

LA DÉTECTION BIOMÉDICALE CANINE : UN POTENTIEL INEXPLOITÉ DANS LA GESTION IMMÉDIATE DES CRISES ÉPI/PANDÉMIQUES ET BIOTERRORISTES... APPLICATION A LA COVID-19 DANS LE CADRE DU PROGRAMME NOSAÏS

NOSAÏS-COVID-19 AND BIOMEDICAL DETECTION DOGS: AN UNTAPPED POTENTIAL FOR IMMEDIATE CRISIS MANAGEMENT IN PANDEMIC OR BIOTERRORIST SITUATIONS...

Par Dominique GRANDJEAN¹, Capucine GALLET¹, Clothilde JULIEN¹, Marc BLONDOT¹, Hélène BACQUÉ¹

(Communication le 25 février 2021, Manuscrit accepté le 14 septembre 2022)

RÉSUMÉ

La crise mondiale de la CoViD-19 a conduit plus de 60 équipes de par le monde à travailler sur la détection olfactive canine du portage du virus SARS-CoV-2 actif. L'équipe NOSAÏS, à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort (France) fut un des tout premiers groupes à débiter ce travail en mars 2020. Depuis, des dizaines de publications ont montré que le chien se révélait plus efficace, en termes de sensibilité et de spécificité, que les tests salivaires ou les tests de diagnostic rapide, et dans la plupart des cas au moins aussi performant que les examens par RT-PCR nasopharyngée. De tels résultats se doivent d'être pris en compte pour le futur, et les décideurs médicaux doivent ouvrir leur esprit à ce qui constitue un indéniable paradigme nouveau, incarnant parfaitement le concept "Une santé, Une médecine" : le chien et ses extraordinaires qualités olfactives peut jouer un rôle important en santé humaine et de manière plus large en détection biomédicale, tout comme les chiens de recherche d'explosifs ou de drogues le font depuis des années déjà avec succès.

Mots-Clés : chien, olfaction, CoViD-19, détection biomédicale

ABSTRACT

The COVID-19 crisis led more than 60 research teams worldwide to work on SARS-CoV-2 detection thanks to canine olfaction. The NOSAÏS team, in Alfort School of Veterinary Medicine (France) was among the first groups to start studying the subject in March 2020. Since that date, dozens of publications did demonstrate that dogs were more efficient, regarding sensitivity and specificity, that salivary PCRs and Rapid Analysis Tests, and most of the time as efficient as nasopharyngeal RT-PCRs. Such elements must now be considered for the future, and deciders must open their minds to a new paradigm, fully involved in the "One Health, One Medicine" concept: dogs and their extraordinary olfactory qualities can play a role in human health and biomedical detection, as explosives or drugs detection dogs already do.

Keywords: dog, olfaction, CoViD-19, biomedical detection

1. Programme NOSAÏS, Unité de Médecine de l'Élevage et du Sport, École Nationale Vétérinaire d'Alfort, Université Paris Est, 94700 MAISONS ALFORT (France).
Courriel auteur correspondant : dominique.grandjean@vet-alfort.fr



INTRODUCTION

L'émergence puis l'explosion mondiale de la crise COVID-19 a démontré combien il était difficile pour les institutions médicales de développer rapidement les outils de dépistage précoces constituant un outil fondamental, avant même la nécessaire détermination ou création des moyens thérapeutiques et préventifs vaccinaux indispensables.

En de telles situations, et d'une manière plus globale vis-à-vis d'autres situations pathologiques, le chien de biodétection médicale (terme récemment proposé par Maughan *et al.* (2022)), présente de très efficaces avantages qui, à aujourd'hui, ne sont pas concurrencés par les technologies existantes : excellentes valeurs de sensibilité/spécificité dès lors que le chien est convenablement formé, approche non invasive de la détection olfactive, coût des plus faibles hormis ceux liés à la recherche et la formation (ces derniers étant sans commune mesure avec les coûts de développement/adaptation des outils technologiques), immédiateté du résultat.

Le développement et le déploiement opérationnel de tels

chiens, qui conduit vétérinaire, cynotechnicien et médecin à œuvrer de concert, est un bien bel exemple du concept « One Health ». Cet aspect fut d'ailleurs mis en exergue précocement (28 août 2020) par un communiqué commun des Académies de médecine et vétérinaire intitulé « Test olfactif de dépistage de la CoViD-19 utilisant des chiens entraînés ».

Un paradigme nouveau réside en le fait que cet animal puisse apporter directement à la santé humaine, au même titre que les outils d'analyse actuellement valorisés.

Dans le présent article, nous souhaitons faire une synthèse de l'existant en matière de chiens de détection biomédicale, mais aussi évoquer les voies de recherche et les modalités pratiques de mise en œuvre qui pourraient/devraient se faire jour à l'avenir.

DÉTECTION BIOMÉDICALE CANINE : LE POINT DES CONNAISSANCES

De manière très générale, la valorisation sociétale des remarquables capacités olfactives du chien ne cesse de croître et de se diversifier, comme en atteste le Tableau I.

Produits interdits	Humains	Aspects légaux	Conservation	Divers
Explosifs	Personnes ensevelies	Restes humains	Espèces en danger	CD/DVD
Drogues	Personnes égarées	Cadavres	Réintroduction	Batterie Lithium – Ion
Armes à feu	Patrouille/Éclairage	Liquides biologiques		Téléphones mobiles
Billets de banque	Criminologie	Accélérateurs d'incendie		Sports canins
Animaux protégés		Fluides biologiques		
Produits animaux				
Produits végétaux				
+ Détection biomédicale				

Tableau I : Évolution des domaines de valorisation sociétale de la détection olfactive canine

Ce faisant, l'émergence de la pandémie de COVID-19 a permis la mise en évidence que les systèmes de santé dans leur ensemble n'étaient pas préparés à la gestion d'une crise biologique majeure liée à un agent pathogène viral contagieux nouveau. En effet, dans une telle situation, il apparaît bien que la mise en œuvre rapide de tests de masse systématique est une nécessité *princeps* permettant d'isoler les porteurs, symptomatiques ou non. Déployé de manière précoce, ce haut taux de tests améliorera l'efficacité des mesures médicales lorsque celles-ci sont disponibles, avec un taux de prévalence de l'affection diminué (Hasell 2020).

Nous disposons aujourd'hui de nombreuses évidences montrant que le chien peut jouer un rôle majeur dans la détection précoce de maladies bactériennes ou parasitaires, tout autant que de certains cancers (Angle *et al.* 2016). Certaines études suggèrent déjà que la détection olfactive canine de maladies non infectieuses est d'une efficacité comparable à celle des méthodes standards actuelles (Bijland *et al.* 2013), en particulier en cancérologie (Edwards *et al.* 2017, Pirrone & Albertini 2017). Dès 1989, Williams montrait que le chien était capable de détecter des mélanomes sur la base de leur effluve spécifique (Williams & Pembroke 1989). La période qui s'ensuit conduit les différents auteurs à focaliser leurs approches sur différents

types de cancers : poumon et sein (McCulloch *et al.* 2006), vessie (Willis *et al.* 2010), colon (Sonoda *et al.* 2010), prostate (Bjartell 2011, Cornu *et al.* 2011, Taverna *et al.* 2015) ou foie (Kitiyakara *et al.* 2017). Il faut attendre les années 2010 pour que débutent des recherches de détection d'agents biologiques infectieux, tels que l'agent de la maladie des muqueuses bovines (Angle et son équipe, 2016), des bactéries (*Clostridium difficile* (Taylor *et al.* 2018), *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae* ou *Staphylococcus aureus* (Maurer *et al.* 2016)). Plusieurs études démontrent également l'efficacité du chien dans la détection de parasites ou d'insectes : bombyx (Wallner et Ellis 1976), nématodes du mouton (Richards *et al.* 2008), malaria humaine (Guest *et al.* 2019), vers de palmiers dattiers (Nakash *et al.* 2000), termites (Brooks *et al.* 2003), punaises de lit (Cooper *et al.* 2014). Il en va de même dans l'implication de l'olfaction canine en conservation/réintroduction d'espèces protégées : ours noirs (Wasser *et al.* 2004), ours bruns (Sentilles *et al.* 2020), geckos (Browne *et al.* 2015), tortues (Cablak *et al.* 2008), chacals (Hatlauf *et al.* 2021), loups (Roda *et al.* 2020), grenouilles (Matthew *et al.* 2020), koalas (Cristescu *et al.* 2015), chauve-souris (Chambers *et al.* 2015), renards (Smith *et al.* 2005), tigres (Kerley 2010), cougars (Davidson *et al.* 2014), gorilles (Arandjelovic *et al.* 2015) ...

Certaines maladies non infectieuses, enfin, firent l'objet d'assez nombreux travaux durant cette période, débouchant même en certains pays sur des applications opérationnelles efficaces : diabète (Rooney *et al.* 2019, Rooney *et al.* 2013, Wilson *et al.* 2019) ou épilepsie (Kirton *et al.* 2008) pour exemples. Les agents ou situations biologiques constituent une catégorie de « menaces » à la fois complexes et parfois peu ou pas accessibles, pour lesquelles les technologies et méthodes actuelles de test de dépistage sont limitées en capacité d'adaptation rapide, en mobilité, et en déploiement. En cela, l'olfaction canine, génératrice en un mode non invasif, à résultat immédiat, et au coût très limité, trouve tout son intérêt, ce qui a conduit l'équipe NOSAÏS dès mars 2020 à débiter son approche de la COVID-19.

