

Prévention des risques chimiques et biologiques

Études et recherches

RAPPORT R-809



**L'absence d'éosinophilie bronchique
est-elle un facteur de mauvais pronostic
de l'asthme professionnel ?**

*Catherine Lemière
Lucie Blais*



Solidement implanté au Québec depuis 1980, l'Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST) est un organisme de recherche scientifique reconnu internationalement pour la qualité de ses travaux.

NOS RECHERCHES *travaillent pour vous !*

Mission

Contribuer, par la recherche, à la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles ainsi qu'à la réadaptation des travailleurs qui en sont victimes;

Assurer la diffusion des connaissances et jouer un rôle de référence scientifique et d'expertise;

Offrir les services de laboratoires et l'expertise nécessaires à l'action du réseau public de prévention en santé et en sécurité du travail.

Doté d'un conseil d'administration paritaire où siègent en nombre égal des représentants des employeurs et des travailleurs, l'IRSST est financé par la Commission de la santé et de la sécurité du travail.

Pour en savoir plus

Visitez notre site Web ! Vous y trouverez une information complète et à jour. De plus, toutes les publications éditées par l'IRSST peuvent être téléchargées gratuitement. www.irsst.qc.ca

Pour connaître l'actualité de la recherche menée ou financée par l'IRSST, abonnez-vous gratuitement au magazine Prévention au travail, publié conjointement par l'Institut et la CSST. Abonnement : www.csst.qc.ca/AbonnementPAT

Dépôt légal

Bibliothèque et Archives nationales du Québec
2014
ISBN : 978-2-89631-710-3 (PDF)
ISSN : 0820-8395

IRSST - Direction des communications
et de la valorisation de la recherche
505, boul. De Maisonneuve Ouest
Montréal (Québec)
H3A 3C2
Téléphone : 514 288-1551
Télécopieur : 514 288-7636
publications@irsst.qc.ca
www.irsst.qc.ca
© Institut de recherche Robert-Sauvé
en santé et en sécurité du travail,
février 2014



Prévention des risques chimiques et biologiques

Études et recherches

■ RAPPORT R-809

L'absence d'éosinophilie bronchique est-elle un facteur de mauvais pronostic de l'asthme professionnel ?

Avis de non-responsabilité

L'IRSST ne donne aucune garantie relative à l'exactitude, la fiabilité ou le caractère exhaustif de l'information contenue dans ce document. En aucun cas l'IRSST ne saurait être tenu responsable pour tout dommage corporel, moral ou matériel résultant de l'utilisation de cette information.

Notez que les contenus des documents sont protégés par les législations canadiennes applicables en matière de propriété intellectuelle.

Catherine Lemière, Lucie Blais

Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal



Cette publication est disponible
en version PDF
sur le site Web de l'IRSST.

CONFORMÉMENT AUX POLITIQUES DE L'IRSST

Les résultats des travaux de recherche publiés dans ce document
ont fait l'objet d'une évaluation par des pairs.

SOMMAIRE

L'asthme est une maladie inflammatoire des bronches qui se traduit par une respiration sifflante, de la toux et de la difficulté à respirer. Ces symptômes s'accompagnent de changements de la fonction respiratoire qui comprennent une obstruction des bronches ainsi qu'une irritabilité anormale de celles-ci. L'inflammation présente dans l'asthme correspond la plupart du temps à la présence de cellules appelées éosinophiles. L'asthme professionnel (AP) est un asthme qui est causé par une allergie à un produit présent sur le lieu de travail. L'exposition à un agent professionnel, auquel un travailleur est allergique induit non seulement une diminution de la fonction respiratoire, mais aussi une augmentation de l'inflammation bronchique éosinophilique dans la majorité des cas. Cependant, une partie des personnes qui souffrent de l'asthme professionnel ne présentent pas d'inflammation éosinophilique lorsqu'elles sont exposées à la substance à laquelle elles sont allergiques. Une étude antérieure suggérait que ces personnes pourraient développer un asthme plus sévère que celles qui présentent une inflammation éosinophilique. L'inflammation bronchique peut être mesurée dans les crachats en pratiquant une méthode qui consiste à faire cracher les sujets après inhalation d'une solution saline. Cette technique se nomme l'expectoration induite.

