comment elle a dû se battre pour que les gens fassent confiance au dépistage canin, pour réunir les fonds nécessaires à cette étude. Nous citerons des passages de ce livre et certaines informations voire anecdotes qui proviennent de son ouvrage.

1. Le cancer du sein

a) Le cancer du sein : le plus fréquent et mortel chez la femme

Après les maladies cardio-vasculaires, le cancer est la deuxième cause de décès chez les femmes. Le cancer du sein est le plus fréquent et le plus mortel chez la femme en France, mais aussi dans le monde entier. D'après les projections de 2017 en France, 58 968 nouveaux cas ont été recensés et 11 883 femmes sont décédées du cancer du sein en 2017. Depuis 2005, l'incidence du cancer du sein diminuait de -1,5%/an mais augmente légèrement depuis 2012. Jusqu'à 2030, le nombre de victimes du cancer du sein pourrait connaître une hausse de 60% par rapport à 2012, soit 3,5 millions de femmes concernées dans le monde. Cependant, la mortalité du cancer du sein continue de baisser depuis 2005 jusqu'à aujourd'hui (112).

Les pays à faible accès aux soins connaissent une augmentation de l'incidence du cancer du sein. L'accès au dépistage et aux traitements sont très réduits voire parfois inexistants. La France occupe une position favorable concernant le cancer du sein dans le monde. « Il est aujourd'hui urgent, pour mieux lutter contre le cancer, de développer des approches efficaces et abordables pour la détection précoce, le diagnostic et le traitement du cancer du sein chez les femmes vivant dans les pays les moins développés du monde », Dr Christopher Wild, directeur du CIRC, 2013 (16).

b) Le dépistage organisé du cancer du sein

Depuis 2004, le dépistage organisé du cancer du sein s'adresse à toutes les femmes de 50 à 74 ans, dans l'ensemble des territoires de France. Il est proposé tous les 2 ans et s'appuie sur la réalisation d'une mammographie de dépistage. Le dépistage précoce du cancer est un élément crucial dans la lutte contre la maladie. Détecté tôt, le cancer du sein est guéri dans 90% des cas (16).

Pourtant, le dépistage du cancer du sein peut encore être amélioré. En France en 2014, plus de 2 500 000 femmes ont participé au programme. Mais seule une femme sur deux qui a été invitée au dépistage organisé du cancer du sein y a eu recours, avec un taux de participation exact de 52,1%. Parmi elles, certaines ne sont pas suivies par un gynécologue. D'autres ont des difficultés d'accès aux examens usuels du fait d'un handicap moteur ou mental ou d'un isolement géographique trop important. Trop de femmes, que ce soit en France ou dans les pays à faible accès aux soins, n'ont pas accès au dépistage traditionnel. En effet, nous observons une participation inégale selon les départements de France, avec des taux de participation qui s'échelonnent de 27 % à 66 %. Il est donc urgent de développer de nouvelles méthodes de dépistage précoce accessibles à tous et à toutes. Pour toutes ces personnes, KDOG a souhaité réfléchir à l'amélioration du dépistage de ce cancer (16).

Aujourd'hui la mammographie est l'examen usuel pour diagnostiquer un cancer du sein. La mammographie est un procédé parfois lourd, douloureux, long, invasif et très coûteux pour la société. KDOG serait une méthode alternative de détection fiable et peu coûteuse. En effet, le protocole pour la femme est simple. Après une douche avec un savon sans odeur, fourni par le projet, une lingette est appliquée sur chaque sein durant une nuit. Elle place ensuite les lingettes dans des bocaux afin d'être présentées et analysées à un chien. Le chien alerte lors d'une lingette suspecte. La prise en charge qui suit est exactement la même qu'avec les examens d'explorations complémentaires.

2. Les objectifs du projet KDOG

KDOG énonce clairement ses objectifs : (16,144)

- ✓ Une méthode de dépistage reproductible aux pays en voie de développement :

Isabelle et son équipe de travail pensaient au début se battre uniquement pour les pays à faibles ressources. Le dépistage du cancer du sein grâce à l'odorat canin pourrait permettre d'étendre le dépistage aux pays à faible accès aux soins où les outils de diagnostic sont rares car trop coûteux pour ces pays où beaucoup de personnes ne sont pas traitées et décèdent.

- ✓ Un accès au dépistage aux personnes en situation de handicap :

Mais avec du recul, c'est aussi toute une population cachée qui pourrait bénéficier de cette technique non invasive. KDOG serait une solution alternative également aux femmes handicapées qui ne peuvent pas bénéficier de la mammographie à cause d'un trouble mental ou physique où il est nécessaire de se tenir debout et immobile bien que certains

centres bénéficient d'appareils mobiles. KDOG souhaite simplifier les méthodes de dépistage et s'adapter aux femmes et non l'inverse. Il serait moins traumatisant pour ces femmes de déposer leur odeur sur une simple lingette. De plus, ce nouveau processus de dépistage du cancer du sein pourrait convaincre les femmes réticentes à la mammographie, lourde et douloureuse.

- ✓ Un dépistage précoce :

Les études présentées dans la deuxième partie le démontrent : les chiens savent détecter le cancer très précocement grâce à leur flair. Un diagnostic précoce offre un meilleur diagnostic, une prise en charge avec un choix de traitement plus large permet une meilleure guérison et donc de survie.

- ✓ Un dépistage simple et indolore :

Le procédé de KDOG est simple et indolore : il suffit seulement pour la femme d'apposer une lingette en tissu contre son sein durant une nuit avant de l'envoyer au laboratoire où les chiens les analyseront. Les chiens ne sont jamais en contact avec les patients.

- ✓ Des résultats fiables et rapides :

Les résultats sont rapides, les chiens analysent les échantillons en quelques secondes avec une grande fiabilité pouvant atteindre les 100%.

- ✓ Une méthode peu coûteuse :

KDOG c'est une technique de dépistage peu coûteuse. C'est important car cela permet des économies pour la société, pour la sécurité sociale.

- ✓ Etendre cette démarche à d'autres cancers :

Ce projet pourrait s'étendre à d'autres types de cancers accessibles par voie transcutanée à l'avenir. L'équipe pense déjà au cancer de l'ovaire souvent dépisté tardivement. Les recherches ont déjà concerné les cancers de la peau (le mélanome), de la vessie, du poumon, du sein, des ovaires, du côlon-rectum, de la prostate et de la thyroïde.

Les tumeurs libèrent des odeurs indétectables pour l'homme. Mais un chien préalablement dressé et entraîné à reconnaître ces odeurs peut les détecter. Grâce à leur odorat exceptionnel, ils sont capables de détecter un spectre d'odeur très précis en infime quantité. Les deux chiens choisis pour le projet KDOG sont Thor et Nykios, deux Bergers Belges Malinois entraînés durant six mois par le maître-chien Jacky Experton.

3. Le financement du projet KDOG

Mais les membres du projet ne disposent pas d'argent pour le lancer. Un argent indispensable pour acheter les chiens. Comme Isabelle Fromantin le cite dans son livre « … il nous faut de l'argent parce que KDOG sans chien, c'est un peu comme le Tour de France

sans vélo […] Fin janvier 2016, malgré tous les dossiers envoyés, nous n'avons pas le début de la première oreille de la moitié d'un demi-chiot pour nous lancer. Nous avons besoin de 80 000 euros pour couvrir le prix d'achat de deux Bergers Malinois, mais également l'habitat, l'entretien, et le salaire du cynophile pour une durée supérieure à trois mois. Rome ne s'est pas construite en un jour. » (144).

KDOG aurait pu s'arrêter là. Mais grâce au financement participatif, les 80 000 € nécessaires au lancement du projet ont été réunis, l'équipe peut acheter Thor, le premier Berger Belge Malinois du projet KDOG en avril 2016. En mai 2016, c'est ensuite Nykios qui rejoint l'équipe. L'originalité de ce projet réside dans la démarche citoyenne qui l'a rendu possible. En effet, c'est uniquement grâce aux dons rassemblés sur une plate-forme de financement participatif, que 80 000 € ont été réunis en 2016 pour le lancement de cette recherche innovante. Sans la générosité des gens, jamais ce projet n'aurait pu voir le jour. KDOG voit donc le jour grâce à des donateurs qui croient au concept (16,145).

4. Le nom et le logo de KDOG

Alors qu'ils préparent une vidéo pour susciter des dons, il faut trouver un logo et un nom au projet. Après des noms à rallonge et qui ne parlent pas d'eux-mêmes, le nom du projet est trouvé : « KDOG ». Il fallait un nom simple et compréhensible dans tous les pays, suggérant à la fois chien et cancer. « Dog » est préféré à « chien » et K est l'abréviation utilisée pour signifier « cancer » (144).

Le logo est réalisé par une graphiste. Une exigence majeure était que le chien doit ressembler à un Malinois et ne doit pas être confondu avec un chien d'aveugle, la queue ne doit être ni trop haute ni trop basse (144)

5. L'équipe pluridisciplinaire du projet KDOG

Le projet KDOG n'aurait jamais pu voir le jour sans la formation d'une équipe pluridisciplinaire. Ce projet est guidé par l'infirmière docteur Isabelle Fromantin, de l'unité Plaies et Cicatrisations de l'Institut Curie et son équipe. Elle est aidée par des équipes soignantes (infirmiers, chirurgiens, anesthésistes, oncologues, radiologistes), des chercheurs dont des chimistes et des biologistes, des experts cynophiles, des vétérinaires, des associations de patients et un haut comité scientifique. Des bénévoles s'impliquent quotidiennement dans de multiples tâches de logistique, coordination, de rédaction, communication, etc. KDOG est également soutenu par de nombreux bienfaiteurs et d'anciens patients. Ce sont plus de 40 personnes qui participent activement au projet (16).

a) Les experts cynophiles

Les experts cynophiles sont les spécialistes qui forment les chiens. Chaque cynophile, dit maître-chien prend en charge l'éducation complète du chien. Il l'héberge à son domicile où le chien peut évoluer en famille pour un bon équilibre de vie. Les cynophiles travaillent avec des apprentis qui les aident dans l'installation des échantillons, le suivi des performances des chiens et ils échangent régulièrement avec les équipes médicales et de recherches afin de les tenir informés sur l'évolution de chaque chien (16).

Jacky Experton est le premier expert cynophile du projet KDOG. Il entraîne Thor et Nykios durant 6 mois sur le site de Magnac-Laval, 5 jours sur 7. Jacky s'inspire de ce qu'il a déjà conçu pour l'aviation civile afin de former les deux Bergers Belges Malinois à reconnaître l'odeur du cancer du sein avec l'aide de son épouse, Maryse Experton. C'est une réussite, puisque les deux chiens obtiennent 100% de réussite en fin d'étude préliminaire. Mais le projet KDOG continuera sans lui, car Jacky n'a plus le temps de poursuivre ce projet, très sollicité et souhaitant encore innover sur un concept permettant d'assurer la sécurité privée. Au début de l'été 2017, le premier expert cynophile, Jacky Experton décide de céder son activité à la société Seris (143).

Seris est une société de sécurité utilisant ses propres chiens de détection. L'éducation de Thor et Nykios n'est pas terminée. Seris va devoir faire preuve de performances. C'est l'été 2017, l'étude préliminaire est terminée et nous nous dirigeons vers l'étude clinique. Nous allons vers des lingettes plus petites, potentiellement corrompues par l'odeur d'une enveloppe, des séries constituées d'échantillons tous tumoraux ou tous négatifs. Isabelle Fromantin est réticente et soucieuse à l'idée de ce changement. Pendant qu'elle rencontre les membres de cette société, Thor et Nykios bénéficient donc d'un long repos à la ferme AVA : Aide aux Vieux Animaux durant l'été. Thor et Nykios n'auraient donc rien à faire là-bas mais cela pourrait leur faire du bien. L'équipe KDOG passe leur rendre visite tous les 10 jours afin de faire le point sur leur bien-être. Des vétérinaires et éthologues prennent soin d'eux, observent leurs comportements et réactions afin de mieux les anticiper. Isabelle rencontre Audrey Prou, la directrice générale de la société Seris et perçoit beaucoup d'humanité en elle. Après avoir longuement échangé, tous semblent satisfaits de cette future collaboration. Isabelle rencontre alors Didier Valentin, ancien capitaine de l'armée et expert cynophile dans le domaine de la détection de la drogue et des explosifs et qui s'occupe maintenant de la détection des maladies de la vigne grâce à l'olfaction canine. Cette approche très novatrice plaît beaucoup à Isabelle, faisant preuve de curiosité et d'ouverture, d'autant plus que Didier Valentin forme deux apprentis dans ce domaine. Thor et Nykios sont alors les bienvenus chez lui, près de Reims après leur fin de séjour à la ferme AVA. C'est donc le maître-chien Didier Valentin qui reprend la suite de Jacky. C'est d'ailleurs lui qui a accompagné Nykios lors de sa récompense par la Société Centrale Canine (SCC) au « Trophée des Chiens Héros » (première partie, I.A.2.c) (146).

Les chiens changent de centre d'entraînement. Thor et Nykios partent pour Champvoisy. Comment vont-ils réagir, dans ce nouvel environnement et à la reprise du travail ? Mais finalement, ils semblent heureux de reprendre le travail et ils détectent toujours aussi bien

les échantillons cancéreux. Il y a beaucoup de progrès à faire après cette longue pause, mais c'est possible ! Isabelle Fromantin et les membres de KDOG rendent visite au moins une fois par mois aux chiens sur leur site de travail, que ce soit auparavant à Magnac-Laval puis ensuite à Champvoisy (16,146).

b) Les chercheurs

Des chimistes et biologistes issus de l'ESPCI (Ecole supérieure de physique et de chimie industrielles de la ville de Paris), de Chimie ParisTech et du CNRS (Centre national de la recherche scientifique) mettent leurs connaissances en commun au service du projet KDOG (16).

Des chercheurs de Chimie ParisTech et un laboratoire de chimie spécialisé dans les surfaces participent au projet KDOG. Spécialistes des odeurs libérées par les tumeurs, ils optimisent le tissu, dit lingette qui est en contact avec le sein des patientes. La matière de la lingette qui absorbe la sueur doit retenir l'odeur de la transpiration tout en la diffusant suffisamment pour être détectée et analysée par les chiens. Les chercheurs de l'ESPCI travaillent sur la discrimination des odeurs afin d'analyser les composés organiques volatils par chromatographie en phase gazeuse (16).

Une chercheuse éthologue du Musée d'Histoire Naturelle et professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort participe au projet. Elle étudie le comportement des chiens au travail et observe leur progression. Comme nous l'avions vu, la sélection des chiens est un sujet compliqué. Il n'existe pas de méthode infaillible permettant de sélectionner les meilleurs chiens de travail. Le projet KDOG ouvre parallèlement une étude de recherche vétérinaire (sous réserve de financements nécessaires) avec l'objectif d'élaborer des critères de sélections précis pour choisir un chien et commencer son éducation à la détection olfactive (16).

c) Les soignants

Une équipe multidisciplinaire de professionnels de santé réunissent leurs connaissances et compétences au profit du projet KDOG ;

- ✓ Des radiologues engagés dans le projet KDOG communiquent leurs informations sur le développement des examens usuels de dépistage, les besoins des patients afin d'élaborer un dépistage de sensibilité et spécificité équivalentes à la mammographie,
- ✓ Des oncologues et des médecins chercheurs sont indispensables pour être à jour dans la progression du domaine de la cancérologie,
- ✓ Des infirmières quotidiennement aux contacts des malades transmettent les difficultés rencontrées par ces patients. Ils savent ce que les malades volontaires peuvent accepter ou non. C'est d'ailleurs pour améliorer la qualité de vie des femmes

que l'infirmière Isabelle Fromantin avait commencé la recherche. « Je crois très fort en l'humain et ce sentiment guide mes actions » expliquait l'infirmière,

- ✓ Des chirurgiens prélèvent la tumeur et diagnostiquent le cancer,
- ✓ Des médecins anatomo-pathologistes identifient le type de tumeur dont il s'agit (16).

6. Les chiens du projet KDOG

Le Berger Belge Malinois : cette race de chiens est très présente dans les équipes cynophiles. Les capacités olfactives dépendent du fond génétique et du polymorphisme des récepteurs. C'est l'ensemble des capacités olfactives de ce chien associées à son intelligence au travail qui font la différence. Les Bergers Belges Malinois sont d'excellents chiens de travail, dotés d'une grande intelligence mêlée à d'excellentes capacités de concentration et d'apprentissage et ont un goût du jeu prononcé, ce qui est indispensable puisque les méthodes d'entraînement sont basées sur le jeu. Mais cela n'est pas suffisant. L'entraînement du chien et sa méthode sont fondamentaux, comme sa durée, le contact et la relation avec son maître-chien, la structure de travail, le mode de récompense, la répétition des examens et l'entretien de la mémoire du chien (102,147).

a) Thor

Thor est le premier chien du projet KDOG, acheté en avril 2016, à ses 17 mois (figure 50 (A)). Il est formé durant six mois au site de Magnac-Laval, par Jacky Experton (16).

Figure 50 : (A) Thor à gauche - (B) Nykios à droite (16)

b) Nykios

Nykios est le second Berger Belge Malinois de l'étude KDOG, après Thor (figure 50 (B)). En mai 2016, il intègre l'équipe à ses 18 mois et suit un entraînement de six mois sur le site de Magnac-Laval avec Jacky Experton. En septembre 2017, il continue sa formation sur le site de Champvoisy suite au changement d'expert cynophile qui est maintenant Didier Valentin. Il revient ensuite à Magnac-Laval en février 2018, grâce au soutien du groupe SERIS. Nykios est joueur et très performant, il est même devenu plus efficace et précis que Thor (16).

Si Nykios a un caractère un peu débridé, tout en puissance et un poil long, Thor a lui le poil ras et brillant et est plus timide et réservé (145).

KDOG doit être reproductible partout et par tous. Nous ne pouvons donc pas demander à un pays ayant déjà un chien, d'en changer sous prétexte que ce n'est pas la bonne race ou que c'est une femelle. Nous sommes donc à la recherche de deux nouveaux chiens. Jacky Experton souhaitait travailler avec des mâles afin d'éviter toutes complications liées aux chaleurs. Nous pourrions prendre une femelle tout en s'organisant durant cette période et ne pas faire travailler les mâles après elle. L'enjeu est de proposer le travail de détection à des chiens qui seront contents et non contraints de le réaliser. A l'instar des humains, un chien qui aime son travail est un chien qui travaille bien. Isabelle Fromantin pense aux Springers. C'est un chien de chasse ce qui signifie qu'il a un grand odorat. Il est petit et nécessite donc moins d'organisation pour le déplacer que Thor et Nykios qui nécessitent une véritable caravane étant très imposants et agités pour être déplacés à l'arrière d'une voiture. L'alimentation et l'entretien sont non négligeables. Les centaines de kilos de croquettes hyperprotéinées coûtent cher. Didier Valentin est éleveur et propose de choisir un chiot dans l'une de ses portées. Le Springer est donc validé à l'automne 2017 (148).

Après un été de repos à la ferme AVA, Thor et Nykios doivent rattraper les deux mois d'inactivité tout en s'adaptant à leur nouveau dresseur, Didier Valentin et nous un nouvel environnement, sur le site de Champvoisy. Thor semble avoir du mal à s'adapter à cette nouvelle situation. L'animal est comme nous, c'est un être vivant et il a une personnalité et des émotions. Il peut donc avoir des mauvais jours, des coups de fatigue et des périodes de déprime. « Thor, qui a toujours été très à l'écoute de l'homme, se trouve aujourd'hui devant un changement majeur. Il habite dans un nouveau lieu, il reprend le travail après de longues vacances et doit répondre à une nouvelle voix, de nouvelles intonations, de nouvelles méthodes. Combien de temps lui faudra-t-il avant qu'il ne retrouve le niveau qui était le sien ? Les tests sont de plus en plus précis, de plus en plus compliqués. A-t-il seulement envie de continuer ? » (148).

Nous sommes en novembre 2017. Nykios qui avait baissé en performances durant l'été, est revenu au top de sa forme. En revanche, Thor s'est révélé démotivé. Il analyse moins d'échantillons que Nykios et montre moins d'intérêt pour le travail et d'autant plus maintenant que la détection olfactive s'effectue en autonomie, sans laisse. « Ce qui ne convient pas avec lui est ce qui nous touche le plus : son envie constante d'interagir avec l'homme l'empêche de travailler en autonomie ». Thor préfère de loin le contact humain au travail de chien détecteur. L'équipe KDOG a donc laissé Thor sortir du programme afin qu'il soit plus heureux. La séparation est difficile, d'autant plus que c'est le premier chien du projet. Mais Didier Valentin assure qu'il va lui trouver une « bonne maison », un « bon travail », plus adapté à ce qu'il lui faut pour être heureux. En attendant de trouver, il le garde, il le balade et il le fait jouer (149).

c) Milou

Milou a plus récemment été accueilli, un jeune Springer de l'élevage de Didier Valentin. C'est maintenant lui qui fait équipe avec Nykios. Milou est le premier Springer Anglais du projet KDOG. Le projet devait inclure plusieurs races de chiens. Milou est intégré à 18 mois à l'équipe KDOG en septembre 2017. Il suit le même entraînement que Nykios avec le maître-chien Didier Valentin, mais avec des cônes adaptés à sa taille sur le site de Champvoisy. Heureusement, Milou progresse vite. Il devient rapidement un chien détecteur d'exception. Le Springer Anglais est un chien de chasse par nature. Ses réflexes d'indication d'échantillon s'apparentent donc à ceux d'un chien de chasse (16,149).

Figure 51 : Milou (16)

d) Un Labrador

Un troisième chien vient d'être intégré récemment dans l'étude clinique. 3 chiens de races différentes suffisent pour apporter la diversité nécessaire et montrer que KDOG est reproductible par plusieurs races canines. Initialement, 5 chiens étaient prévus pour l'étude clinique, mais faute de budget elle intégrera donc un Berger Belge Malinois, un Springer et un Labrador.

B. L'étude préliminaire : une réussite de 100% après 6 mois de tests

1. Objectifs

Nous sommes en avril 2016. Le projet KDOG voit le jour grâce à l'achat de deux Bergers Belges Malinois : Thor et Nykios. L'étude préliminaire ou autrement dit, la preuve de concept se prépare. L'objectif d'une étude préliminaire est de savoir si le concept fonctionne. Celle-ci débute en août 2016. Le but est de démontrer que KDOG est aussi efficace que les rayons X pour le dépistage du cancer. Mais il ne faut pas penser à une quelconque concurrence avec la mammographie. L'objectif n'est pas de la remplacer, mais de la compléter. KDOG permet d'obtenir une réponse binaire : « cancer ou pas cancer », alors que la mammographie et

l'échographie obtiennent des informations indispensables, comme la localisation précise de la tumeur ainsi que sa taille (145,150).

Thor et Nykios vont renifler durant six mois des lingettes imprégnées de la transpiration de patientes atteintes du cancer du sein. Si cette première étude s'avère être concluante, les chercheurs ont l'espoir de lancer un grand essai clinique impliquant un nombre conséquent de patientes (16).

