

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.06.044

· 专论与综述 ·

呼吸中的疾病诊断标志物及检测技术*

罗静怡^{1,2} 孙鹏博^{1,3} 丁艺佩^{1,2} 王阳阳^{1,3} 谢伟东^{1,2,3Δ}

(1 清华大学深圳国际研究生院健康科学与技术重点实验室 广东 深圳 518055; 2 清华大学深圳国际研究生院化学基因组学国家重点实验室 广东 深圳 518055; 3 清华大学深圳国际研究生院国际开放创新教育中心 广东 深圳 518055)

摘要:人类呼出气体中的各种化合物能提供各种疾病和健康状况的重要信息。近年来,由于红外、电化学、化学发光等新技术的重大突破和质谱仪的使用,使得在极低浓度下精确测量呼出的挥发性有机化合物(VOCs)和气溶胶颗粒成为可能,呼吸检测领域因而取得了重大进展。呼吸检测因其可以作为一种实时、快速和无创的方法来评估和监测各种疾病与健康状况信息,在科学研究、临床运用中引起了广泛关注。本综述主要概述呼出气体成分分析方法及在疾病诊断中的研究与应用情况,旨在为将来疾病的实时、快速和无创诊断提供一种新的策略。

关键词:呼吸气体分析;无创检测技术;疾病诊断

中图分类号:Q47;R322.3;R446 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2021)06-1196-05

Exhaled Breath Markers for Disease Diagnosis and Detection Technologies*

LUO Jing-yi^{1,2}, SUN Peng-bo^{1,3}, DING Yi-pe^{1,2}, WANG Yang-yang^{1,3}, XIE Wei-dong^{1,2,3Δ}

(1 Key Lab in Health Science and Technology, Tsinghua Shenzhen International Graduate School, Tsinghua University, Shenzhen, Guangdong, 518055, China; 2 State Key Laboratory of Chemical Oncogenomics, Tsinghua Shenzhen International Graduate School, Tsinghua University, Shenzhen, Guangdong, 518055, China; 3 Open FIESTA Center, Tsinghua Shenzhen International Graduate School, Tsinghua University, Shenzhen, Guangdong, 518055, China)

ABSTRACT: Various compounds in human exhaled breath can provide important information on various diseases and health conditions. Major breakthroughs in new technologies such as infrared, electrochemistry, and chemiluminescence and the use of mass spectrometers have made it possible to accurately measure exhaled volatile organic compounds (VOCs) and aerosol particles at extremely low concentrations. Significant progress has been made in the field of detection. Respiratory testing has attracted widespread attention in scientific research and clinical applications because that can be used as a real-time, fast and non-invasive method to evaluate and monitor information on various diseases and health conditions. This review mainly summarizes the analysis methods of exhaled breath and their application in disease diagnosis, and aims to provide a new strategy for the real-time, rapid and non-invasive diagnosis of diseases in the future.

Key words: Exhaled breath analysis; Non-invasive detection technology; Disease diagnosis

Chinese Library Classification(CLC): Q47; R322.3; R446 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2021)06-1196-05

前言

我们呼出的气体是一个复杂的基质,它由成千上万个的分子构成了一个独特的生物标志,像血液、指纹一样携带着一些与每个人健康有关的信息。即使在不借助精密仪器的情况下,也可以对呼出气体做简单分析。早在公元前 460-370 年时,希腊医师医学之父希波克拉底就开始提出利用呼吸分析来诊断

疾病,他在气味与疾病关系的论文中首次提到这俩概念 "口臭" 和 "肝炎性口臭"^[1]。同时,一些糖尿病患者的呼吸道气味通常被描述为 "烂苹果",有机磷中毒的人呼出的气体中弥漫着一股刺激性蒜味,而肺脓肿患者由于厌氧菌的繁殖,其呼出的气体闻起来像下水道,肝脏有疾病患者则会伴有鱼腥的气味^[2,3]。

然而,呼出气体成分的复杂性在很大程度上是不确定的,直到 1971 年,利纳斯·保尔系统地使用气相色谱法揭示了人类

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(81373460);广东省自然科学基金面上项目(2014A030313744);