Le but de ce projet de recherche est d'évaluer si l'absence d'éosinophiles dans l'expectoration, au moment de l'exposition à l'agent professionnel en cause lors du diagnostic, permet d'identifier un groupe de travailleurs dont le pronostic de l'asthme est plus défavorable à long terme, même après retrait de l'exposition. Les travailleurs qui avaient eu un diagnostic d'asthme professionnel établi par tests de provocation bronchique spécifiques (TPS), il y a environ cinq ans, ont été évalués à nouveau afin de comparer la sévérité de l'asthme des sujets qui avaient eu une réponse éosinophilique durant le test de provocation bronchique à ceux qui avaient eu une réponse non éosinophilique.

Résultats

Quarante-quatre sujets, qui ont fourni un échantillon d'expectoration valide au moment du diagnostic (avant et après le TPS), ainsi qu'au moment de l'étude, ont été étudiés. Quinze d'entre eux n'avaient pas présenté de réponse éosinophilique au moment du diagnostic, alors que les 29 autres sujets avaient eu cette réaction éosinophilique après le TPS. Au moment du diagnostic, les sujets avec inflammation non éosinophilique présentaient une obstruction bronchique légèrement plus marquée que les sujets non éosinophiliques, mais ils ne démontraient pas davantage d'hyperexcitabilité bronchique.

Cinq ans plus tard, les sujets avec réponse non éosinophilique présentaient un volume expiré maximal en une seconde (VEMS) plus bas, une obstruction bronchique plus importante ainsi qu'une hyperexcitabilité bronchique plus marquée. Ils avaient également tendance à montrer plus de difficultés à maîtriser leur asthme. Par ailleurs, le type de réponse inflammatoire (éosinophilique vs non éosinophilique) était associé à une plus grande progression de l'obstruction bronchique au cours des années de suivi.

Conclusion

Les résultats de cette étude suggèrent que les sujets avec asthme professionnel ayant une réponse non éosinophilique ont un asthme plus sévère au moment du diagnostic et n'évoluent pas aussi bien que ceux ayant une réponse éosinophilique.

TABLE DES MATIÈRES

SOMMAIRE	I
TABLE DES MATIÈRES	III
LISTE DES TABLEAUX	IV
1. INTRODUCTION	1
2. PROBLÉMATIQUE, ÉTAT DES CONNAISSANCES ET OBJECTIFS DE RECHERCHE	3
2.1 Importance de l'identification de différents phénotypes asthmatiques	3
2.1.1 L'expectoration induite, une méthode efficace pour évaluer l'inflammation bronchique de l'asthme professionnel.....	4
2.2 L'inflammation bronchique comme facteur pronostique de l'asthme professionnel ..	4
2.3 Objectifs et hypothèses de recherche	5
2.3.1 Objectif général	5
2.3.2 Objectifs spécifiques	6
3. MÉTHODOLOGIE	7
3.1 Sujets	7
3.2 Évaluation de la maîtrise de l'asthme et de la qualité de vie liée à l'asthme	7
3.3 Spirométrie et test à la méthacholine	7
3.4 Induction d'expectoration	8
3.5 Mesure de l'oxyde nitrique (NO) expiré	8
3.6 Évaluation de l'utilisation des ressources de santé	8
3.7 Tests de provocation bronchique spécifiques	8
3.8 Analyse statistique	9
4. RÉSULTATS	11
5. DISCUSSION ET CONCLUSION	15
6. BIBLIOGRAPHIE	17

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Caractéristiques cliniques des sujets de l'étude au moment du diagnostic	11
Tableau 2. Caractéristiques des répondeurs éosinophiliques et non éosinophiliques lors de l'étude (au moment du suivi).....	12
Tableau 3. Utilisation des soins de santé cinq ans précédant et cinq ans suivant le diagnostic, chez les répondeurs éosinophiliques et non éosinophiliques	13

1. INTRODUCTION

L'asthme professionnel (AP) est une maladie caractérisée par une obstruction bronchique variable et/ou une hyperexcitabilité bronchique et/ou une inflammation bronchique causée par des conditions attribuables à un environnement professionnel spécifique et non pas par la présence de stimuli déclenchés en dehors du milieu de travail (1). Il s'agit de l'une des maladies professionnelles pulmonaires les plus fréquentes.