2. Matériels et méthodes

C'est la première fois que des chiens sont éduqués à dépister le cancer de façon transcutanée et sans jamais renifler directement le fluide corporel humain, mais par l'intermédiaire d'une lingette imbibée par l'odeur cutanée.

a) Le recrutement des patientes

Afin de recruter les patientes, les équipes médicales de l'Institut Curie proposent aux femmes pour qui un cancer du sein a récemment été diagnostiqué, de participer à l'étude KDOG. Tout d'abord, le médecin référent de la patiente l'informe du projet KDOG et lui propose de participer. Un temps de réflexion est bien sûr accordé à la patiente. Lorsqu'elle accorde son consentement, la patiente récupère un « kit KDOG » contenant tout le matériel nécessaire pour la réalisation du test qui est expliqué par le médecin oncologue. Le kit KDOG contient un savon sans odeur, une lingette et un bocal. Après s'être douchée avec le savon sans odeur, la femme doit positionner la lingette sur chaque sein durant toute une nuit. C'est cette lingette qui absorbe la sueur contenant éventuellement l'odeur caractéristique du cancer. La collecte des échantillons a débuté en août 2016, permettant de former Thor et Nykios jusqu'à février 2017. 130 femmes ont accepté de participer à l'étude : 79 femmes atteintes du cancer du sein récent et n'ayant débuté aucun traitement, ainsi que 51 femmes saines. Après la nuit, les femmes déposent ensuite la lingette dans un bocal au matin. C'est une étude biomédicale et une attention particulière est portée sur la contamination des lingettes. C'est donc l'équipe qui se charge personnellement du transport des lingettes afin de les faire parvenir au laboratoire de Magnac-Laval où Thor et Nykios suivent leur entraînement (ce qui n'est maintenant plus le cas pour l'étude clinique, où les lingettes sont envoyées par la poste). Les médecins référents restent en contact avec les femmes participantes afin de recueillir d'éventuelles informations ultérieures selon les besoins de l'étude. Les femmes ne sont cependant aucunement informées des diagnostics des chiens. KDOG est un projet d'étude et non un outil de diagnostic agréé. Les femmes saines sont recrutées grâce au bouche-à-oreille : l'infirmière du service d'à côté, la voisine de palier, la cousine, les femmes des pompiers, etc. La seule condition est d'avoir réalisé une mammographie « saine » récemment. Certaines patientes en rémission souhaitaient participer à l'étude, mais nous craignions que des traces d'un traitement antérieur viennent influencer les résultats (16,145).

b) L'échantillonnage

« Pourquoi faut-il imbiber le substrat toute une nuit et non deux ou trois heures ? » C'est un choix totalement arbitraire. Nous transpirons généralement plus la nuit que le jour. De plus, en étant endormie, nous évitons le moindre inconfort. La notion de « toute une nuit » est floue. Certaines femmes dorment sept heures, d'autres plus et d'autres moins. Si l'indication de « toute une nuit » est acceptable pour l'étude préliminaire, elle ne le sera pas pour l'étude clinique. Il faudra donc affiner cette durée pour l'étude clinique et fournir un délai chiffré. Tout ce qui est analysé l'est en fonction d'une méthode précise. Nous avons donc besoin d'un(e) méthodologiste : Alexia. Elle prend en compte les impératifs et les variables afin d'obtenir un résultat impeccable. Lors d'une étude préliminaire, nous testons une méthode. « Si la démarche consiste à poser des carrés de substrat de taille 15 sur 15 pendant trois heures, à les envoyer dans des bocaux pour les faire renifler par des malinois mâles, et que quelqu'un vous demande « Est-ce que cela fonctionne avec des carrés de compresses médicales en 10 sur 10 analysés par des Labradors femelles, envoyés dans des enveloppes ? », vous êtes coincée. » (145).

Les lingettes utilisées sont élaborées à partir d'un tissu assez technique. Il serait intéressant de tester le concept avec une simple compresse que nous trouvons dans toutes les officines. Les propriétés des lingettes sont évaluées, dont principalement leurs capacités d'absorption afin de tester si elles seraient remplaçables par des compresses tout en obtenant une efficacité équivalente. Ces lingettes sont envoyées dans des bocaux qui restent coûteux face à des enveloppes. Il faut alors trouver des enveloppes ne libérant aucune odeur. Toutes les variables matérielles et structurelles sont étudiées par l'équipe en collaboration avec une ONG internationale. La question des chiens est également étudiée. Pouvons-nous les remplacer par un chien d'une autre race, par des femelles ? KDOG doit être mis à disposition gratuitement dans les pays qui en ont besoin et il faut donc que la méthode soit le moins coûteuse possible. L'idée est que KDOG puisse être disponible partout. KDOG s'ancre dans le non profit (151).

Figure 52 : Les lingettes déposées dans les bocaux (16)

c) Les chiens et l'entraînement

Thor et Nykios sont formés durant 6 mois pour dépister le cancer du sein grâce à l'odorat sur le site de Magnac-Laval, dans une grande caserne désaffectée, en béton brut, des murs froids, tout paraît froid. Chaque série sera filmée. Nous observons les chiens travailler sur un écran vidéo depuis une autre pièce, la salle de contrôle pour ne pas les déconcentrer et perturber leur flair avec notre odeur. Seul Jacky Experton est présent physiquement avec les chiens lorsqu'ils travaillent, étudiant leurs comportements lors de chaque série. Pendant l'étude préliminaire, les chiens travaillent en laisse avec Jacky Experton. L'un des objectifs pour l'étude clinique est que les chiens sachent travailler en autonomie complète (152).

La formation était basée sur la récompense associée à la méthode du *clicker-training* que nous avons précédemment décrite. La commande était « Cherche crabe ! » Mais l'homme n'est pas une machine. Il y a des jours où le maître-chien peut être en colère, heureux, enrhumé, soucieux, *etc*. et la prononciation de la commande peut en être modifiée ce que le chien va immédiatement ressentir. C'est pour cela que Caroline, vétérinaire de KDOG et également éthologue, suggère l'idée de passer uniquement au *clicker*, sans commande vocale (153).

L'étude de Haverbeke en 2008, démontre qu'une méthode d'entrainement positive serait plus efficace sur les performances olfactives qu'une méthode aversive. La méthode positive utilise le renforcement positif en donnant une récompense en réponse au comportement désiré alors que la méthode aversive utilise la punition. Une récompense positive (nourriture, caresses, félicitations) guide les chiens vers de meilleures performances et un apprentissage plus rapide d'exercices simples (assis, couché, donner la patte). L'amélioration des performances olfactives du chien serait basée sur l'utilisation de méthodes d'entrainement plus positives permettant une meilleure relation homme-chien (59,154).

Jacky Experton souhaite abaisser progressivement le seuil de perception olfactif des deux chiens (première partie IV.A.1). Afin d'y parvenir, il procède en plusieurs étapes :

1. Dans un premier temps, l'expert cynophile procède à la phase de mémorisation « profonde » où les chiens sont confrontés à l'odeur du cancer qui leur est présentée afin de la mémoriser. Après cet apprentissage olfactif, les chiens sont mis en situation et ils doivent indiquer la lingette « cancer » qui est placée au sein des lingettes « saines ».
2. Les chiens doivent ensuite reconnaître d'emblée l'odeur du cancer sans l'avoir préalablement mémorisée.
3. Les chiens apprennent enfin à ne rien signifier devant les échantillons sains.

Figure 53 : L'un des deux Bergers Belges Malinois en train de renifler un échantillon à travers un cône (155)

Les chiens reniflent les lingettes à travers des cônes, tous alignés et formant une série (figure 53). Le chien renifle chaque cône et s'assied afin de marquer l'échantillon qu'il juge cancéreux. Un jeu permet de récompenser le travail du chien lors d'une bonne indication. Une série toujours composée de 3 échantillons sains (négatifs) et 1 échantillon cancéreux (positif). Les chiens travaillent 5 jours sur 7. A l'avenir, nous aimerions que les chiens réussissent également sans faute, des séries sans aucun positif, sans laisse et sur un très grand nombre d'échantillons (153).

3. Résultats

C'est le jour J. Isabelle vient au centre de formation afin d'assister aux performances canines. Cela fait une semaine que les chiens réalisent d'excellents résultats et donc Jacky Experton a demandé à Isabelle de venir. Depuis plusieurs mois, Thor et Nykios ont appris à mettre le museau dans des cônes afin de discriminer les échantillons cancéreux et sains puis à s'asseoir devant les échantillons cancéreux (153).

« Ca y est ! Nykios vient de s'asseoir devant le bon échantillon jamais mémorisé auparavant ! Vous n'imaginez pas l'excitation que je peux ressentir à cette minute. Nykios non plus n'en a aucune idée d'ailleurs. Il reste là avec sa langue pendante et ses yeux rieurs, sans mesurer la valeur de ce qu'il vient d'accomplir. Il vient de gagner la récompense qu'il attend… » (153).

En février 2017, les résultats des performances des chiens sont envoyés à Jean Charles, biostatisticien externe au projet KDOG et donc totalement neutre. Il les analyse et son bilan est encourageant. Les chiens ont réalisé plusieurs séries en double aveugle. Chaque chien réalisait un premier passage pour analyser les échantillons, une pause puis un second passage. Nous disposions donc de 130 lingettes, dont 79 lingettes « cancers » et 51 lingettes « saines ». Au premier passage, 31 échantillons de lingettes « cancers » ont été présentées aux Bergers Belges Malinois. Ils ont indiqués correctement 28 sur 31 lingettes cancéreuses. La sensibilité est de 90,3%. Au second passage, les chiens ont correctement indiqué tous les échantillons « cancers ». La sensibilité est de 100% (16,153).

C'est le 21 février 2017, après ces six mois de tests qu'Isabelle Fromantin, docteur en sciences et Séverine Alran, chirurgienne-oncologue présentent les résultats de cette étude préliminaire devant l'Académie Nationale de Médecine, divisée en plusieurs commissions et c'est en oncologie qu'elles exposent le projet KDOG. Elles sont écoutées par des personnes sans a priori qui souhaitent comprendre le projet faisant preuve de curiosité et posant de nombreuses questions. Il est alors proposé à Isabelle et Séverine de revenir un an plus tard pour constater l'évolution du projet. L'Académie émet un avis positif !!! Il est alors possible pour le projet KDOG de passer à l'étude clinique. Ces résultats ont beaucoup fait parler dans la presse scientifique. C'est d'ailleurs à ce moment là que j'ai eu un coup de cœur pour ce sujet de thèse, trouvant ces résultats réalisés avec succès par le meilleur ami de l'homme tellement fascinants (16,153) !

4. Conclusion, vers une étude clinique

Nous savions déjà que les chiens détectaient le cancer grâce à leur odorat via des échantillons de prélèvements, mais nous venons d'obtenir la preuve formelle que la détection transcutanée est également envisageable. Thor et Nykios, les deux chiens renifleurs du projet KDOG ont atteint 100% de réussite aux tests de détection transcutanée du cancer du sein. Cette étude préliminaire permet de valider le projet KDOG et de déboucher vers une étude clinique qui débutera en 2018 et s'étendra sur 3 ans.

Mais pour cela, il faut récolter de l'argent. Le projet est alors soumis au Programme hospitalier de recherche clinique, à l'Institut National du Cancer et au Prix Ruban Rose. Le 27 septembre 2017, l'équipe KDOG est récompensée par le Prix Ruban Rose dans la catégorie « qualité de vie ». La remise des prix se déroule sous une tour Eiffel scintillant de rose. « Les Prix Ruban Rose sont destinés à soutenir les efforts de la Recherche, clinique ou biologique, les innovations et les progrès remarquables en matière de techniques de dépistage, de chirurgie réparatrice, de psychologie ou encore d'amélioration de qualité de vie pour les femmes atteintes par différentes formes de cancers, et particulièrement les cancers du sein. Les Prix Ruban Rose sont financés grâce aux efforts des membres fondateurs de l'Association, des bienfaiteurs, des partenaires et des supporters qui rejoignent la campagne d'octobre Mois du Cancer du Sein chaque année, ainsi que par les dons des particuliers ». L'équipe KDOG reçoit alors 40 000 €, permettant de continuer le projet (figure 54) (16,153).

Figure 54 : Le projet KDOG récompensé par le Prix Ruban Rose (16)

En octobre 2017, il n'y a toujours assez de fonds pour supporter les coûts de l'étude clinique malgré les enchaînements de rendez-vous dans toutes les associations et fondations possibles ainsi que les 40 000 € du Prix Ruban Rose. Isabelle Fromantin n'arrive pas à croire que ce projet ne puisse jamais voir le jour. Les sceptiques du chien prennent le dessus et il leur manque un côté scientifique pour être plus crédibles. Elle décide alors d'inclure une étude sur les COV au projet. C'est le lancement de KDOG2. Cette ouverture est la source de nombreux contacts et cela suscite plus d'intérêts. De fil en aiguille, Isabelle entre en contact avec le chef du Pôle judiciaire de la gendarmerie nationale (PJGN). Le projet les intéresse bien qu'ils ne s'occupent pas du cancer. Leur sujet est l'empreinte olfactive qui comme l'empreinte digitale, est unique pour chaque individu et ils disposent donc de puissantes techniques de chimie analytique (149).

L'équipe de KDOG travaille aujourd'hui en collaboration avec l'IRCGN : Institut de recherche criminelle de la Gendarmerie nationale qui leur met à disposition les chromatographes nécessaires pour identifier les COV responsables de la signature olfactive spécifique du cancer du sein. Pour les identifier, ils travaillent en partenariat avec l'ESPCI : Ecole supérieure de physique et de chimie industrielles de la ville de Paris.

C. L'étude clinique

Une étude clinique ou un essai clinique est une étude statistique scientifique réalisée en thérapeutique médicale humaine pour prouver la validité, évaluer l'efficacité et la tolérance d'une méthode diagnostique ou d'un traitement. Pour que les premiers résultats préliminaires très encourageants de KDOG débouchent sur une validation de la méthode agréée et reconnue mondialement, le passage par cette étude est indispensable (16).

1. La rédaction du protocole clinique

La rédaction du protocole clinique se poursuit et il sera envoyé à toutes les autorités et institutions garantes des règles d'éthique relatives à la recherche biomédicale. Une fois ce protocole accordé, aucun changement ne sera possible, pas même la moindre virgule. L'objectif de cette étude clinique est de valider la fiabilité et la sensibilité du test KDOG en le reproduisant à grande échelle (156).

a) Le recrutement des patientes

Prenons l'exemple d'un cas réel. Une femme téléphone à l'Institut Curie, souhaitant prendre rendez-vous pour une mammographie. La secrétaire va lui fixer un rendez-vous mais également lui proposer de participer à une étude qui s'appelle KDOG. Si elle dit oui, un mail lui est envoyé afin de confirmer ou non sa décision. Si elle confirme, un kit lui est envoyé qu'elle rapportera le jour de son rendez-vous (156).

Lors de l'étude préliminaire, seuls les chirurgiens étaient mobilisés pour recruter les patientes atteintes d'un cancer. Maintenant, l'équipe de radiographie y participe également afin de recruter des patientes dès la détection la plus précoce. L'étude devrait être lancée début 2018 et s'étendre sur 3 ans, jusqu'à 2021. L'analyse des résultats devrait demander 3 à 4 mois. L'idéal serait de recruter 1000 femmes : des volontaires saines et des patientes atteintes du cancer du sein (156).

Une première phase de cohorte sera réalisée, composée de 135 volontaires saines et 135 patientes. Comme pour l'étude préliminaire, les lingettes/substrats seront récupérées et acheminées au centre de dressage. A la fin de ces essais, la sensibilité et la spécificité seront calculées. Cette première phase permettra de vérifier qu'elles dépassent toujours les 80%. C'est leur combinaison qui reflète l'efficacité du diagnostic (156).

b) L'échantillonnage

Finalement, le projet n'utilisera pas de compresses à la place des lingettes. Les compresses « nues » posent un problème pratique : elles se tiennent mal dans un soutien-gorge et se mettent en « boule » dans les bocaux. Les lingettes correspondant aux volontaires saines et patientes seront numérotées afin de respecter l'anonymat et d'éviter tout risque d'influence. Admettons que le numéro 1 soit une volontaire saine et que le numéro 2 soit une patiente. Les substrats numéros 1 et 2 sont envoyés en analyse par les chiens qui vont les renifler. Chaque réaction sera observée et notée : (156)

- Est-ce qu'il est passé une ou plusieurs fois devant l'échantillon ? (un double passage n'étant plus autorisé pour l'étude clinique, contrairement à l'étude préliminaire)
- Est-ce qu'il a dû revenir avant de s'asseoir devant la boîte ?
- Est-ce qu'il a hésité ou pas du tout ?
- Est-ce qu'il s'est trompé ?

A l'issue de l'exercice, toutes ces données seront réunies dans un cahier : le e-CRF (cahier d'observation électronique : case report from), réunissant toutes les informations que nous connaissons sur les échantillons dont nous ne connaissons que les numéros et non les noms. Chaque spécialiste remplit sa partie. Nous ne pouvons rien conclure de ces informations avant que le biostatisticien ne regroupe ces résultats et les analyse. Ce sera pour lui non pas des patientes mais des pourcentages, des taux de détection (156).

La patiente n°2 est positive, nous savons alors quand et comment le chien a réagi. Mais nous ne connaissons pas le type de cancer. Nous devons donc attendre les résultats de la biopsie et c'est l'anatomopathologiste qui notera ces résultats dans le cahier (156).

Considérons maintenant un échantillon n°3 correspondant à une mammographie saine mais pour lequel le chien s'assied et l'indique donc comme cancéreux. Quelle en sera l'interprétation ? Pour l'instant aucune mais nous remplissons le cahier réunissant toutes les données et nous y enregistrons une erreur. Il faudra suivre cette femme pendant 2 ans après l'étude, afin d'observer si les chiens seraient plus précoces et performants que la mammo-

échographie. Nous devons absolument comptabiliser ce type de marquage et tenter de les comprendre. Si le chien s'assied devant un échantillon sain mais qu'au bout de 2 ans de suivi, cette femme déclare un cancer, cela signifie que les chiens diagnostiqueraient le cancer plus précocement que les mammo-échographies. Si le chien ignore à l'inverse un échantillon positif, nous devons nous interroger sur les différences de réactions en fonction du type de cancer. Nous ne pouvons pas nous permettre d'ignorer le moindre résultat (156).

Afin de garantir la probité absolue des résultats, des attachés de recherche clinique (ARC) garantissent le bon déroulement des expériences. L'un affirme que « les résultats sont réglementaires » et le suivant les confirme ce qui permet de peser plus lourd. Le premier veille à ce que l'e-CRF soit correctement rempli. Le second passe sur tous les sites de travail de l'étude : le centre de dressage, le bureau, le laboratoire en vérifiant que personne ne triche, que par exemple les croix correspondent bien aux indications des chiens face à chaque échantillon. C'est un membre payé à part, indépendant afin de garantir la transparence du rapport final (156).

Maintenant, les animaux travaillent en complète autonomie, sans laisse et donc indépendamment du maître-chien. L'apprentissage de la mémorisation olfactive primaire des cellules cancéreuses à un seuil très faible de détection prend 3 à 6 mois. Généralement, chaque chien est formé entre ses 14 à 18 mois et peut travailler en moyenne jusqu'à ses 9 ans. Contrairement à l'étude préliminaire, les chiens n'ont maintenant plus le droit de balayer plusieurs fois les échantillons. Pour cela, ils ont suivi une formation complémentaire avec une éthologue (16).

Le projet KDOG espère avoir assez de fonds pour continuer cette étude clinique durant les 3 années prévues. L'étude préliminaire avait pour but de déterminer si la détection transcutanée du cancer par l'odorat canin était tout d'abord possible : le cancer est-il détectable par voie transcutanée ? Comment dresser les chiens ? Tout d'abord poser toutes ces conditions en réalisant des tests sur une petite partie de la population. Les buts de l'étude clinique sont maintenant de réaliser les tests sur une grande partie de la population et de déterminer si les chiens sont aussi performants que la mammographie, voire plus performants en dépistant le cancer à un stade plus précoce. KDOG2 se met en place, afin d'identifier les COV spécifiques du cancer du sein (157).

Figure 55 : Nykios et Milou (16)

II. LES ORGANISATIONS D'ENTRAÎNEMENT DE CHIENS « MEDECINS »

A. Medical Detection Dogs, Angleterre

Située en Angleterre, Medical Detection Dogs est une organisation dédiée au dressage des chiens détecteurs de cancers : de la prostate, du sein et bientôt du poumon et du côlon-rectum ainsi que des chiens d'alerte médicale. C'est une organisation caritative. Elle ne reçoit aucun financement de la part du gouvernement mais elle est financée uniquement par des dons grâce à la générosité des gens (158).

Figure 56 : Medical Detection Dogs (158)

Tout comme KDOG, Medical Detection Dogs n'est pas un moyen de dépistage agréé pour le dépistage du cancer. C'est encore au stade de l'étude clinique pour le cancer de la prostate et de l'étude préliminaire pour le cancer du sein. Cependant, Medical Detection Dogs est agréé pour les chiens d'alerte médicale. Medical Detection Dogs est membre d'Assistance Dogs International (ADI), Assistance Dogs Europe (ADEu) et Assistance Dogs UK (ADUK). Fondée en 1986, ADI est l'autorité mondiale de l'industrie des chiens d'assistance. Les membres sont régulièrement réévalués afin de s'assurer qu'ils répondent à des normes précises. Les chiens d'assistance de Medical Detection Dogs sont donc agréés. C'est la seule organisation de chiens d'alerte médicale agréée en Angleterre. D'autres organisations non agréées disent former des chiens d'alerte au diabète. Pour différencier les chiens, tous les manteaux des chiens de détection médicale portent le logo ADUK et leurs propriétaires disposent d'un passeport ADUK ou d'une lettre officielle « en cours de formation » avant que leur qualification ne soit terminée. Les chiens non accrédités peuvent être identifiés par l'absence de ce logo (158,159).

Figure 57 : Medical Detection Dogs, une organisation agréée (158)

Medical Detection Dogs est contre les chiens en chenil. Les chiens vivent au sein de familles bénévoles en tant que chiens de compagnie où ils sont aimés et font partie intégrante de la famille. Ils sont déposés le matin et récupérés le soir par leur(s) maître(s). Medical Detection Dogs insiste à quel point les bénévoles sont indispensables pour le bien-être des chiens. Sans eux, le projet Medical Detection Dogs ne serait pas possible (158).

Medical Detection Dogs ne s'est pas orienté vers une race précise contrairement au projet KDOG, mais ils utilisent plusieurs races : des Labradors et des Epagneuls ainsi que des croisés. Le choix de l'animal est plutôt orienté en fonction de sa personnalité. Le chien doit aimer chasser, avoir un odorat fin et précis et aimer rechercher des jouets. Le dressage des chiens est plus ou moins long en fonction de l'odeur à mémoriser et à reconnaître (cancéreuse, variation de la glycémie, présence de noix, *etc*.). Comme les humains, les chiens ne progressent pas tous à la même vitesse. Il faut compter entre 6 et 8 mois pour former un chien, sachant qu'il travaille 4 jours sur 7 (158).

Le coût total de la formation et du placement d'un chien d'assistance médicale est de 29 000 £. Le coût total de la formation d'un chien renifleur du cancer est de 11 500 £ avec un coût mensuel de 600 £ (158).

1. Les chiens renifleurs du cancer

Medical Detection Dogs mène une étude clinique pour dépister le cancer de la prostate grâce à l'olfaction canine, approuvée par le *National Health Service* (NHS). Les équipes de Medical Detection Dogs se sont également lancées dans une étude préliminaire, validée par le NHS pour évaluer le dépistage du cancer du sein par leurs chiens. Les équipes pensent maintenant à étendre leurs recherches aux cancers pulmonaires et colorectaux. A l'image de KDOG, il ne s'agit pas d'avoir un contact du chien avec le malade mais seulement de renifler les fluides corporels des patients (158).

Medical Detection Dogs est très impliqué dans ce projet et souhaite fortement améliorer la précocité du diagnostic du cancer. En effet, au Royaume-Uni, le taux de survie suite à un cancer est bien inférieur à la moyenne européenne. La détection olfactive canine du cancer commence à être bien documentée, mais nous ne connaissons toujours pas quelles molécules les chiens détectent. Medical Detection Dogs souhaite aussi chercher les réponses aux questions actuellement en suspens (158).

Le travail de Medical Detection Dogs contre le cancer a deux objectifs principaux : aider les scientifiques sur le développement de nez électroniques qui aideraient à détecter le cancer précocement par des tests non invasifs peu coûteux, ainsi qu'à court terme, leurs chiens puissent fournir des tests supplémentaires pour les cancers difficiles à diagnostiquer de manière fiable tel que le cancer de la prostate (158).

a) Le cancer de la prostate

Après avoir commencé à travailler sur des échantillons d'urine en 2009, pour dépister le cancer de la prostate grâce à l'odorat des chiens, Medical Detection Dogs a débuté une grande étude clinique en collaboration avec l'urologue Iqbal Anjum et l'équipe du Milton Keynes Hospital NHS Foundation Trust. Cette étude se déroule en double aveugle et repose sur l'analyse olfactive canine des échantillons d'urine (158).