深圳市科技创新委自由探索项目(JCYJ20170307152357168)

作者简介:罗静怡(1997-),女,硕士研究生,主要研究方向:化学生物学制药与生物标志物研究,电话:15201898873,

E-mail: luojy19@mails.tsinghua.edu.cn

Δ 通讯作者:谢伟东,男,硕士生导师,副教授,主要研究方向:药物药理学与生物标志物研究, E-mail: xiewd@sz.tsinghua.edu.cn

(收稿日期:2020-05-28 接受日期:2020-06-24)

呼吸中的 250 种气体,而最近二十年的高速发展,使得科学家已经能够检测呼吸环境中的 > 3000 种不同的挥发性有机化合物(VOCs)和其他雾化颗粒^[4,5]。呼吸详细成分如图一所示。气味作为一种诊断疾病的辅助手段已经有了一些发展,美国食品药品监督管理局批准气味用于哮喘、心脏移植排斥、幽门螺杆菌感染、一氧化碳(CO)中毒、酒精中毒和乳糖不耐症的基于呼吸分析的诊断^[6]。

现今有许多潜在的生物分析技术基于血液或者尿液等来诊断各种疾病,然而,这些分析技术都具有侵入性,费时,多数情况下价格高昂的,同需要配备熟练的技术人员^[7]。因此,在这些不同的技术中,呼吸分析因其安全、无创且易于执行,而受到广泛的关注。本文利用 ScienceDirect、PubMed 以及 Web of Science 数据库输入 exhaled breath analysis, disease 等几个关键词主要检索了近 10 年的相关研究论文,综述了呼吸分析在临床医学上的各种潜在应用与相关诊断技术。

1 呼吸分析的临床诊断用途

1.1 糖尿病

代谢性类慢性疾病是由于细胞代谢障碍长期积累导致人类器官组织损伤或者病变为特征的复杂慢性病。其中以糖尿病这种史无前例的全球慢性病最受到关注,根据国际糖尿病联合会(IDF)发布的第 9 版糖尿病地图显示,2019 年全球 20-79 岁的人群中约 4.63 亿人罹患糖尿病^[8]。对于相关患者他们需要经常进行血液检测或者植入相关设备来达到检测血糖的目的,而这种方法具有侵入性,会给患者带来痛苦。尽管这些年在世界范围内投入了大量资源用于开发非侵入性糖尿病管理设备,但进展缓慢^[9]。因糖尿病具有显著呼吸分析的生物标志物,在许多用于糖尿病的无创检测的潜在模式中,基于呼吸分析的模式备受关注。

糖尿病复杂的代谢紊乱是由于患者自身胰岛素分泌的不足引起的,它主要的特点是葡萄糖水平升高或者脂解水平增高,而这会导致血液中的丙酮浓度增加。这些患者血液中的丙酮与肺泡中的空气交换,导致呼出气体中的丙酮水平增高^[10]。正常人呼出的气体中含有 0.8 ppm 的丙酮,使糖尿病患者体内的丙酮含量增加到 1.7 至 3.7 ppm,因此被认为是一种重要的呼吸分析标志物^[12]。基于此,Ramji Kalidoss 等人^[13]利用通过溶剂热法合成的新型氧化石墨烯-二氧化锡-二氧化钛的纳米复合材料制备了对丙酮气体传具有优异的选择性的传感器,其还具有可重复性与良好的响应性以及较低的浓度检测范围,可以用于检测糖尿病患者的呼吸分析。

1.2 肺癌

2012 年约有 180 万人被诊断为肺癌, 占有癌症的确诊人数的 13%,其发病率与死亡率都位列所有癌症之首。预计到了 2035 年,癌症病例和相关死亡人数将分别增至 2400 万和 1460 万^[14,15]。而癌症的筛查对于早期发现疾病,避免转移扩散,从而提高成功治疗率非常重要。因此,显然需要开发预防、检测和治疗癌症的新方法。寻求一种高灵敏度,高特异性和快速的新筛查方法吸引了越来越多的生物医学、生物物理学和分析化学等跨学科领域的研究人员的关注。