Plusieurs facteurs pronostiques tels que la durée d'exposition avant et après l'apparition des symptômes, la sévérité de l'asthme au moment du diagnostic et le type de réaction asthmatique après un test de provocation bronchique spécifique ont été évoqués (2). Cependant, une revue systématique de la littérature récente n'a pas permis d'identifier clairement les facteurs pronostiques de l'AP, probablement en raison de l'hétérogénéité des données recensées dans la littérature (3).

Des efforts de prévention ont été mis en place pour diagnostiquer précocement l'AP afin de retirer l'individu le plus rapidement possible de son milieu de travail, et ainsi éviter l'aggravation de la maladie. Cependant, malgré le retrait de l'exposition professionnelle, seuls 30 % des individus atteints d'AP normalisent leur réactivité bronchique non spécifique et deviennent asymptomatiques alors que 70 % des personnes atteintes présentent des symptômes d'asthme persistants (3). L'absence de critères pronostiques clairs rend la prise en charge de ces patients plus ardue, car il est difficile de déterminer quel sous groupe cibler et quelles interventions mettre en place pour améliorer la prise en charge et l'évolution de ces patients.

L'inflammation bronchique est une des caractéristiques majeures de l'asthme. Cependant, à ce jour, peu d'études ont examiné la valeur pronostique de l'inflammation bronchique dans l'AP. Le type d'inflammation observé au moment du diagnostic pourrait s'avérer être un facteur prédictif de l'évolution de l'AP après retrait de l'exposition. En effet, l'identification d'un facteur pronostique pourrait certainement permettre d'améliorer la prise en charge des patients atteints d'AP.

2. PROBLÉMATIQUE, ÉTAT DES CONNAISSANCES ET OBJECTIFS DE RECHERCHE

2.1 Importance de l'identification de différents phénotypes asthmatiques

Dans l'asthme professionnel, on distingue : 1) l'asthme professionnel induit par des sensibilisants, aussi appelé asthme avec période de latence, suggérant la présence d'un mécanisme immunologique sous-jacent responsable d'une période de latence entre le début de l'exposition et l'apparition des symptômes; et 2) l'asthme professionnel induit par des irritants ou l'asthme sans période de latence regroupant différentes entités. La plus typique des formes d'asthme est le syndrome d'irritation aiguë des bronches (Reactive Airway Dysfunction Syndrome, RADS), survenant dans les heures suivant l'exposition à un agent irritant à haute concentration, causant des lésions des voies aériennes sévères et entraînant une inflammation bronchique ainsi qu'une hyperréactivité bronchique persistantes. Cependant, dans de nombreux cas, la survenue de l'asthme n'est pas aussi soudaine et suit des expositions répétées à de faibles doses d'agents irritants (asthme induit par des irritants). Le présent projet de recherche se concentrera uniquement sur l'AP avec période de latence.