DÉTECTION OLFRACTIVE DE LA COVID-19 : AVANCÉES SCIENTIFIQUES

Le programme NOSAÏS, développé par l'Unité de Médecine de l'Élevage et du Sport (UMES) de l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort, vise à développer l'approche scientifique du chien de détection biomédicale, afin de pouvoir former des formateurs disposant de méthodologies précises et efficaces, et de faire évoluer celles-ci au gré des contraintes ou spécificités biologiques rencontrées. Concernant le virus SARS-COV-2 et la COVID-19, notre postulat de départ était que les actions et la réplication virales intracellulaires génèrent la libération de métabolites et catabolites spécifiques, susceptibles d'être excrétés par l'organisme via ses différents émonctoires sous forme de Composés Organiques Volatils (VOCs ou *Volatile Organic Compounds* en langue anglaise). La plupart des études concernant les biomarqueurs volatils ont été conduites sur air expiré. Ceux émanant de la peau contribuent à l'odeur naturelle de chaque personne humaine, mais peuvent véhiculer d'importantes informations quant aux processus métaboliques de l'individu (Amann *et al.* 2014, Grabowska-Polanowska *et al.* 2017). On les retrouve dans les sécrétions des glandes sudoripares (eccrines et apocrines) et sébacées, et constituent la source majeure de l'odeur des aisselles, jouant un rôle dans notre signalisation chimique (Wysocki *et al.* 2004). Plusieurs études ont d'ailleurs été conduites pour mieux caractériser les VOCs produits par les glandes apocrines axillaires, domaines qui, bien sûr, intéresse l'industrie du déodorant (Zeng *et al.* 1991, Zeng *et al.* 1996, Hasegawa *et al.* 2004, Troccaz *et al.* 2004). La sueur des paumes de main ou de la sole plantaire est quant à elle produite majoritairement par des glandes eccrines, en mélange avec le sébum local. La plupart des composés organiques de la sueur, telle que prélevée, sont des acides organiques à nombres de carbones allant de 2 à 20, la plupart saturés ou mono/bi-désaturés en C16 et C18, lesquels ne sont pas volatils à température ambiante (Bernier *et al.* 2000). Des études plus récentes ont confirmé les variations qualitatives de la sueur en fonction du site anatomique de production (Taylor & Machado 2013), et que la capacité sécrétoire des glandes sudoripares eccrines était plus importante sur le tronc (incluant les zones axillaires) que sur le reste du corps (Murota *et al.* 2015).

Quels prélèvements pour former puis dépister ?

Pour les raisons évoquées précédemment nous avons décidé, durant les premières phases de nos travaux, de faire œuvrer les chiens sur prélèvements de sueur axillaire car ceux-ci :

- apparaissent comme un substrat intéressant en détection olfactive canine (Lippi & Cervellin 2012, Rooney *et al.* 2013)
- constituent un effluve clé pour le chien en recherche de personnes ensevelies ou égarées (Woidtke *et al.* 2017)
- nécessitent des prélèvements de réalisation simple (Figure 1) : ils représentent un risque de contamination des plus limité tant la transmission virale via ce site anatomique apparaît difficile et la sueur en elle-même peu contaminante (Propper 2020)



Figure 1 : Prélèvement de sueur axillaire sur compresse ou tube inerte non invasif et rapide

La méthodologie employée est détaillée dans nos premières publications (Grandjean *et al.* 2021, Grandjean *et al.* 2021, Grandjean *et al.* 2022), tandis que dans le même temps nos collègues allemands de l'Université de Hanovre démontraient une parfaite équivalence de résultats de dépistage olfactif obtenus sur sueur, salive et urine, à ceci près que pour ces deux derniers types de prélèvements un traitement d'inactivation virale fut mis en œuvre (Jendry *et al.* 2021). L'équipe de l'Université de Pennsylvanie (USA) travaillait, quant à elle, sur l'urine, puis sur la sueur collectée en demandant aux patients de porter un T-shirt durant la nuit (Otto *et al.* 2021). Plus récemment, un travail conduit par NOSAÏS en collaboration avec l'Hôpital Foch de Suresnes nous permit de montrer que les chiens pouvaient de la même manière marquer les masques portés par les personnes COVID-19 positives, symptomatiques ou non (Devillier *et al.* 2022). Une publication de l'Université de Tallahassee (Floride, USA) confirme par ailleurs cette approche, et l'élargit aux mobiliers (chaises) touchés par des personnes positives (Mendell *et al.* 2021). Les problèmes rencontrés concernant ces différentes typologies de prélèvements indispensables à la formation des chiens (créancement olfactif) et à leur validation individuelle (détermination des valeurs de sensibilité et de spécificité), ne tiennent en rien au chien, mais bien aux critères d'inclusion des patients, le test RT-PCR (*Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction*) nasopharyngé ayant très vite montré ses limites et ne constituent en rien le « *Gold Standard* » présenté par les autorités de santé :

- qualité parfois insuffisante d'un prélèvement invasif désagréable pour le patient

- impact du nombre de cycles d'amplification (Ct) du matériel viral prélevé, susceptible de donner nombre de faux positifs dès lors que ce Ct (*Cycle threshold*) dépasse 34 (ce qui fut fréquemment le cas en 2020 et 2021)

- impact du réglage et de l'usure des matériels d'analyse PCR. C'est la raison pour laquelle nous avons rapidement « durci » nos critères d'inclusions de positifs, en adjoignant au résultat du test RT-PCR-NP la symptomatologie clinique et l'imagerie pulmonaire du patient, rendant plus longue la période de recueil du nombre de prélèvements nécessaires. Par ailleurs, afin d'éviter toute interférence en lien avec des traitements médicaux à long terme ou de pathologies chroniques récurrentes, ces éléments furent scrupuleusement enregistrés pour chaque patient puis analysés, démontrant ainsi l'absence de tout impact sur la réaction olfactive du chien (Grandjean *et al.* 2021). Enfin, pour éviter durant la phase de formation un potentiel créancement sur l'odeur « d'arrière-plan » (Pirrone & Albertini 2017, Walczak *et al.* 2012), il était nécessaire :

- de recruter des prélèvements positifs dans de nombreux sites hospitaliers (collaboration avec Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Hôpital d'Instruction des Armées Begin, Hôpital Foch de Suresnes, Hôpitaux de Saint-Maurice, Hôpital du Grand-Est Parisien, Hôpital de Mantes, Hôpital d'Altkirch...)

- de recruter des négatifs sur ces mêmes sites.

Les prélèvements de sueur axillaire sur compresses peuvent être conservés à +4°C durant 3 semaines, en évitant les récipients de type pot à coprologie en plastique (odeurs parasites du revêtement interne), et pendant plusieurs mois en congélation à -20°C, dès lors que tout épisode de décongélation-recongélation est évité.

Se passer des prélèvements en formation/validation

En septembre 2021, le développement d'une collaboration avec l'Institut Pasteur (Service du professeur J.C. Manuguerra) a permis la mise à disposition d'un « leurre » de formation/créancement obtenu par culture cellulaire du virus SARS-CoV-2 dans son variant initial. En fin de culture le surnageant est inactivé par la chaleur puis traité par un mélange d'enzyme permettant la libération de ses protéines, en particulier S (protéine Spike) et N (protéine de la nucléocapside). L'organe voméronasal de Jacobson permettant la fixation olfactive de grosses molécules y compris protéiques (Roberts *et al.* 2018, Chamero *et al.* 2012), il résulte de nombreux avantages à l'utilisation d'un tel substrat pour la formation des chiens :

- la non-manipulation de prélèvements biologiques (sueur) humains permet de se départir durant cette phase du travail des nombreuses autorisations administratives à obtenir (accord d'une Commission de Protection des Populations en particulier)

- le surnageant de culture permet de pouvoir disposer des VOCs issus de l'action virale sur les cellules et des protéines virales spécifiques, non volatiles quant à elles, mais excrétées par l'organisme du porteur du virus dans la sueur (en petite quantité) et dans l'air expiré (améliorant ainsi les capacités du chien au marquage des positifs)

- la double nature des molécules (VOCs et protéines virales) générant la réponse du chien conduisent celui-ci à réagir plus rapidement et de manière fiable (Figure 2).

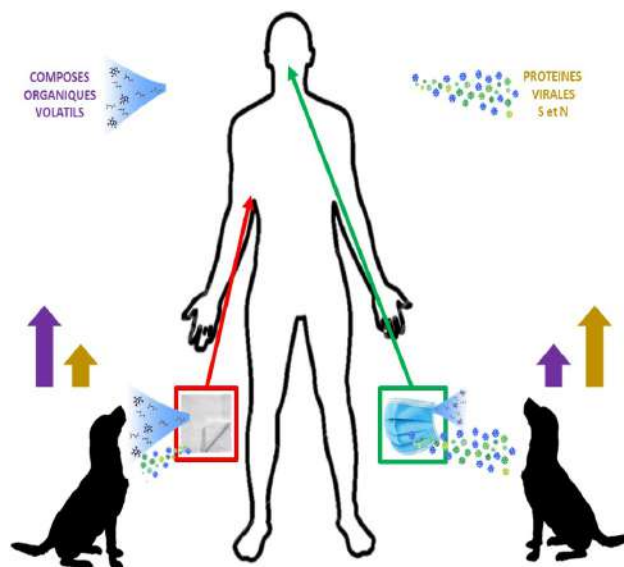


Figure 2 : Deux sources olfactives possibles pour le chien formé au leurre viral

A ce leurre viral s'adjoint un « leurre négatif » consistant en un surnageant de culture cellulaire traité de manière équivalente au précédent mais ne contenant pas de virus ; il assure la fourniture des négatifs permettant au chien de développer sa discrimination là encore sans appel à des prélèvements biologiques humains.

