



ANALYSE BIOCHIMIQUE DE L'AIR RESPIRÉ♦

Octavian Ciobanu¹, Gabriela Ciobanu², Ion Sandu³

¹*Faculté de Bioingénierie Médicale, Université de Médecine et Pharmacie
"Gr.T. Popa" Iași, Str. Universității 16, Roumanie,*

E-mail: octavian@engineer.com

²*Faculté de Chimie Industrielle, Université Technique "Gh. Asachi" Iași,
Bvd. D. Mangeron, Nr. 71 A, 700050, Roumanie,*

E-mail: gciobanu03@yahoo.co.uk

³*Département de Patrimoine, Faculté de Théologie, Université "Al.I.
Cuza" Iași, Bvd. Carol, nr 11, Roumanie, E-mail: ion.sandu@mail.dntis.ro*

Abstract: A conductometric method implying some devices was applied in order to perform some biochemical analysis on expired breath; experimental data were compared with data furnished by a laser type particle counter. Results obtained by this method and devices, developed for „in situ” determination of NaCl aerosol concentration of therapeutic environments, showed a good sensibility. Measurements permit determination of efficacy of an aerosol therapy.

Keywords: *aerosols, biochemical analysis, conductivity, exhaled breath*

♦ Paper presented at COFrRoCA 2006: Quatrième Colloque Franco-Roumain de Chimie Appliquée, 28 June – 2 July, Clermont-Ferrand, France

INTRODUCTION

La chaîne respiratoire peut être analysée avec une grande diversité des techniques biochimiques dans diverses maladies respiratoires.

On utilise souvent *l'analyse polarographique* qui consiste à étudier la consommation d'oxygène, en présence de différents substrats. Elle représente donc une approche plutôt globale de la chaîne respiratoire. *Les méthodes polarographiques* ont un certain nombre d'inconvénients, qui sont la nécessité de travailler sur un prélèvement tissulaire frais, la difficulté relative de la préparation tissulaire qui peut être la source d'erreurs dans les résultats et, enfin, la possibilité de sélection d'une sous-population de mitochondries qui peut ne pas être représentative de l'ensemble des mitochondries du tissu étudié. *Les techniques spectrophotométriques* permettent d'analyser les activités de chaque complexe de la chaîne respiratoire. *Les techniques histochimiques* sont l'équivalent histologique des techniques spectrophotométriques et elles s'appliquent essentiellement au tissu musculaire. On utilise aussi des techniques enzymologiques mais qui ne sont pas toujours superposables. Certains déficits ne sont visibles qu'en spectrophotométrie, car ils sont trop partiels pour entraîner une baisse significative de la consommation en oxygène mesurée par la polarographie [1,2].

Une nouvelle méthode, qui utilise les condensats de l'air expiré (EBC - Exhaled Breath Condensate en anglais) a été utilisée récemment dans l'évaluation des inflammations de la chaîne respiratoire dans le cas de l'asthme et d'autres maladies pulmonaires [3-5]. Les condensats de l'air expiré sont des fluides biologiques qui sont formés principalement d'eau et de petites gouttes de fluide de la chaîne respiratoire. Cette technique est très avantageuse parce qu'elle est totalement non-invasive et sans risques. Les condensats contiennent des substances volatiles et non volatiles. Les substances volatiles peuvent être expirées sous la forme de gazes. Les substances non volatiles sont expirées sous la forme de petites gouttes.

L'analyse biochimique de l'air expiré est basée en général sur le monitoring de l'oxyde nitrique (NO) mais récemment ont été utilisés des gazes volatiles comme le monoxyde de carbone, l'éthane et le pentane. On peut aussi analyser des substances connues comme des cytokines et des oxydants. Toutes ces substances sont connues comme des substances marker et peuvent contenir des informations utiles sur l'inflammation de la chaîne respiratoire. Ces substances sont utilisées dans l'analyse biochimique, dans des maladies comme: l'asthme, la bronchite chronique, la fibrose kystique, la dyskinésie ciliaire primaire, la rhinite, maladies pulmonaires, des infections bactériales, le cancer pulmonaire et d'autres maladies. On utilise également des analyses de la température de l'air expiré et la chromatographie de l'air expiré combinée avec la spectroscopie en ultraviolettes.

De nombreux médicaments sont actuellement utilisés pour une administration par voie d'aérosol: fluidifiants, dilatateurs bronchiques, antibiotiques etc. Avec les traitements en aérosol, on augmente l'efficacité et on diminue la toxicité des médicaments. Ils sont nécessaires des méthodes d'analyse de l'air respire pour vérifier l'efficacité d'administration des aérosols.