Figure 58 : Lucy (à gauche) et Daisy (à droite) : les deux chiennes détectrices du cancer de Medical Detection Dogs (158)

Les travaux se déroulent avec deux chiennes Labradors : Lucy et Daisy (figure 58). Tous les échantillons d'urine sont préalablement congelés puis décongelés avant chaque série. Lorsqu'ils sont suffisamment décongelés, 5 mL d'urine sont placées dans chaque petit pot situé sur le carrousel. Elles analysent les échantillons situés autour du carrousel et des échantillons différents pour chaque série y sont placés. Elles ont été entraînées grâce à la méthode du *clicker-training*. Le chercheur émet un petit clic et la chienne commence par tourner autour du carrousel tout en reniflant chaque échantillon puis indique l'échantillon positif en s'asseyant devant (figure 59). L'animal est récompensé par une friandise ou une balle de tennis suivant sa préférence. Ces études se déroulent en double aveugle et aucun membre de l'équipe ne connaît le contenu des échantillons ce qui les empêche de récompenser correctement le chien. Les échantillons sont alors reliés à un ordinateur qui ordonne de récompenser l'animal lors d'une bonne indication (158).

Une nouvelle possibilité de réponse est proposée aux chiens. Au lieu d'indiquer l'échantillon comme soit positif ou soit négatif et donner une réponse binaire, ils peuvent cette fois répondre « peut-être », ce qui n'a jamais été possible auparavant. En réalité, deux types d'études sont réalisées, l'une avec une réponse binaire : « oui/non » et l'autre où les chiens ont la possibilité de donner la réponse « peut-être », puis les résultats des deux études seront confrontés. Les chercheurs confronteront ensuite les résultats obtenus par l'olfaction canine à ceux obtenus par le dosage du PSA, le TR et la biopsie afin d'évaluer la fiabilité des chiens. Une attention particulière sera portée sur la composition moléculaire des échantillons. Chaque échantillon sera étudié par la spectrométrie de masse afin de mettre en évidence d'éventuels biomarqueurs et comprendre ce que les chiens détectent. Les

analyses chimiques des échantillons indiqués positivement et négativement par les animaux seront mises en relation. En réussissant à identifier et à isoler les composés organiques volatils détectés par les chiens, Medical Detection Dogs pourra contribuer au développement de nez électroniques (158).

Figure 59 : Rob Harris préparant une expérience avec Daisy dans les locaux de Medical Detection Dogs (101)

Leurs recherches auront potentiellement des impacts considérables à court et à long terme : (158)

- A Court terme :
- « Le développement et la mise en place d'un test précoce, fiable et abordable qui permet de mettre en évidence de manière non invasive les cancers de la prostate agressifs. Cela permettrait d'envoyer des échantillons d'urine à un centre pour chiens, fournissant une solution de test rapide et finalement évolutive à ajouter aux tests actuels du cancer de la prostate.
- Nous nous attendons à ce que le nombre d'hommes devant subir des biopsies inutiles commence à diminuer de manière significative. »

- A long terme :
- « Les biopsies pourraient devenir une intervention de dernier recours dans de nombreux diagnostics.
- Ces recherches permettront d'accélérer le développement des nez électroniques capables de fournir le travail des chiens lors de chaque intervention chez un médecin généraliste et de fournir ainsi un filet de sécurité encore plus grand pour les hommes exposés au cancer de la prostate » (158).

b) Le cancer du sein

Après avoir préparé leur demande durant 18 mois auprès du comité d'éthique du Buckinghamshire Healthcare NHS Trust, l'équipe de Medical Detection Dogs a obtenu l'autorisation de lancer une étude préliminaire pour détecter le cancer du sein grâce à l'olfaction canine (158).

C'est la Docteur Claire Guest, fondatrice et PDG de Medical Detection Dogs qui sera l'investigatrice de cette étude, accompagnée de Rob Harris. Si le projet KDOG recherche la présence des molécules responsables de l'odeur spécifique du cancer du sein dans la transpiration des femmes, Medical Detection Dogs les recherche dans des échantillons d'haleine prélevés sur des volontaires du Buckinghamshire. Comme pour le cancer de la prostate : les chiens renifleront les échantillons d'haleine autour d'un carrousel (figure 60). Si le cancer du sein est détectable dans l'haleine, des nez électroniques pourraient éventuellement détecter cette odeur. L'idée est là aussi de développer des systèmes électroniques capables de détecter l'odeur du cancer grâce à des tests peu coûteux, rapides et non invasifs (158).

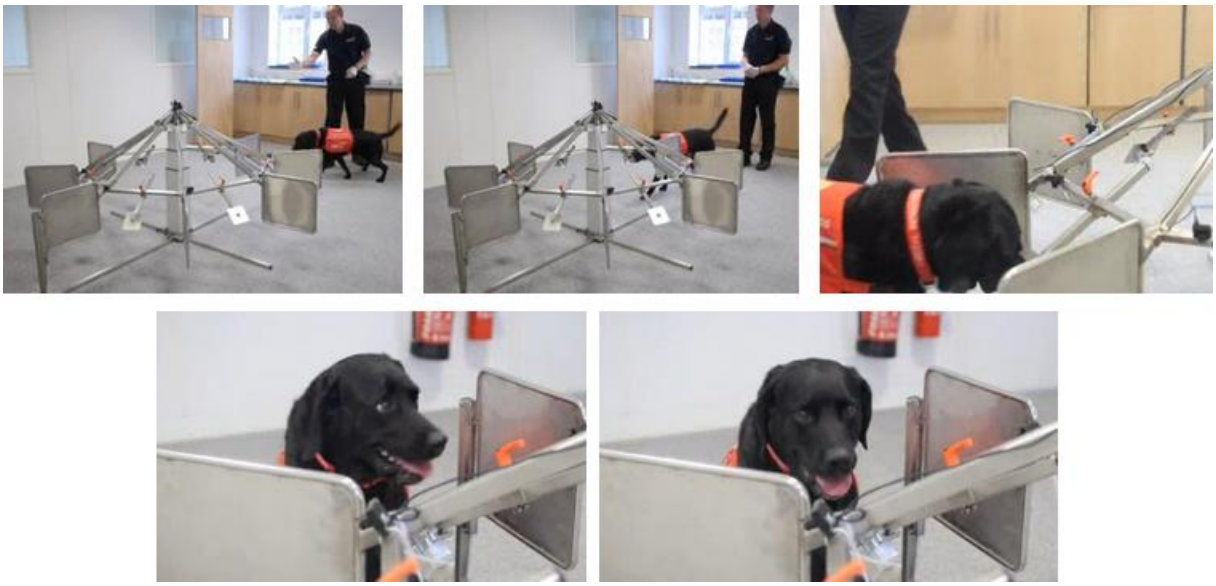

Figure 60 : Rob Harris préparant une expérience avec Lucy dans les locaux de Medical Detection Dogs (158)

Claire Guest a d'ailleurs découvert qu'elle débutait un cancer du sein alors qu'elle entraînait Daisy. La chienne lui a sauté dessus et a enfoncé son nez sous son sein particulièrement sensible. C'est en s'examinant qu'elle a dépisté une tumeur. Claire a moins de 50 ans. Elle pointe alors du doigt la mammographie de dépistage qui ne s'adresse qu'aux femmes de plus de 50 ans. En tant que femme de moins de 50 ans, elle prend douloureusement conscience qu'elle aurait pu être diagnostiquée trop tardivement si Daisy ne l'avait pas alertée. De plus, la mammographie de dépistage organisé est à réaliser tous les 2 ans (3 ans en Angleterre). Cela signifie qu'une femme pourrait développer un cancer pendant plusieurs mois entre deux mammographies croyant être en bonne santé. Mais pour des raisons de coûts et d'exposition aux rayonnements, les mammographies de dépistage ne peuvent pas être rapprochées. Un dépistage grâce à l'olfaction : rapide, peu coûteux et non invasif serait

une bonne alternative pour ces femmes, ainsi que les patientes en rémission pour qui un contrôle régulier, rapide et en toute sécurité serait le bienvenu (158).

L'équipe a reproduit l'étude « *Olfactory detection of human bladder cancer by dogs : proof of principle study* » également réalisée à l'hôpital de Buckinghamshire en 2004 par leurs collègues (deuxième partie, III. C) 1.). Ce sont 4 chiens, dont Lucy et Daisy qui seront entraînés à renifler le cancer du sein. Si cette étude est un succès, il faudra récolter des fonds nécessaires pour prétendre à une étude clinique (158).

c) Les cancers du côlon-rectum et du poumon

Medical Detection Dogs vient d'obtenir très récemment l'autorisation de lancer une étude préliminaire sur le dépistage olfactif canin du cancer colorectal. L'équipe collabore avec le NHS Trust des hôpitaux de Hull et East Yorkshire afin de recueillir 2 000 prélèvements d'urine et de selles issus de malades et de volontaires sains. Pour financer cette étude, Medical Detection Dogs compte plus que tout sur la générosité du grand public. Si les dons le permettent, ils n'hésiteront pas à débuter une nouvelle étude pour dépister le cancer du poumon grâce à leurs chiens renifleurs (158).

2. Les chiens d'assistance médicale

Depuis 2008, Medical Detection Dogs forme des chiens d'assistance médicale pour les maladies suivantes : (158)

- Le diabète de type 1 (deuxième partie, III. J) 1.) ;
- La maladie d'Addison : insuffisance surrénalienne chronique d'origine auto-immune conduisant à une destruction des glandes surrénales et donc à un déficit total en aldostérone et en cortisol. Les signes cliniques sont multiples et certains peuvent être gravissimes : asthénie, faiblesse musculaire, déshydratation, hypoglycémie, hypocholestérolémie, perte de poids importante, hyponatrémie, hyperkaliémie, hypotension artérielle gravissime avec possibles convulsions, perte de conscience pouvant nécessiter une hospitalisation.
- L'allergie sévère aux noix : certaines personnes peuvent déclencher un choc anaphylactique suite à la simple respiration d'allergènes de noix en suspension dans l'air. Medical Detection Dogs a entraîné plusieurs chiens à repérer la présence même minime d'allergènes dans l'air afin d'en alerter leur propriétaire. Contrairement aux autres chiens d'alerte médicale, ils sont entraînés à repérer des odeurs dans l'air plutôt que l'odeur d'une personne.
- Le syndrome de tachycardie orthostatique posturale (PoTS) : c'est une réaction anormale du système nerveux autonome à rester debout. Nous observons une augmentation anormale de la fréquence cardiaque et une altération de l'apport sanguin au cerveau en position debout. Les symptômes les plus courants qui en résultent sont les vertiges, les évanouissements, la fatigue et les palpitations. Les

chiens formés par Medical Detection Dogs sont capables de détecter un changement minime annonçant une crise et permettant ainsi d'alerter la personne d'une crise imminente afin qu'elle puisse se mettre en sécurité avant de perdre connaissance.

Nous retrouvons de nombreux témoignages de clients qui gèrent l'une de ces maladies beaucoup mieux maintenant qu'ils sont accompagnés de leur chien d'alerte médicale au quotidien. Medical Detection Dogs a déjà formé 80 chiens d'alerte médicale. Medical Detection Dogs forme également des « chiens d'équipe ». Ce sont des chiens d'alerte médicale adaptés aux enfants. Nous utilisons le terme de « chiens d'équipe » car ils aident non seulement l'enfant malade mais aussi son/ses parent(s), son/ses tuteur(s), sa famille (158).

Le but est d'aider les personnes gravement atteintes de ces maladies, leur offrir une plus grande indépendance et leur sauver la vie. Il est possible d'inscrire notre propre chien si nous sommes atteints de l'une des maladies citées précédemment, mais la liste d'attente est de 18 mois et il n'y a aucune garantie qu'il convienne et valide l'évaluation requise pour entrer en formation. Il est conseillé que le chien suive des cours d'obéissance générale avant sa formation où certains critères sont requis : (158)

- Le chien doit être âgé de 2 ans ou moins (à moins que le chien ne soit constamment en alerte, auquel cas les chiens âgés de moins de 3 ans seront acceptés) ;
- Fournir le formulaire du vétérinaire confirmant que le chien est en bonne santé physique et affirmant son aptitude pour le travail de chien d'assistance ;
- Fournir une copie de l'historique médical complet du chien ;
- Fournir un formulaire complet concernant le tempérament du chien attestant son comportement amical envers les adultes, les enfants et un large éventail d'environnements différents ;
- Après 6 semaines d'évaluation des odeurs / alertes, l'animal doit avoir une aptitude éprouvée à alerter son client lors d'un épisode médical via une odeur.

Le chien peut déjà montrer des signes d'alerte de façon innée et l'objectif sera de l'aider à devenir un chien d'assistance qualifié. Le chien peut autrement être choisi chez un éleveur dans le but de le former comme chien d'alerte médicale (158).

Cependant, des critères conduisent systématiquement à l'exclusion du chien des programmes de formation et de même, des critères sont également requis pour être propriétaire d'un chien d'alerte médicale formé par Medical Detection Dogs que nous retrouvons sur leur site officiel (158).

Les chiens sont entraînés grâce à des échantillons d'haleine prélevés lors d'une crise chez son maître. Il est préférable d'attendre les 18 mois du chien pour débuter sa formation, mais cela varie selon la maturité de l'animal (158).

Les chiens doivent être avec leurs propriétaires jour et nuit, 24H/24H, 7 jours sur 7. Le chien apprend à alerter son maître en le léchant ou en sautant. Le sommeil du chien n'est pas un problème. Ils ont une excellente capacité à adapter leur sommeil. Chaque phase de leur sommeil dure 15 minutes contre 90 minutes chez l'homme. Un chien de détection olfactive est capable de reconnaître une odeur même pendant son sommeil. L'odeur de la nourriture réveillera un chien même pendant une phase de sommeil paradoxal. Comme nos chiens sont ici récompensés par une friandise, l'odeur à reconnaître est liée à une odeur de nourriture. Les chiens sont donc capables d'effectuer leur travail de détection même en dormant (158).

Medical Detection Dogs a pour projet de former des chiens d'alerte pour détecter la maladie de Parkinson, le paludisme et certaines infections bactériennes. Les idées de maladies à alerter sont nombreuses mais limitées par le financement (158).

B. Le projet « Chiens de Cancer », Norvège

En Norvège, nous retrouvons le projet « Chiens de Cancer » dont le siège est à Spikkestad à Buskerud en Norvège. Depuis l'été 2011, Siri et Jens Stedje, Hogne Hole et Henriette Schermacher Marstein entraînent plusieurs chiens à dépister le cancer de prostate dans l'urine des patients grâce à leur odorat. Ce projet est issu d'une collaboration entre des partenaires privés, des instructeurs de chiens de la police, l'Organisation nationale de sauvetage et l'Organisation anti-cancer de la prostate de Buskerud. Leurs chiens ont réagi sur des tumeurs cancéreuses de la prostate ne mesurant que 1 millimètre (101)!

Ils entraînent aussi les chiens sur d'autres types de cancers. Des patients n'ayant reçu aucun traitement peuvent également participer. Certains viennent même pour se faire dépister un cancer des poumons, du sein ou du col de l'utérus. Ce projet est le seul dans les pays nordiques à proposer ce genre de services au grand public (101).

Nous pouvons citer deux exemples marquants de ce projet :

- Un homme âgé de 60 ans avait été hospitalisé car ses urines contenaient plus de sang que d'urine. Le lendemain, il sort de l'hôpital avec le diagnostic d'une pyélonéphrite qui est une infection rénale. Mais sa femme, pas convaincue du diagnostic décide de contacter « Chiens de Cancer ». Les urines sont alors analysées par les chiens qui les marquent comme cancéreuses. L'urologue Sissel Overn qui travaille sur le projet a ensuite confirmé le diagnostic canin. Cet homme a pu recevoir un traitement contre le cancer de la prostate peu de temps après. C'est donc grâce aux chiens que cet homme a pu être diagnostiqué et entreprendre un traitement rapidement (101).
- Un autre homme a été averti par son médecin qu'il avait tous les symptômes du cancer de la prostate. Il décide alors de demander au projet « Chiens de Cancer » d'analyser son urine. Mais les chiens n'ont pas réagi. L'homme réalise des examens complémentaires chez son médecin à sa demande ainsi qu'une biopsie. Mais les chiens avaient raison, cet homme n'avait pas de cancer (101).

III. LES AVANTAGES, LES INCONVENIENTS ET LES PERSPECTIVES D'AVENIR DE LA DETECTION OLFACTIVE CANINE DU CANCER

A. Les avantages de l'utilisation des capacités olfactives canines dans le dépistage du cancer

1. Une méthode de diagnostic précoce

Une détection précoce d'un cancer permet d'entreprendre les traitements plus tôt, améliorant ainsi leur efficacité thérapeutique et abaissant leurs effets indésirables et conséquences parfois lourds pour le patient. L'étude d'Horvath et *al.* en 2008 suggère que le chien serait capable de dépister très précocement le cancer des ovaires : environ 2 à 3 ans avant un diagnostic classique. En 2006, les Chiens d'Eau Portugais de McCulloh et *al.* ont indiqué à plusieurs reprises un échantillon comme cancéreux, étant pourtant considéré par les scientifiques comme un échantillon contrôle, censé être issu d'une patiente en bonne santé mais pour qui un cancer du sein a finalement été diagnostiqué 18 mois plus tard.

Un tel progrès serait significatif dans le cadre du cancer car un diagnostic précoce augmente les chances de survie de 15% à 90% pour le cancer du sein, de 5% à 90% pour le cancer des ovaires et de 14% à 70% pour le cancer du poumon. L'utilisation des performances olfactives des chiens pourrait donc sans aucun doute augmenter les chances de survie des malades (160).

2. Une méthode peu coûteuse (100,161)

Des enjeux économiques viennent se rajouter aux enjeux médicaux. L'utilisation d'animaux comme méthode de dépistage serait une solution beaucoup moins coûteuse que nos méthodes de diagnostic actuelles. Cette technique nécessite seulement « des chiens et du temps » selon Isabelle Fromantin à l'origine du projet KDOG. Cela permettrait de dépister des grands groupes de populations à un faible coût et révolutionnerait le dépistage dans les pays en voie de développement où les technologies modernes sont trop coûteuses pour avoir accès à des outils de diagnostic (scanner, mammographie, *etc*.) suffisamment performants pour assurer un dépistage satisfaisant. La détection du cancer par les chiens apparaît comme un moyen diagnostic à perspectives humanitaires. En France, une méthode de dépistage peu onéreuse serait également appréciée, permettant d'alléger les dépenses de la sécurité sociale.

En France, nous retrouvons plusieurs programmes de dépistages organisés :

- Pour le cancer du sein avec une mammographie à réaliser tous les deux ans chez les femmes âgées de 50 à 74 ans ;
- Pour le cancer colorectal avec le test RSOS à réaliser tous les deux ans chez les personnes âgées de 50 à 74 ans ;

- Pour le cancer du col de l'utérus avec un frottis cervico-utérin à réaliser tous les trois ans chez les femmes âgées de 25 à 65 ans (après 2 frottis normaux à 1 an d'intervalle).

Le dépistage organisé est pris en charge à 100% par l'assurance maladie.

En 2012, le coût total du dépistage organisé du cancer du sein était de 216,3 millions d'euros (tous financeurs) dont 211,1 millions d'euros pour l'assurance maladie, sachant que seule une femme sur deux invitée au dépistage organisé du cancer du sein y a eu recours (taux de participation exact de 52,1% et l'objectif serait d'obtenir une participation de 65%). En 2004, le coût total du cancer du sein s'élevait à 3,2 milliards d'euros. En 2010, les coûts médicaux directs de dépistage et de prise en charge du cancer du col de l'utérus s'élevaient à 332 millions d'euros dont 225 millions d'euros pris en charge par l'Assurance maladie. En 2008, le coût du dépistage organisé du cancer colorectal avoisinait les 85 millions d'euros.

Le coût moyen de dépistage du cancer colorectal d'une personne est de 83,5 € et de 133,75 € pour le cancer du sein.

Dans leurs publications, les chercheurs admettent que l'utilisation de l'olfaction canine comme moyen de dépistage du cancer serait moins coûteuse que les méthodes actuellement utilisées. Mais à l'avenir, il serait intéressant de calculer précisément le coût de revient du dépistage du cancer par l'odorat des animaux.

3. Une méthode rapide

Le temps d'analyse d'un échantillon par un chien est de l'ordre de la seconde et il réalise immédiatement le comportement qu'il a appris pour indiquer l'échantillon lorsqu'il renifle l'odeur du cancer. Le diagnostic est donc connu en quelques secondes.

D'après un rapport de la Haute Autorité de Santé sur la « place de la mammographie numérique dans le dépistage organisé du cancer du sein », une mammographie dure en moyenne de 8 à 12 minutes selon la méthode mammographique utilisée : le système numérique plein champ étant plus rapide que le système analogique grâce à la suppression du temps dédié au film. Ce temps moyen tient compte des explications de l'examen au patient, de l'examen mammographique en lui-même ainsi que de l'entrée des données (161).

Une coloscopie dure une trentaine de minutes en moyenne. Elle se prépare dans les jours qui précèdent l'examen et nécessite un régime alimentaire adapté : sans résidu, trois jours avant et de procéder à un lavage des intestins.

Les résultats accompagnés de l'interprétation des examens (scanner, radiographie, échographie, résultats des prélèvements biopsiés) peuvent parfois demander plusieurs jours voire semaines, généralement à l'origine d'une anxiété pour le patient.

4. Une méthode simple et non douloureuse

Si nous prenons l'exemple du projet KDOG, il est également moins traumatisant de déposer une simple lingette ou compresse sur son sein durant une nuit ou quelques heures que de devoir se déshabiller et d'avoir son sein compressé car souvent inconfortant et douloureux.

L'interprétation de l'analyse canine est simple : le chien indique ou non l'échantillon comme cela lui a été appris (s'asseoir, se coucher, montrer de sa patte). La réponse est binaire et simple d'interprétation. L'utilisation de la chromatographie en phase gazeuse et de la spectrométrie de masse peut parfois donner des résultats difficiles à interpréter.

De plus, ces techniques ne nécessitent pas la présence du patient lors de l'examen diagnostic (versus une mammographie, une coloscopie, une biopsie) permettant de faciliter le quotidien. Un prélèvement d'urine ou l'application d'une lingette peut se faire à un moment arrangeant pour les sujets dont l'échantillon sera analysé ultérieurement.

5. Une méthode fiable

Une quantité infime de composés organiques volatiles peut être détectée par l'odorat des chiens, indépendamment de la taille de la tumeur et de la précocité du cancer.

a) Les cancers du poumon et du sein

Les techniques actuelles passent à côté de nombreux cancers pulmonaires à un stade précoce. Si le scanner est capable de détecter des lésions pulmonaires jusqu'à 1 mm de diamètre, il a également un taux non négligeable de faux positifs conduisant à certaines interventions chirurgicales inutiles. De son côté, la mammographie détecte parfois des lésions non cancéreuses à l'origine d'examens supplémentaires inutiles responsables d'une anxiété chez la patiente et détectera mal les lésions cancéreuses chez les femmes ayant un tissu mammaire dense. En 2006, McCulloh obtient une sensibilité et une spécificité de 99% pour le dépistage du cancer du poumon, puis une sensibilité de 88% et une spécificité de 98% pour le cancer du sein dans l'haleine des patients.

b) Le cancer de l'ovaire

D'après Hovarth en 2008, le chien distingue une tumeur ovarienne parmi des tissus sains avec une sensibilité et spécificité de 100% en simple aveugle contre une spécificité de 97,5% en double aveugle. L'animal distingue les tumeurs ovariennes des autres tumeurs gynécologiques avec une sensibilité de 100% et spécificité de 91% en reniflant des prélèvements tumoraux. Lorsqu'il s'agit de sentir des échantillons sanguins, le chien obtient une sensibilité de 100% et une spécificité de 98%.

c) Le cancer colorectal

Un test RSOS négatif peut passer à côté de polypes ou cancers qui ne saignent pas et ne seront pas détectés lors du test. Si le test RSOS est positif, une coloscopie est réalisée. Elle ne détectera aucune anomalie dans 50% des cas et dépistera réellement un cancer dans 8% des cas. Le test RSOS entraîne donc de nombreuses coloscopies inutiles, sources de stress et de possibles effets indésirables et complications pour le patient.

Actuellement, le dépistage précoce et la coloscopie permettent de diminuer l'incidence et la mortalité du CCR. Mais la valeur prédictive positive (VPP) du RSOS n'est que de 10% (100).