A la date de rédaction du présent article, les publications concernant l'utilisation de ce leurre et les résultats obtenus sont en cours de réalisation ; il en ressort :

- que les chiens formés au leurre développent sur prélèvements humains des résultats de tests olfactifs similaires à ceux obtenus sur les chiens formés sur prélèvements de sueur

- que la formation sur surnageant de culture de variant Alpha permet aux chiens de marquer sans différence les variants Delta et Omicron

- qu'une telle méthode de formation permet de gagner 2 à 3 semaines dans le temps de formation du chien (en méthode traditionnelle, qui nécessite 6 à 8 semaines, il faut un minimum de 70 prélèvements positifs et 140 négatifs pour assurer cette formation...).

Les équipes des Universités de Hanovre (Allemagne) et d'Adelaidé (Australie), à qui le leurre décrit fut fourni, parviennent à des résultats tout à fait similaires aux nôtres. Afin de mieux préciser les effets des variantes virales actuelles et à venir, nous travaillons actuellement sur des leurres issus des variants Delta et Omicron du SARS-CoV-2, et démarrons un test comparatif sur les 7 variants majeurs observés, en collaboration avec le CHU de Saint-Etienne. Signalons qu'un laboratoire privé aux USA a développé une solution similaire, sans avoir publié de résultats à ce jour.

Quels chiens retenir ?

Qu'il s'agisse de détecter la COVID-19 ou plus généralement de chiens de détection biomédicale, considérer le chien en tant que « dispositif » médical ou biologique impose de prendre en compte le fait qu'il s'agit d'un être vivant doté de sensibilité et d'intelligence, mais aussi de besoins, d'expériences, de capacités ou de comportements propres à chaque individu. Ces caractéristiques, qui sur un plan éthique et de bien-être animal se doivent d'être respectées, distinguent le chien de l'ensemble des tests analytiques mécanisés, standardisés, et fabriqués par l'être humain dans un seul et même objectif précis. Le choix des chiens susceptibles d'intégrer un tel domaine d'activités est donc crucial, tant pour l'obtention de résultats fiables et reproductibles que pour le respect le plus total de l'animal. On dispose de peu de données comparatives quant aux différences de

potentiels olfactifs entre les races ; éviter les chiens brachycéphales apparaît préférable (Polgar *et al.* 2016). Ce faisant, et de manière surprenante, il fut également montré (Hall *et al.* 2015) que le Carlin pouvait se révéler plus efficace en détection olfactive que des chiens médio ou longilignes tels le Berger Allemand et le Greyhound... preuve que le volet éthologique joue sans nul doute un rôle essentiel dans la performance obtenue. L'examen de l'ensemble des publications consacrées à ce jour à la détection olfactive de la COVID-19 montre que seuls des chiens de races médiolignes normocéphaliques ont été formés, en lien avec leurs qualités olfactives et de résilience bien connues (Berger Belge Malinois, Labrador, Berger Hollandais, Berger Allemand). La bonne santé et condition physique du chien sont bien sûr des éléments essentiels. Nous y ajoutons pour intégration au programme NOSAÏS une batterie de 15 tests comportementaux (Tableau II).

Comportements	Objectifs : 1 à 5		Non observé par l'examineur	Critères éliminatoires	Commentaires
	Maitrisé	Ajourné			
1 Auto-contrôle				≥ Insuffisant	
2 Concentration au travail				≥ Insuffisant	
3 Capacité d'initiative au travail				≥ Insuffisant	
4 Coopération				≥ Insuffisant	
5 Fiabilité au travail				≥ Insuffisant	
6 Adaptation dans les lieux inconnus				≥ Insuffisant	
7 Absence d'aboiements persistants				≥ Insuffisant	
8 Rapport à l'humain				≥ Insuffisant	
9 Rapport aux congénères				≥ Insuffisant	
10 Comportement face au bruit				≥ Insuffisant	
11 Comportement face à des objets inconnus				≥ Insuffisant	
12 Comportement lors de manipulations corporelles				≥ Insuffisant	
13 Comportement à l'intérieur des véhicules				≥ Insuffisant	
14 Rapport à l'objet de motivation				≥ Insuffisant	
15 Compétence relationnelle du binôme au travail				≥ Insuffisant	

Tableau II : Test d'évaluation initiale mis en œuvre pour l'entrée du chien en programme de formation détection olfactive COVID-19

Pour exemple, le « Rapport à l'Humain : comportement socialement approprié avec les personnes » est apprécié sur la base des tests comportementaux réalisés, à l'issue desquels ne sont retenus que les chiens classés satisfaisants ou très satisfaisants :

Satisfaisant : peut très occasionnellement montrer un comportement très légèrement inapproprié tel une brève tentative de s'appuyer sur les jambes d'une personne ou prendre avec douceur la main en gueule. Le chien peut montrer de légers signes de méfiance vis-à-vis d'un étranger (attitude suspicieuse), mais se concentre rapidement sur son travail avec quelques encouragements.

Très satisfaisant : est socialement agréable avec des personnes de tout âge et dans tous les contextes. Le chien ne manifeste aucune méfiance envers les inconnus, est motivé au travail et joueur.

L'expérience du chien en matière de détection olfactive semble constituer un « plus » dans l'appréhension des effluves de la COVID-19 ; pour de tels chiens (de recherche d'explosifs ou de personnes ensevelies/égarées), la mémorisation discriminante d'une odeur nouvelle est rapide, mais il ne faut pas omettre qu'il leur est aussi demandé de s'adapter à un environnement et à des conditions de travail différents. Dans notre programme nous avons avec succès entraîné et validé des

chiens dits « verts », n'ayant jamais effectué de détection olfactive, avec succès et parfois même de manière plus aisée. Dans son étude, Verga et son équipe (Vesga *et al.* 2020) font le même constat.

L'environnement de travail olfactif, enfin, peut impacter les capacités du chien, raison pour laquelle nous avons veillé à des critères de température ambiante et d'hygrométrie stables durant les phases de formation et de validation :

- une hygrométrie élevée est favorable à la perception olfactive des odeurs (Jenkins *et al.* 2018)
- à l'inverse, une température ambiante élevée y est défavorable (Brauer & Blasi 2021)

Formation des chiens

La formation des chiens passe par une accoutumance à l'environnement de travail, par l'apprentissage du travail en ligne (sur cônes d'olfaction (Figure 3) dans un premier temps), puis par le créancement à l'effluve qui sera recherchée. Les étapes de formation sont normalement connues des cynotechniciens spécialisés dans le domaine olfactif.

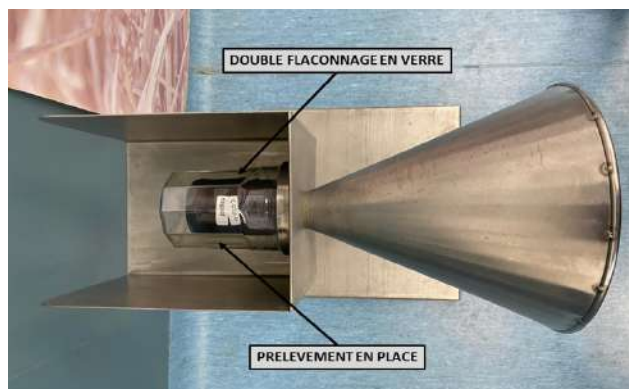


Figure 3 : Descriptif du cône d'olfaction

Mais nombreuses sont les difficultés rencontrées dans ce cadre « COVID-19 » :

- absence de référence à ce qu'on appelle un « Gold Standard » pour ce qui touche à la négativité et à la positivité des prélèvements (constat d'une non-fiabilité croissante des examens en RT-PCR)
- méconnaissances des VOCs en cours
- choix d'un support de prélèvements homogènes en début de formation (compresses stériles chirurgicales de la même marque)
- utilisation de contenants de prélèvements en verre anti-UV (afin d'éviter la formation rapide d'un biofilm odorant)
- définition des conditions de conservation et de longévité des prélèvements
- obtention de prélèvements de sueur axillaire émanant de sites différents afin d'éviter toute confusion avec un effluve de fond lié au site (Walczak *et al.* 2012, Pirroni & Albertini 2017)
- strict respect des critères d'inclusion/exclusion

La possibilité, à compter de septembre 2021, de pouvoir disposer du leurre de formation développé par l'Institut Pasteur, a considérablement facilité ces démarches, dès lors que la démonstration fut faite de sa parfaite efficacité au marquage ultérieur de prélèvements positifs (publication en cours).

Les différentes étapes de formation des chiens ont été décrites dans nos publications ultérieures (Grandjean *et al.* 2020, Grandjean *et al.* 2021, Grandjean *et al.* 2022) et peuvent se résumer comme suit :

1. Formation gestuelle et cognitive au travail en ligne (Figure 4)
2. Créancement (mémorisation) de l'odeur de la COVID-19 (sur au moins 60 prélèvements différents et avec autres cônes d'olfaction vides)
3. Introduction de compresses neutres dans la ligne en sus du/des positifs
4. Remplacement des compresses neutres par des négatives confirmées
5. Travail sur lignes ne contenant que des négatifs (afin de coller à la réalité-incidence-de la maladie en apprenant au chien à être récompensé sur une zone à part lorsqu'il ne trouve aucun positif).