一种非常规的早期癌症诊断方法是利用狗的嗅觉。1989

年发表在《柳叶刀》杂志上,首次报道了用狗检测人患癌症的可能性,文章中提到未经事先训练的狗可以嗅出其主人的黑色素瘤^[16]。因此,一些研究中心已经进行了研究和测试,以确定训练有素的狗利用其成熟的嗅觉通过对组织,尿液或呼出的空气的辨认来检测不同类型的癌症^[17]。但这导致一定程度上的假阳性,而利用呼出气中的挥发性有机化合物(VOCs)的不同来区分正常健康个体与肺癌患者,就可提供一种快速、无创的方法。Rudnicka 等人^[18]利用气相色谱法-质谱法(GC/MS)分析鉴定了挥发性有机物 88 种,发现了健康志愿者呼吸样本中不具有的 6 种 VOCs:4-庚酮、苯甲醛、庚醛、八烯醛、2-甲基-1-丙醇和 1-戊醇。肺癌患者的 GC/MS 呼吸谱图如图 2 所示,其中丙酮,乙酸甲酯,异戊二烯,甲基乙烯基酮,环己烷,2-甲基庚烷,环己酮这七种化合物经统计分析后能明显区分健康志愿者跟肺癌患者,可以成为肺癌的生物标志物。Chang 等人设计并制造了一种由多由带有多孔聚合物吸附纤维的气体冷凝模块,使用嵌入式加热器和纯氮载气的流量控制单元,七个金属氧化物气体传感器以及模式识别引擎组成可以用于肺癌筛查或诊断的系统,其准确率可以达到 75 %^[19]。

1.3 胃肠道疾病

呼气分析可以帮助诊断许多常见的胃肠病,包括小肠细菌过度生长和肠易激综合征样症状,碳水化合物消化不良和结肠转运功能障碍或改变等等^[20]。20 世纪 70 年代,就开始在重症病房使用质谱系统检测呼出的二氧化碳^[21]。胃肠道疾病的分析诊断主要基于氢气呼气试验与尿素呼气试验(UBT)。

由于碳水化合物代谢不良,可以由碳水化合物相关代谢细菌产生的氢气被吸收到门脉循环中,因此在呼吸中可以检测到氢气。因此氢气的呼气试验可用于诸如消化吸收、乳糖酶缺乏症、淀粉吸收不良和小肠细菌过度生长等等的胃肠道疾病的临床诊断^[20]。对于 UBT,其是基于幽门杆菌分解尿素的能力,而现已有多篇文献报道证实了幽门螺杆菌感染与多种人类胃肠道的疾病之间存在关联^[22]。在 UBT 实验中,患者被要求口服 13C 或 14C 标记的尿素,尿素在胃中会被幽门螺杆菌代谢成氨和二氧化碳,二氧化碳被吸收到血液中,然后通过呼气进行交换,通过分析呼出气体中被标记的二氧化即可判断相关疾病^[23]。

1.4 呼吸道感染疾病

呼吸道感染疾病是由于微生物入侵呼吸道导致的,在日常生活非常常见。目前常用与呼吸道检测的方法(血气分析、支气管镜、肺脏影像学以及实验室检查等)都是侵入式,且分析结果具有较长的等待时间。呼吸分析作为一种快速、无创、实时的检测手段在呼吸道感染疾病的诊断也受到了很大的关注。但呼吸样本中呼吸道感染疾病的生物标志物通常不是单一或几种,它是基于众多有机挥发化合物的分子谱^[24]。

肺结核病人诊断的金标准依然是从患者痰中检测结核分枝杆菌的 DNA,然而,在多达三分之一的肺结核病例中,一个足够的生物痰样本并不容易获得^[25]。Beccaria 等人^[26]利用呼吸分析快速鉴别肺结核患者,他们第一次提出用全二维色谱/飞行质谱来分析肺结核患者的呼吸样本,在样本中鉴别出的 2549 种 VOCs 里,筛选出了 22 种组成了特征性 VOCs 分子谱。慢性阻塞性肺病与哮喘能观察到相似的临床和生理特征,而这往往会耽误这些疾病的治疗,Fen 等^[27]人利用电子鼻分析患者