L'asthme est de plus en plus souvent considéré comme un syndrome composé de plusieurs phénotypes plutôt que comme une maladie regroupant un groupe homogène de patients (2). En effet, différentes catégories phénotypiques ont été décrites selon des caractéristiques cliniques, inflammatoires ou des facteurs déclenchant ou aggravant l'asthme (4). Les éosinophiles sont des cellules présentes en quantité anormalement élevée dans les voies aériennes des sujets asthmatiques. De plus en plus d'évidences suggèrent que l'asthme non éosinophilique constitue un phénotype distinct. L'asthme non éosinophilique ne semble pas répondre aux corticostéroïdes en inhalation de façon comparable à l'asthme éosinophilique, si bien que l'asthme non éosinophilique est considéré comme une des caractéristiques de l'asthme réfractaire (5). Les patients non traités par corticostéroïdes en inhalation et présentant un taux d'éosinophiles dans l'expectoration supérieur à 3 % ont une amélioration du volume expiré maximal en une seconde (VEMS) et de la réactivité bronchique non spécifique supérieures à celles observées chez les sujets non éosinophiliques (5). Plus récemment, Berry et coll. ont démontré, dans un petit essai clinique randomisé et contrôlé contre placebo, que les sujets non traités par stéroïdes inhalés, mais ayant un taux élevé d'éosinophiles dans l'expectoration, avaient une amélioration de leurs symptômes et de leur fonction respiratoire plus importante que les sujets ayant un faible taux d'éosinophiles (6). Les mécanismes qui mènent à un type d'inflammation bronchique ou à un autre, lors d'une réaction asthmatique, sont certainement complexes. Douwes et coll. ont suggéré que la plupart des types d'asthme non éosinophiliques pourraient être médiés par des neutrophiles (7). Ces phénotypes ont été décrits pour l'asthme (8), mais peu de choses sont connues dans le domaine de l'asthme professionnel. Ce dernier est une interaction complexe entre la maladie asthmatique et l'exposition à différents agents professionnels dans le milieu de travail.

L'inflammation bronchique est une caractéristique de l'asthme, mais elle peut être également induite par certains types d'exposition qui peuvent avoir un impact différent chez les sujets sains et les sujets asthmatiques. Il est donc possible que le type d'inflammation bronchique induite par l'exposition à des agents professionnels soit le reflet d'un mécanisme immunitaire qui diffère

selon le type d'exposition. L'évolution plus ou moins favorable de la maladie asthmatique pourrait dépendre du type de mécanisme immunitaire sous-jacent.

2.1.1 L'expectoration induite, une méthode efficace pour évaluer l'inflammation bronchique de l'asthme professionnel

L'expectoration induite est une méthode simple, qui permet d'évaluer la cellularité bronchique de façon non invasive. Cette méthode peut être répétée à plusieurs reprises dans le temps, contrairement au lavage broncho-alvéolaire ou aux biopsies bronchiques, qui nécessitent la pratique d'une bronchoscopie, un examen plus invasif. La méthode de l'expectoration induite appliquée à l'AP est fiable et permet d'évaluer le degré d'inflammation bronchique chez les travailleurs atteints (12-14). Les travailleurs porteurs d'un AP ont une augmentation importante de l'éosinophilie de l'expectoration lors des périodes au travail, qui diminue après trois semaines hors travail. Cette variation de l'éosinophilie de l'expectoration n'existe pas chez les travailleurs asthmatiques qui ne présentent pas d'AP et qui sont exposés à des agents sensibilisants (8). L'exposition à des agents professionnels en laboratoire entraîne de façon prédominante une éosinophilie chez les sujets atteints d'AP, mais une neutrophilie peut également exister (9). Par ailleurs, l'utilisation de l'expectoration induite, conjointement à la mesure sériée des débits de pointe au travail et hors travail, améliore la spécificité de ce dernier test par rapport aux tests de provocation bronchique spécifiques (15).

2.2 L'inflammation bronchique comme facteur pronostique de l'asthme professionnel

L'évolution de l'AP est variable selon les sujets. Moins de 50 % d'entre eux normalisent leur réactivité bronchique non spécifique et deviennent asymptomatiques après le retrait de l'exposition alors que les autres sujets présentent des symptômes d'asthme persistants (1-3). Les facteurs pronostiques principaux évoqués jusqu'à ce jour sont la durée de l'exposition, avant et après l'apparition des symptômes, la sévérité de l'asthme au moment du diagnostic et le type de réaction asthmatique après les tests de provocation bronchique spécifiques. Cependant, ces facteurs pronostiques de l'AP n'ont pas été confirmés lors d'une récente revue systématique de la littérature (3).