Figure 4 : Marquage positif d'un cône sur ligne de prélèvements

À titre d'exemple, notre second protocole conduit sur 7 chiens (Grandjean *et al.* 2022) a nécessité 106 positifs et 242 négatifs, justifiant de la difficulté qui existe à obtenir ces éléments indispensables de formation. Plus récemment, nous avons opté pour l'utilisation, dans la phase de formation, du système automatisé et piloté par tablette interactive « DDTS » (*Detecting Dog Training System*), développé par la Société allemande Kynoscience (Figure 5).

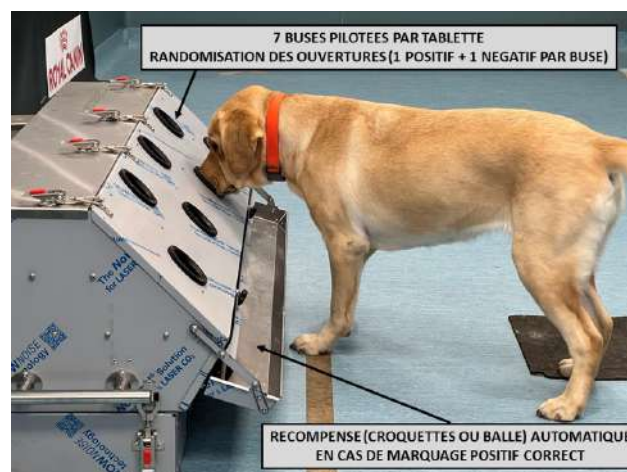


Figure 5 : Système de formation rapide DDTS Kynoscience

Ce système (Ebbers 2020) permet de gagner plusieurs semaines dans le temps de formation des chiens en évitant de multiplier les manipulations et en assurant une randomisation informatisée des prélèvements. Le marquage correct d'un prélèvement positif voit le chien récompensé instantanément et sans contact humain (croquette ou balle de tennis selon le chien).

Validation des chiens

Dès lors qu'un chien apparaît convenablement créancé et entraîné (dans notre cas, lorsqu'il réalise de manière systématique un « score » de détection des prélèvements positifs présentés avec des négatifs supérieurs à 90p100), nous passons à la phase de validation individuelle de chaque animal. Les prélèvements sont positionnés sur des lignes de 5 à 10 cônes d'olfaction, et tant le nombre de prélèvements positifs que leur position dans la ligne sont obtenus par table de randomisation. Ces autres emplacements reçoivent des prélèvements négatifs. Le notateur est placé derrière une vitre sans tain afin que ni le chien ni le conducteur ne puissent avoir accès à la moindre information visuelle fut elle involontaire (Figure 6).



Figure 6 : La phase de validation impose la randomisation du nombre de positifs et de leur position dans la ligne d'olfaction, ainsi que la garantie que le notateur n'est pas en contact avec le cynotechnicien.

Coordination internationale

Un nombre conséquent de publications existe maintenant, démontrant l'efficacité de l'olfaction canine en matière de dépistage de la COVID-19, déjà reconnu par l'OMS (WHO, 2021). Les Figures 7 et 8 montrent les développements internationaux effectifs ainsi que les collaborations directes avec l'équipe NO-SAÏS.

L'ensemble des résultats obtenus à date, au regard des valeurs de sensibilité et spécificité obtenus, figure au Tableau III. Une méta-analyse reprenant les résultats obtenus est en cours de publication (Meller *et al.* 2022), examinant la fiabilité de ceux-ci via les méthodes QUADAS (*Quality of Diagnostic Accuracy Studies*) (Whiting *et al.* 2011) et d'évaluation de la détection olfactive canine proposée par Johnen *et son équipe* (2017). Les données de dix-neuf études ont ainsi été analysées, avec une

attention particulière quant aux facteurs de confusion (design expérimental, caractéristiques des chiens, protocoles de formation, typologies de prélèvements utilisés). Au final, la plage de sensibilité retenue est de 85-96p100 et celle de spécificité de 83-99p100. Il ressort également qu'une standardisation internationale visant une certification homogène, à l'instar de ce qui se fait maintenant dans le domaine de la détection d'explosifs, est souhaitable et pourrait se mettre en place sous l'égide de l'OMS. Au plan opérationnel, dans un cadre de la grande étude SALICOV conduite par l'APHP (Assistance Publique Hôpitaux de Paris), 335 personnes symptomatiques et asymptomatiques se présentant aux deux centres de prélèvements parisiens de l'APHP ont fait l'objet d'examen par RT-PCR sur prélèvements nasopharyngés et par méthode antigénique salivaire, ainsi que d'un test olfactif canin sur compresse de sueur axillaire. Ce dernier fut conduit à distance (site de l'École nationale vétérinaire d'Alfort), après codage par APHP et en aveugle total pour l'ensemble des personnes impliquées sur le site de l'EnvA. Les résultats globaux font état d'une sensibilité/spécificité de 97/91p100 sur la cohorte entière, et de 100/94p100 sur le sous-groupe d'asymptomatiques (192 personnes) (Grandjean *et al.* 2022).



Figure 7 : Pays travaillant sur la détection olfactive canine de la COVID 19



Figure 8 : Les pays collaborant avec l'équipe Nosais-ENVA

Pays	Équipe	Groupe test	Type de Test	Nbre de tests	Nbre de chiens	Taux de positivité	Remarques
France	NOSAÏS-EnvA	Touristes Corse	Sueur	1620	3	2,50%	Clusters Touristes
		Univ. Paris Est	Sueur	95	6	8,40%	Local + taux 9%
		École Paris	Sueur	177	6	14,1%	Local + taux 11%
		École Evry	Sueur	183	6	15,3%	Local + taux 11%
		EnvA	Sueur	356	6	8,4%	Local + taux 9%
	NOSAÏS-SDIS78	Soc. Thales	Sueur	50	2	5,5%	Local + taux 5,5%
		Sap Pompiers	Sueur	369	3	9,00%	Local + taux 9%
	NOSAÏS-SDIS60	Sap Pompiers	Sueur	152	1	9,5%	Local + taux 9,5%
	NOSAÏS-HANDICHIEEN	EHPAD	Sueur	125	2	14,4%	42% des résidents
	NOSAÏS-LEBANON	Aéroport de Beyrouth	Sueur	2280	12	3,2%	Local + taux 3%
		Militaires	Sueur	695	8	2,1%	Local + taux 3%
		Audi Bank	Sueur	1150	4	2,2%	Local + taux 3%
		Mariages	Sueur	420	2	2,8%	Local + taux 3%
		Hôpital	Sueur	460	3	49,5%	Local + taux 3%
Ecole		Sueur	350	2	3,1%	Local + taux 3%	
Villages		Sueur	950	4	3,4%	Local + taux 3%	
Allemagne	Univ. Hanovre	Concert	Sueur /Saliva	2602	4	?	-
Finlande	Univ. Helsinki	Helsinki Airport	Sueur	420	4	0,47%	Local + taux 0,5%
Australie	Univ. Adelaïde	Hôtel d'aéroport	Sueur	350	4	5,7%	-
	Univ. Adelaïde	Université	Masques Chaussettes	400	4	20%	Pic épidémique
	Univ. Adelaïde	Centres communautaires	Sueur	1740	4	23%	Pic épidémique
Émirats Arabes-Unis	Min. Intérieur	Aéroport de Dubaï	Sueur	5113	20	9,8%	Local + taux 9%
	Min. Intérieur	Hop. Sharjah	Sueur	260	20	9,5%	Local + taux 9%
	Min. Intérieur	Ras al Khaima	Sueur	155	5	3,8%	Local + taux 4%
Méxique	Univ. Mexico	Usines	Sueur	1988	4	1,5%	-
	Univ. Mexico	Monastère	Sueur	120	2	?	-
	Yucatan	Public	Sueur	1400	11	1,15%	Local + taux 1%
USA	Privé	Aéroport de Miami	Masques	2924	2	?	-
	Privé	Concert	Direct	3600	12	?	-
	Privé	NASCAR	Direct	5100	12	?	-
	Privé	NBA	Direct	3200	10	?	-
	Privé	Maison retraite	Direct	600	2	?	-
	Privé	École	Direct	4200	2	?	-

Tableau III : Résultats globaux des tests de dépistage massal de terrain réalisés

De l'ensemble des résultats obtenus de par le monde résulte les éléments suivants :

- Le test olfactif canin constitue une alternative plus fiable, plus rapide et moins invasive que les tests antigéniques mis en place pour la détection massale
- Il se révèle d'un niveau de performance comparable ou supérieur aux données moyennes observées pour les PCR nasopharyngées
- Il nécessite, au plan international, une meilleure standardisa-

tion des méthodes de formation/validation.

Au rang des éléments questionnables concernant une détection spécifique de la COVID-19 figurent ceux suivants, qui ont fait l'objet d'études dédiées :

- la présence d'une maladie intercurrente (diabète, hypertension, cancer pulmonaire...) n'interfère pas avec le résultat du test fourni par le chien (Grandjean *et al.* 2021).

- le chien entraîné se révèle parfaitement discriminant vis-à-vis d'autres affections respiratoires virales (SARS-COV-1, MERS, Coronavirus 229E-OC43-NL63-HKU1, Influenza A H1N1-NH3N3, Influenza B, Virus syncytial humain, Méta-pneumovirus, Parainfluenza HPIV1-HPIV3, Rhinovirus, Adénovirus, Bocavirus) ou bactériennes (*Bordetella pertussis*) (Grandjean *et al.* 2022, Hagen *et al.* 2021).