的呼吸样本可以完全区分慢性阻塞性肺病患者和哮喘患者,此外还可以是是否吸烟的健康志愿者。

综上所述,呼吸检测已经开始在各个疾病领域出现成熟的诊断应用,目前相关疾病与的呼吸样本中的特征标志物列主要如下表1。然而,标志物主要集中在化学类成分,其他蛋白与核酸类生物标志物还不多,疾病特异性方面有待进一步完善,疾病关联的机制还需要进一步的研究。

2 呼吸分析技术

在疾病诊断过程中,当然离不开先进技术的发展。现已经开发出多种技术和仪器用于检测呼出气中的挥发性和非挥发性成分,主要如下:

2.1 气相色谱技术

最常用于分析人体呼吸中微量化合物成分的方法是气相色谱法(GC)或其与质谱(MS)、火焰电离检测(FID)或离子迁移率光谱(IMS)的结合使用^[31]。

气相色谱系统由气体流动相和固体吸附剂或者涂着液体的单体固定相组成。将样品从色谱柱的一端加入后,然后通过惰性气态流动相将其运输带入色谱柱,根据化合物的极性不同,与固定相作用力不同,不同组分流出时间不一样而分离。如果GC色谱柱涂有非极性底物(例如硅树脂),则根据化合物的沸点分离组分^[32]。此外,可以将各种检测系统与GC联用,以方便定量人类呼吸中的化合物。

FID与GC联用的灵敏度高、对温度不敏感、响应快、线性范围广等优势使得其成为检测挥发性碳氢化合物最常用的方法之一,并且其几乎对所有的有机物都有响应^[33]。IMS是一种利用离子在电场中的迁移率来鉴别呼吸样本中存在物质的方法,GC-IMS联用技术结合解决了GC单独使用时的低鉴别能力以及IMS对混合物进行检测时存在的交叉灵敏度问题。科研工作者已经用GC-IMS技术成功地分析了呼吸样本中作为生物标志物的乙酸和丙酮等^[34]。

MS的原理是利用电场和磁场使由样品中各成分产生的不同离子束在质量分析器中发生相反的速度色散,从而得到质谱图来确定其质量^[35]。MS对未知化合物具有独特的鉴定能力,且灵敏度极高,因此GC-MS是分离和检测呼吸样本中VOCs的最有力工具之一。Sandra Van den Velde等人^[36]利用GC-MS技术分析了肝病性口臭呼出气体,发现其主要是由于二甲基硫醚、丙酮、2-丁酮和2-戊酮引起的,其可有效鉴别肝脏病理相关的病人。

2.2 质子转移反应-质谱技术

质子转移反应质谱法(PTR-MS),是一种使用气相水合氢离子作为离子源试剂的分析化学方法,PTR-MS因其反应时间只有100 ms,并且可以达到百分之一的灵敏度,是一种很有前途的气体样品挥发性有机化合物分析技术,特别适合于在线和多重测。PTR-MS对于复杂的气体混合物(例如人体呼出气体)是非常有利的,因为其再不需要在分析前对呼吸样本进行复杂的预浓缩或分离操作。此外,高丰度化合物(例如N₂,CO₂)不会干扰目标化合物的频繁快速检测^[37]。

1994年,PTR-MS就被Lindinger等人^[38]用来检测人体呼吸中的甲醇、乙醇和丙酮等小分子。自那时以来,人们越来越多

地探索使用PTR-MS技术来测量监测呼吸成分作为个人疾病状态指标的可能性。Amann等人^[7]利用PTR-MS研究发现在确诊的幽门螺杆菌感染患者的呼吸中,呼出的硝酸和氰化氢含量升高。Apra等人^[38]利用PTR-MS来监控腹腔疾病患者呼吸中的VOCs。Wehinger等人^[39]基于PTR-MS技术来自17名原发性肺癌患者和170名健康个体的呼吸气体样本,发现了原发性肺癌的两种新的潜在生物标志物。同时,Bajtarevic等人^[40]2009年进行的研究表明,使用PTR-MS的肺癌患者呼吸VOCs的定量数据比GC-MS更为准确。