Comme c'est le cas pour l'asthme, l'inflammation bronchique est une caractéristique essentielle de l'AP. Dans celle-ci, la présence d'inflammation bronchique peut être caractérisée lors de deux circonstances distinctes : lors de l'exposition professionnelle active et après retrait de l'exposition. Il est possible que la présence et le type d'inflammation bronchique observée dans ces deux circonstances aient une signification différente.

La majorité des travailleurs atteints d'AP présentent une inflammation bronchique éosinophilique lors de l'exposition professionnelle (10). Après retrait de l'exposition professionnelle, cette inflammation éosinophilique disparaît rapidement dans les semaines suivantes (11). L'inflammation bronchique éosinophilique ne persiste que chez environ 20 % des sujets, environ dix ans après retrait de l'exposition professionnelle (12). Comme pour l'asthme, la persistance d'éosinophilie bronchique après retrait de l'exposition est probablement associée à un moins bon contrôle de l'asthme professionnel (13). En effet, Paggiaro et coll. ont montré que le nombre

d'éosinophiles retrouvés dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire était plus élevé chez les sujets porteurs d'un AP qui avaient une persistance de leur hyperréactivité bronchique non spécifique (14).

L'exposition à des agents professionnels induit, la plupart du temps, une augmentation du nombre d'éosinophiles (7, 8). Une augmentation du nombre de neutrophiles a également été décrite, en particulier avec des agents de bas poids moléculaire comme les isocyanates (9, 10). Anees et coll. (15) ont également identifié des sujets avec asthme professionnel encore exposés dans leur milieu de travail, avec et sans éosinophilie dans l'expectoration.

En milieu de travail, le type de réaction inflammatoire induite par l'exposition à un agent professionnel spécifique pourrait être un facteur pronostique. En effet, lors d'une étude de suivi longitudinal de travailleurs atteints d'AP (11), une amélioration précoce de l'inflammation bronchique a été notée chez l'ensemble des travailleurs, deux semaines après retrait de l'exposition. Une amélioration de la réactivité bronchique non spécifique, suivie d'une stabilité, ont également été observées, essentiellement dans les six mois qui suivaient le retrait de l'exposition. Cependant, lors d'analyses plus poussées, deux groupes de travailleurs se sont distingués. Les sujets qui présentaient une éosinophilie lors de l'exposition à l'agent professionnel incriminé démontraient une évolution plus favorable que les sujets qui n'en présentaient pas. En effet, la réactivité bronchique de ces sujets avait tendance à s'améliorer dans le temps, leur VEMS restait stable et leur besoin en corticostéroïdes inhalés diminuait. En revanche, les sujets qui n'avaient pas d'éosinophilie bronchique au moment du diagnostic voyaient leur VEMS se détériorer, entre trois et quatre ans après retrait de l'exposition, ne montraient pas d'amélioration de leur réactivité bronchique non spécifique et devaient continuer à prendre des doses élevées de corticostéroïde inhalés. Malheureusement, cette étude préliminaire n'incluait qu'un nombre assez faible de sujets (n=24), il n'a donc pas été possible de faire des analyses statistiques plus poussées.

Chez les asthmatiques sévères qui nécessitent de fortes doses de stéroïde inhalés, on retrouve des taux de neutrophiles deux fois plus élevés que chez les asthmatiques légers ou les sujets sains témoins (11). Il se pourrait donc que les asthmatiques porteurs d'un AP qui présentent une inflammation bronchique neutrophilique aient, de la même façon, un moins bon pronostic que les sujets n'ayant pas d'inflammation bronchique ou présentant une inflammation bronchique éosinophilique.

2.3 Objectifs et hypothèses de recherche

2.3.1 Objectif général

Évaluer si l'absence d'éosinophiles dans l'expectoration, au moment de l'exposition à l'agent professionnel en cause lors du diagnostic, permet d'identifier un groupe de travailleurs dont le pronostic de l'asthme est plus défavorable à long terme même après le retrait de l'exposition.