En 2011, Sonoda et *al*. obtiennent une sensibilité du dépistage canin par l'odeur des échantillons d'haleine de 91% et une spécificité 99% et pour l'analyse des échantillons de selles liquides, la sensibilité et la spécificité sont respectivement de 97% et de 99% (107).

d) Le cancer de la prostate

Le dosage du PSA et le TR qui sont les examens de première intention lors d'une suspicion de cancer de la prostate comme tests de dépistage sont insuffisamment fiables. Un TR normal n'exclut pas un cancer car il permet de détecter que les tumeurs palpables. Le dosage du PSA a un fort taux de faux positifs. Un dosage anormal du PSA sur 4 est réellement un cancer de la prostate. Donc dans 75% des cas, un dosage du PSA élevé n'est pas lié à un cancer de la prostate. Ce dosage rencontre aussi des faux négatifs ; 10% des hommes ayant un taux faible de PSA ont un cancer de la prostate. La biopsie prostatique est l'examen qui affirme le diagnostic de cancer prostatique mais elle connaît des limites et peut parfois passer à côté d'un cancer. Il se peut que le prélèvement manque la zone tumorale lors des tumeurs de petites tailles : 20% des hommes ayant une biopsie négative présentent en réalité un cancer de la prostate (100,122).

En 2011, le Berger Belge Malinois entraîné par Jean-Nicolas Cornu et Olivier Cussenot obtient une sensibilité et une spécificité de 91% pour dépister le cancer prostatique en reniflant des échantillons d'urine. Mais le chien s'est assis à trois reprises devant un échantillon témoin et les trois patients ont alors été de nouveau biopsiés. Parmi eux, l'un avait effectivement un cancer de la prostate non dépisté lors de la première biopsie. Le chien a brillamment détecté un cancer de la prostate chez l'un des sujets témoins que nous pensions faussement en « en bonne santé » par la biopsie. En 2015, Taverna et *al*. dressent deux chiennes qui obtiennent respectivement une sensibilité de 100% et de 98,6% et une spécificité de 98,7% et de 97,6%.

e) Le cancer de la thyroïde

Le Berger Allemand formé en 2014 a correctement identifié les échantillons avec une sensibilité de 88% et une spécificité de 89,5%. L'olfaction canine obtient une sensibilité très légèrement inférieure à la biopsie par aspiration à l'aiguille fine.

6. L'innocuité et la non-invasivité

Si nous prenons l'exemple du cancer du sein, de nombreux pays ont mis en place des programmes de mammographie de dépistage organisé afin de réduire le nombre de décès. La mammographie de dépistage organisé s'adresse aux femmes de 50 à 74 ans, tous les 2 ans. Une femme pourrait alors développer un cancer entre deux mammographies qui aurait le temps de progresser pendant plusieurs mois. Mais nous ne pouvons pas rapprocher ces mammographies car en plus d'être trop coûteuses, elles peuvent être associées à un risque accru du cancer radio-induit ainsi qu'à un surdiagnostic et à un surtraitement.

Les femmes ayant un antécédent personnel de cancer du sein doivent être suivies de manière renforcée afin de prendre en charge une éventuelle rechute le plus tôt possible.

Les femmes ayant des antécédents familiaux de cancer du sein avec ou sans prédisposition génétique connue ont un risque accru de développer un cancer du sein et peuvent bénéficier d'une surveillance renforcée à un âge plus précoce et à des intervalles plus courts que la population générale. Mais les femmes à haut risque seraient plus sensibles aux rayonnements ionisants, de plus le dépistage à l'aide de rayonnements ionisants à un âge précoce augmente le risque de cancer radio-induit (162,163).

Concernant le cancer de la prostate, la biopsie prostatique est un examen invasif, douloureux et entraîne parfois quelques complications transitoires comme du sang dans les urines, le sperme ou les selles dans 5% des cas et dans 1% des cas une infection ou inflammation de la prostate (100,122).

Une coloscopie est réalisée pour confirmer le diagnostic d'un cancer colorectal et bien qu'elles soient rares, certaines complications peuvent survenir : une hémorragie, une perforation de la paroi intestinale voire rarement des troubles cardio-vasculaires, respiratoires et infectieux.

7. Un dépistage pour tous

a) Les enfants

Le risque de cancer radio-induit est d'autant plus élevé que le sujet est jeune et il diminue avec l'âge. A l'image de l'exemple des femmes ayant un antécédent personnel de cancer du sein, les enfants ayant un antécédent de cancer bénéficient d'une surveillance renforcée. Une méthode de surveillance rapide, simple, peu coûteuse et dépourvue de conséquences néfastes serait la bienvenue et d'autant plus chez les enfants.

b) Les personnes en situation de handicap

Le dépistage par l'odorat serait accessible aux personnes porteuses d'un handicap mental ou physique qui peut parfois les empêcher de se tenir debout, immobiles, rendant la réalisation de certaines méthodes impossibles comme une mammographie, un scanner, *etc*.

B. Les inconvénients et les limites de l'utilisation des capacités olfactives canines dans le dépistage du cancer

1. Les limites légales

Pour monter une étude, nous devons faire face à la difficulté à convaincre les patients de participer à l'étude. Les patients sont sous haute protection et les autorisations en France requièrent un protocole drastique. Depuis le 20 décembre 1988, (loi n° 88-1138, dite Huriet-Sérusclat) la France bénéficie d'une loi « relative à la protection des personnes qui se prêtent à des recherches biomédicales ». Ce cadre légal régit la protection des personnes, l'appréciation du rapport bénéfice/risque de la recherche, la nécessité de l'information et du consentement libre et éclairé des personnes. Le décret d'application (n°2006-477 du 26 avril 2006) de la Loi n°2004-806 du 9 août 2004 transposant la directive « essais cliniques » régit la recherche biomédicale (59).

L'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé est un établissement public français (ANSM) qui délivre l'autorisation préalable pour chaque recherche biomédicale (59).

Les patients sont hautement protégés par les Comités de Protections des Personnes qui vérifient la pertinence de la recherche et évaluent son rapport bénéfice/risque. Avant de donner son accord ou son refus, le patient doit être correctement informé par le professionnel de santé qui dirige l'étude. Il signe ensuite un consentement libre et éclairé qui reprend toutes les explications préalablement données. Il est parfois difficile de convaincre les patients de participer à une étude et leur recrutement est long (59).

Ces projets demandent de nombreuses mobilisations à plusieurs échelles : les patients, le service d'imagerie qui doit confirmer le diagnostic, les chirurgiens qui vont enlever la tumeur, les maîtres-chiens devant former les chiens quotidiennement et régulièrement durant de longues périodes (59).

2. Les limites liées aux chiens

Tous les chiens ne sont pas capables de réussir à dépister le cancer grâce à leur odorat. En 2018, Fischer-Tenhagen C. et *al*. avaient initialement entraîné quatre chiens pour détecter le cancer du poumon dans des échantillons d'haleine. Mais seuls deux y sont parvenus. Les deux autres animaux ont été exclus de l'étude après 3 mois d'entraînement en raison de progrès insuffisants (130).

En 2014, Elliker KR. et *al*. n'étaient parvenus qu'à former 2 chiens à dépister olfactivement le cancer de la prostate parmi les 3 chiens initialement recrutés. De même en 2008, Gordon RT. et *al*. ont signalé que seuls 2 chiens sur 6 ont appris à détecter de façon satisfaisante le cancer du sein ou de la prostate dans des échantillons d'urine (164,165).

Fischer-Tenhagen C. et ses collaborateurs supposent que certains chiens ont une capacité de formation supérieure pour la détection du cancer. Des recherches supplémentaires seraient nécessaires pour identifier les critères de sélection du meilleur chien de détection du cancer possible. De plus, la race de l'animal est importante. Les capacités olfactives dépendent de sa génétique et du polymorphisme des récepteurs. C'est l'ensemble des capacités olfactives associées à l'intelligence du chien, ses capacités de concentration et d'apprentissage qui font la différence.

Mais c'est également l'entraînement du chien et sa méthode qui sont fondamentaux : sa durée, son rythme régulier permettant d'entretenir la mémoire du chien, le contact et la relation avec son maître-chien, la structure de travail et le mode de récompense qui font l'efficacité et la performance de l'animal. Un entraînement efficace peut contrer une race ayant de moins bonnes capacités olfactives purement génétiques. Le projet KDOG souhaite d'ailleurs montrer que plusieurs races sont éligibles au projet. Ils ont pour cela intégré un Springer Anglais puis un Labrador dans le projet.

Olivier Cussenot, urologue à l'Hôpital Tenon à Paris, explique que « le dressage de l'animal est long, astreignant et il ne peut exercer cette activité plus de cinq ans » bien que d'autres chercheurs dont Sonoda H. estiment que les chiens peuvent effectuer les tests pour un maximum de 10 ans (107).

« Le chien ne peut pas devenir un outil de dépistage standardisé » explique ce même urologue. Nous ne maîtrisons pas certains facteurs : la fatigue de l'animal qui peut impacter ses performances olfactives. Le chien est un animal, et comme l'humain, il peut être fatigué, contrarié, stressé, troublé, malade, *etc*. En plus de varier entre chaque chien, les capacités olfactives peuvent différer d'un jour à l'autre pour un même chien. Un chien vieillit et perd progressivement de son acuité olfactive (première partie, V.A.2). Les performances des chiens varient également selon leur alimentation qui est donc à ne pas négliger (première partie, V.A.4). L'animal est une méthode de dépistage non reproductible contrairement aux nez électroniques dont l'efficacité est stable dans le temps. De plus, lorsque le chien atteint l'âge de la retraite et devient inapte au travail, c'est une perte de « banque de données olfactives » tandis que la technologie peut permettre le transfert et l'enrichissement progressif de banques de données d'éventuels biomarqueurs volatils. De plus, la durée de travail du chien est limitée dans le temps alors que la technologie perdure davantage (127).

Les chiens ne peuvent pas renifler un grand nombre d'échantillons par unité de temps contrairement à la machine. La plupart du temps, les échantillons sont regroupés en un petit nombre au sein d'une série. Le chien doit bénéficier d'un temps de repos entre chaque série. C'est le cas des chiens de recherche, qui en entraînement ne travaillent pas plus de 20 minutes consécutives avec des périodes de récupération de 45 minutes en moyenne (28).

Une question d'éthique se pose : l'acceptation des chiens dans un projet médical est parfois difficile à accepter et à concevoir. Nous imaginons les chiens dans les hôpitaux, un lieu de regroupement de malades souvent fragiles mais il n'en est rien : comme nous l'avons vu dans les publications et dans le projet KDOG : les chiens n'ont aucun contact avec les

patients et ils travaillent en dehors des structures médicales. Mais les chiens sont déjà largement utilisés dans les soins de santé : les chiens guides, les chiens d'écoute et les chiens d'alerte médicale. Ainsi, l'acceptation du patient à grande échelle est déjà démontrée (105).

3. Les limites liées aux échantillons

Nous ne connaissons pas encore quels composés organiques volatils sont responsables de la signature olfactive du cancer. Certains facteurs appelés des facteurs de confusion, pourraient impacter ces COV présents dans les échantillons selon :

- La coexistence de plusieurs pathologies malignes,
- Le tabagisme,
- Les modalités de prélèvement des échantillons,
- L'alimentation,
- L'hydratation,
- Les parfums,
- Les médicaments,
- L'inflammation,
- L'état infectieux,
- Les modalités de conservation des échantillons.

Le parfum du patient peut influencer son odeur, il est par exemple demandé aux femmes du projet KDOG de réaliser une douche avec un savon sans parfum, fourni par l'étude, avant d'appliquer la lingette contre son sein durant une nuit.

a) La coexistence de plusieurs pathologies malignes

Lors des tests de Hovarth et al. en 2008, le chien a obtenu une sensibilité et une spécificité de 100% lors de la différenciation en simple aveugle des tumeurs ovariennes versus des tissus contrôles sains, puis une sensibilité de 100% et une spécificité de 97,5% lorsque les essais se sont déroulés en double aveugle. Parmi les tissus contrôles sains, nous retrouvions des ovaires post-ménopausiques mais le Schnauzer Géant ne les a jamais indiqués : l'animal sait différencier les ovaires bénins des ovaires malins. Lorsque les tests intégraient des tumeurs gynécologiques autres qu'ovariennes parmi les contrôles sains, le chien a obtenu une sensibilité de 100% mais il a aussi indiqué deux échantillons tumoraux gynécologiques autres et ainsi obtenu une spécificité de 91%. Hovarth G. réalise une étude similaire deux ans plus tard consistant à renifler cette fois le cancer de l'ovaire dans des échantillons sanguins plutôt que tumoraux. Lors des deux études, les tumeurs gynécologiques autres qu'ovariennes apparaissent comme un facteur confondant à l'origine d'erreurs de diagnostic de la part de l'animal (119,120).

b) Le tabagisme

Le tabac est de loin le principal facteur de risque externe de développer un cancer. C'est la première cause de mortalité évitable. En France, il serait à l'origine de 45 000 décès, soit un quart des décès par cancer chaque année. En tant que professionnels de santé, nous devons recommander le sevrage tabagique et faire prendre conscience à nos patients des dangers du tabac. Arrêter de fumer apporte des bénéfices durables sur la santé. L'arrêt du tabac après un cancer du poumon améliore le pronostic de survie à cinq ans, la qualité de vie, réduit le risque de récidive et celui de développer un second cancer primitif. Le Programme national de réduction du tabagisme est le dixième objectif du plan cancer 2014-2019 (100).

Le tabagisme actif serait responsable de 80% des cancers du poumon, de 70% des cancers des voies aérodigestives supérieures (bouche, larynx, pharynx, œsophage), de 50% des cancers de la vessie ainsi que de 30% des cancers du pancréas. Il est également impliqué dans certains cancers des voies urinaires, du sein, du rein, du col de l'utérus, de l'estomac, des ovaires, du côlon et du rectum ainsi que des leucémies myéloïdes. Au total, dix-sept localisations cancéreuses peuvent être attribuées au tabac. Le tabagisme passif n'est pas anodin et est défini comme l'exposition à la fumée de tabac dans son environnement. Ses dangers sont reconnus et prouvés. Chaque année en France, le tabagisme passif serait la cause de 1 100 décès dont 150 par cancer du poumon. Les enfants dont les parents fument y sont très exposés et les pathologies ORL (oto-rhino-laryngologie) sont plus fréquentes chez ces enfants que chez les enfants dont les parents ne fument pas (100).

Le tabagisme est une source d'erreur du dépistage olfactif canin du cancer. D'après McCulloh et al, en 2006 : le tabagisme actuel impacte la détection du cancer du poumon qui était amoindrie tandis que le tabagisme passé n'influence aucunement le dépistage olfactif.

Comme nous l'avons vu, beaucoup de COV potentiels biomarqueurs d'une empreinte olfactive du cancer résultent d'un stress oxydatif et de la peroxydation lipidique. Le tabagisme impacte la composition de l'haleine en COV exhalés car la fumée du tabac est à l'origine de nombreux COV retrouvés dans l'haleine et modifie les processus métaboliques à l'origine de la production des COV en induisant un stress oxydatif et une peroxydation lipidique. Le tabagisme pourrait donc être un facteur de confusion pour l'obtention du profil de COV et ainsi dépister le cancer olfactivement.

c) Les modalités de prélèvements des échantillons

La question d'une standardisation éventuelle des prélèvements des échantillons se pose :

(1) Les prélèvements d'haleine

Un prélèvement d'haleine expirée pour la collecte et l'analyse des COV est une procédure simple à réaliser et non invasive. Mais il faut prendre en compte certaines contraintes méthodologiques. Une partie des COV retrouvés dans l'haleine est également présente dans

l'air ambiant. Il est donc nécessaire de différencier l'haleine d'un artéfact de contamination par l'air ambiant et ainsi mettre en évidence les COV spécifiques de l'haleine des COV normalement présents dans l'air ambiant et chez tous les sujets sains. En effet, certains COV présents dans la pièce où se trouve le patient peuvent venir contaminer le prélèvement d'haleine (166).

Afin de corriger cet artéfact, le nez artificiel BreathLink dispose d'un système qui recueille l'air ambiant afin de corriger une éventuelle contamination de l'haleine par celui-ci (141).

La méthode de prélèvement de l'haleine impacte également sur la composition endogène des échantillons et donc leur interprétation. Si nous analysons l'air alvéolaire (la dernière fraction d'air expiré) ou l'air mixte (issu d'une respiration « normale »), les concentrations de certains COV varient. Les concentrations du dioxyde de carbone, de l'acétone et de l'isoprène sont plus importantes dans l'air alvéolaire que dans l'air mixte mais celles de l'isopropanol, du 2-butanone et de l'hexanal plus faibles. Les rapports [air alvéolaire] / [air mixte] sont > à 1,5 pour le dixoyde de carbone, l'acétone et l'isoprène mais < à 1 pour l'isopropanol, la 2-butanone et l'hexanal. Les rapports [air alvéolaire] / [air mixte] des concentrations de l'acétonitrile, le butane, le sulfure de diméthyle, le pentane, le butanal, le benzène et l'hexane sont compris entre 1 et 1,5. Les échantillons d'air alvéolaire comportent des concentrations plus élevées de substances endogènes et des plus faibles concentrations de substances exogènes. L'échantillonnage peut donc impacter les résultats et l'interprétation olfactive de l'analyse de la respiration (167).

(2) Les prélèvements d'urine

Plusieurs paramètres influencent l'odeur des urines et seraient des possibles facteurs confondants à l'origine de modifications de la composition en COV des urines. Ces facteurs peuvent être l'alimentation (les asperges par exemple donnant une odeur désagréable à l'urine), l'hydratation (l'urine sera plus ou moins concentrée), les paramètres physicochimiques des urines (tels que le pH), les médicaments, l'inflammation, l'état infectieux (infection urinaire) et la coexistence d'autres cancers. Ces différents facteurs nous amènent à nous interroger sur la standardisation du recueil des urines : la prise d'une boisson préalable, le respect d'un régime particulier et sur la capacité du chien à reconnaître une odeur parmi d'autres.

d) Les modalités de conservation des échantillons

Le mode et le temps de conservation des échantillons impactent leur pouvoir odorant. Ces facteurs sont à étudier et à déterminer de façon plus précise à l'avenir. Lors de l'étude en 2004 de Carolyn Willis, 4 chiens ont reniflé des urines liquides préalablement congelées et 2 chiens ont analysé des urines sèches. L'analyse des urines liquides pour dépister le cancer de la vessie a obtenu un meilleur résultat (50% versus 32%). Cela s'expliquerait par la perte d'une partie des COV lors du séchage. Le stockage des échantillons en vue d'un diagnostic

est à prendre en considération pour ne pas altérer les performances olfactives de dépistage du chien. La durée et le récipient de stockage ainsi que la température sont des éléments qui peuvent modifier la signature olfactive des échantillons et donc du cancer (59,113).

4. Qu'en est-il des autres animaux ?

Mais qu'en est-il des autres animaux ? Les chats détecteraient également l'odeur du cancer, mais à ce jour ils n'ont toujours pas montré l'intérêt de l'exprimer à leurs propriétaires. Les rats et les souris percevraient aussi cette odeur, ce qui paraît logique puisqu'ils présentent un plus grand nombre de gènes codant pour les récepteurs olfactifs que les chiens. Mais c'est l'intelligence du chien mêlée à une relation de confiance et une facilité de communication qui font de lui un animal de choix. Depuis les années 2000, des rats géants de Gambie sont formés pour la détection de mines et de la tuberculose.

C. L'utilisation des capacités olfactives canines dans d'autres domaines médicaux : les chiens d'alerte médicale

1. Le diabète

a) Le diabète : définition

Le diabète est une maladie chronique qui se définit par une hyperglycémie chronique. La glycémie est le taux de glucose dans le sang. Sa valeur normale à jeun est de 3,9 à 5,5 mmol/L (0,7 à 1,00 g/L). Une glycémie est pathologique dès qu'elle dépasse à 2 reprises à jeun 7 mmol/L (1,26g/L) ou à une reprise à 11,1 mmol/L (2 g/L) à n'importe quel moment de la journée. Selon l'OMS, 442 millions de personnes adultes souffrent du diabète, soit 1 personne sur 11. Le nombre de cas de diabète dans le monde a quadruplé depuis 1990. C'est le trouble métabolique le plus fréquent. Nous distinguons le diabète de type I, le diabète de type II et le diabète gestationnel.

Lors d'une hypoglycémie, la personne se met à transpirer et il se pourrait que les chiens perçoivent l'hypoglycémie grâce à l'odeur de cette transpiration et que leur organe voméro-nasal soit impliqué. Concernant l'hyperglycémie : les acides cétoniques se transforment en acétone dans l'urine et l'haleine sent l'acétone (101).

b) Les premiers faits marquants

Le premier cas remonte à 2006. Un vieil agriculteur raconte qu'il était accompagné de son chien alors qu'il faisait du tourisme en voiture à travers la France. Lors du voyage, son taux de glycémie fut bas et son chien s'est réveillé et a aboyé sans s'arrêter jusqu'à ce qu'il accepte d'arrêter la voiture afin de corriger sa glycémie. Le chien ne s'est calmé qu'une fois la glycémie revenue à la normale (101).

En 2008, la chercheuse Déborah Wells et ses collègues de la Queen's University à Belfast en Irlande lancent une expérience pour étudier la réaction des chiens face aux hypoglycémies des patients atteints du diabète de type I. Les résultats montrent que 65% des chiens détectent l'hypoglycémie avant même que leurs maîtres ressentent un quelconque symptôme annonciateur. Les chiens alertent l'hypoglycémie par diverses réactions : aboyer, lécher, frotter leur museau contre leur maître, sauter sur leur maître, fixer leur visage du regard de façon insistante. D'autres chiens prennent peur et partent en courant en hyper-ventilant voire se mettent à trembler (101).

Certains maîtres racontent que leurs chiens les poussent jusqu'à ce qu'ils se réveillent, aboient afin de les réveiller, grattent à la porte à chaque fois que leur taux de glycémie est trop bas. Ils viennent réveiller leur maître durant la nuit alors que dans la majorité des cas, les chiens ne dorment pas dans la même pièce que leur maître dont la porte de chambre est fermée. Les chiens ne se calment pas tant que leurs maîtres ne mangent pas et n'atteignent pas un taux de glycémie correct (101).

En 2013, Nicola J. Rooney, une biologiste comportementaliste et protectrice des animaux de l'Université de Bristol en Angleterre a entraîné des chiens pour qu'ils réagissent aux hypoglycémies et hyperglycémies de leur maître. Les maîtres estiment que leur qualité de vie s'est nettement améliorée suite à cette formation de leur chien (101).

En mars 2015, naît l'association ACADIA : l'Association de Chiens d'Assistance pour les personnes DIAbétiques, à Loriol sur Drôme. C'est la première école de chiens d'assistance médicale pour personnes diabétiques, axée vers 3 missions (168).

c) Rebecca et Shirley

Rebecca Farrar est une petite anglaise de 7 ans qui souffre de diabète de type 1 sévère. Elle doit tester son taux de sucre sept fois par jour pour éviter les malaises, le coma voire décéder. Elle a rapidement besoin de sucre dès qu'elle fait une hypoglycémie ou d'une piqûre d'insuline dès qu'elle débute une hyperglycémie. Depuis 2010, elle a Shirley, une Golden Retriever qui l'accompagne partout. Elles dorment ensemble et Shirley accompagne Rebecca à l'école. C'est le premier chien d'assistance médicale de Grande-Bretagne autorisé à entrer dans une école. La chienne prévient les enseignants et lèche la main de Rebecca dès que son taux de sucre varie avant qu'elle ne ressente le moindre symptôme. Shirley a déjà sauvé la vie de Rebecca plusieurs fois (101).

Figure 61 : Rebecca et sa chienne Shirley : chien détecteur de diabète (101,158)

d) Nicklas et Nemi

Nemi est la chienne de Nicklas, un petit garçon de 7 ans qui souffre de diabète. Dès que son taux de sucre est trop bas, il a du mal à articuler et son corps ne réagit plus. Nemi est un mélange de Berger Allemand, de Rottweiller et de Labrador. Les mois qui ont précédé le diagnostic de Nicklas, Nemi était anormalement très agitée. Quand la famille est revenue de l'hôpital après la première consultation de Nicklas, Nemi l'a reniflé et s'est couchée confortablement à côté de lui sur le canapé, enfin apaisée. Dès que la glycémie de Nicklas baisse, Nemi donne l'alerte à l'ensemble de la famille lorsqu'il dort à l'étage du dessus. Nemi n'a pas été dressée : elle réagit instinctivement. Suite à cet instinct épatant, la maman de Nicklas ; Anneli G.Johansen a ensuite décidé d'entraîner Nemi avec des échantillons de salive sur des morceaux de coton pour qu'elle améliore ses performances. Puis elle a trouvé l'école canine en Virginie aux États-Unis qui l'a aidée où elle a contacté Scott, un entraîneur des chiens d'alerte pour diabétiques de cette école (Tidewater K-9). Un entraînement s'est mis en place et Nemi est devenue nettement plus efficace qu'elle ne l'était déjà. Nemi a des grosses réactions lorsque la glycémie de Nicklas varie. Faire réagir Nemi a des baisses de glycémie était plus compliqué, mais Anneli a réussi à utiliser des échantillons d'odeurs recueillis sur son fils lorsque sa glycémie était faible ou élevée et qu'elle avait conservé dans le congélateur (101).