Par ailleurs, certaines données non encore publiées mais obtenues en parfaite cohérence entre plusieurs pays (France, Allemagne, Australie, Chili, Mexique...) permettent d'affirmer que :

- la détection olfactive canine fournit un résultat positif de manière plus précoce (environ 48 à 72 heures) que la RT-PCR nasopharyngée à Ct (*Cycle threshold*) inférieur à 34 lors du processus d'infection par le SARS-COV-2

- la période post-vaccinale immédiate (jusqu'à 48 heures), lors d'utilisation de vaccin à ARN messager, génère pour le test canin une positivité de détection lors d'utilisation de prélèvements de sueur ou masques ; il est vraisemblable que ce phénomène soit en lien avec le délai nécessaire de mise en place d'une réponse immunitaire à la production interne de protéine S induite par ce type de vaccination, cette protéine étant, durant cette période, pour partie évacuée sous sa forme complète ou via ses composantes S1 ou S2.

Au final, les résultats obtenus montrent que le portage du virus SARS-COV-2 actif peut être détecté par un chien dûment formé au plan olfactif, et avec des niveaux de sensibilité et de spécificité permettant, au regard des « normes » actuelles une validation allant jusqu'au stade de test diagnostique. Cette première dans la détection d'une affection virale humaine pourrait permettre, via un déploiement raisonné, un dépistage de masse efficace n'amenant que les positifs à éventuellement devoir être confirmés par test PCR nasopharyngé. Il en résulterait une plus grande efficacité en situation pandémique, une meilleure acceptation du public, une réduction des délais de diagnostic et des coûts 50 à 100 fois moindre que ceux actuels.

APPLICATIONS OPÉRATIONNELLES POSSIBLES

Typologies de détection

Détection indirecte sur prélèvements

Les prélèvements testables par le chien créancé et validé sont les suivants :

- Sueur : sur compresse maintenue quelques secondes en zone axillaire, au pli du coude ou en frottant les avant-bras (Grandjean *et al.* 2020). Un travail est, par ailleurs, en cours au CHU de Bordeaux visant à valoriser la sueur nucale.

- Air expiré : sur masque porté quelques minutes, approche que nous avons validé en collaboration avec l'Hôpital Foch de Suresnes (Devillier *et al.* 2022), par ailleurs confirmée par l'Université de Talahassee (Floride, USA) (Mendel *et al.* 2021).

- Salive : sur coton-tige simplement imbibé de la salive de la personne testée.

L'urine, si elle fut testée avec des résultats convenables (Jendrym *et al.* 2021) n'offre aucun intérêt en test massal de terrain. Les larmes et les fèces n'ayant assez logiquement fait l'objet d'aucune étude dédiée.

Cette détection sur prélèvements peut se faire sur place ou après transfert en centre dédié des prélèvements, avec utilisation de cônes d'olfaction ou d'un système plus rapide (que nous qualifions de « quick-sniff ») (Figure 9).



Figure 9 : Système Quick-Sniff développé par NOSAÏS

Détection directe sur personnes

L'approche en recherche directe sur personnes a été testée et mise en place dans plusieurs pays, tels l'Australie, le Chili, la Colombie et l'Iran. Elle se révèle efficace et sans nul doute une modalité applicative utile pour certaines détections massales. Son inconvénient réside dans les problèmes phobiques, religieux ou d'allergie sur lesquels nous reviendrons plus loin.

Précisons au passage que la détection directe au sein d'une foule regroupée est une option à éliminer pour les raisons précédemment évoquées et de par la difficulté éprouvée par le chien pour remonter à la source d'un effluve en de telles conditions.

Applications possibles de détection massale

Les applications opérationnelles de la détection olfactive canine sont, dans le cadre de la COVID-19, nombreuses. Un tel dispositif, rapidement démontré fiable, mais aussi non invasif, à réponse instantanée et peu onéreux, trouvait toute sa place dès l'année 2020 en élément complémentaire de gestion de crise. Il eut permis de mettre en place des séries de « pre-testing » limitant le recours aux coûteux et désagréables examens RT-PCR nasopharyngées. Ce faisant, les options de déploiement qui suivent restent d'éventuelle actualité, tant pour la COVID-19 que pour de possibles futures autres pandémies virales. Le Tableau III regroupe l'ensemble des données obtenues par différentes équipes internationales lors de tests de déploiement de chiens en condition de dépistage massal de terrain.

Détection massale en aéroport/port

Pratiquer une détection rapide sur des voyageurs arrivant dans des aéroports ou ports paraît intéressant et fut depuis 2021 mis en place au moins transitoirement dans plusieurs pays, selon des mo-

dalités pratiques parfois originales et efficaces, l'objectif étant également de perturber le moins possible les flux de passagers entrants. C'est ainsi que furent mis, ou sont encore, en place :

- Aéroport de Beyrouth (Liban) ; détection sur compresse de sueur axillaire placée d'un côté d'un mur séparant passagers et chiens (Figure 10), mis en place dès août 2020 en collaboration avec NOSAÏS et sur un financement local de l'État français.
- Aéroport de Dubaï (Émirats Arabes Unis) et d'Helsinki (Finlande) ; détection sur compresses de sueur des avant-bras pratiquée sur les passagers volontaires (Kantele *et al.* 2022).
- Aéroport de Miami (Floride, USA) et Mexico (Mexique) ; détection sur masques présentés individuellement par les passagers au chien, séparé de ceux-ci par un muret ou une cloison.
- Aéroport et port de Marseille (France) ; détection massale en file mouvante de passagers, abandonné par manque de fiabilité (la détection en foule compacte est de fait irréalisable pratiquement) (Wurtz *et al.* 2022).
- Aéroport de Rome (Italie) ; essai temporaire de détection sur compresses de sueur axillaire selon une méthodologie similaire à celle des EAU.
- Aéroports de Riad (Arabie Saoudite), Islamabad (Pakistan), Téhéran (Iran), Moscou (Russie) ; détection directe sur passagers sans retour d'informations.

Signalons à ce niveau que l'équipe anglaise de « *Medical Detection Dogs* » a, quant à elle, conduit des tests d'opérationnalité concluants lors de dépistages en gares ferroviaires.

Détection massale sur événements

À ce jour, seules les équipes allemandes de l'Université de Hanovre et de l'armée ont pu conduire, avec le soutien de leur gouvernement, de telles détections à l'occasion de concerts. En cours de publication, ces essais sont intéressants car ils ont permis de comparer deux méthodologies de tests :

- Prélèvements salivaires sur coton-tige présentés par groupes de dix prélèvements aux chiens via la machine DDTS évoquée plus haut, avec test individuel ensuite en cas de positivité d'un groupe.
- Prélèvements de sueur par simple frottement du pli du coude durant quelques secondes, présentés aux chiens dans une ligne de 40 prélèvements numérotés, les personnes testées demeurant transitoirement sur un cercle portant le même numéro que leur prélèvement.

Cette approche, portant sur plusieurs milliers de personnes, s'est révélée très efficace et plus rapide à gérer que la simple billetterie (Figure 10).



Figure 10 : Illustration d'un test de masse sur concert (Université de Hanovre, Allemagne)

Détection en EHPAD

L'équipe NOSAÏS collabore avec l'association HANDI'CHIEN et l'EHPAD de Kunheim (Alsace) depuis fin 2020 afin de valoriser la présence déjà effective de plusieurs centaines de chiens d'assistance en EHPAD. C'est ainsi que plusieurs chiens ont été formés en détection sur compresses de sueur et œuvrent déjà au quotidien dans certaines institutions du département du Haut-Rhin. En Géorgie (États-Unis), plusieurs de ces établissements font également appel au chien pour détecter le portage SARS-COV-2 à partir de prélèvements de salive (Bonvissuto 2021).

De fait, la présence permanente d'un chien formé assure :

- La possibilité de détection quotidienne sur l'ensemble des résidents, habitués à la présence affective de tels chiens d'assistance, en particulier pour les populations non prélevables au niveau nasopharyngé (Alzheimer, Parkinson).
- Des tests immédiats à l'entrée sur les personnes non-résidentes (personnels, visiteurs autorisés).

Par extension, le chien de détection présente un grand intérêt pour des institutions accueillant des enfants ou personnes en difficultés, pour qui le prélèvement nasopharyngé est perçu comme une agression insupportable (Autisme, Trisomie, Handicapés physiques ou neurologiques).

Détection en institutions

En collaboration avec les SDIS (Services Départementaux d'Incendie et de Secours) des Yvelines, de l'Oise et de Seine et Marne, des dépistages systématiques sur le personnel en Centres de Secours furent mis en place de mai 2021 à avril 2022, permettant l'isolement précoce des personnels positifs après confirmation par RT-PCR nasopharyngée, aidant ainsi à préserver la fonction opérationnelle des sapeurs-pompiers non contaminés. L'état américain du Minnesota a quant à lui mis en place une détection canine excellemment acceptée par les enfants et les enseignants dans certaines de ses écoles. Le Liban, disposant de chiens des institutions militaires et de police formées, valorise également ceux-ci au profit de ces structures, au même titre que les Carabiniers du Chili, pour exemples. Nombre d'hôpitaux, de lycées et d'universités ont été demandeurs de mise en place d'équipes cynotechniques dédiées.