2.3.2 Objectifs spécifiques

Objectif spécifique 1 : Au moment du diagnostic d'AP, comparer les paramètres fonctionnels (VEMS, CP₂₀) et inflammatoires (éosinophiles et neutrophiles de l'expectoration induite) entre les sujets avec et sans éosinophiles, lors de l'exposition aux agents professionnels.

Hypothèse 1 : Les sujets sans éosinophilie et avec neutrophilie ont un asthme plus sévère au moment du diagnostic.

Objectif spécifique 2 : Plusieurs années après le retrait de l'exposition, comparer les paramètres cliniques (scores de contrôle de l'asthme et de qualité de vie de l'individu asthmatique), fonctionnels (VEMS, CP₂₀) et inflammatoires (éosinophiles, neutrophiles de l'expectoration induite et oxyde nitrique (NO) expiré) entre les sujets avec et sans éosinophiles, lors de l'exposition aux agents professionnels.

Hypothèse 2 : Les sujets sans éosinophilie ont un asthme moins bien contrôlé et une dégradation de leur VEMS et de leur réactivité bronchique non spécifique plus marquée que les sujets avec éosinophilie, plusieurs années après le retrait de l'exposition.

Objectif spécifique 3 : Déterminer l'utilisation des services de santé pendant une période de cinq ans avant à cinq ans après un diagnostic d'AP, chez des sujets avec et sans éosinophilie à la suite d'une exposition à l'agent en cause.

Hypothèse 3 : Les sujets sans éosinophilie utilisent davantage les services de santé que les sujets avec éosinophilie, plusieurs années après le retrait de l'exposition.

3. MÉTHODOLOGIE

3.1 Sujets

Tous les travailleurs diagnostiqués d'AP par tests de provocation bronchique spécifiques à l'Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal, au moins quatre ans avant l'étude, et chez qui des échantillons d'expectoration avaient été collectés avant et après des tests de provocation bronchique spécifiques, ont été invités à participer à l'étude. Après avoir signé un formulaire de consentement éclairé, les sujets ont subi les tests suivants, durant une seule visite à l'Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal: spirométrie, test à la méthacholine, mesure de l'oxyde nitrique expiré et expectoration induite. Lors de cette même visite, ils ont également répondu à un questionnaire validé évaluant le contrôle de l'asthme (16), ainsi qu'à un questionnaire de qualité de vie liée à l'asthme (17).

3.2 Évaluation de la maîtrise de l'asthme et de la qualité de vie liée à l'asthme

Questionnaire de maîtrise de l'asthme: Asthma Control Questionnaire (ACQ) (16). Ce questionnaire mesure les niveaux de maîtrise de l'asthme selon des critères standardisés. Les sujets devaient se souvenir de leurs symptômes dans la semaine précédente et répondre à six questions concernant ces symptômes (éveils nocturnes, symptômes au réveil, limitation des activités, essoufflement, sibilance et utilisation d'agonistes béta-2 à courte durée d'action). Dans ce questionnaire, le VEMS est aussi pris en compte sur une échelle de sept points. Le score de l'ACQ correspond à la moyenne des réponses à ces sept items et se situe entre zéro (très bien maîtrisé) et six (extrêmement mal maîtrisé). Un score supérieur ou égal à 1.5 est un indicateur d'une mauvaise maîtrise de l'asthme. Une différence de score de 0.5 est considérée comme étant cliniquement significative (18, 19).

Questionnaire de qualité de vie liée à l'asthme : Asthma Quality of Life Questionnaire (AQLQ) (17). Ce questionnaire évalue la qualité de vie liée à l'asthme à l'aide de 32 questions réparties en quatre domaines : limitation des activités, symptômes, stress émotionnel et stimuli environnementaux. Chaque item est évalué sur une échelle de sept points (1: limitations maximales, 7: aucune limitation). Le score de l'AQLQ correspond à la moyenne des réponses aux 32 questions.