Nous retrouvons de nombreux duos qui gèrent un problème médical complexe grâce à leur chien d'alerte au quotidien. Medical Detection Dogs forme de nombreux chiens d'assistance médicale d'alerte.

2. Les allergies

Meghan Weingarth est allergique à toutes sortes de noix. Elle vit avec sa chienne à Suwanee en Géorgie aux États-Unis. Sa chienne Lilybelle est une Goldendoodle : un mélange de Golden Retriever et de Caniche. Elle a été formée par Georgia K9, spécialisé dans la formation d'obéissance canine, de chien de service et de chien de suivi ainsi que dans la détection canine de stupéfiants. Surnommée le « chien cacahuètes », Lilybelle réagit et marque tous les produits qui contiennent des cacahuètes et autres types de noix (101,169).

Medical Detection Dogs a également formé le chien détecteur de noix Nano, la petite chienne de Yasmine, cette dernière réagissant gravement aux noix (158).

Figure 62 : Lilybelle : le « chien cacahuètes » (101,169)

3. Les autres maladies

Claire Guest, chercheuse et directrice de Medical Detection Dogs a proposé d'entraîner des chiens à identifier les blaireaux atteints de tuberculose bovine pour les éliminer. En 2014, beaucoup trop de blaireaux sains sont tués (101).

De nouveaux projets de détection olfactive canine sont envisagés : la détection de maladies vénériennes, le virus Ebola, la grippe aviaire et les maladies dues aux tiques. Des chiens réussissent à détecter des infections causées par *Clostridium difficile* responsables de diarrhées. De nombreux maîtres de chiens racontent également que leur animal à quatre pattes réagit lorsqu'ils ont une crise d'épilepsie, une migraine, tombent enceintes ou vont s'évanouir, *etc* (101).

IV. LES NEZ ELECTRONIQUES

L'objectif des scientifiques est désormais d'identifier avec précision les molécules responsables de la signature olfactive du cancer, puis de remplacer le chien par la technologie : des nez électroniques. Le but est donc l'identification des biomarqueurs volatils spécifiques afin de s'affranchir des limites des modèles animaux. « Mais les scientifiques se sont cassés le nez sur le bigdata canin ! » Ils n'ont pas encore réussi à élaborer des machines atteignant le niveau de complexité et de performance du couple nez / cerveau d'un chien mais ils s'en rapprochent. En effet, l'odorat du chien ne se résume pas qu'à la détection des molécules odorantes. Son système olfactif analyse des centaines de milliers de molécules odorantes et son diagnostic repose sur l'interprétation simultanée de ces millions de données dans des zones spécifiques de son cerveau.

Ces nez électroniques seraient des machines capables de doser ces molécules dans l'haleine et les fluides corporels : le sang et les urines. Plusieurs équipes travaillent actuellement afin de développer des nez artificiels capables de déceler ces cocktails de composés organiques volatils. La conception de nez électroniques pourrait être l'avenir du dépistage du cancer.

LE PRINCIPE D'UN NEZ ELECTRONIQUE EN CLINIQUE :

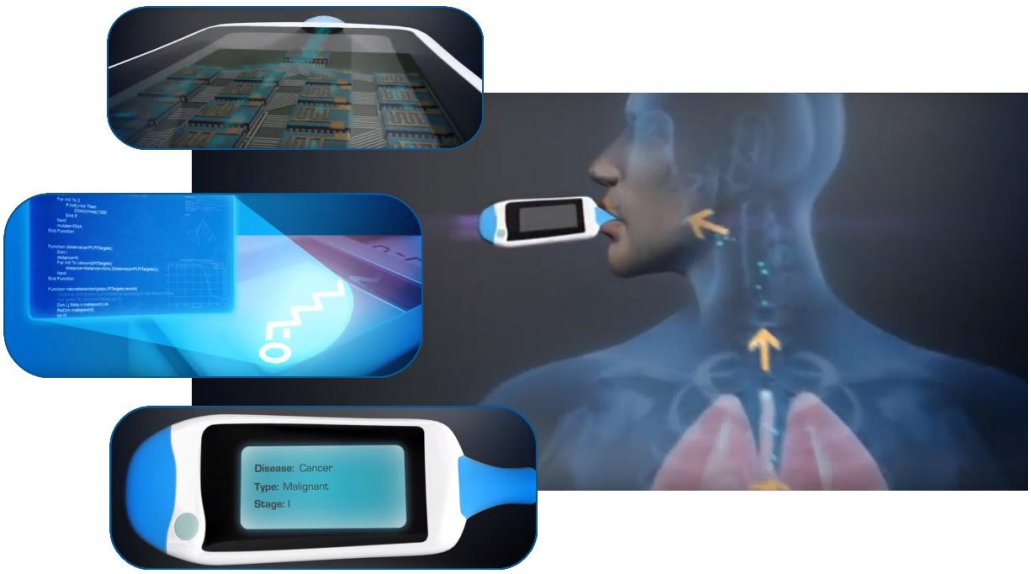

Figure 63 : Le principe d'un capteur électronique d'haleine (160)

C'est un dispositif de dépistage par la prise d'haleine dont le principe est proche de l'éthylotest : le patient souffle dans un petit appareil électronique. Dès que nous soufflons, le système identifie et mesure immédiatement les concentrations de plus d'une centaine de composants organiques volatils (COV) présents dans notre haleine puis affiche instantanément la présence ou non d'une pathologie (160).

A. NaNose : le nez électronique qui détecte et différencie 17 pathologies, de l'Institut Israëlien Technion

Depuis 2007, Hossam Haïk travaille sur l'élaboration de NaNose : un nez électronique. Pour cela, il s'inspire du système olfactif canin et particulièrement de leurs récepteurs olfactifs ainsi que leur zone olfactive cérébrale. Le but est de les imiter de manière électrique en utilisant la nanotechnologie. Le dispositif ultime est connu sous le nom de Nano-Artificial Nose : le NaNose (170).

Les objectifs sont d'élaborer une technique de dépistage bien plus précoce que celles actuelles afin de dépister le cancer avant même que le moindre symptôme ne soit ressenti par le patient permettant ainsi la mise en place de traitements plus précoces mais aussi une méthode de diagnostic et de suivi :

- ✓ moins invasive puisque l'haleine est très facilement (non invasivement) accessible,
- ✓ moins coûteuse,
- ✓ plus rapide,
- ✓ simple d'utilisation,
- ✓ miniaturisée (étant moins encombrant qu'un scanner, le nez artificiel ne requiert pas de grande structure et permettrait un meilleur accès aux soins),
- ✓ et facilement reproductible ayant peu ou pas d'impact sur l'activité quotidienne des potentiels malades (170,171).

Selon le Professeur Hossam Haïk, chercheur à l'Institut Technion en Israël : « Nous travaillons dur afin de rendre l'appareil peu coûteux, nous espérons le porter à quelques centaines de dollars. Ensuite, il peut être fourni non seulement aux hôpitaux, mais aussi aux médecins de famille et aux pharmacies où les tests peuvent faire partie des examens de routine » et les chercheurs songent aussi à ce que le NaNose soit ultérieurement intégré ou relié à nos smartphones. Le Pr Haïk précise que « très sensible, ce capteur pourrait à terme se substituer à des examens invasifs, risqués et coûteux que les patients doivent aujourd'hui subir » (170,172).

1. La conception du NaNose

Le NaNose artificiellement intelligent est basé sur des couches de nanoparticules d'or et un réseau de nanotubes de carbone à paroi unique. Ces nanomatériaux inorganiques assurent la conductivité électrique. Nous avons aussi une couche de nanomatériaux organiques composée de capteurs qui permettent la détection et la reconnaissance des composés organiques volatils (COV). Durant l'exposition aux échantillons d'haleine : l'interaction entre les COV et la couche organique modifie la résistance électrique des capteurs. La résistance électrique est mesurée pour chaque COV au début, au milieu et à la fin de l'exposition. Les capteurs ont été choisis en fonction des COV pré-identifiés (partie IV : effluves). C'est la grande diversité des capteurs qui fait la richesse du NaNose, réagissant tous différemment aux COV présents dans l'haleine créant de nombreuses empreintes uniques résultant des

changements électriques. La sélection des nanomatériaux inorganiques conducteurs et des couches organiques pourrait à l'avenir être adaptée selon l'application clinique souhaitée (171).

Chaque capteur répond à une variété de COV permettant de détecter et d'analyser individuellement les COV contenus dans les échantillons d'haleine. Le concept du nez artificiellement intelligent repose sur la capacité de chaque capteur à détecter tout ou une partie des composés organiques volatils des échantillons d'haleine. Bien que l'ensemble des capteurs puisse avoir une sensibilité à un COV inférieure comparée à un capteur spécifique pris individuellement, l'ensemble polyvalent des COV permet d'analyser un mélange complexe de COV (171).

2. Les performances du NaNose évaluées sur 17 maladies

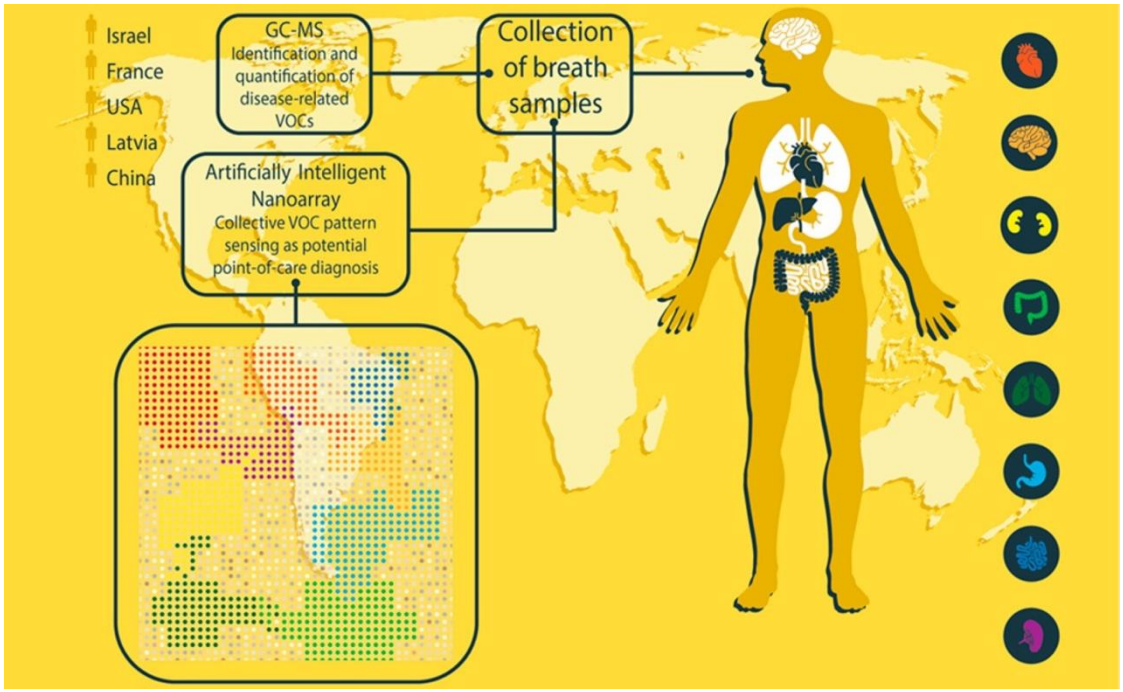

Figure 64 : Les échantillons d'haleine ont été collectés dans 14 services au sein de 9 centres cliniques, dans 5 pays différents : Israël, France, États-Unis, Lettonie et Chine (171)

Les performances du NaNose ont été évaluées sur des échantillons d'haleine prélevés chez 1 404 sujets : 591 témoins sains et 813 patients présentant l'une des 17 maladies (classées en trois catégories : cancéreuses, inflammatoires et neurologiques) incluses dans l'étude :

- cancer du poumon, n = 45,
- cancer colorectal, n = 71,
- cancer de la tête et du cou, n = 22,
- cancer de l'ovaire, n = 48,
- cancer de la vessie, n = 73,
- cancer de la prostate, n = 11,
- cancer du rein, n = 33,

- cancer gastrique, n = 99,
- maladie de Crohn, n = 41,
- rectocolite hémorragique (ou colite ulcéreuse), n = 37,
- syndrome du côlon irritable, n = 27,
- maladie de Parkinson idiopathique, n = 44,
- maladie de Parkinson atypique, n = 16,
- sclérose en plaques, n = 118,
- hypertension pulmonaire, n = 22,
- pré-éclampsie, n = 24,
- maladie rénale chronique, n = 82 (171).

Au total, ce sont 2 808 échantillons qui ont été prélevés chez 1 404 sujets : 2 échantillons d'haleine ont été recueillis pour chaque sujet. En effet, pour comprendre les résultats du NaNose, tous les échantillons d'haleine ont été analysés par une technologie indépendante : la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS). La GC-MS identifie et quantifie les COV de l'haleine (171).

Les effets des facteurs démographiques et environnementaux primaires (âge, sexe, tabagisme, localisation géographique) sur le diagnostic et la classification des maladies ont été étudiés. L'âge moyen du groupe des 813 patients atteints par l'une des 17 maladies était de 55 +/- 10 ans, constitué de 423 (52%) hommes et 390 (48%) femmes et parmi eux 296 (36%) étaient des fumeurs actifs (les deux sexes confondus). Au sein des 591 témoins sains, 257 (43%) étaient des hommes, 134 (23%) étaient des fumeurs actifs et l'âge moyen était de 52 +/- 8 ans (171).

3. Les performances du NaNose pour la différenciation des pathologies

Les chercheurs ont attiré leur attention sur d'éventuels facteurs cliniques de confusion empêchant un bon diagnostic ou une bonne classification des maladies. Ils ont constitué des « paires de maladies » qui présentent une corrélation clinique entre elles : par exemple le cancer du poumon et l'hypertension artérielle pulmonaire ; le cancer colorectal et la maladie de Crohn. Ces « paires de maladies » ont servi de modèle pour évaluer la performance du NaNose dans le diagnostic de maladies présentant des facteurs cliniques de confusion (171).

Parfois, la discrimination entre deux maladies était très satisfaisante : > 90% pour la différenciation entre le cancer du poumon et le cancer de la tête et du cou ; entre 81 et 90% pour le cancer du poumon et l'hypertension artérielle pulmonaire ; entre 71 et 80% pour le cancer colorectal et la maladie de Crohn. Le NaNose a cependant moins bien différencié d'autres « paires de maladies » avec une sensibilité comprise entre 61 et 70% pour le cancer gastrique et le cancer de la vessie ; la maladie de Parkinson idiopathique et la maladie de Parkinson atypique (figure 65) (171).

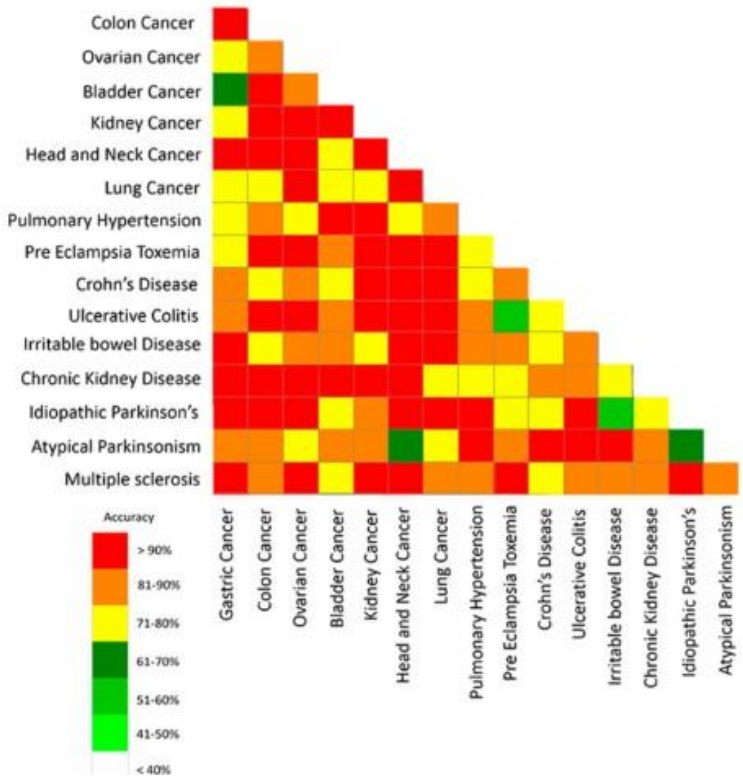

Figure 65 : Les résultats du NaNose dans la discrimination des "paires de maladies" (171)

4. L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

Le second échantillon prélevé pour chaque sujet (malades et sains) a été analysé par GC-MS afin d'identifier et de quantifier les COV spécifiques associés à un état pathologique (171).

Une régression linéaire a été effectuée afin d'explorer d'éventuelles corrélations entre les COV et les co-variables suivantes : âge, sexe, lieu, tabagisme. 15 COV présentent une corrélation négative avec l'âge et le tabagisme. 3 COV semblent liés au sexe : isononane, nonanal et undécane. Ces variations s'expliqueraient par des changements anatomiques et physiologiques dans le système respiratoire associés au vieillissement et/ou au tabagisme. Ces modifications pourraient affecter la diffusion des COV à travers la barrière hémato-sanguine en modifiant l'épaisseur impactant la perméabilité de l'épithélium (171).

Afin d'interpréter les résultats finaux, ces COV corrélés à une co-variable ont été ajustés par un coefficient. Après ces ajustements, 13 COV communs aux 17 maladies apparaissent en quantités significativement différentes : 2-éthylhexanol, 3-méthylhexane, 5-éthyl-3-méthyloctane, acétone, éthanol, acétate d'éthyle, éthylbenzène, isononane, isoprène, nonanal, styrène, toluène et undécane (171).

Dans la maladie de Crohn, le syndrome du côlon irritable et la pré-éclampsie : le nonanal est significativement plus faible que dans les autres maladies (figure 66 (a)). Dans les cancers du poumon et de l'ovaire : l'undecane est nettement plus élevé que dans la majorité des autres pathologies, sauf dans la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique où il est

significativement plus faible (figure 66 (b)). L'isononane est significativement augmenté chez les patients atteints de la maladie de Parkinson idiopathique, maladie de Parkinson atypique, rectocolite hémorragique et pré-éclampsie que dans toutes les autres maladies (figure 66 (c)). Des observations similaires ont été notées pour chacun des 10 autres COV mais non précisées dans la publication (171).

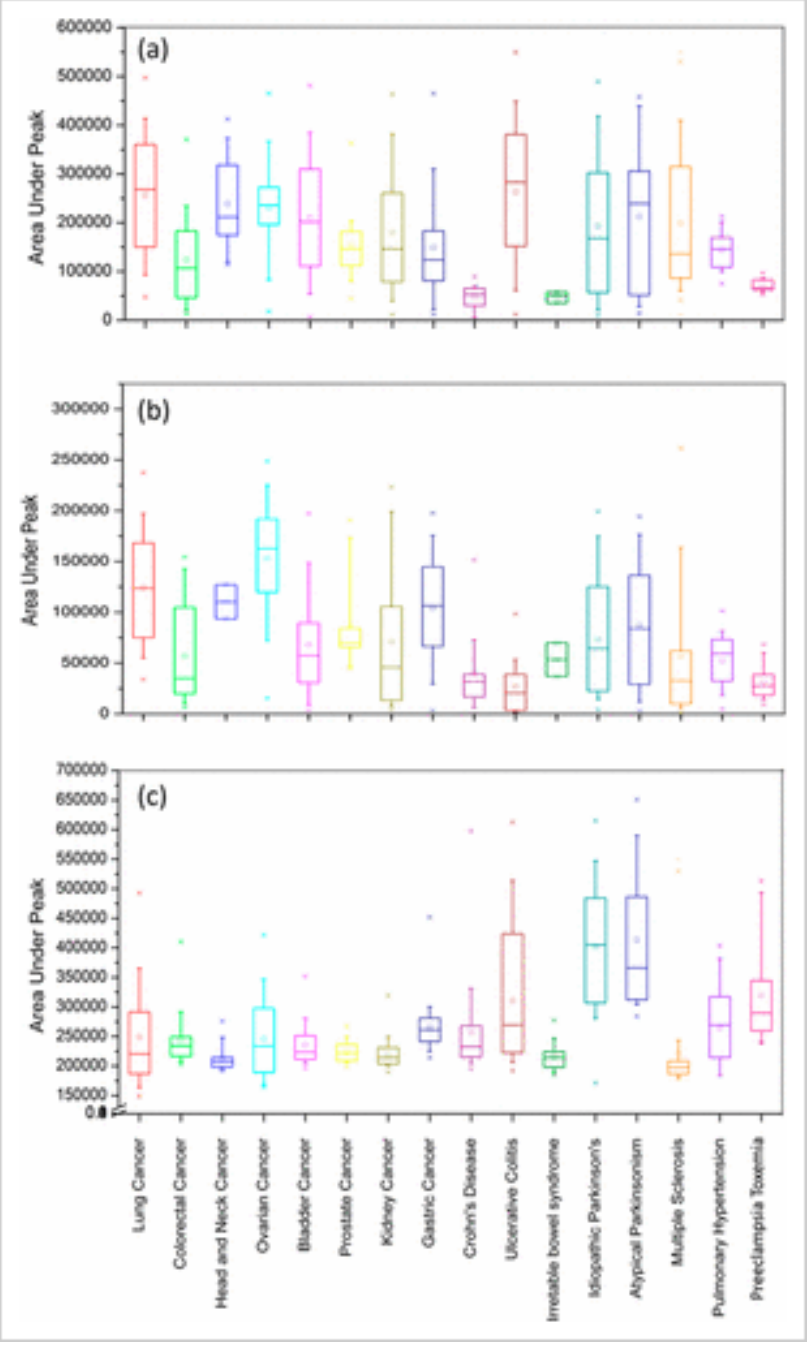

Figure 66 : L'analyse par GC-MS de 3 COV : (a) nonanal – (b) undecane – (c) isononane. Les points représentent les valeurs minimales et maximales obtenues

5. Les résultats et l'interprétation

D'après l'analyse GC-MS des échantillons d'haleine, il est presque impossible de distinguer un COV unique et donc spécifique d'une maladie. Aucun COV ne peut déterminer un état

pathologique à lui seul. C'est plutôt l'hypothèse d'une combinaison de COV unique pour une pathologie qui est adoptée. Ces 13 COV pourraient générer des milliers de combinaisons possibles dans lesquelles chaque combinaison serait spécifique et pourrait différencier deux maladies (171).

Néanmoins, il existe également des variations intra-individuelles dans la composition en COV de l'haleine des sujets sains bien que ces différences soient plus évidentes et remarquables chez les patients malades. Donc, malgré les différences de COV intra-individuelles, chaque maladie présente une composition de COV distinctes des sujets contrôles (171).

Pour les échantillons d'haleine des 1404 personnes recueillis puis soumis au nez électronique, le NaNose détecte la présence de 17 pathologies différentes avec un taux de précision de 86% permettant à la fois la détection et la discrimination des différentes maladies. Le NaNose montre que chaque maladie a sa propre « haleine » et que la présence d'une maladie n'élimine pas les autres. Les facteurs démographiques et environnementaux primaires (âge, sexe, tabagisme, localisation géographique) n'ont pas significativement impacté les résultats du NaNose. Les diagnostics et les classifications du NaNose ont été validés par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Seuls 13 COV présents dans l'haleine ont été associés aux maladies dont la combinaison au sein de l'haleine semble différer selon chaque maladie. Il serait intéressant de connaître de façon extrêmement précise la composition de ces combinaisons que nous pourrions entrer dans une base de données afin d'être la plus précise possible en terme de diagnostic (171).