MATERIAUX ET METHODES D'ANALYSE

Une méthode nouvelle et une installation originale ont été conçues par un collectif de chercheurs roumains [6-9] pour la mesure de la conductivité et de la concentration d'aérosols salines de l'air inspiré ou expiré. La méthode peut être utilisée dans l'analyse de l'air respiré, dans le dosage des aérosols dans le cas d'un traitement médical et dans l'étude d'efficacité d'un traitement avec aérosols.

L'efficacité d'un traitement en aérosol dépend en très grande partie de la manière de produire et d'inhaler les aérosols. Mal inhalé, l'aérosol ne se déposera pas assez loin dans les voies aériennes et risquera de perdre presque toute son efficacité.

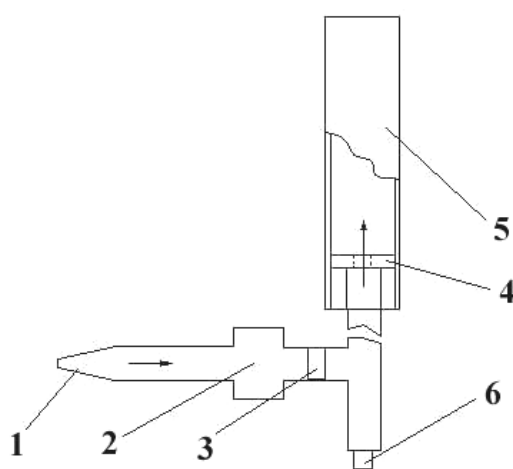


Figure 1. Le dispositif pour prélever l'air expiré

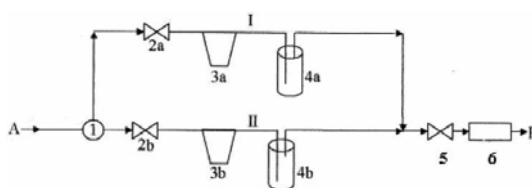


Figure 2. La schème de l'installation de mesure

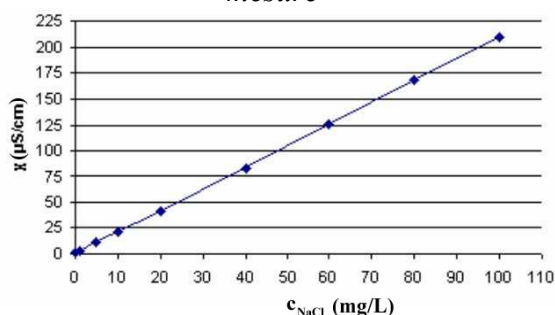


Figure 3. La courbe étalon conductivité ($\mu S/cm$) ÷ concentration en NaCl (mg/L)

Un dispositif (Figure 1) a été conçu par les auteurs de ce papier pour prélever l'air expiré et pour faire la liaison entre le patient et l'installation de mesure. Le dispositif est formé par le tube utilisé par patient pour expirer (1) en considérant que l'inspiration est faite par nez; le tube présente une chambre (2) pour collecter et séparer la salive du patient; sur tube est placé un robinet ou une soupape (3). L'air expiré est accumulé dans la chambre expansible (5), prévue avec un piston fixe et perforé (4). L'air accumulé dans la chambre expansible est finalement prélevé vers l'installation de mesure (Figure 2) à l'aide du raccord (6) qui est connecté avec l'entrée A de l'installation. Le passage d'air vers l'entrée (1) est obturé par la soupape (3).

Pour que les aérosols aillent bien dans les poumons, il faut respecter deux règles: 1 - faire de grandes inspirations; le nuage peut ainsi descendre profondément dans les voies aériennes, 2 - éviter les inspirations trop rapides. Pour faire de grandes inspirations, on laisse les poumons se gonfler dans toutes les directions: la cage thoracique s'élargit vers l'avant et aussi vers le bas: le diaphragme descend pour faire de la place aux poumons qui s'emplissent d'air et repoussent le ventre vers l'avant. Une bonne manière de faciliter les grandes inspirations sans fatigue consiste à expirer aussi profondément: ça fait de la place pour l'air de l'inspiration suivante. Et puis en respirant profondément

et lentement, les particules s'impactent moins dans la gorge et la trachée. Ainsi l'aérosol risque moins de chatouiller ou de faire tousser.

Le système de mesure (Figure 2) est construit pour déterminer les concentrations réduites en NaCl des milieux gazeux, induites artificiellement ou naturellement. On utilise deux voies de mesure, parallèles et symétriques, contrôlées de A à B avec le distributeur (1) et les robinets 2a, 2b et 5.