3.3 Spirométrie et test à la méthacholine

Une spirométrie évaluant le volume expiré maximal en une seconde (VEMS) et la capacité vitale forcée (CVF) a été effectuée à l'aide d'un spiromètre Collins (Collins Inc. USA). Un test à la méthacholine a été réalisé afin d'évaluer la concentration provoquant une chute de 20 % du VEMS (CP_{20}), selon une méthodologie standardisée et précédemment décrite (20). Ce test a été accompli avec un nébuliseur de Wright (débit de 0.14 ml/min) avec une respiration à volume courant durant deux minutes. Les concentrations de méthacholine administrée étaient doublées de 0.03 à 16 mg/ml ou jusqu'à ce qu'une chute de 20 % du VEMS se produise. Si, à la dernière dose, le VEMS n'avait pas chuté de plus de 20 %, le test était complété en administrant trois doses

supplémentaires de méthacholine, 32, 64 et 128 mg/ml. Une $CP_{20} \leq 16$ mg/ml était considérée comme le témoin d'une hyperréactivité bronchique non spécifique significative.

3.4 Induction d'expectoration

L'induction d'expectoration a été pratiquée au cours d'un test à la méthacholine selon la technique précédemment décrite (21). Une solution saline hypertonique (9 cc), à concentration croissante de 3 à 4 %, puis à 5 %, était nébulisée avec un nébuliseur ultrasonique durant des périodes de sept minutes pour un total de 21 minutes. L'échantillon a été traité selon une méthodologie standardisée précédemment décrite (22). Un compte cellulaire total était effectué et la viabilité cellulaire était déterminée, simultanément. Le compte cellulaire total de cellules par mg d'expectoration traitée était calculé. Des lames étaient préparées pour calculer les comptes différentiels de macrophages, lymphocytes, neutrophiles et éosinophiles.

3.5 Mesure de l'oxyde nitrique (NO) expiré

La méthode de recueil du NO expiré a été effectuée selon les recommandations de la Société américaine de thoracologie (ATS) (23). On demandait aux sujets d'inspirer jusqu'à leur capacité pulmonaire totale puis d'expirer en effectuant une manœuvre de capacité vitale lente dans l'analyseur de NO, contre une résistance, afin de fermer le voile du palais. La mesure de NO était lue directement sur l'analyseur de NO.

3.6 Évaluation de l'utilisation des ressources de santé

Une autorisation a été obtenue de la Commission d'accès à l'information pour lier les numéros d'assurance maladie des travailleurs recrutés dans l'étude aux données de la Régie de l'assurance maladie du Québec (RAMQ) et de MED-ECHO. Une fois les données obtenues, les taux d'utilisation des services de santé ont été déterminés pour ces patients pour une période de cinq ans précédant le diagnostic d'AP ainsi que pour une période de cinq ans suivant ce diagnostic, ou jusqu'à la visite faite pour la présente étude. Ces taux d'utilisation correspondent au nombre de visites pour asthme effectuées à la clinique, à l'urgence et au nombre d'hospitalisations. Ces taux d'utilisation des services de santé ont été comparés entre les sujets avec et sans éosinophiles au moment du diagnostic.

3.7 Tests de provocation bronchique spécifiques

Les tests de provocation bronchique spécifiques ont été administrés lors du diagnostic en pratique clinique et ne faisaient pas partie de l'étude en tant que telle, néanmoins l'administration de ces tests est bien standardisée (24) et a été effectuée de la façon suivante. La première journée consistait en une journée contrôle pour s'assurer de la stabilité de l'asthme du sujet. Le VEMS était mesuré aux 10 minutes la première heure, aux 30 minutes la deuxième heure puis aux heures pour un total de sept heures. La capacité vitale forcée était mesurée aux heures. Un test à la méthacholine et une induction d'expectoration étaient réalisés à la fin de la journée contrôle. Durant les jours suivants, l'exposition était étalée sur trois jours (4 minutes la première journée, 30 minutes la deuxième journée puis 120 minutes la dernière journée) dans le cas des agents de bas poids moléculaire, en raison de la fréquence des réactions retardées sans composante