Ces résultats pourraient être améliorés en utilisant des capteurs sur mesure, plus sensibles aux profils de COV spécifiques. Un nez artificiellement intelligent doit être de plus en plus formé à l'aide d'échantillons cliniques connus pour constituer une base de données de référence cohérente et fiable. Il peut alors reconnaître de nouveaux échantillons en comparant les profils de COV liés à la maladie à ceux déjà présents dans sa base de données. Le fait d'être atteint d'une maladie n'élimine pas une autre : NaNose est capable de détecter plusieurs maladies et de déterminer le stade de chacune (171).

6. Conclusion

C'est un résultat très encourageant, même si d'autres tests doivent encore être effectués avant que ce nez électronique puisse être utilisé par les médecins. NaNose pourrait fournir une technique de dépistage précoce similaire à celui de la tomodensitométrie à un coût beaucoup moins élevé, avec moins de faux positifs, ultraminiaturisé. Les résultats seraient également disponibles presque immédiatement et ne nécessiteraient pas de médecin spécialisé pour faire fonctionner l'appareil ou interpréter les résultats.

B. La conception d'un nez artificiellement intelligent selon l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA)

Selon Edith Pajot-Augy, directrice de l'unité neurobiologie de l'olfaction de l'Institut National de Recherche Agronomique (INRA), cet outil de dépistage pourrait surpasser les technologies israéliennes purement électroniques : « La sensibilité des nez électroniques peut s'avérer insuffisante par rapport à l'olfaction animale, par nature, la plus performante ». Pour l'heure, ses travaux se cantonnent à la recherche fondamentale, car les financements nécessaires pour tester ce nez bio-électronique sont difficiles à trouver (173).

Comme nous l'avons explicité lors de la première partie, les molécules odorantes (MO) activent les récepteurs olfactifs (RO) qui sont des protéines situées à la membranes des cils olfactifs portés par les neurones olfactifs (NO) que nous retrouvons dans l'épithélium des fosses nasales (173).

Si les scientifiques réussissent à identifier avec précision les COV responsables de la signature olfactive du cancer, les chercheurs de l'INRA pourront identifier les RO à utiliser dans le nez bio-électronique afin de détecter cette signature olfactive spécifique (173).

Edith Pajot isole des cellules olfactives issues du museau du rat et les place en présence de l'odeur d'intérêt du cancer. Les molécules odorantes balayent ces cellules olfactives et leur réponse est suivie à l'écran. Le but est de repérer un flash lumineux qui indique quelles cellules olfactives portent les RO d'intérêt qui répondent aux molécules odorantes. Après l'identification de ces RO, les chercheurs expriment les RO dans des levures grâce à des techniques de biologie moléculaire. Après quelques jours, les levures portant les RO sont obtenues. C'est ensuite l'étape de conception du nez bio-électronique. Les RO sont greffés sur des microdiamants (figure 67 (A)) qui sont placés sur des électrodes en forme de micro-levier (figure 67 (B)). Les RO déposés sur le micro-levier vibrent à une fréquence de base. Ensuite, des molécules odorantes passent devant ces RO et lorsque ces RO captent des odeurs, cela change la fréquence de résonnance (figure 67 (C)). C'est le changement de fréquence de vibration du micro-levier qui signe la présence de l'odeur spécifique du cancer (173).

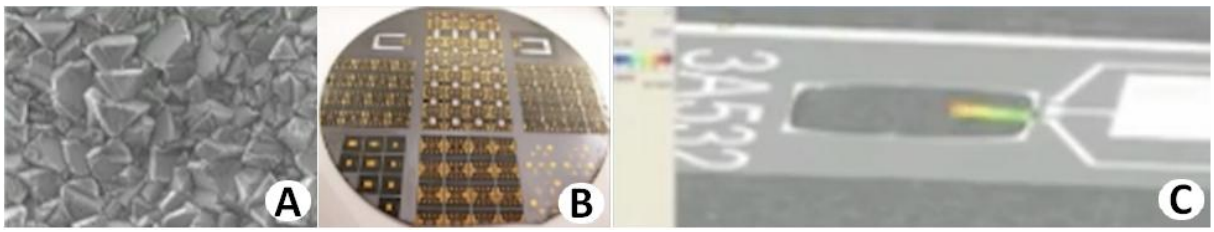

Figure 67 : La conception d'un nez artificiellement intelligent selon l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) (173)

Cette technologie constitue peut-être le nez bio-électronique de demain qui est inspiré du système olfactif animal et rendu lisible par une fréquence électronique (173).

C. ChemPro 100-eNose : le nez électronique qui détecte le cancer de la prostate, de l'Hôpital Universitaire Tampere en Finlande

Ce nez électronique développé à l'hôpital universitaire de Tampere en Finlande a été conçu afin de différencier le cancer de la prostate de l'hypertrophie bénigne de la prostate (HBP) au sein d'échantillons d'urine. Il est inspiré d'un dispositif utilisé par l'armée finlandaise pour repérer la présence d'armes chimiques (174).

Afin d'évaluer ses performances, le ChemPro 100-eNose a été testé sur 74 échantillons d'urine :

- 50 échantillons d'urine de patients atteints d'un cancer de la prostate confirmé par une biopsie, recueillis avant une opération radicale laparoscopique assistée par robot,
- 24 échantillons d'urine de patients présentant une HBP dont :
  - 15 échantillons prélevés en pré-opératoire,
  - 9 échantillons recueillis 3 mois après une opération de résection transurétrale de la prostate afin d'être utilisés comme population témoin (174).

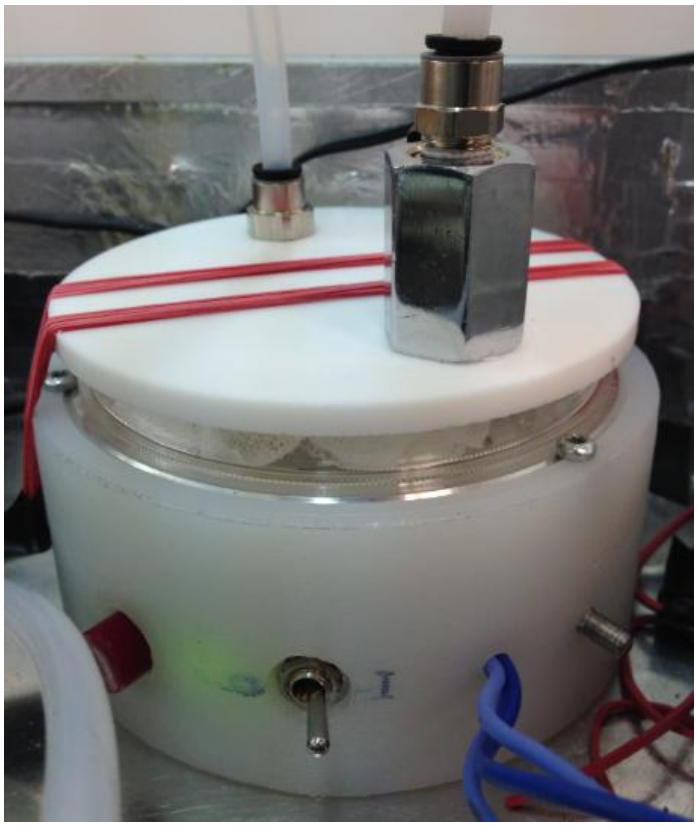

Figure 68 : Le nez électronique ChemPro 100-eNose (127)

Le ChemPro 100-eNose a obtenu une sensibilité de 78% et une spécificité de 67%. Bien que ces résultats soient inférieurs aux 91% de sensibilité et de spécificité obtenus par le Berger Belge Malinois de Jean-Nicolas Cornu, ce nez électronique conçu par cette équipe finlandaise fait un premier pas vers les nez électroniques capables d'analyser olfactivement l'urine et de différencier rapidement et de manière non invasive le cancer de la prostate de l'HBP (174).

D. BreathLink : le nez électronique qui détecte le cancer du sein, de la société Menssana, New Jersey aux États-Unis

BreathLink est un nez électronique conçu par la société Menssana, spécialisée dans les tests respiratoires. A l'origine fabriqué pour le diagnostic olfactif de la tuberculose pulmonaire, il est maintenant capable d'identifier, grâce à un échantillon d'haleine, le rejet de greffe cardiaque, la grippe virale, le cancer du poumon et le cancer du sein. Le système BreathLink possède un marquage CE en Europe (175).

1. Le principe du BreathLink

Le sujet respire dans le dispositif BreathLink durant deux minutes et ses COV sont collectés et analysés par une chromatographie en phase gazeuse associée à un détecteur d'ondes acoustiques de surface (GC-SAW : gas chromatography with a Surface Acoustic Wave) capable de détection des molécules de l'ordre du picomolaire. BreathLink peut être utilisé partout dans le monde avec une connexion Internet : le profil des COV est obtenu et téléchargé vers un laboratoire central où le chromatogramme est analysé et comparé aux profils d'algorithmes standards du cancer du sein disponibles dans des bases de données américaines. La durée totale entre le prélèvement d'haleine et l'obtention des résultats par GC-SAW est de 6 minutes (141,175).

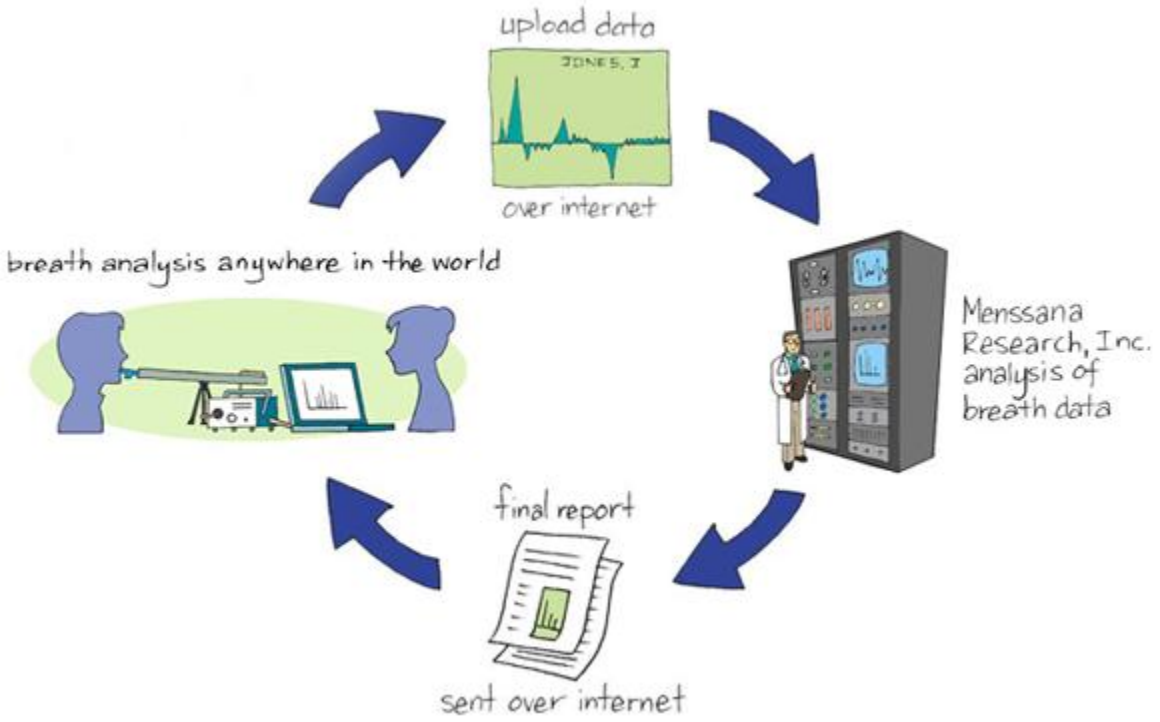

Figure 69 : Le nez électronique BreathLink conçu par la société Menssana (New Jersey, aux États-Unis) (175)

Le système BreathLink est composé d'un pince-nez et d'un réservoir d'haleine doté d'un filtre microbien d'une efficacité validée à 99,9% pour les bactéries et à 99,8% pour les virus.

2. Les performances du BreathLink testées sur 244 femmes

En 2014, BreathLink est testé sur 244 femmes venant réaliser une mammographie de dépistage ou une biopsie mammaire suite à une mammographie anormale, parmi elles nous distinguons deux groupes : (141)

- 130 femmes en bonne santé venant réaliser une mammographie de dépistage. Ce sont des femmes de > 18 ans et n'ayant aucun antécédent connu de cancer (du sein ou d'une autre localisation). Leurs résultats sont :
  - 93 mammographies normales,
  - 37 mammographies anormales.
- 114 femmes orientées vers la réalisation d'une biopsie en raison d'une mammographie anormale. Leurs résultats sont :
  - 35 biopsies positives = cancer du sein,
  - 79 biopsies négatives = patiente saine.

Chaque femme réalise le test BreathLink où son haleine est recueillie pendant 2 minutes. Lors de chaque prélèvement, un système recueille l'air ambiant afin de corriger une éventuelle contamination de l'haleine par celui-ci (141).

Les performances du BreathLink ont été évaluées dans 3 groupes pour lesquels le BreathLink a établi des profils de COV qu'il a comparé entre eux afin d'enrichir une base de données d'un profil idéal de COV représentatif du cancer du sein. 10 biomarqueurs significatifs ont été détectés pour chacun des 3 groupes de comparaison. En n'utilisant que ces 10 biomarqueurs, le BreathLink obtient les résultats suivants : (141)

- 1° groupe : comparaison entre l'haleine des femmes saines dont la mammographie est normale versus l'haleine des patientes présentant une biopsie positive et donc un diagnostic formel du cancer du sein :
  - une sensibilité de 81,8%
  - et une spécificité de 70,0%.
- 2° groupe : comparaison entre l'haleine des femmes saines dont la mammographie est normale versus l'haleine des patientes ayant une mammographie anormale :
  - une sensibilité de 86,5%
  - et une spécificité de 66,7%.
- 3° groupe : comparaison entre l'haleine des patientes présentant une biopsie positive et donc un diagnostic formel du cancer du sein versus les femmes dont la biopsie est négative :
  - une sensibilité de 75,8%
  - et une spécificité de 74,0%.

Cette étude testait donc l'hypothèse selon laquelle le BreathLink : un test respiratoire rapide, réalisable en simple consultation pourrait détecter les biomarqueurs contenus dans l'haleine du cancer du sein. Au total, le nez électronique a détecté 81,8% des femmes atteintes du cancer du sein et correctement distingué 86,5% des mammographies normales

et anormales ainsi que 75,8% des femmes atteintes ayant réalisé une biopsie suite à une mammographie anormale (141).

Les analyses d'haleine modernes utilisent des technologies capables de détecter plus de 2 000 COV différents dans un seul échantillon d'haleine. C'est donc un outil très puissant pour la découverte et l'identification des biomarqueurs. Mais cela s'accompagne d'un risque statistique accru d'une identification erronée de biomarqueurs parasites parmi un grand nombre de candidats. Pour minimiser ce problème, un algorithme prédictif multi varié doit d'abord être dérivé dans un ensemble d'études afin d'utiliser que des biomarqueurs identifiés avec une signification statistique élevée (141).

Plusieurs études ont été réalisées depuis, où le BreathLink est testé sur des panels d'échantillons d'haleine de patientes atteintes d'un cancer du sein en comparaison avec une base de données actualisée des COV établis comme étant les potentiels biomarqueurs du cancer du sein.

3. « *Prediction of breast cancer risk with volatile biomarkers in breath* », juillet 2018

C'est le dernier essai en date : le Dr Philipps et son équipe ont comparé l'haleine de 54 patientes dont un cancer du sein a été confirmé par la biopsie versus 120 échantillons sains. Tous ont été comparés à la base de données actualisée en biomarqueurs volatils du cancer du sein. La sensibilité obtenue est de 86% et la spécificité de 74% (176).

BreathLink est actuellement en cours d'évaluation visant à obtenir l'approbation de la FDA (Food and Drug Administration ou Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux qui autorise la commercialisation des médicaments sur le territoire américain) pour la détection précoce du cancer du sein, financée par le National Cancer Institute. Cette étude multicentrique « a prospective validation study of a rapid point-of-care breath test for breast cancer » est réalisée en double aveugle, lancée depuis le 1 avril 2017 et achevée depuis avril 2018 dont nous attendons la publication des résultats (175,177).

Aujourd'hui, il faut 300 mammographies de dépistage pour découvrir une femme atteinte d'un cancer du sein : le rendement est faible, très coûteux pour la société et expose de nombreuses femmes aux risques des rayonnements ionisants. Le Dr Philipps qui dirige le Menssana Research déclare que l'objectif n'est pas de supprimer les mammographies, « mais nous pourrions peut-être dire à une femme qu'elle n'en a pas besoin ». L'objectif est donc de réduire le nombre de mammographies inutiles sans perte de sensibilité diagnostique. La différence fondamentale entre le test respiratoire et la mammographie est qu'une mammographie détecte une anatomie altérée tandis que le nez électronique détecte une biochimie altérée (175,178).

E. Odoreader : le nez électronique qui détecte le cancer de la vessie, des Universités de Bristol & Liverpool et du Bristol Urological Institute

Odoreader est un nez électronique mis au point conjointement par les chercheurs de l'Université de l'Ouest de l'Angleterre à Bristol, l'Université de Liverpool et le Bristol Urological Institute (BUI) (179).

L'objectif d'Odoreader est le diagnostic précoce du cancer de la vessie grâce à l'analyse olfactive d'échantillons d'urines préalablement chauffés. Après avoir inséré une bouteille contenant l'échantillon d'urine, l'appareil établit un profil des COV présents dans l'urine afin de déterminer la présence ou non de cellules cancéreuses vésicales. Odoreader affiche le diagnostic sur un écran en une trentaine de minutes. Très simple d'utilisation, ce système de dépistage pourrait être réalisé par tout médecin sans nécessiter de spécialiste (179).

Les capacités de dépistage d'Odoreader ont été testées sur 98 échantillons d'urines : (179)

- 24 urines issues de patients atteints d'un cancer de la vessie,
- 74 échantillons urinaires de sujets sains ou présentant des troubles urologiques mais non cancéreux.

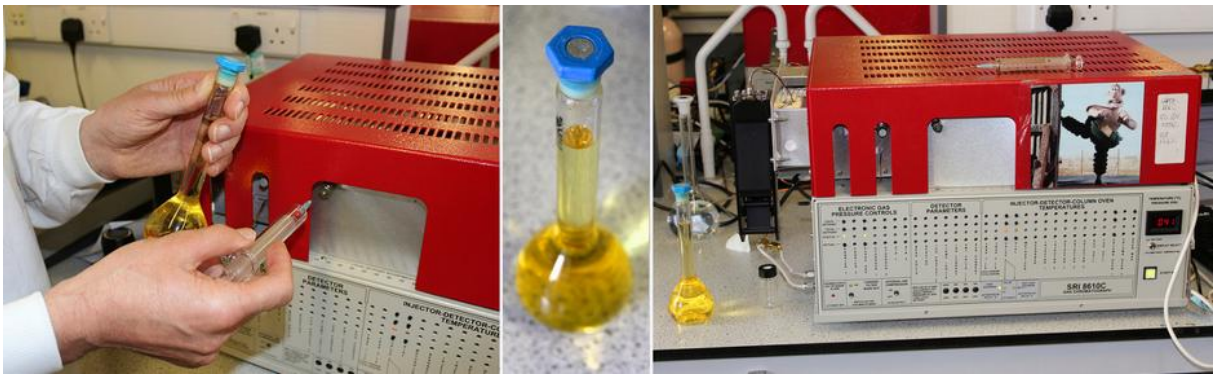

Figure 70 : Odoreader : le nez électronique qui détecte le cancer de la vessie développé par les Universités de Bristol et de Liverpool et le Bristol Urological Institute (179)

Odoreader a diagnostiqué les échantillons d'urines cancéreuses avec 100% de réussite (179)!

Ces résultats sont très encourageants pour le développement de nouveaux outils diagnostiques du cancer de la vessie. Il faudrait maintenant tester Odoreader sur un grand nombre d'échantillons de patients avant de pouvoir l'utiliser en clinique (179).

Afin de progresser dans le perfectionnement des nez artificiels, les chercheurs ont de nombreux projets. C'est le cas de Martin Strauch de l'Université de Konstanz en Allemagne, qui a observé que l'odeur d'échantillons cancéreux provoque une activité particulière sur les antennes des mouches. Il espère réussir à identifier les récepteurs présents sur ces antennes qui répondent aux odeurs cancéreuses, afin de les ré exprimer dans un nez électronique grâce à la biologie moléculaire (180).

D'autres nez électroniques ont été conçus pour le dépistage du cancer mais aussi pour une abondance de secteurs de la santé : l'identification d'agents pathogènes (bactéries : *Staphylococcus aureus* par le nez électronique Cyranose 320 (Dutta R. et *al.* 2005) ; l'analyse de la pureté des médicaments (Wilson A.D et *al*. 2009) ; suivre les progrès de la guérison dans le domaine de la cicatrisation des plaies et des greffes (Walburn J. et *al.* 2009 ; Rimdeika R. et *al.* 2008) ; dysfonctionnement d'organe comme la perte de l'audition (Hong E.-P. et *al.* 2009) ; surveillance du diabète (Lee J. et *al.* 2009), *etc*. Le nez électronique aurait également de nombreuses applications hors médicales : dangers environnementaux (exposition à certains toxiques) ; détection de l'ingestion d'alcool, de drogue et de métaux lourds (Zhang Z. et *al.* 2010 ; Mattoli V. et *al.* 2007) ; la contamination alimentaire (Arora K. et *al*. 2006), *etc*. (181).

F. Comparaison des performances olfactives canines et des nez électroniques

Pour l'instant, le nez électronique serait plus performant que les capacités olfactives canines pour dépister le cancer de la vessie. Inversement, la truffe canine serait plus efficace que la technologie pour diagnostiquer les cancers des ovaires, du sein, du poumon et de la prostate :

Tableau 19 : Un tableau comparant les performances olfactives canines et celles des nez électroniques

Type de cancer	Résultats obtenus par le système olfactif canin	Résultats obtenus par les nez électroniques
Vessie	Willis et *al*. 2004, sensibilité de 41%	Odoreader : sensibilité de 100%
Sein	KDOG : sensibilité de 100% McCulloch et *al*. 2006, sensibilité de 88% et spécificité de 98%	BreathLink : sensibilité de 86% et spécificité de 74%
Prostate	Cornu et *al*. 2011, sensibilité de 91% et spécificité de 91%	ChemPro 100-eNose : sensibilité de 78% et spécificité de 67%

G. Les avantages des nez électroniques

Les avantages des nez électroniques seraient multiples. Ils offriraient une méthode de dépistage :

- ✓ fiable,
- ✓ peu coûteuse,
- ✓ simple d'utilisation : les patients auraient juste à respirer dans un petit dispositif ou réaliser un prélèvement d'urine par exemple, ce qui aurait moins d'impact sur leur quotidien (pas de rendez-vous longs et difficiles à obtenir),
- ✓ précoce : permettant de détecter le cancer plus tôt que les méthodes actuelles,

- ✓ rapide : les résultats seraient disponibles rapidement voire interprétés directement par la machine (ou même consultables sur les téléphones), ne nécessitant pas de spécialiste : chaque professionnel de santé orienterait ou non le patient selon les besoins,
- ✓ non invasive : grâce à l'analyse de milieux facilement accessibles (haleine, urine) en grande quantité,
- ✓ miniaturisée : moins encombrante que certaines technologies imposantes, le nez artificiel ne requiererait pas de grande structure et permettrait ainsi un meilleur accès aux soins.

Les nez électroniques équipés de capteurs biologiques issus de la combinaison de l'olfaction artificielle et biologique, pourraient à l'avenir élargir le répertoire des diagnostics cliniques. Mais pour l'heure, cette technologie est encore à l'essai. Il faudra sûrement plusieurs années avant qu'elle ne soit utilisée dans la pratique clinique. De plus, les nez olfactifs artificiels ne pourront être performants et fiables que lorsque les biomarqueurs responsables de la signature olfactive spécifique pour chacun des cancers auront été identifiés et cela dépendra également de l'avancée d'autres projets sur le diagnostic du cancer (les cellules circulantes, par exemple).

H. Les défis à accomplir et les perspectives d'avenir

Si des combinaisons de COV ont été mises en évidence comme responsables de la signature olfactive spécifique du cancer, elles ne sont pas encore suffisamment justes et précises pour être utilisées en clinique comme une nouvelle méthode de diagnostic. A l'avenir, une identification plus exacte des COV comme étant réellement les biomarqueurs volatils du cancer est indispensable.