2.3 选择性离子流动管质谱技术

David Smith等^[41]于1976年开发了选择性离子流动管质谱(SIFT-MS),它是一种可以定量分析的化学电离方法,前体正离子可在短暂时间里与呼吸样本中的痕量气体进行反应,这些离子根据质量进行表征后,大量分子可以被同时实时检测和鉴定。

Michalcíková等人^[42]利用SIFT-MS技术分析了呼吸样本里七种被鉴定为在炎症性肠病患者的生物标志物的化合物(顺式-2-壬烯-1-醇、2-甲基戊烷、反式-2-辛烯、2-甲基苯酮、1-庚烯、1,3,5-三嗪和2-己酮)。研究人员发现1,3,5-三嗪是其中最具有潜力的生物标志物,并且发现这几种化合物同时也可以用于克罗恩病和溃疡性结肠炎的鉴别诊断以及疾病活动的监测。利用SIFT-MS技术可以检测ppt/ppvt至ppb/ppbv范围内的VOC,并分析小分子,因此,该技术比GC-MS更受欢迎^[43]。

2.4 化学传感器

化学传感器技术已在临床诊断测试中发现了许多应用,一种广泛使用并且基于传感器阵列的技术是电子鼻(e-nose),它由串联的非选择性气体传感器以及模式识别组成。电子鼻可用于疾病或感染的诊断以及代谢模式或宿主反应的确定,是一种更面向临床的方式。

Saidi等人^[44]用其专门为呼吸分析目的开发的电子鼻系统(如图3)测量了慢性肾脏病、糖尿病和健康受试者的呼吸样本,这个电子鼻系统包括了六个商用化学气体传感器阵列:MQ-2、MQ-3、MQ-9、MQ-135、MQ-137和MQ-138。结果表明,基于化学气体传感器的电子鼻与模式识别方法相结合,可作为廉价、无创的诊断诊断方法的基础。根据实验结果发现,使用电子鼻系统对呼气进行分析是一种很有前途的方法,可作为一种廉价且无创的诊断工具来区分慢性肾脏病,糖尿病,低肌酐健康受试者和高肌酐健康受试者,同时还具有巨大的潜力以更便宜、更快捷的方式估算肌酐尿水平。Bos等人^[45]通过由32个纳米复合聚合物传感器组成的电子鼻系统快速和非侵入性地区分患者是否患有急性呼吸窘迫综合征,而当只考虑中度或者重度急性呼吸窘迫综合征患者时,诊断准确率高达80%。

2.5 激光光谱技术

2006年在美国举办的激光科学与光子应用会议上,各国专家提出激光光谱技术在灵敏度、选择性、响应时间等方面有着突出的优势,为呼吸分析领域的研究提供了一种实时在线分析的手段,自那以后基于激光光谱技术实现的呼吸分析研究报道不断涌现^[46]。主要的可调谐半导体激光吸收光谱技术、光腔衰荡光谱技术以及光声光谱技术。Li等人^[47]采用基于激光光谱技术的系统检测了参加临床实验的II型糖尿病患者和健康志

愿者的呼吸中的丙酮。实验结果表明,健康志愿者呼吸样本中的丙酮含量显著低于 II 型糖尿病患者。与传统的 GC-MS 方法相比,该系统的优点是响应快、在线测量和运行成本相对较低,这些优点使得该系统更能应用于不同情况下糖尿病患者的临床测试使用。