On emploie la technique conductométrique et on utilise un système de barbotage sous vide (4a et 4b), à l'aide d'une pompe d'aspiration à débit (6) contrôlé par des rotamètres (3a et 3b). Les barbotines 4a et 4b contiennent un système de correction - remplissage du volume avec de l'eau distillée et des électrodes traducteurs (conductif et compensateur de température) incorporés dans une cellule standard en plastique rigide, couplés à un conductomètre numérique, lequel présente un interface pour ordinateur. A l'aide de ces électrodes on détermine (en fonction du type de conductomètre) la résistivité, la conductivité ou directement la salinité de la solution obtenue par le barbotage fin, de l'air chargé d'aérosols. La valeur conductométrique déterminée pour la période de barbotage préétablie est extrapolée sur une courbe étalon lorsqu'on obtient la concentration en NaCl pour un volume donné de solution. Ensuite à l'aide des tableaux de conversion ou par des calculs on évalue la charge saline de l'air en mg/m^3 .

Un exemple de courbe étalon conductivité-concentration est présenté dans la Figure 3. La conductivité est mesurée en $\mu\text{S/cm}$ et la concentration en mg/L . Les avantages pratiques d'un système de mesure d'aérosols consiste dans le fait qu'il peut être utilisé sur terrain en dehors des laboratoires d'analyse et qu'il permet de déterminer de façon précise les concentrations en NaCl de l'ordre de ppm.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Les plus petites particules d'un aérosol, lorsqu'elles atteignent les alvéoles pulmonaires où le flux respiratoire est très faible, s'agitent dans tous les directions. Certaines particules rencontrent ainsi une paroi et s'y collent. Ce mode de dépôt s'appelle la diffusion. Les plus petites particules doivent mesurer moins de $6 \mu\text{m}$: 2 à $6 \mu\text{m}$ pour les bronches, 0,5 à $2 \mu\text{m}$ pour les bronchioles et alvéoles. Malheureusement la plus grande partie des particules très fines ne se déposent pas du tout et est rejetée à l'extérieur lors de l'expiration. Aussi il faut savoir que l'efficacité de l'aérosol dépend en grande partie de la manière de respirer.

Les aérosols de NaCl peuvent être classifiés dans quatre groupes ou niveaux dimensionnels, correspondant à plusieurs méthodes et techniques de la mesure:

- Les particules de Aitken, détectées avec un dispositif spécial ($< 0,05 \mu\text{m}$) ou par la spectroscopie massive;
- Les particules avec un diamètre entre $0,05$ et $0,1 \mu\text{m}$, détectées avec des méthodes Laser (la phase) le Système Doppler (LDS), la Dispersion de Lumière d'Intensité Angulaire (AFFLIGE) et la Dispersion de Lumière Quasi - Elastique;
- Particules avec un diamètre entre $0,1$ et $1,0 \mu\text{m}$, détectées avec un diffractomètre laser (LD), Transmission de Microscopie Electronique;
- Les particules gigantesques avec un diamètre plus grand que $1,0 \mu\text{m}$, détectées avec des: Analyseurs de Mobilité Electrique (EMA) et l'Analyseur de Microscopie - Image Optique.

Le nombre de particules rapportées à l'unité de volume exprime la concentration de particules d'aérosol. La concentration numérique de toutes les particules d'aérosol est équivalente au nombre de particules d'Aitken à partir de l'unité de volume. Ceci peut être déterminé en utilisant les compteurs de particules; on obtienne une concentration numérique moyenne, exprimées par le nombre de particules sur l'unité de volume.

Lors d'une inspiration normale, le flux d'air est d'environ 1 m/s dans la trachée et les grosses bronches, 50 cm/s dans les petites bronches, 10 cm/s dans les bronchioles, 1 cm/s dans les bronchioles respiratoires et 1 mm/s dans les alvéoles.

Les plus grosses particules et celles qui ont une grande vitesse se collent sur les voies aériennes. Ce type de dépôt s'appelle l'impaction. Elle est très importante dans le nez si l'on n'inhale pas par la bouche. L'impaction se produit ensuite dans la gorge, la trachée et dans des grosses bronches. Les particules de taille moyenne qui passent bien les voies supérieures ralentissent à mesure qu'elles progressent dans l'arbre bronchique. Elles peuvent alors se déposer, sous l'influence de leur poids, sur la paroi d'une petite bronche. Cette manière de se déposer s'appelle la sédimentation. C'est ce type de dépôt qu'il faut rechercher avec des installations ou dispositifs de mesure. Les plus petites particules, lorsqu'elles atteignent les alvéoles pulmonaires où le flux respiratoire est très faible, s'agitent et certaines rencontrent ainsi une paroi et s'y collent. Ce type de dépôt s'appelle la diffusion. Malheureusement la plus grande partie des particules très fines ne se déposent pas du tout et est rejetée à l'extérieur lors de l'expiration.

Les aérosols de l'air expiré ont été mesurés avec les dispositifs présentés dans les Figures 1 et 2. L'air expiré d'un patient, accumulé dans la chambre expansible, présentée dans la figure 1, a été mesuré deux fois avec deux méthodes différentes.