Les nez artificiels dépistent le cancer mais certains facteurs de confusion abaissent la fiabilité de dépistage de ces machines. Tous les individus ne pourraient pas pour l'instant être dépistés par un nez électronique, tels que les fumeurs ou les patients ayant un antécédent de pathologie maligne, par exemple. A l'avenir, détecterons-nous le cancer grâce à des nez électroniques ? Sans doute, mais pour y parvenir il est d'abord indispensable d'identifier de façon très précise les combinaisons spécifiques des COV responsables de l'empreinte olfactive du cancer que les chiens détectent, afin de développer un capteur intelligent de détection olfactive du cancer : précoce, fiable, peu coûteux, rapide, simple d'utilisation et miniaturisé, qui pourrait se substituer au jugement de l'odeur canine.

Des méthodes de prélèvement, de stockage et de conservation des échantillons en vue d'être analysés pour diagnostiquer le cancer doivent être précisément établies.

CONCLUSION

OUI, le cancer a une odeur. Etude après étude, les scientifiques ont apporté la preuve qu'un chien bien entraîné est capable de dépister le cancer grâce à son odorat avec une extrême précision. Des chiens ont été capables de dépister le mélanome (Pickel D. et *al.,* 2004 ; Campbell LF. et *al.,* 2013), le cancer de la vessie (Willis C. et *al.,* 2004), le cancer du poumon (McCulloch M. et *al.,* 2006 ; Ehmann et *al.,* 2012 ; Buvik T. et *al.,* 2014), le cancer des ovaires (Horvath G. et *al.,* 2008 ; 2010), le cancer colorectal (Sonoda H. et *al.,* 2011), le cancer de la prostate (Cornu J-N. et *al.,* 2011 ; Taverna G. et *al.,* 2015), le cancer du sein (projet KDOG) et le cancer de la thyroïde.

Une signature olfactive spécifique du cancer permet de le détecter et ainsi de le diagnostiquer. De nombreux chercheurs se sont penchés sur l'identification des molécules (composés organiques volatils, COV) responsables de cette empreinte olfactive. Nous parlons de biomarqueurs volatils. Mais après de multiples analyses grâce à des technologies très performantes, il apparaît en réalité impossible de distinguer seulement un unique COV caractéristique d'une pathologie. C'est plutôt l'hypothèse d'une combinaison unique de COV spécifique pour chaque cancer qui est adoptée. C'est donc un ensemble moléculaire dans lequel chaque composé est présent dans une certaine concentration, qui est perçu et analysé par le chien. Les technologies de chimie analytique sont très performantes mais ne sont pas suffisantes pour dépister le cancer. Il faut concevoir des nez artificiellement intelligents.

En comparaison à nos méthodes de dépistage actuelles, la détection olfactive du cancer serait une méthode de détection très précoce, fiable, peu coûteuse, rapide, simple, non douloureuse, non invasive et particulièrement intéressante chez les enfants. Depuis 2010, le cancer est la première cause de mortalité en France et une méthode de dépistage réunissant tous ces avantages est vivement souhaitée.

L'objectif à terme est de remplacer les canidés par la technologie : des nez artificiellement intelligents. De nombreuses équipes travaillent sur le développement de nez électroniques capables de déceler des cocktails d'odeurs à partir d'échantillons facilement prélevés chez les patients : urine, haleine, sang. C'est d'ailleurs l'objectif de KDOG2 qui se lance dans une étude parallèle à leur première étude clinique. Plusieurs nez électroniques ont déjà été conçus, mais pour l'instant la machine s'est avérée être moins performante que les chiens et n'égale pas encore leurs capacités d'analyses et d'interprétations olfactives. Il est néanmoins très probable qu'en élargissant la base des données des COV détectés et le développement de l'intelligence artificielle, les nez électroniques deviennent un outil diagnostic de choix dans les années à venir.

LISTE DES ABREVIATIONS

AA : Acides aminés

AC : Adénylate cyclase

ADN : Acide désoxyribonucléique

AMPc : Adénosine 3',5'-monophosphate cyclique

ATP : Adénosine triphosphate

AVC : Accident vasculaire cérébral

BA : Berger Allemand

BBM : Berger Belge Malinois

BOA : Bulbe olfactif accessoire

BPCO : Bronchopneumopathie chronique obstructive

CACIB : Certificat d'Aptitude au Championnat International de Beauté

CBPC : Cancer bronchique à petites cellules

CBNPC : Cancer bronchique non à petites cellules

CEL : Cortex entorhinal latéral

CIRC : Centre international de Recherche sur le Cancer

CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité

CNRS : Centre National de la Recherche Scientifique

CNV : variations du nombre de copies (*ou copy number variations)*

CCR : Cancer colorectal

COV : Composés organiques volatils

ESPCI : Ecole supérieure de physique et de chimie industrielles de la ville de Paris

FCI : Fédération Cynologique Internationale

FPR : récepteurs à peptide formylé

GG : Ganglion de Grueneberg

HBP : Hypertrophie bénigne de la prostate

IP3 : inositol 1,4,5-triphosphate

IRCGN : Institut de recherche criminelle de la Gendarmerie nationale

kB : kilobase, 1 kB : 1 000 paires de bases

LOF : Livre des Origines Français

Marsupiaux : Lignée de mammifères allant du kangourou à l'opposum

MO : Molécule(s) odorante(s)

MUP : « *major urinary proteins* » : protéines urinaires majeures

NOA : noyau olfactif antérieur

NRO : neurones récepteurs olfactifs

OBP : odorant-binding-proteins

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ORL : oto-rhino-laryngologie

ORF : olfactif récepteur fermé

OS : organe septal

PBP : pheromon-binding-proteins

PIP2 : phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate

PLC : phospholipase C

PSA : antigène spécifique de la prostate

RAID : Recherche, Assistance, Intervention, Dissuasion

RCPG : récepteurs couplés à des protéines G

RO : récepteur(s) olfactif(s)

RSOS : recherche de sang occulte dans les selles

SCC : Société Centrale Canine

SNDV : Syndicat National des Dermatologues-Vénéréologues

SNC : Système nerveux central

SNP : Polymorphismes nucléotidiques simples *(ou single nucleotide polymorphism)*

TR : toucher rectal

VNO : organe voméro-nasal

BIBLIOGRAPHIE

1. Quignon P. Le modèle génétique canin : analyse du répertoire des récepteurs olfactifs et cartographie de gènes d'intérêt. [Rennes]: Rennes 1; 2003.

2. Dehasse J. Tout sur la psychologie du chien. Odile Jacob, 2009; 528 p.

3. Frowen D. L'encyclopédie pratique du chien. 1999. (Iain MacGrogor).

4. D'où vient le chien ? [Internet]. CNRS Le journal. [cité 16 févr 2018]. Disponible sur: https://lejournal.cnrs.fr/articles/dou-vient-le-chien

5. Les origines du chien : 12 000 ans en compagnie de l'homme - Domestication du chien - Wamiz [Internet]. [cité 16 févr 2018]. Disponible sur: https://wamiz.com/chiens/guide/origines-du-chien-12-000-ans-en-compagnie-de-l-homme-0002.html

6. Le Chien de Berger Allemand [Internet]. [cité 20 juin 2018]. Disponible sur: http://www.lebergerallemand.fr/

7. Fédération Cynologique Internationale [Internet]. [cité 20 juin 2018]. Disponible sur: http://www.fci.be/fr/

8. Larousse É. Définitions : cynologie - Dictionnaire de français Larousse [Internet]. [cité 17 févr 2018]. Disponible sur: http://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/cynologie/21372

9. SOCIETE CENTRALE CANINE | Société Centrale Canine [Internet]. [cité 20 juin 2018]. Disponible sur: https://www.centrale-canine.fr/

10. ETABLISSEMENTS D'UTILITE PUBLIQUE [Internet]. [cité 17 févr 2018]. Disponible sur: http://lexinter.net/CGI/etablissements_d'utilite_publique.htm

11. Accueil - Le Chien de Berger Malinois [Internet]. [cité 27 janv 2018]. Disponible sur: http://www.lemalinois.fr/

12. Standard FCI Berger Belge - Fiche 15 [Internet]. [cité 17 févr 2018]. Disponible sur: http://www.fci.be/Nomenclature/Standards/015g01-fr.pdf

13. Ring : programme des épreuves sportives pour chiens d'utilité [Internet]. [cité 17 févr 2018]. Disponible sur: http://www.chienplus.com/prescription-ring.htm

14. Palmarès Trophées des Chiens Héros.pdf [Internet]. [cité 25 févr 2018]. Disponible sur: https://www.centrale-canine.fr/sites/default/files/2017-12/DP%20Palmar%C3%A8s%20Troph%C3%A9es%20des%20Chiens%20H%C3%A9ros.pdf

15. SERIS et l'Institut Curie présentent Nykios, « Chien Héros » [Internet]. 2017 [cité 17 févr 2018]. Disponible sur: http://seris.fr/fr/seris-et-linstitut-curie-presentent-nykios-chien-heros

16. Institut Curie | KDOG Cancer Detect Group [Internet]. [cité 15 août 2018]. Disponible sur: https://kdog.curie.fr/

17. Cynothérapie [Internet]. [cité 2 mars 2018]. Disponible sur: https://www.formation-canine.be/formation-chien-6-6.html

18. Pôle de Psychiatrie Adulte Sud - ACTIVITE CYNO-THERAPEUTIQUE (A.C.T.) [Internet]. [cité 2 mars 2018]. Disponible sur: http://www.picardmed.com/etbs/chpinel/psychiatrie-adulte-sud%20(2).html

19. KAINOU 2018 Artmajeur Galerie d'Art en ligne /. KAINOU - Œuvres [Internet]. [cité 13 sept 2018]. Disponible sur: https://www.artmajeur.com/fr/kainou/artworks

20. Le Guérer A. Chapitre 1 : La réhabilitation de l'odorat. Le pouvoir des odeurs. In: Odorat et goût: De la neurobiologie des sens chimiques aux applications. Roland Salesse, Rémi Gervais. Editions Quae; 2013. p. 11 à 14.

21. Rimbault M. Analyses génomiques et fonctionnelles des récepteurs olfactifs du chien et du rat. [Rennes]: Rennes 1; 2009.

22. Standard FCI Berger Allemand - Fiche 166 [Internet]. [cité 23 févr 2018]. Disponible sur: http://www.fci.be/Nomenclature/Standards/166g01-en.pdf

23. Combre M. L'olfaction chez le chien et son utilisation en odorologie. [Lyon]: Université Claude Bernard; 2006.

24. Kroely A. L'olfaction chez le chien de sauvetage : conséquences pratiques chez les chiens de recherche en décombres et en avalanches. [Lyon]: Université Claude Bernard; 2011.

25. Coste M. De l'utilité du chien dans la recherche de noyés. [École nationale vétérinaire d'Alfort]: Université Paris-Est Créteil Val de Marne (UPEC); 2015.

26. Collin B. L'anatomie du chien. Derouaux Ordina; 2003. 572 p.

27. Barone R. Anatomie comparée des mammifères domestiques, tome 3. Splanchnologie 1 : appareil digestif et appareil respiratoire. Vigot, 1997. 853 p.

28. Roqueplo C. Influence du port d'un collier antiparasitaire contenant de la deltaméthrine sur les performances olfactives du chien. Créteil; 2003.

29. Société canadienne du cancer [Internet]. www.cancer.ca. [cité 11 mars 2018]. Disponible sur: http://www.cancer.ca/fr-ca/?region=nl

30. Barone R. Anatomie comparée des animaux domestiques : Ostéologie. atlas, Volume 1,Partie 2. Vigot frères, 1976. 428 p.

31. Rosell F. Chapitre 2 : Le flair. In: L'incroyable odorat du chien, un sens extraordinaire au service de l'homme. Ulmer; 2016. p. 37 à 49.

32. Vadurel A. Physiologie et pathologie de l'odorat du chien [Thèse de doctorat vétérinaire]. [Nantes]: Faculté de Médecine; 1995.

33. Le système olfactif - TPE La Reconnaissance des odeurs [Internet]. [cité 17 avr 2018]. Disponible sur: https://sites.google.com/site/tpelareconnaissancedesodeurs/le-systeme-olfactif

34. Maïbèche M, Heydel J-M, Le Bon A-M, Golebiowski J, Briand L. Chapitre 7 : Périréception et protéines porteuses. In: Odorat et goût: De la neurobiologie des sens chimiques aux applications. Roland Salesse, Rémi Gervais. Editions Quae; 2013. p. 61 à 74.

35. Holley A, Anton S, Rospars J-P. Chapitre 6 : Anatomie globale et fonctionnelle des systèmes olfactifs des Vertébrés et Invertébrés. In: Odorat et goût: De la neurobiologie des sens chimiques aux applications. Roland Salesse, Rémi Gervais. Editions Quae; 2013. p. 49 à 60.

36. Mombaerts P, Wang F, Dulac C, Chao SK, Nemes A, Mendelsohn M, et al. Visualizing an olfactory sensory map. Cell. 15 nov 1996;87(4):675-86.

37. Mac Leod P. Chapitre 3 : Cinquante ans de recherche sur les sens chimiques. In: Odorat et goût: De la neurobiologie des sens chimiques aux applications. Roland Salesse, Rémi Gervais. Editions Quae; 2013. p. 21 à 28.

38. Imbert M, Buser P. Neurophysiologie fonctionnelle : Tome 2, Psychophysiologie sensorielle. Editions Hermann. 1997.

39. Holley A. La perception des odeurs. Rech Actual Sci. 1975;6(58):629-39.

40. Roland S, Rémi G. Odorat et goût: De la neurobiologie des sens chimiques aux applications. Editions Quae; 2013. 574 p.

41. Rodriguez I. Chapitre 16 : Le système voméronasal. In: Odorat et goût: De la neurobiologie des sens chimiques aux applications. Roland Salesse, Rémi Gervais. Editions Quae; 2013. p. 195 à 206.

42. Nagnan-Le Meillour P. Chapitre 5 : Les phéromones : Vertébrés et Invertébrés. In: Odorat et goût: De la neurobiologie des sens chimiques aux applications. Roland Salesse, Rémi Gervais. Editions Quae; 2013. p. 39 à 46.

43. The lipocalin protein family: structure and function | Biochemical Journal [Internet]. [cité 17 mars 2018]. Disponible sur: http://www.biochemj.org/content/318/1/1

44. Logan DW, Marton TF, Stowers L. Species Specificity in Major Urinary Proteins by Parallel Evolution. PLoS ONE. 2008;3(9):11.

45. Molecular Biology and Evolution | Oxford Academic [Internet]. [cité 17 mars 2018]. Disponible sur: https://academic.oup.com/mbe

46. Grosmaitre X. Chapitre 17 : L'organe septal de Masera et le ganglion de Grueneberg. In: Odorat et goût: De la neurobiologie des sens chimiques aux applications. Roland Salesse, Rémi Gervais. Editions Quae; 2013. p. 207 à 214.

47. Fleischer J, Mamasuew K, Breer H. Expression of cGMP signaling elements in the Grueneberg ganglion. Histochem Cell Biol. janv 2009;131(1):75-88.

48. Mamasuew K, Hofmann N, Breer H, Fleischer J. Grueneberg ganglion neurons are activated by a defined set of odorants. Chem Senses. mars 2011;36(3):271-82.

49. Trotier D, Ishii-Foret A, Djoumoi A, Bourdonnais M, Faurion A. Chapitre 18 : La sensibilité trigéminale chimique. In: Odorat et goût: De la neurobiologie des sens chimiques aux applications. Roland Salesse, Rémi Gervais. Editions Quae; 2013. p. 214 à 226.

50. Holley A. Système olfactif et neurobiologie. Terrain Anthropol Sci Hum. 1 sept 2006;(47):107-22.

51. Phelouzat M-A. Un Prix Nobel pour le flair de deux savants, Prolune (14) [Internet]. [cité 4 avr 2018]. Disponible sur: https://web.expasy.org/prolune/dossiers/014/

52. Thomas-Danguin T, Maîtrepierre E, Sigoillot M, Briand L, Tromelin A. Chapitre 4 : Les molécules odorantes, sapides et trigéminales. In: Odorat et goût: De la neurobiologie des sens chimiques aux applications. Roland Salesse, Rémi Gervais. Editions Quae; 2013. p. 29 à 38.

53. Handbook of Sensory Physiology, Volume 4. Chemical Senses. Part 1. Olfaction Springer-Verlag, Berlin. 1st ed. 1971 edition (December 7, 2011). 518 p.

54. Pelletier C. L'olfaction chez le chien : application à la recherche d'explosifs en Gendarmerie. [Lyon]: Claude Bernard; Lyon.

55. Leroy Y. L'Univers Odorant de l'Animal. Les stimulations chimiques dans les communications et les comportements des animaux. Boubée. 1987. 375 p. (Atlas d'entomologie).

56. Kopjar M, Andriot I, Saint-Eve A, Souchon I, Guichard E. Retention of aroma compounds: an interlaboratory study on the effect of the composition of food matrices on thermodynamic parameters in comparison with water. J Sci Food Agric. juin 2010;90(8):1285-92.

57. Sanz G, Schlegel C, Pernollet J-C, Briand L. Comparison of odorant specificity of two human olfactory receptors from different phylogenetic classes and evidence for antagonism. Chem Senses. janv 2005;30(1):69-80.

58. Vadurel A, Gogny M. L'odorat du chien: Aspects physiologiques et facteurs de variation. Point Veterinaire. 1997;(28):1037-44.

59. Zographos M. Les chiens pour la détection d'affections médicales. Faculté de médecine de Créteil; 2017.

60. Vadurel, A. and Gogny, M. (1997) L'odorat du chien Aspects physiologique set facteurs de variation (Sense of Smell in Dogs Physiological Aspects and Factors of Variation). Point Veterinaire, 28, 1037-1044. - References - Scientific Research Publishing [Internet]. [cité 7 avr 2018]. Disponible sur: http://www.ljemail.org/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1156061

61. Holley A. Les récepteurs des odeurs et autres attraits du modèle olfactif. Med Sci. 10 nov 1994;1077 à 1078.

62. Ache BW, Young JM. Olfaction: diverse species, conserved principles. Neuron. 3 nov 2005;48(3):417-30.

63. Jacquin-Joly E, Lucas P, Pajot-Augy E, Sanz G. Chapitre 8 : Réception et transduction du signal olfactif. In: Odorat et goût: De la neurobiologie des sens chimiques aux applications. Roland Salesse, Rémi Gervais. Editions Quae; 2013. p. 75 à 92.

64. Jones DT, Reed RR. Golf: an olfactory neuron specific-G protein involved in odorant signal transduction. Science. 19 mai 1989;244(4906):790-5.

65. Cyberounds CME [Internet]. [cité 17 avr 2018]. Disponible sur: http://www.cyberounds.com/cmecontent/art444.html?pf=yes

66. Duchamp-Viret P, Rospars J-P. Chapitre 9 : Codage de l'information par les neurones olfactifs. In: Odorat et goût: De la neurobiologie des sens chimiques aux applications. Roland Salesse, Rémi Gervais. Editions Quae; 2013. p. 93 à 108.

67. Doucette W, Restrepo D. Profound context-dependent plasticity of mitral cell responses in olfactory bulb. PLoS Biol. 28 oct 2008;6(10):e258.

68. Freeman WJ. Spatial properties of an EEG event in the olfactory bulb and cortex. Electroencephalogr Clin Neurophysiol. mai 1978;44(5):586-605.

69. Buonviso N, Gurden H. Chapitre 14 : Codage dans le bulbe olfactif principal des Mammifères. In: Roland Salesse, Rémi Gervais. Editions Quae; 2013. p. 171 à 180.

70. Robin S, Quignon P, Galibert F. Chapitre 22 : Génétique et évolution des récepteurs olfactifs chez les vertébrés. In: Odorat et goût: De la neurobiologie des sens chimiques aux applications. Roland Salesse, Rémi Gervais. Editions Quae; 2013. p. 291 à 310.

71. Fredriksson R, Lagerström MC, Lundin L-G, Schiöth HB. The G-protein-coupled receptors in the human genome form five main families. Phylogenetic analysis, paralogon groups, and fingerprints. Mol Pharmacol. juin 2003;63(6):1256-72.

72. Allaby RG, Woodwark M. Phylogenomic analysis reveals extensive phylogenetic mosaicism in the human GPCR superfamily. Evol Bioinforma Online. 26 sept 2007;3:357-70.

73. Abaffy T, Malhotra A, Luetje CW. The molecular basis for ligand specificity in a mouse olfactory receptor: a network of functionally important residues. J Biol Chem. 12 janv 2007;282(2):1216-24.

74. Hall SE, Floriano WB, Vaidehi N, Goddard WA. Predicted 3-D structures for mouse I7 and rat I7 olfactory receptors and comparison of predicted odor recognition profiles with experiment. Chem Senses. sept 2004;29(7):595-616.

75. Katada S, Hirokawa T, Oka Y, Suwa M, Touhara K. Structural basis for a broad but selective ligand spectrum of a mouse olfactory receptor: mapping the odorant-binding site. J Neurosci Off J Soc Neurosci. 16 févr 2005;25(7):1806-15.

76. Man O, Gilad Y, Lancet D. Prediction of the odorant binding site of olfactory receptor proteins by human-mouse comparisons. Protein Sci Publ Protein Soc. janv 2004;13(1):240-54.

77. Schmiedeberg K, Shirokova E, Weber H-P, Schilling B, Meyerhof W, Krautwurst D. Structural determinants of odorant recognition by the human olfactory receptors OR1A1 and OR1A2. J Struct Biol. sept 2007;159(3):400-12.

78. Malnic B, Hirono J, Sato T, Buck LB. Combinatorial receptor codes for odors. Cell. 5 mars 1999;96(5):713-23.

79. Sanz G, Thomas-Danguin T, Hamdani EH, Le Poupon C, Briand L, Pernollet J-C, et al. Relationships between molecular structure and perceived odor quality of ligands for a human olfactory receptor. Chem Senses. sept 2008;33(7):639-53.

80. Oka Y, Omura M, Kataoka H, Touhara K. Olfactory receptor antagonism between odorants. EMBO J. 14 janv 2004;23(1):120-6.

81. Takeuchi H, Sakano H. Neural map formation in the mouse olfactory system. Cell Mol Life Sci CMLS. août 2014;71(16):3049-57.

82. Ben-Arie N, Lancet D, Taylor C, Khen M, Walker N, Ledbetter DH, et al. Olfactory receptor gene cluster on human chromosome 17: possible duplication of an ancestral receptor repertoire. Hum Mol Genet. févr 1994;3(2):229-35.

83. Malnic B, Godfrey PA, Buck LB. The human olfactory receptor gene family. Proc Natl Acad Sci U S A. 24 févr 2004;101(8):2584-9.

84. Sharon D, Glusman G, Pilpel Y, Horn-Saban S, Lancet D. Genome dynamics, evolution, and protein modeling in the olfactory receptor gene superfamily. Ann N Y Acad Sci. 30 nov 1998;855:182-93.

85. Tacher S, Quignon P, Rimbault M, Dreano S, Andre C, Galibert F. Olfactory receptor sequence polymorphism within and between breeds of dogs. J Hered. 2005;96(7):812-6.

86. Robin S, Tacher S, Rimbault M, Vaysse A, Dréano S, André C, et al. Genetic diversity of canine olfactory receptors. BMC Genomics. 14 janv 2009;10:21.

87. Ehlers A, Beck S, Forbes SA, Trowsdale J, Volz A, Younger R, et al. MHC-linked olfactory receptor loci exhibit polymorphism and contribute to extended HLA/OR-haplotypes. Genome Res. déc 2000;10(12):1968-78.

88. fsousa. La mesure des odeurs pour mieux les contrôler [Internet]. Odotech. 2011 [cité 9 avr 2018]. Disponible sur: http://www.odotech.com/la-mesure-des-odeurs-pour-mieux-les-controler/

89. Bhandawat V, Maimon G, Dickinson MH, Wilson RI. Olfactory modulation of flight in Drosophila is sensitive, selective and rapid. J Exp Biol. 1 nov 2010;213(Pt 21):3625-35.

90. Bensafi M, Rouby C, Farget V, Bertrand B, Vigouroux M, Holley A. Autonomic nervous system responses to odours: the role of pleasantness and arousal. Chem Senses. oct 2002;27(8):703-9.