Détection itinérante

Deux exemples apparaissent intéressants à considérer dans ce cadre :

- Les Émirats Arabes Unis, qui disposent de plusieurs véhicules équipés (Figure 11) permettant d'amener les chiens sur n'importe quel site et d'y pratiquer un dépistage immédiat sur prélèvements de sueurs en cônes d'olfaction (gestion instantanée des clusters).

- Le cas du Bataillon des Marins Pompiers de Marseille, qui, sur la base de son programme « Comète » d'évaluation des charges virales en eaux usées proposait un déploiement immédiat de tests canins pour les habitants d'une zone perçue comme à haut niveau de contamination. À l'échelon national, une telle approche en lien avec le réseau Obépine (Observatoire épidémiologique dans les eaux usées) pourrait se révéler complémentaire et efficace.



Figure 11 : Unité mobile de détection Émirats Arabes Unis

Pays en mal d'équipements de détection

Nombre de pays défavorisés pourraient trouver dans le chien

un auxiliaire fiable et peu coûteux pour la détection de la COVID, tout autant d'ailleurs que d'autres maladies infectieuses, comme c'est déjà le cas pour la tuberculose (Pai & Schito 2015) (Dans ce cas, c'est le nez du rat de Gambie qui est valorisé (Mgode *et al.* 2018, Edwards *et al.* 2018)) ou pour la malaria (Kasstan *et al.* 2019). Une enquête internationale portant sur près de 14 000 réponses nous avait permis de préciser, dans l'avis du public et en fonction des zones géographiques, les grandes lignes de ce que pourraient être les sites de déploiement préférentiels (Figure 12). Il en ressortait qu'aéroports et sites collectifs ou évènements avaient la préférence du public. Les résultats détaillés de cette enquête sont disponibles dans une thèse vétérinaire qui a été présentée en juin 2022 (Hache 2022). Signalons ici qu'un rapport réalisé à la demande du Cabinet du ministre de la Santé en mai 2021 (Grandjean *et al.* 2021) nous avait conduit à quantifier les coûts de formation, puis de déploiement opérationnel pour un total de 1 000 chiens sur le territoire français, conduisant à un coût de revient unitaire du test inférieur à 1 euro (un chien se révélant capable, selon les environnements, de tester entre 200 et 400 prélèvements par jour.)

SITES OF DEPLOYMENT PREFERENCES

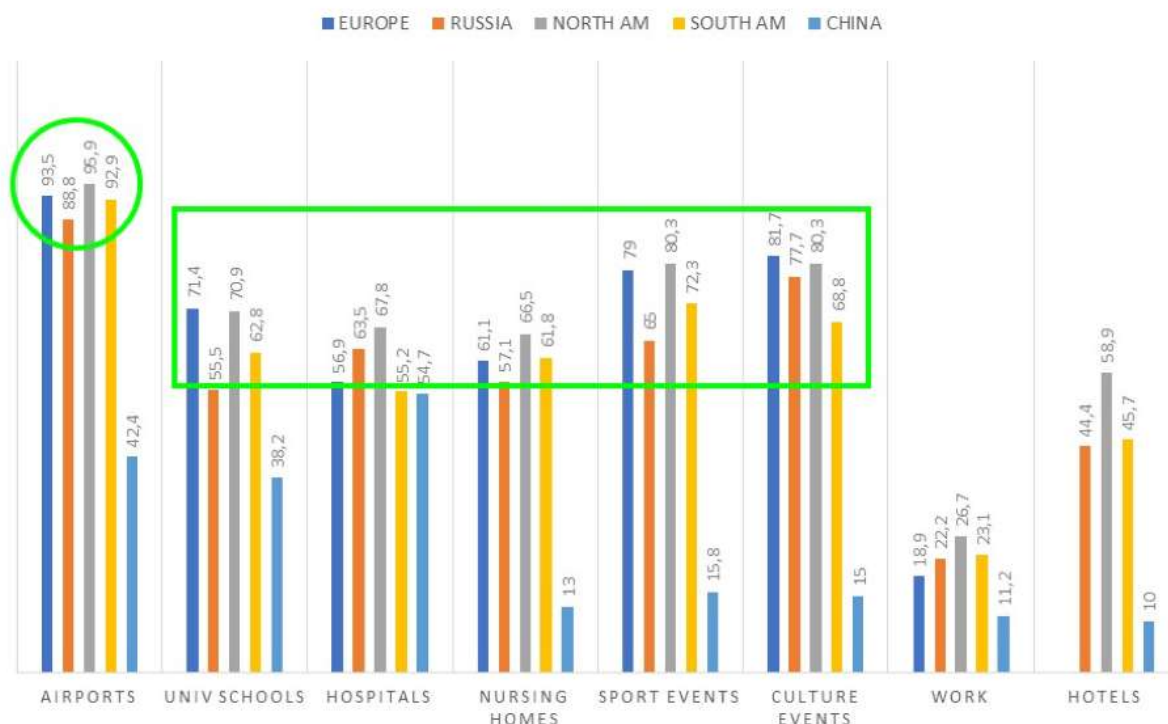


Figure 12 : Sites électifs de déploiement (enquête NOSAÏS 2021)

UN PARADIGME NOUVEAU POUR L'AVENIR : LE CHIEN DÉPISTEUR D'AGENTS BIOLOGIQUES

Le terme de « chien de détection biomédicale » se veut exhaustif, incluant l'ensemble des domaines actuellement l'objet de recherches scientifiques de par le monde : maladies humaines, maladies végétales, microorganismes pathogènes ou espèces pa-

rasites/invasives susceptibles de nuire. Ce faisant on ne peut exclure de ces champs d'application la notion de bioterrorisme tant ce dernier demeure une menace permanente pour la planète et dont une source potentielle demeure à ce jour difficile à localiser avec les moyens techniques. La situation épi/pandémique virale à haute contagiosité correspond à ce que vit le monde depuis l'émergence de la COVID-19. Le Tableau IV regroupe l'ensem-



ble des situations/localisations pour lesquelles l'olfaction canine s'est révélée ou se révélerait utile en termes de dépistage massif non invasif, à résultat immédiat, et à coût très limité.

Site / Situation	Méthode la plus adaptée
Aéroports	Masques portés
Écoles	Masques portés
Ports, Gares	Sur personnes en lignes
Hôpitaux (visiteurs)	Sur personne immobile ou prélèvement sueur
EHPADs (visiteurs)	Sur personne immobile ou prélèvement sueur
EHPADs (résidents)	Chien à demeure (Handi'chiens)
Institutions autistes	Prélèvement sueur
Institutions trisomiques	Prélèvement sueur
Évènements culturels	Sur personnes en ligne ou masques ou prélèvements sueur
Évènements sportifs	Sur personnes en ligne ou masques ou prélèvements sueur
Programme Obépine (eaux usées)	Sur prélèvements de sueur en zone positive

Tableau IV : Possibilité de valorisation du test de dépistage olfactif canin de la COVID-19

Les travaux conduits sur l'infection par le SARS-CoV-2 permettent indéniablement de pouvoir, dans le futur, obtenir une réponse canine rapide à toute modalité de virose hautement contagieuse, hormis bien sûr si le chien s'y révélait sensible. Par extension, le chien pourrait constituer rapidement un moyen économique de venir en aide aux pays défavorisés souffrant de maladies endémiques, qu'elles soient virales, bactériennes ou parasitaires, comme c'est d'ailleurs déjà le cas dans certaines zones pour la tuberculose (Pai & Schito 2015) ou la malaria (Kasstan *et al.* 2019). Une autre approche réside en celle déjà valorisée dans des hôpitaux canadiens, où des chiens sont en charge de localiser les sources de prolifération bactériennes

nosocomiales (*Staphylococcus aureus*, *Clostridium difficile*) (Bomers *et al.* 2012, Bryce *et al.* 2017, Fischer-Tenhagen *et al.* 2018). L'équipe NOSAÏS, qui travaille en collaboration avec l'APHP (Assistance Publique Hôpitaux de Paris) sur les cancers du colon et sur les cancers à haut risque de la prostate, envisage également dans le futur une approche diagnostique de la maladie de Lyme, pour laquelle les outils de dépistage demeurent insuffisants. Enfin, on peut évoquer ici la possibilité de recherche de larves de moustiques tigres ou autres vecteurs qui permettrait d'assurer une prévention plus efficace.

CONCLUSION

Plus de deux années de travaux et une très efficace collaboration internationale ont permis à ce jour de démontrer l'efficacité du dépistage olfactif canin de la COVID-19.

Si des travaux restent à conduire (à condition que des moyens y soient affectés : nature des biomarqueurs olfactifs, seuils de détection, approche comparative des variants successifs), il n'en demeure pas moins que face à une situation de crise il eut pu être fait appel à ce test, dont les résultats sont pour le moins plus fiables que ceux des tests antigéniques et dans pratiquement tous les cas équivalents à ceux obtenus par test RT-PCR nasopharyngé. Nous aurions pu adjoindre à cette synthèse les résultats d'une enquête réalisée sur des échantillons de 17 000 personnes, qui montre que seuls 3p100 d'entre elles rejettent le test canin et que ce dernier arrive en première position dans la perception de fiabilité qu'en a le grand public. Ce faisant, certains paradigmes nouveaux demeurent difficiles à imposer, face à une médecine humaine peu au fait des capacités olfactives du chien, mais qui se révèle ouverte au concept « *One Health* » dans lequel s'inscrit totalement le chien de détection biomédicale.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient pour leurs soutiens matériel l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), la Fondation Royal Canin, La Fondation Dômes Pharma.

CONFLITS D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêt.