Premièrement on a utilisé un compteur de particules SIBATA GT 321 (Figure 4) doté avec un lecteur LASER. On a déterminé la distribution dimensionnelle des particules et puis on a calculé la concentration de NaCl en mg/m³ (particules sphériques) connaissant le poids spécifique.

La deuxième méthode appliquée, a utilisé les dispositifs présentés dans la Figure 2 et la courbe étalon de la Figure 3. Après des calculs spécifique pour cette méthode, ont été obtenues des valeurs proches de la méthode précédente [7,8]. Les résultats montrent la qualité des dispositifs et de la méthode de mesure basée sur la conductivité. La méthode et l'installation de mesure de la concentration d'aérosols à l'aide de la conductivité ont été présentés aux diverses salons européennes des inventions et ont obtenu des distinctions internationales.



Figure 4. Le compteur SIBATA GT 321

CONCLUSIONS

Un grand nombre des traitements utilisent les aérosols avec de nombreuses variations dans ses modalités pratiques : fréquence des séances, médicaments utilisés, doses etc.

Le choix du type d'appareil à utiliser dans un traitement reste très dépendant des habitudes des médecins. L'efficacité d'un traitement en aérosol dépend en très grande partie de la manière de produire et d'inhaler les aérosols. La mesure de la concentration des aérosols dans l'air respiré est aujourd'hui nécessaire pour connaître l'efficacité d'administration d'aérosols. Cette mesure permet d'établir: la dose de médicament, la dilution, la durée de la séance et le type du dispositif atomiseur.

De nombreux travaux sont actuellement en cours afin de rendre cette méthode d'administration des médicaments encore plus efficace et moins contraignante.

Les essais actuels de traitements nouveaux administrés par aérosol doivent motiver les patients à réaliser leurs séances de traitement comme un outil moderne et efficace.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Gebhart, J., Anselm, A., Ferron, G., Heyder, J., Stahlhofen, W.: Experimental data on the total deposition of hygroscopic particles in the human respiratory tract, *Aerosols: Science, Industry, Health and Environment* (Masuda, S., Takahashi, K., eds.), Pergamon Press, Oxford, **1990**, pp. 1299-1302.
2. Schiller, C.F., Gebhart, J., Heyder, J., Rudolf, G., Stahlhofen, W.: Deposition of monodisperse insoluble aerosol particles in the 0.005 to 0.2 μm size range within the human respiratory tract, *Ann. Occup. Hyg.*, **1988**, 32 (1), pp. 41-49.
3. Kharitonov, S., Alving, K., Barnes, P.J.: Exhaled and nasal nitric oxide measurements: recommendations. The European Respiratory Society Task Force, *European Respiratory Journal*, **1997**, 10, pp. 1683-1693.
4. Wong, H., Fahy, J.: Safety of one method of sputum induction in asthmatic subjects, *American Journal of Respiratory Critical Care Medicine*, **1997**, 156, pp. 299-303.
5. Carpagnano, G.E., Foschino Barbaro, M.P., Cagnazzo, M., Di Gioia, G., Giliberti, T., Di Matteo, C., Resta, O.: Use of exhaled breath condensate in the study of airway inflammation after hypertonic saline solution challenge, *Chest. Nov.*, **2005**, 128(5), pp. 3159-3166.
6. Sandu, I., Pascu, C., Sandu, I.G., Ciobanu, G., Ciobanu, O.: Obținerea și caracterizarea dispersiilor nanocristaline de NaCl pentru medii terapeutice de tip "salin". I. Aspecte teoretice, *Revista de Chimie (București)*, **2003**, 54(10), pp. 807-812.
7. Sandu, I., Pascu, C., Sandu, I.G., Ciobanu, G., Sandu, A.V., Ciobanu, O.: Obținerea și caracterizarea dispersiilor nanocristaline de NaCl pentru medii terapeutice de tip "salin". II. Analiza "in situ" a aerosolilor din saline, *Revista de Chimie (București)*, **2004**, 55(10), pp. 791-796.
8. Sandu, I., Pascu, C., Sandu, I.G., Ciobanu, G., Sandu, A.V., Ciobanu, O.: Obținerea și caracterizarea dispersiilor nanocristaline de NaCl pentru medii terapeutice de tip "salin". III. Evaluarea fiabilității aparatului "salin", *Revista de Chimie (București)*, **2004**, 55(12), pp. 975-982.
9. Sandu, I., Pascu, C., Ciobanu, G., Sandu, I.G., Ciobanu, O.: Metodă și dispozitiv pentru determinarea „in situ” a aerosolilor salini. Cerere de brevet de invenție, 299/12/ **2003**.