综上所述,根据不同的疾病呼吸标记物,目前我们可以使用不同的技术或技术组合来诊断疾病。目前呼吸分析技术主要使用化学分析的方法,主要分为三大类(1)基于气相色谱-质谱联用(GC-MS)的方法(或其他基于质谱的方法)(2)化学传感器和(3)激光吸收光谱技术^[48]。目前分析技术主要基于化学层面,精度高,特异性好,可以绘制疾病相关的化学指纹图谱。一些传感器的研究使便携检测成为可能。然而大多需要昂贵的仪器设备,专业的技术人员,临床应用困难。另外,呼吸中疾病关联的特定蛋白和基因检测的仪器分析应用较少,希望将来的研究中予以加强。

3 小结与展望

呼吸分析实时、快速、采样方便、精确、无创、为疾病诊断和监测提供了一种新的方法。呼吸分析借助于不同的化学分析技术可以应用于 VOCs 和许多有效的疾病关联标志物的检测。化学分析结合传感器研究使便携无装备检测呼吸标志物成分可能。

然而,目前呼吸中的生物标志物主要集中在分子量较小的化学成分,生物类成分如基因和蛋白的研究较小。这些化学成分疾病关联性还不够,真正意义上的单个疾病的生物标志物其实并没有出现,缺乏特异性。且大多分析仪器昂贵,需要专业技术人员,成本高,从而限制其临床应用。

因此该领域的进一步发展需要跨学科如医学、生物、化学和电子工程科学家、研究人员、工程师通力合作,期望在如下几个关键领域取得重要进展:(1)增加生物标志物的检测,除小分子化合物外,确定呼吸中与疾病关联的特异性基因和蛋白生物标志物,更多的理解特异性呼气分子与疾病关联的机制;(2)减少对仪器和专业人员的依赖,开展传感器等便携式技术与装备的研究,建立更敏感和选择性的测定 VOCs 包括基因和蛋白在内检测工具和方法。最终建立一种基于呼气,实时、便携、无创、特异、低成本检测疾病的新型方法,从而为相关疾病的检测提供一种新的策略,应对呼吸标志物相关疾病的诊断与监控。

参考文献(References)