COMITÉ D'ÉTHIQUE

Les travaux décrits dans cet article ont tous fait l'objet, pour les publications de l'équipe NOSAÏS auxquelles il est fait références, d'autorisations par la Commission de Protection des Populations (CPP).

BIBLIOGRAPHIE

- Amann A, Costello B de L, Miekisch W, Schubert J, Buszewski B, Pleil J *et al.* The human volatilome: volatile organic compounds (VOCs) in exhaled breath, skin emanations, urine, feces and saliva. *J Breath Res.* 2014; 8:034001.
- Angle C, Waggoner LP, Ferrando A, Haney P, Passler T. Canine Detection of the Volatilome: A Review of Implications for Pathogen and Disease Detection. *Front Vet Sci.* 2016; 3:47.
- Angle C, Passler T, Waggoner PL, Fischer TD, Rogers B, Galik PK *et al.* Real-time detection of a virus using detection dogs. *Front Vet Sci.* 2016; 2:79.



- Arandjelovic M, Bergl RA, Ikfuingei R, Jameson C, Parker M, Vigilant L. Detection dog efficacy for collecting faecal samples from the critically endangered Cross River gorilla (*Gorilla gorilla diehli*) for genetic censusing. *R Soc Open Sci.* 2015; 2:140423.
- Bernier UR, Kline DL, Barnard DR, Schreck CE, Yost RA. Analysis of human skin emanations by gas chromatography/mass spectrometry. 2. Identification of volatile compounds that are candidate attractants for the yellow fever mosquito (*Aedes aegypti*). *Anal Chem.* 2000; 72: 747–756.
- Bijland LR, Bomers MK, Smulders YM. Smelling the diagnosis: a review on the use of scent in diagnosing disease. *Neth J Med.* 2013; 71:300–307.
- Bjartell AS. Dogs sniffing urine: a future diagnostic tool or a way to identify new prostate cancer markers? *Eur Urol.* 2011; 59: 202–203.
- Bomers M, Van Agtmael M, Luik H, Van Veen M, Vandenbrouke C, Smulders Y. Using a dog's superior olfactory sensitivity to identify *Clostridium difficile* in stools and patients: proof of principle study. *BMJ.* 2012; 345: e7396.
- Bonvissuto K. Sniffing out COVID: Service dogs take on new role in Georgia assisted living communities. <https://www.mcknightsseniorliving.com>, 2021, 14-21
- Brauer J, Blasi D. Dogs display owner-specific expectations based on olfaction. *Sci Rep.* 2021; 11(1): 3291
- Brooks SE, Oi FM, Koehler PG. Ability of canine termite detectors to locate live termites and discriminate them from non-termite material. *J Econ Entomol.* (2003) 96:1259–66.
- Browne CM, Stafford KJ, Fordham RA. The detection and identification of tuatara and gecko scents by dogs. *J Vet Behav.* 2015; 10:496–503.
- Bryce E, Zurberg T, Zurberg M, Shajari S, Roscoe D. Identifying environmental reservoirs of *Clostridium difficile* with a scent detection dog: preliminary evaluation. *J Hosp Infect.* 2017; 97 :140-145
- Cablk ME, Sagebiel JC, Heaton JS, Valentin C. Olfaction-based detection distance: a quantitative analysis of how far away dogs recognize tortoise odor and follow it to source. *Sensors.* 2008; 8:2208–22.
- Chambers CL, Vojta CD, Mering ED, Davenport B. Efficacy of scent-detection dogs for locating bat roosts in trees and snags. *Wildl Soc Bull.* 2015; 39:780–7.
- Chamero P, Leinders-Zufall T, Zufall F. From genes to social communication: molecular sensing by the vomeronasal organ. *Trends Neurosci.* 2012; 35:597–606.
- Cooper R, Wang C, Singh N. Accuracy of trained canines for detecting bed bugs (Hemiptera: Cimicidae). *J Econ Entomol.* 2014; 107:2171–81.
- Cornu JN, 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.* 2011; 59:197–201.
- Cristescu RH, Foley E, Markula A, Jackson G, Jones D, Frère C. Accuracy and efficiency of detection dogs: a powerful new tool for koala conservation and management. *Sci Rep.* 2015; 5:1–6.
- Davidson GA, Clark DA, Johnson BK, Waits LP, Adams JR. Estimating cougar densities in northeast Oregon using conservation detection dogs. *J Wildl Manage.* 2014; 78:1104–14.
- Devillier P, Gallet C, Salvator H, Julien C, Naline E, Roisse D *et al.* Biomedical detection dogs for the identification of SARS-CoV-2 infections from axillary sweat and breath samples. *J. Breath Res.* 2022; 16-037101.
- Ebbers H. Apparatus and method for scent training for an animal. German Patent, 2020, DE 10 2020 107 060 B3.
- Edwards T, Ellis H, Watkins E, Mulder C, Mgode G, Cox C. Tuberculosis detection by pouched rats: Opportunities for reinforcement under low-prevalence conditions. *Behav Process.* 2018; 155: 2-7
- Edwards TL, Brown CM, Schoon A, Cox C, Poling A. Animal olfactory detection of human diseases: Guidelines and systematic review. *J Vet Behav.* 2017; 20:59–73.
- Fischer-Tenhagen C, Theby V, Krömker V, Heuwieser W. Detecting *Staphylococcus aureus* in milk from dairy cows using sniffer dogs. *J. Dairy Sci.* 2018; 101(5):4317-4324.
- Grabowska-Polanowska B, Miarka P, Skowron M, Sulowicz J, Wojtyna K, Moskal K, *et al.* Development of sampling method and chromatographic analysis of volatile organic compounds emitted from human skin. *Bioanalysis.* 2017 ; 9 :1465–1475.
- Grandjean D, Elie C, Gallet C, Julien C, Roger V, Desquilbet L *et al.* Diagnostic accuracy of non-invasive detection of SARS-CoV-2 infection by canine olfaction. *PLoS One.* 2022; 17(6): e0268382.
- Grandjean D, Gallet C, Julien C, Sarkis R, Muzzin Q, Roger V *et al.* Identifying SARS-COV-2 infected patients through canine olfactory detection on axillary sweat samples; study of observed sensitivities and specificities within a group of trained dogs. *PLoS One.* 2022; 17(2): e0262631.
- Grandjean D, Julien C, Gallet C. Détection olfactive canine de la COVID-19, situation à mi-mai 2019. Propositions pour un plan de déploiement national. Rapport pour le Cabinet du ministre de la Santé, mai 2021.
- Grandjean D, Marzooqi DH, Lecoq-Julien C, Hammadi HK, Alvergnat G, Blooshi KM, *et al.* Use of canine olfactory detection for COVID-19 testing study On U.A.E. trained detection dog sensitivity. *BioRxiv.* 2021. Disponible à <https://www.biorxiv.org/content/biorxiv/early/2021/01/20/2021.01.20.427105.full.pdf>. Consulté le 6/11/2022.
- Grandjean D, Sarkis R, Lecoq-Julien C, Benard A, Roger V, Levesque E, *et al.* Can the detection dog alert on COVID-19 positive persons by sniffing axillary sweat samples? A proof-of-concept study. *PLoS One.* 2020; 15:1–19.
- Guest C, Pinder M, Doggett M, Squires C, Affara M, Kandeh B, *et al.* Trained dogs identify people with malaria parasites by their odour. *Lancet Infect Dis.* 2019 ; 19 :578–580.
- Hache F. Chiens de détection olfactive de la COVID-19 : Élaboration et traitement d'une enquête pré-déploiement auprès du grand public. Thèse de doctorat vétérinaire, EnvA, 14 juin 2022.
- Hagen N, Twele F, Meller S, Jendry P, Schultz C, Kockritz-Blickwede M *et al.* Discrimination of SARS-CoV-2 Infections from other viral respiratory infections by scent detection dogs. *Front Med.* 2021; 8: 7495588.
- Hall N, Smith G, Wynne C. Performance of Pugs, German Shepherds, and Greyhounds (*Canis lupus familiaris*) on an Odor-Discrimination Task. *J Comp Psychol.* 2015; 129(3): 237-46.
- Hasegawa Y, Yabuki M, Matsukane M.

Identification of new odoriferous compounds in human axillary sweat. *Chem Biodivers.* 2004; 1: 2042–2050.