91. Myers LJ. Use of innate behaviors to evaluate sensory function in the dog. Vet Clin North Am Small Anim Pract. mars 1991;21(2):389-389.

92. Rooney NJ, Bradshaw JWS, Almey H. Attributes of specialist search dogs--a questionnaire survey of UK dog handlers and trainers. J Forensic Sci. mars 2004;49(2):300-6.

93. Comment dresser un chien de détection ? - Thésée formation [Internet]. [cité 11 avr 2018]. Disponible sur: https://www.thesee-formation.fr/comment-dresser-un-chien-de-d%C3%A9tection

94. Club Français du Chien de Berger Belge, résumé de la thèse de J.F. COURREAU [Internet]. [cité 11 avr 2018]. Disponible sur: http://www.cfcbb.fr/new/index.php/le-club/139-these-jf-courreau/these-jf-courreau/152-these-jf-courreau

95. Courreau J-F. Etude génétique des qualités de travail dans l'espèce canine : application des méthodes de la génétique quantitative aux épreuves de concours de chiens de défense en race berger belge. [Paris 11]: Université de Paris-Sud. Faculté des Sciences d'Orsay (Essonne); 2004.

96. Hirai T, Kojima S, Shimada A, Umemura T, Sakai M, Itakura C. Age-related changes in the olfactory system of dogs. Neuropathol Appl Neurobiol. déc 1996;22(6):531-9.

97. Slensky KA, Drobatz KJ, Downend AB, Otto CM. Deployment morbidity among search-and-rescue dogs used after the September 11, 2001, terrorist attacks. J Am Vet Med Assoc. sept 2004;225(6):868-73.

98. Aimé P, Duchamp-Viret P, Chaput MA, Savigner A, Mahfouz M, Julliard AK. Fasting increases and satiation decreases olfactory detection for a neutral odor in rats. Behav Brain Res. 16 mai 2007;179(2):258-64.

99. Altom EK, Davenport GM, Myers LJ, Cummins KA. Effect of dietary fat source and exercise on odorant-detecting ability of canine athletes. Res Vet Sci. oct 2003;75(2):149-55.

100. Institut National Du Cancer - Accueil [Internet]. [cité 20 juin 2018]. Disponible sur: http://www.e-cancer.fr/

101. Rosell F. Chapitre 10 : Le chien médecin. In: L'incroyable odorat du chien, un sens extraordinaire au service de l'homme. Ulmer; 2016. p. 152 à 165.

102. Des chiens dressés pour une nouvelle méthode de dépistage des cancers ? | Urofrance [Internet]. [cité 28 juin 2018]. Disponible sur: https://www.urofrance.org/nc/science-et-recherche/base-bibliographique/article/html/des-chiens-dresses-pour-une-nouvelle-methode-de-depistage-des-cancers.html

103. Williams H, Pembroke A. Sniffer dogs in the melanoma clinic? Lancet Lond Engl. 1 avr 1989;1(8640):734.

104. Church J, Williams H. Another sniffer dog for the clinic? The Lancet. 15 sept 2001;358(9285):930.

105. Campbell LF, Farmery L, George SMC, Farrant PBJ. Canine olfactory detection of malignant melanoma. BMJ Case Rep [Internet]. 14 oct 2013 [cité 17 juill 2018];2013. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3822260/

106. Sébille-Rivain V. Cours de première année commune des études de santé (PACES), semestre 2 : année 2012/2013 à Nantes - UE4 Biostatistiques.

107. Sonoda H, Kohnoe S, Yamazato T, Satoh Y, Morizono G, Shikata K, et al. Colorectal cancer screening with odour material by canine scent detection. Gut. juin 2011;60(6):814-9.

108. Dehasse J. L'apprentissage. In: Tout sur la psychologie du chien. Odile Jacob, 2009; 2009. p. 326 à 352.

109. Quéreux G. Cours de 5ème année de Sciences Pharmaceutiques, filière officine à Nantes, UE1 - « Dépistage du mélanome ». 2016.

110. Cancer de la peau : Les symptômes et le rôle du Dermatologue [Internet]. Syndicat National des Dermatologues-Vénéréologues. [cité 18 juin 2018]. Disponible sur: https://www.syndicatdermatos.org/le-dermato-soigne/cancer-de-la-peau/

111. Pickel D, Manucy GP, Walker DB, Hall SB, Walker JC. Evidence for canine olfactory detection of melanoma. Appl Anim Behav Sci. 1 nov 2004;89(1):107-16.

112. Projection de l'incidence et de la mortalité en France métropolitaine en 2017 - Rapport technique - Ref : RAINCMETRO17 | Institut National Du Cancer [Internet]. [cité 23 juin 2018]. Disponible sur: http://www.e-cancer.fr/Expertises-et-publications/Catalogue-des-publications/Projection-de-l-incidence-et-de-la-mortalite-en-France-metropolitaine-en-2017-Rapport-technique

113. Willis CM, Church SM, Guest CM, Cook WA, McCarthy N, Bransbury AJ, et al. Olfactory detection of human bladder cancer by dogs: proof of principle study. BMJ. 25 sept 2004;329(7468):712.

114. Les cancers en France, édition 2016, collection Les Données, Institut national du cancer, avril 2017 [Internet]. [cité 23 juin 2018]. Disponible sur: http://www.e-cancer.fr/ressources/cancers_en_france/#page=1

115. McCulloch M, Jezierski T, Broffman M, Hubbard A, Turner K, Janecki T. Diagnostic accuracy of canine scent detection in early- and late-stage lung and breast cancers. Integr Cancer Ther. mars 2006;5(1):30-9.

116. Amundsen T, Sundstrøm S, Buvik T, Gederaas OA, Haaverstad R. Can dogs smell lung cancer? First study using exhaled breath and urine screening in unselected patients with suspected lung cancer. Acta Oncol. 1 mars 2014;53(3):307-15.

117. Ehmann R, Boedeker E, Friedrich U, Sagert J, Dippon J, Friedel G, et al. Canine scent detection in the diagnosis of lung cancer: revisiting a puzzling phenomenon. Eur Respir J. 1 mars 2012;39(3):669-76.

118. Fondation ARC pour la recherche sur le cancer | Fondation ARC [Internet]. [cité 16 juill 2018]. Disponible sur: https://www.fondation-arc.org/

119. Horvath G, Järverud GAK, Järverud S, Horváth I. Human ovarian carcinomas detected by specific odor. Integr Cancer Ther. juin 2008;7(2):76-80.

120. Horvath G, Andersson H, Paulsson G. Characteristic odour in the blood reveals ovarian carcinoma. BMC Cancer. 24 nov 2010;10:643.

121. L'anatomie et physiologie de la prostate - Centre Européen de la Prostate Paris [Internet]. [cité 25 juin 2018]. Disponible sur: http://www.centre-europeen-prostate-paris.com/anatomie-physiologie-prostate.html

122. Test de l'antigène prostatique spécifique (APS) - Société canadienne d [Internet]. www.cancer.ca. [cité 27 juill 2018]. Disponible sur: http://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/diagnosis-and-treatment/tests-and-procedures/prostate-specific-antigen-psa/?region=qc

123. Cornu J-N, Cancel-Tassin G, Ondet V, Girardet C, Cussenot O. Olfactory Detection of Prostate Cancer by Dogs Sniffing Urine: A Step Forward in Early Diagnosis. Eur Urol. 1 févr 2011;59(2):197-201.

124. Taverna G, Tidu L, Grizzi F, Torri V, Mandressi A, Sardella P, et al. Olfactory system of highly trained dogs detects prostate cancer in urine samples. J Urol. avr 2015;193(4):1382-7.

125. La truffe du chien, sans égale pour dépister le cancer de la prostate [Internet]. 2014 [cité 29 juin 2018]. Disponible sur: http://sante.lefigaro.fr/actualite/2014/05/21/22370-truffe-chien-sans-egale-pour-depister-cancer-prostate

126. Home | Endocrine Society [Internet]. [cité 30 juill 2018]. Disponible sur: https://www.endocrine.org/

127. Détection de cancers: le chien meilleur que la machine... pour l'instant [Internet]. Slate.fr. 2015 [cité 30 juill 2018]. Disponible sur: http://www.slate.fr/story/99977/detection-cancers-chien-machine

128. Buszewski B, Ligor T, Jezierski T, Wenda-Piesik A, Walczak M, Rudnicka J. Identification of volatile lung cancer markers by gas chromatography–mass spectrometry: comparison with discrimination by canines. Anal Bioanal Chem. juill 2012;404(1):141-6.

129. Schallschmidt K, Becker R, Jung C, Bremser W, Walles T, Neudecker J, et al. Comparison of volatile organic compounds from lung cancer patients and healthy controls-challenges and limitations of an observational study. J Breath Res. 12 2016;10(4):046007.

130. Fischer-Tenhagen C, Johnen D, Nehls I, Becker R. A Proof of Concept: Are Detection Dogs a Useful Tool to Verify Potential Biomarkers for Lung Cancer? Front Vet Sci [Internet]. 14 mars 2018 [cité 5 sept 2018];5. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5861141/

131. Rudnicka J, Walczak M, Kowalkowski T, Jezierski T, Buszewski B. Determination of volatile organic compounds as potential markers of lung cancer by gas chromatography–mass spectrometry versus trained dogs. Sens Actuators B Chem. 31 oct 2014;202:615-21.

132. Sreekumar A, Poisson LM, Rajendiran TM, Khan AP, Cao Q, Yu J, et al. Metabolomic Profiles Delineate Potential Role for Sarcosine in Prostate Cancer Progression. Nature. 12 févr 2009;457(7231):910-4.

133. Varambally S, Dhanasekaran SM, Zhou M, Barrette TR, Kumar-Sinha C, Sanda MG, et al. The polycomb group protein EZH2 is involved in progression of prostate cancer. Nature. 10 oct 2002;419(6907):624-9.

134. Pacik D, Plevova M, Urbanova L, Lackova Z, Strmiska V, Necas A, et al. Identification of Sarcosine as a Target Molecule for the Canine Olfactory Detection of Prostate Carcinoma. Sci Rep [Internet]. 21 mars 2018 [cité 29 juin 2018];8. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5862890/

135. Urbanová L, Vyhnánková V, Krisová Š, Pacík D, Nečas A. Intensive training technique utilizing the dog's olfactory abilities to diagnose prostate cancer in men. Acta Vet Brno. 19 mars 2015;84(1):77-82.

136. Gkotsos G, Virgiliou C, Lagoudaki I, Sardeli C, Raikos N, Theodoridis G, et al. The Role of Sarcosine, Uracil, and Kynurenic Acid Metabolism in Urine for Diagnosis and Progression Monitoring of Prostate Cancer. Metabolites [Internet]. 23 févr 2017 [cité 8 sept 2018];7(1). Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5372212/

137. Abaffy T, Duncan R, Riemer DD, Tietje O, Elgart G, Milikowski C, et al. Differential Volatile Signatures from Skin, Naevi and Melanoma: A Novel Approach to Detect a Pathological Process. PLoS ONE [Internet]. 4 nov 2010 [cité 7 sept 2018];5(11). Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2973952/

138. Amal H, Shi D-Y, Ionescu R, Zhang W, Hua Q-L, Pan Y-Y, et al. Assessment of ovarian cancer conditions from exhaled breath. Int J Cancer. 15 mars 2015;136(6):E614-622.

139. Phillips M, Cataneo RN, Ditkoff BA, Fisher P, Greenberg J, Gunawardena R, et al. Volatile markers of breast cancer in the breath. Breast J. juin 2003;9(3):184-91.

140. Phillips M, Cataneo RN, Ditkoff BA, Fisher P, Greenberg J, Gunawardena R, et al. Prediction of breast cancer using volatile biomarkers in the breath. Breast Cancer Res Treat. sept 2006;99(1):19-21.

141. Phillips M, Beatty JD, Cataneo RN, Huston J, Kaplan PD, Lalisang RI, et al. Rapid Point-Of-Care Breath Test for Biomarkers of Breast Cancer and Abnormal Mammograms. PLOS ONE. 5 mars 2014;9(3):e90226.

142. Mathews JM, Raymer JH, Etheridge AS, Velez GR, Bucher JR. Do endogenous volatile organic chemicals measured in breath reflect and maintain CYP2E1 levels in vivo? Toxicol Appl Pharmacol. oct 1997;146(2):255-60.

143. France C. Rencontre avec… - Jacky Experton, directeur du centre cynophile de la société SERIS, basé à Magnac-Laval [Internet]. www.lepopulaire.fr. [cité 15 août 2018]. Disponible sur: https://www.lepopulaire.fr/magnac-laval/armee-conflit/science/2018/02/02/jacky-experton-directeur-du-centre-cynophile-de-la-societe-seris-base-a-magnac-laval_12724407.html

144. Fromantin I, Kollender S. Chapitre 16 : Naissance. In: Blouse blanche & poils de chiens Comment j'ai découvert l'odeur du cancer. La Martinière (5 avril 2018). 2018. p. 145 à 158.

145. Fromantin I, Kollender S. Chapitre 17 : On a les chiens. In: Blouse blanche & poils de chiens Comment j'ai découvert l'odeur du cancer. La Martinière (5 avril 2018). 2018. p. 159 à 168.

146. Fromantin I, Kollender S. Chapitre 25 : Qu'est-ce que tu fais pour les vacances ? Moi, j'ai changé d'adresse. In: Blouse blanche & poils de chiens Comment j'ai découvert l'odeur du cancer. La Martinière (5 avril 2018). 2018. p. 209 à 216.

147. Fromantin I, Kollender S. Chapitre 20 : Câlin canin. In: Blouse blanche & poils de chiens Comment j'ai découvert l'odeur du cancer. La Martinière (5 avril 2018). 2018. p. 183 à 186.

148. Fromantin I, Kollender S. Chapitre 26 : L'équipe B. In: Blouse blanche & poils de chiens Comment j'ai découvert l'odeur du cancer. La Martinière (5 avril 2018). 2018. p. 217 à 220.

149. Fromantin I, Kollender S. Chapitre 28 : Vents contraires. In: Blouse blanche & poils de chiens Comment j'ai découvert l'odeur du cancer. La Martinière (5 avril 2018). 2018. p. 229 à 236.

150. Fromantin I, Kollender S. Chapitre 24 : Chiens et camionnettes, même combat. In: Blouse blanche & poils de chiens Comment j'ai découvert l'odeur du cancer. La Martinière (5 avril 2018). 2018. p. 203 à 208.

151. Fromantin I, Kollender S. Chapitre 23 : Comment ? Qui ? Où ? In: Blouse blanche & poils de chiens Comment j'ai découvert l'odeur du cancer. La Martinière (5 avril 2018). 2018. p. 199 à 202.

152. Le flair des chiens bientôt utilisé pour dépister les cancers du sein ? [Internet]. Sciences et Avenir. [cité 21 août 2018]. Disponible sur: https://www.sciencesetavenir.fr/sante/cancer/le-flair-des-chiens-bientot-utilise-pour-depister-les-cancers-du-sein_102122

153. Fromantin I, Kollender S. Chapitre 19 : Ça marche. In: Blouse blanche & poils de chiens Comment j'ai découvert l'odeur du cancer. La Martinière (5 avril 2018). 2018. p. 175 à 182.

154. Haverbeke A, Laporte B, Depiereux E, Giffroy J-M, Diederich C. Training methods of military dog handlers and their effects on the team's performances. Appl Anim Behav Sci. 1 sept 2008;113(1):110-22.

155. Des chiens capables de renifler des cancers [Internet]. [cité 30 août 2018]. Disponible sur: http://sante.lefigaro.fr/article/des-chiens-capables-de-renifler-des-cancers/

156. Fromantin I, Kollender S. Chapitre 27 : Mode d'emploi. In: Blouse blanche & poils de chiens Comment j'ai découvert l'odeur du cancer. La Martinière (5 avril 2018). 2018. p. 221 à 228.

157. KDOG. Isabelle Fromantin explique comment elle a eu l'idée d'utiliser des chiens pour détecter le cancer - Sciencesetavenir.fr [Internet]. [cité 30 août 2018]. Disponible sur: https://www.sciencesetavenir.fr/videos/kdog-isabelle-fromantin-explique-comment-elle-a-eu-lidee-dutiliser-des-chiens-pour-detecter-le-cancer_8zml0m

158. Medical Detection Dogs | Dogs saving lives [Internet]. [cité 1 août 2018]. Disponible sur: https://www.medicaldetectiondogs.org.uk/

159. Assistance Dogs International : Assistance Dogs International : Setting standards for the assistance dog industry since 1987 [Internet]. [cité 3 sept 2018]. Disponible sur: https://www.assistancedogsinternational.org/

160. Jaesa. Nez artificiel : un nouveau dispositif peut diagnostiquer des maladies en analysant votre souffle [Internet]. Transhumanisme et Intelligence Artificielle. 2017 [cité 8 sept 2018]. Disponible sur: https://iatranshumanisme.com/2017/01/14/nez-artificiel-un-nouveau-dispositif-peut-diagnostiquer-des-maladies-en-analysant-votre-souffle/

161. Haute Autorité de Santé - HAS - Accueil [Internet]. [cité 25 juin 2018]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/portail/

162. Jansen-van der Weide MC, Greuter MJW, Jansen L, Oosterwijk JC, Pijnappel RM, de Bock GH. Exposure to low-dose radiation and the risk of breast cancer among women with a familial or genetic predisposition: a meta-analysis. Eur Radiol. nov 2010;20(11):2547-56.

163. Lauby-Secretan B, Scoccianti C, Loomis D, Benbrahim-Tallaa L, Bouvard V, Bianchini F, et al. Breast-Cancer Screening — Viewpoint of the IARC Working Group. N Engl J Med. 11 juin 2015;372(24):2353-8.

164. Elliker KR, Sommerville BA, Broom DM, Neal DE, Armstrong S, Williams HC. Key considerations for the experimental training and evaluation of cancer odour detection dogs: lessons learnt from a double-blind, controlled trial of prostate cancer detection. BMC Urol. 27 févr 2014;14:22.

165. Gordon RT, Schatz CB, Myers LJ, Kosty M, Gonczy C, Kroener J, et al. The use of canines in the detection of human cancers. J Altern Complement Med N Y N. févr 2008;14(1):61-7.

166. Horváth I, Lázár Z, Gyulai N, Kollai M, Losonczy G. Exhaled biomarkers in lung cancer. Eur Respir J. 1 juill 2009;34(1):261-75.

167. Miekisch W, Kischkel S, Sawacki A, Liebau T, Mieth M, Schubert JK. Impact of sampling procedures on the results of breath analysis. J Breath Res. juin 2008;2(2):026007.

168. ACADIA - Chiens d'assistance pour les personnes diabétiques [Internet]. ACADIA. [cité 1 août 2018]. Disponible sur: http://www.acadia-asso.org/

169. Home [Internet]. GAK9. [cité 1 août 2018]. Disponible sur: http://gak9.com/

170. Arison L, Desert DCS, Sing the C. Sniffing out diseases with the Nanose [Internet]. Israel21c. [cité 9 sept 2018]. Disponible sur: http://www.israel21c.org/sniffing-out-diseases-with-the-nanose/

171. Nakhleh MK, Amal H, Jeries R, Broza YY, Aboud M, Gharra A, et al. Diagnosis and Classification of 17 Diseases from 1404 Subjects via Pattern Analysis of Exhaled Molecules. ACS Nano. 24 janv 2017;11(1):112-25.

172. Ces chiens qui savent « flairer » le cancer [Internet]. FIGARO. 2015 [cité 28 juin 2018]. Disponible sur: http://www.lefigaro.fr/sciences/2015/03/29/01008-20150329ARTFIG00130-ces-chiens-qui-savent-flairer-le-cancer.php

173. Demain : dépister le cancer grâce à l'haleine [Internet]. Sciences et Avenir. [cité 9 sept 2018]. Disponible sur: https://www.sciencesetavenir.fr/sante/demain-depister-le-cancer-grace-a-l-haleine_114860

174. Roine A, Veskimäe E, Tuokko A, Kumpulainen P, Koskimäki J, Keinänen TA, et al. Detection of Prostate Cancer by an Electronic Nose: A Proof of Principle Study. J Urol. 1 juill 2014;192(1):230-5.

175. Menssana Research Inc. | Breathtaking Technology | Menssana Systems - BreathLink™ [Internet]. [cité 10 sept 2018]. Disponible sur: http://www.menssanaresearch.com/systems_BreathLink_Menssana.html

176. Phillips M, Cataneo RN, Cruz-Ramos JA, Huston J, Ornelas O, Pappas N, et al. Prediction of breast cancer risk with volatile biomarkers in breath. Breast Cancer Res Treat. juill 2018;170(2):343-50.

177. A Prospective Validation Study of a Rapid Point-of-Care Breath Test for Breast Cancer - Full Text View - ClinicalTrials.gov [Internet]. [cité 10 sept 2018]. Disponible sur: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02888366

178. March 12 CN, 2017, Am 10:34. On The Horizon: The cancer breath test [Internet]. [cité 10 sept 2018]. Disponible sur: https://www.cbsnews.com/news/on-the-horizon-breathlink-cancer-breath-test/

179. UWE Bristol: News [Internet]. [cité 10 sept 2018]. Disponible sur: http://info.uwe.ac.uk/news/uwenews/news.aspx?id=2588

180. Strauch M, Lüdke A, Münch D, Laudes T, Galizia CG, Martinelli E, et al. More than apples and oranges - Detecting cancer with a fruit fly's antenna. Sci Rep. 6 janv 2014;4:3576.

181. Wilson AD, Baietto M. Advances in Electronic-Nose Technologies Developed for Biomedical Applications. Sensors. 19 janv 2011;11(1):1105-76.

Vu, le Président du jury,

Sylvie PIESSARD

Vu, le Directeur de thèse,

François Lang

Vu, le Directeur de l'UFR,

Gaël Grimandi

UNIVERSITÉ DE NANTES **Année de la soutenance 2018**

Nom – Prénoms : PORTEAU Clotilde, Michèle

Titre de la thèse :

Les capacités olfactives des chiens ouvrent de nouvelles perspectives dans le dépistage du cancer

---

Résumé de la thèse : Aucune odeur sur terre n'échappe à la truffe canine, pas même celle du cancer. Avec ses 200 millions de neurones olfactifs contre 5 millions pour l'homme, les chiens possèdent un odorat 40 fois plus développé que le nôtre. L'homme a su mettre à profit les capacités olfactives exceptionnelles du chien pour pallier à son déficit olfactif dans de multiples domaines d'utilité et le dernier en date est le dépistage du cancer.

Les scientifiques ont apporté la preuve qu'un chien bien entraîné est capable de dépister le cancer grâce à son odorat avec une extrême précision. Des chiens ont parfaitement réussi à détecter le mélanome, le cancer de la vessie, le cancer du poumon, le cancer des ovaires, le cancer colorectal, le cancer de la prostate, le cancer du sein et le cancer de la thyroïde. Mais comment les chiens les dépistent-ils ? Le cancer a-t-il réellement une odeur ?

Le dépistage du cancer grâce à l'odorat du chien s'avère être une méthode de détection très précoce, fiable, peu coûteuse, rapide, simple, non douloureuse, non invasive et particulièrement intéressante chez les enfants. Une signature olfactive spécifique du cancer permet donc de le détecter et ainsi de le diagnostiquer. De nombreux chercheurs se sont penchés sur l'identification des molécules : les biomarqueurs volatils responsables de cette empreinte olfactive. L'objectif à terme est de remplacer les canidés par la technologie : des nez électroniques. Ces nez artificiellement intelligents seraient capables de déceler des cocktails d'odeurs à partir d'échantillons facilement prélevés chez les patients : l'urine, l'haleine, le sang…

MOTS CLÉS

ODORAT DU CHIEN – CANCER ET ODEUR – DEPISTAGE DU CANCER
BIOMARQUEUR VOLATIL – SIGNATURE OLFACTIVE – NEZ ELECTRONIQUE

JURY

PRÉSIDENT : Mme Sylvie PIESSARD, Professeur de Chimie Thérapeutique
Faculté de Pharmacie de Nantes

ASSESSEURS : Mr François LANG, Professeur de Pharmacologie
Faculté de Pharmacie de Nantes

Mme Brigitte MAURY-DUMOULIN, Docteur en Pharmacie
4 rue de Lattre de Tassigny, 85150 La Mothe-Achard

Adresse de l'auteur : PORTEAU Clotilde, 1 rue Georges Leygues**,** 44200 Nantes