- [1] Wallace MAG, Pleil JD. Evolution of clinical and environmental health applications of exhaled breath research: Review of methods and instrumentation for gas-phase, condensate, and aerosols [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2018, 1024: 18-38
- [2] Schubert JK, Miekisch W, Geiger K, et al. Breath analysis in critically ill patients: potential and limitations [J]. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 2004, 4(5): 619-629
- [3] Agapiou A, Amann A, Mochalski P, et al. Trace detection of endogenous human volatile organic compounds for search, rescue and emergency applications[J]. *Trac-trends in Analytical Chemistry*, 2015, 66: 158-175
- [4] Pauling L, Robinson AB, Teranishi R, et al. Quantitative analysis of urine vapor and breath by gas-liquid partition chromatography [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1971, 68(10): 2374-2376
- [5] Phillips M, Herrera J, Krishnan S, et al. Variation in volatile organic compounds in the breath of normal humans[J]. *Journal of chromatography B*, 1999, 729(1-2): 75-88
- [6] Paschke KM, Mashir A, Dweik RA. Clinical applications of breath testing[J]. *F1000 Medicine Reports*, 2010, 2: 56-61
- [7] Amann A, Poupart G, Telser S, et al. Applications of breath gas analysis in medicine[J]. *International Journal of Mass Spectrometry*, 2004, 239(2-3): 227-233
- [8] Shende P, Vaidya J, Kulkarni YA, et al. Systematic approaches for biodiagnostics using exhaled air [J]. *Journal of Controlled Release*, 2017, 268: 282-295
- [9] International Diabetes Federation. IDF Diabetes atlas 9th edition 2019 [Z]. Assessed at: <https://www.diabetesatlas.org/en/>
- [10] Villena GW, Mobashsher AT, Abbosh A. The progress of glucose monitoring-a review of Invasive to minimally and non-Invasive techniques, devices and sensors[J]. *Sensors*, 2019, 19(4): 800-844
- [11] Taylor R, Agius L. The biochemistry of diabetes[J]. *The Biochemical Journal*, 1988, 250(3): 625-640
- [12] Kim ID, Rothschild A. Nanostructured metal oxide gas sensors prepared by electrospinning [J]. *Polymers for Advanced Technologies*, 2011, 22(3): 318-325
- [13] Kalidoss R, Umapathy S, Sivalingam Y. An investigation of GO-SnO₂-TiO₂ ternary nanocomposite for the detection of acetone in diabetes mellitus patient's breath [J]. *Applied Surface Science*, 2018, 449: 677-684
- [14] Gobbo OL, Sjaastad K, Radomski MW, et al. Magnetic nanoparticles in cancer theranostics[J]. *Theranostics*, 2015, 5(11): 1249-1263
- [15] Potash J, Anderson KC. AACR Cancer Progress Report 2014: Transforming Lives Through Research[J]. *Clinical Cancer Research An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 2014, 20(19): 4977
- [16] Williams H, Pembroke A. Sniffer dogs in the melanoma clinic? [J]. *The Lancet*, 1989, 333(8640): 734
- [17] Pleil JD, Wallace MAG, Mccord J, et al. How do cancer-sniffing dogs sort biological samples? Exploring case-control samples with non-targeted LC-Orbitrap, GC-MS, and immunochemistry methods[J]. *Journal of Breath Research*, 2020, 14(1): 17-49
- [18] Rudnicka J, Kowalkowski T, Buszewski B. Searching for selected VOCs in human breath samples as potential markers of lung cancer [J]. *Lung Cancer*, 2019, 135: 123-129
- [19] Chang JE, Lee DS, Ban SW, et al. Analysis of volatile organic compounds in exhaled breath for lung cancer diagnosis using a sensor system[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, 255: 800-807
- [20] Rezaie A, Buresi M, Lembo A, et al. Hydrogen and methane-based breath testing in gastrointestinal disorders: the north american consensus[J]. *The American Journal of Gastroenterology*, 2017, 112 (5): 775-784
- [21] Riker JB, Haberman B. Expired gas monitoring by mass spectrometry in a respiratory intensive care unit[J]. *Critical Care Medicine*, 1976, 4 (5): 223-229
- [22] Wang YK, Kuo FC, Liu CJ, et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* in-