- Hatlauf J, Böcker F, Wirk L, Collet S, Schley L, Szabó L, *et al.* Jackal in hide: detection dogs show first success in the quest for golden jackal (*Canis aureus*) scats. *Mammal Res.* 2021; 66:227–36.
- Jendry P, Twele F, Meller S, Schulz C, Von Köckritz-Blickwede M, Osterhaus A *et al.* Scent dog identification of SARS-CoV-2 infections in different body fluids. *BMC Infect Dis.* 2021; 21:707.
- Jenkins E, Dechant M, Perry E. When the Nose Doesn't Know: Canine olfactory function associated with health, management, and potential links to Microbiota. *Front Vet Sci.* 2018; 5 : 56.
- Johnen D, Heuwieser W, Fischer-Tenhagen C. An approach to identify bias in scent detection dog testing. *Appl Anim Behav Sci.* 2017; 189: 1-12
- Kantele A, Parajanen J, Turunene S, Pakkanen S, Patjas A, Itkonen L *et al.* Scent dogs in detection of COVID-19 – triple-blinded randomized trial and operational real-life screening in airport setting. *BMJ global health.* 2022; 7: e008024.
- Kasstan B, Hampshire K, Guest C, Logan J, Pinder M, Williams K *et al.* Sniff and tell: the feasibility of using bio-detection dogs as a mobile diagnostic intervention for asymptomatic malaria in sub-Saharan Africa. *J Biosoc Sci.* 2019; 51(3):436-443.
- Kerley LL. Using dogs for tiger conservation and research. *Integr Zool.* 2010; 5:390–6.
- Kirton A, Winter A, Wirrell E, Snead OC. Seizure response dogs: evaluation of a formal training program. *Epilepsy Behav.* 2008; 13: 499–504.
- Kitiyakara T, Redmond S, Unwanatham N, Rattanasiri S, Thakkinstian A, Tangtawee P, *et al.* The detection of hepatocellular carcinoma (HCC) from patients' breath using canine scent detection: a proof-of-concept study. *J Breath Res.* 2017; 11:046002.
- Lippi G, Cervellin G. Canine olfactory detection of cancer versus laboratory testing: myth or opportunity? *Clin Chem Lab Med.* 2012; 50:435–439.
- Matthew EE, Verster R, Weldon C. A case study in canine detection of giant bullfrog scent. *J Vertebr Biol.* 2020; 69:20043.
- Mathieu E, Ritchie H, Rodes-guiarao L, Appel C, Gavrilov D, Giattino C, Hasell J, MacDonald B, Dattani S, Beltekian D, Ortiz-Ospina E, Roser M. Coronavirus (CoViD-19) testing. <https://ourworldindata.org/coronavirus-testing>. Consulté le 06/08/2022.
- Maughan NM, Best ME, Gadberry JD, Sharpes CE, Kelley LE, Calvin *et al.* The Use and Potential of Biomedical Detection Dogs During a Disease Outbreak. *Front Med.* 2022; 9:848090.
- Maurer M, McCulloch M, Willey AM, Hirsch W, Deway D. Detection of bacteriuria by canine olfaction. *Open Forum Infect Dis.* 2016; 3:1–6.
- 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.* 2006, 5: 30–39.
- Meller S, Caraguel C, Twele F, Chalarambus M, Schoneberg C, Chaber AL *et al.* Canine olfactory detection of SARS-COV-2 infected humans; a systematic review, sous presse, *Frontiers in Medicine* 2022.
- Mendel J, Frank K, Edlin L, Hall K, Webb D, Mills J *et al.* Preliminary accuracy of COVID-19 odor detection by canines and HS-SPME-GC-MS using exhaled breath samples. *Forensic Sci Int Synerg.* 2021; 3: 100155.
- Mgode G, Cox C, Mwimanzi S, Mulder C. Pediatric tuberculosis detection using trained African giant pouched rats. *Pediatric Res.* 2018; 84: 99–103.
- Murota H, Matsui S, Ono E, Kijima A, Kikuta J, Ishii M, *et al.* Sweat, the driving force behind normal skin: an emerging perspective on functional biology and regulatory mechanisms. *J Dermatol Sci.* 2015; 77:3–10.
- Nakash J, Osem Y, Kehat M. A suggestion to use dogs for detecting red palm weevil (*Rhynchophorus ferrugineus*) infestation in date palms in Israel. *Phytoparasitica.* 2000; 28:153–5.
- Otto CM, Sell TK, Veenema T, Hosangadi D, Vahey RA, Connell ND *et al.* The promise of disease detection dogs in pandemic response: lessons learned from COVID-19. *Disaster Med Public Health Prep.* 2021; 8:1–6.
- Pai M, Schito M. Tuberculosis diagnostics in 2015: landscape, priorities, needs, and prospects. *J Infect Dis.* 2015; 211:S21-8.
- Pirrone F, Albertini M. Olfactory detection of cancer by trained sniffer dogs: A systematic review of the literature. *J Vet Behav.* 2017; 19:105–117.
- Polgár Z, Kinnunen M, Újváry D, Miklósi A, Gácsi M. A test of canine olfactory capacity: Comparing various dog breeds and wolves in a natural detection task. *PLoS One;* 2016: 11(5), e0154087.
- Propper RE. Is sweat a possible route of transmission of SARS-CoV-2? *Exp Biol Med.* 2020; 245:997–998.
- Richards KM, Cotton SJ, Sandeman RM. The use of detector dogs in the diagnosis of nematode infections in sheep feces. *J Vet Behav.* 2008; 3:25–31.
- Roberts S, Prescott M, Davidson A, Mc Lean L, Deynon R, Hurst J. Individual odor signatures that mice learn are shaped by involatile major urinary proteins (MUPs). *BMC Biology.* 2018; 16:48.
- Roda F, Sentilles J, Molins C, Duchamp C, Hansen É, Jean N. Wolf scat detection dog improves Wolf genetic monitoring in new French colonized areas. *J Vertebr Biol.* 2020; 69:20102.
- Rooney NJ, Guest CM, Swanson LCM, Morant SV. How effective are trained dogs at alerting their owners to changes in blood glycaemic levels? Variations in performance of glycaemia alert dogs. *PLoS One.* 2019; 14: e0210092.
- Rooney NJ, Morant S, Guest C. Investigation into the value of trained glycaemia alert dogs to clients with type I diabetes. *PLoS One.* 2013; 8:e69921.
- Sentilles J, Vanpé C, Quenette PY. Benefits of incorporating a scat-detection dog into wildlife monitoring: a case study of Pyrenean brown bear. *J Vertebr Biol.* 2020; 69:20096.
- Smith DA, Ralls K, Cypher BL, Maldonado JE. Assessment of scat-detection dog surveys to determine kit fox distribution. *Wildl Soc Bull.* 2005; 33:897–904.
- 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.* 2011; 60:814–819.
- 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*. 2015; 193:1382–1387.

- Taylor MT, McCready J, Broukhanski G, Kirpalaney S, Lutz H, Powis J. Using dog scent detection as a point-of-care tool to identify toxigenic *clostridium difficile* in stool. *Open Forum Infect Dis*. 2018; 5:1–4.
- Taylor NA, Machado-Moreira CA. Regional variations in transepidermal water loss, eccrine sweat gland density, sweat secretion rates and electrolyte composition in resting and exercising humans. *Extrem Physiol Med*. 2013; 2:4.
- Troccaz M, Starckenmann C, Niclass Y, van de Waal M, Clark AJ. 3-Methyl-3-sulfanylhexan-1-ol as a major descriptor for the human axilla-sweat odour profile. *Chem Biodivers* 2004; 1:1022–1035.
- Vesga O, Valencia AF, Mira A, Ossa F, Ocampo E, Agudelo M, *et al*. Dog Savior: Immediate Scent-Detection of SARS-COV-2 by Trained Dogs. *BioRxiv*. 2022; Disponible à <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.06.17.158105v1>. Consulté le 6/11/2022.
- Walczak M, Jezierski T, Górecka-Bruzda A, Sobczynska M, Ensminger J. Impact of individual training parameters and manner of taking breath odor samples on the reliability of canines as cancer screeners. *J Vet Behav*. 2012; 7:283–294.
- Walczak M, Jezierski T, Górecka-Bruzda A, Sobczynska M, Ensminger J. Impact of individual training parameters and manner of taking breath odor samples on the reliability of canines as cancer screeners. *J Vet Behav*. 2012; 7(5):283–94.
- Wallner WE, Ellis TL. Olfactory detection of gypsy moth pheromone and egg masses by domestic canines. *Environ Entomol*. 1976; 5:183–186.
- Wasser SK, Davenport B, Ramage ER, Hunt KE, Parker M, Clarke C, *et al*. Scat detection dogs in wildlife research and management: application to grizzly and black bears in the Yellowhead Ecosystem Alberta, Canada. *Can J Zool*. 2004; 82:475–92.
- Whiting PF, Rutjes AWS, Westwood ME, Mallet S, Deeks JJ, Reitsma JB, *et al*. QUADAS-2: A Revised Tool for the Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies. *Ann Intern Med*. 2011; 155: 529-536.
- Williams H, Pembroke A. Sniffer dogs in the melanoma clinic? *Lancet*. 1989; 1:734.
- Willis CM, Britton LE, Harris R, Wallace J, Guest CM. Volatile organic compounds as biomarkers of bladder cancer: Sensitivity and specificity using trained sniffer dogs. *Cancer Biomark*. 2010; 8:145–153.
- Wilson C, Morant S, Kane S, Pesterfield C, Guest C, Rooney NJ. An Owner-Independent Investigation of Diabetes Alert Dog Performance. *Front Vet Sci*. 2019; 6:91.
- Woitke L, Dressler J, Babian C. Individual human scent as a forensic identifier using mantrailing. *Forensic Sci Int*. 2018; 282:111–121.
- World Health Organization. Consultation on the use of trained dogs for screening COVID-19 cases 2021. <https://www.who.int/publications/m/item/consultation-on-the-use-of-trained-dogs-for-screening-covid-19-cases>.
- Wurtz N, Lacoste A, La Scola B. Real-time detection of Covid-19 positive persons using sniffer dog. *Inf Diseases*. 2022; 54(5):384-386.
- Wysocki CJ, Preti G. Facts, fallacies, fears, and frustrations with human pheromones. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*. 2004; 281:1201–1211.
- Zeng XN, Leyden JJ, Lawley HJ, Sawano K, Nohara I, Preti G. Analysis of characteristic odors from human male axillae. *J Chem Ecol*. 1991; 17:1469–1492.
- Zeng XN, Leyden JJ, Spielman AI, Preti G. Analysis of characteristic human female axillary odors: Qualitative comparison to males. *J Chem Ecol*. 1996; 22:237–257.