- fection: Current options and developments [J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2015, 21(40): 11221-11235
- [23] Siobal MS. Monitoring exhaled carbon dioxide [J]. *Respiratory Care*, 2016, 61(10): 1397-1416
- [24] Gao JP, Wang P, Ying KJ. Research progress in breath analysis for patients with pulmonary infection and respiratory critical diseases[J]. *Chinese Journal of Tuberculosis and Respiratory Disease*, 2016, 39(3): 223-226
- [25] Lee JJ, Suo J, Lin CB, et al. Comparative evaluation of the BACTEC MGIT 960 system with solid medium for isolation of mycobacteria [J]. *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 2003, 7(6): 569-574
- [26] Beccaria M, Mellors TR, Petion JS, et al. Preliminary investigation of human exhaled breath for tuberculosis diagnosis by multidimensional gas chromatography - Time of flight mass spectrometry and machine learning[J]. *Journal of Chromatography B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 2018, 1074-1075: 46-50
- [27] Fens N, Zwinderman AH, Van Der Schee MP, et al. Exhaled breath profiling enables discrimination of chronic obstructive pulmonary disease and asthma [J]. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2009, 180(11): 1076-1082
- [28] Galassetti PR, Novak B, Nemet D, et al. Breath Ethanol and Acetone as Indicators of Serum Glucose Levels: An Initial Report[J]. *Diabetes Technology&Therapeutics*, 2005, 7(1): 115-123
- [29] Miekisch W, Schubert JK, Noeldge-Schomburg GFE. Diagnostic potential of breath analysis-focus on volatile organic compounds [J]. *Clinica Chimica Acta*, 2004, 347(1-2)
- [30] Takayama Y, Ohnishi H, Ogasawara F, et al. Clinical utility of fractional exhaled nitric oxide and blood eosinophils counts in the diagnosis of asthma-COPD overlap [J]. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 2018, 13: 2525-2532
- [31] Xu M, Tang Z, Duan Y, et al. GC-based techniques for breath analysis: current status, challenges, and prospects [J]. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 2016, 46(4): 291-304
- [32] Ghooos Y, Hiele M, Rutgeerts P, et al. Porous-layer open-tubular gas chromatography in combination with an ion trap detector to assess volatile metabolites in human breath[J]. *Biolomedical&Environmental Mass Spectrometry*, 1989, 18(8): 613-616
- [33] Vitola PL, Simon V, Richard R, et al. Aldehydes gas ozonation monitoring: Interest of SIFT/MS versus GC/FID [J]. *Chemosphere*, 2019, 235: 1107-1115
- [34] Mochalski P, Wiesenhofer H, Allers M, et al. Monitoring of selected skin- and breath-borne volatile organic compounds emitted from the human body using gas chromatography ion mobility spectrometry (GC-IMS)[J]. *Journal of Chromatography B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 2018, 1076: 29-34
- [35] Pleil JD, Lindstrom AB. Exhaled human breath measurement method for assessing exposure to halogenated volatile organic compounds[J]. *Clinical Chemistry*, 1997, 43(5): 723-730
- [36] Van Den Velde S, Nevens F, Van Hee P, et al. GC-MS analysis of breath odor compounds in liver patients [J]. *Journal of chromatography B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences*, 2008, 875(2): 344-348
- [37] Romano A, Capozzi V, Spano G, et al. Proton transfer reaction-mass spectrometry: online and rapid determination of volatile organic compounds of microbial origin[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(9): 3787-3795
- [38] Lagg A, Taucher J, Hansel A, et al. Applications of proton transfer reactions to gas analysis[J]. *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes*, 1994, 134(1): 55-66
- [39] Wehinger A, Schmid A, Mechtcheriakov S, et al. Lung cancer detection by proton transfer reaction mass-spectrometric analysis of human breath gas [J]. *International Journal of Mass Spectrometry*, 2007, 265(1): 49-59
- [40] Bajtarevic A, Ager C, Pienz M, et al. Noninvasive detection of lung cancer by analysis of exhaled breath [J]. *Bmc Cancer*, 2009, 9: 348-363
- [41] Adams NG, Smith D. The selected ion flow tube (SIFT); A technique for studying ion-neutral reactions [J]. *International journal of mass spectrometry and ion physics*, 1976, 21(3-4): 349-359
- [42] Brůhová Michalčíková R, Dryahina K, Španěl P. SIFT-MS quantification of several breath biomarkers of inflammatory bowel disease, IBD: A detailed study of the ion chemistry[J]. *International Journal of Mass Spectrometry*, 2016, 396: 35-41
- [43] Tang ZT, Liu Y, Duan YX. Breath analysis: technical developments and challenges in the monitoring of human exposure to volatile organic compounds[J]. *Journal of Chromatography B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 2015, 1002: 285-299
- [44] Saidi T, Zaim O, Moufid M, et al. Exhaled breath analysis using electronic nose and gas chromatography-mass spectrometry for non-invasive diagnosis of chronic kidney disease, diabetes mellitus and healthy subjects[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, 257: 178-188
- [45] Bos LDJ, Schultz MJ, Sterk PJ. Exhaled breath profiling for diagnosing acute respiratory distress syndrome[J]. *Bmc Pulmonary Medicine*, 2014, 14: 72-80
- [46] Wang C, Mbi A, Shepherd M. A study on breath acetone in diabetic patients using a cavity ringdown breath analyzer: exploring correlations of breath acetone with blood glucose and glycohemoglobin A1C [J]. *IEEE Sensors Journal*, 2010, 10(1): 54-63
- [47] Sun M, Chen Z, Gong Z, et al. Determination of breath acetone in 149 type 2 diabetic patients using a ringdown breath-acetone analyzer [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2015, 407(6): 1641-1650
- [48] Cao WQ, Duan YX. Current status of methods and techniques for breath analysis[J]. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 2007, 37(1): 3-13