immédiate. Dans le cas des agents de haut poids moléculaire, l'exposition d'un maximum de 120 minutes avait lieu durant une seule journée puisqu'une composante immédiate est toujours présente avec ces agents. Un test à la méthacholine et une induction d'expectoration étaient répétés lors de la dernière journée de tests. Les tests de provocation bronchique spécifiques étaient pratiqués à l'aide de générateurs en circuit fermé, selon l'agent étudié (24). Ces tests étaient considérés comme positifs si l'exposition à l'agent professionnel entraînait une chute de VEMS d'au moins 20 % lors d'une réaction asthmatique immédiate (I), retardée (R), ou double (D).

3.8 Analyse statistique

Les données ont été présentées à l'aide de statistiques descriptives. Les sujets ont été divisés en deux groupes selon leur réponse inflammatoire sept heures après exposition à l'agent causal : changement d'éosinophiles pendant TPS ≥ 2 % (sujets répondeurs éosinophilique - Eos+) ou changement d'éosinophiles pendant TPS < 2 % (sujets répondeurs non éosinophiliques - Eos-). Les différentes variables telles que les scores de maîtrise de l'asthme et de la qualité de vie, les changements de VEMS, VEMS/CVF et CP₂₀ observés entre le diagnostic et le suivi, le NO expiré, le nombre de visites à la clinique, à l'urgence ainsi que le nombre d'hospitalisations ont été comparées entre les groupes Eos+ et Eos-, à l'aide d'un test *t* de Student ou Mann Whitney selon que les données étaient normalement distribuées ou non. Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel statistique SPSS.

4. RÉSULTATS

Cent huit patients ont initialement été identifiés. Un échantillon d'expectoration a été collecté au moment du diagnostic chez 104 d'entre eux, avant et après les tests de provocation bronchique. Vingt-quatre ont refusé de participer à l'étude et 36 n'ont pu être joints. Quarante-quatre sujets avaient donc un échantillon d'expectoration valide au moment du diagnostic (avant et après test de provocation bronchique) ainsi qu'au moment de l'étude (Tableau 1).

Tableau 1. Caractéristiques cliniques des sujets de l'étude au moment du diagnostic

	Changement d'éosinophiles pendant TPS <2 % Sujets non éosinophiliques	Changement d'éosinophiles pendant TPS ≥2 % Sujets éosinophiliques	p
n	15	29	
Sexe, H/F	13/2	21/8	0.3
Âge, ans	48±12.3	45.1±9.4	0.5
Atopie, n(%)	11 (73.3 %)	27 (93.1 %)	0.07
Tabagisme, NF, F/ exF, n(%)	4 (26.6)/4(26.6)/7(46.7)	16(55.1)/4(13.8)/9(31.0)	0.2
Consommation de tabac (paquets-années)	24.3±22.6 (n=11)	19.1±18.9 (n=13)	0.4
Agents (HPM/BPM), n(%)	4(26.7)/11(73.3) Isocyanates (5), poussière de bois(3), désinfectant (2), colophane (1), porc (1), poulet (1), fumées vaponas (1), farine (1)	13(44.8)/16(55.2) Farine (10), isocyanates (9), acrylates (1), formaldéhyde (2), cèdre rouge (2), latex (1), enzymes (1), castor (1), ammonium quaternaire (1)	0.2
Durée de l'asthme, ans	9.8±3.3	13.1±7.9	0.1
Durée du suivi, ans	5.6 ±2.9	5.3±2.0	0.7
Durée de l'exposition, ans	11.9±11.8	9.3±6.9	0.4
Traitement avec CSI, n(%)	10 (66.7)	14 (48.3)	0.3
VEMS, % valeur prédite	81.0±20.7	92.1±16.7	0.06
VEMS/CVF	0.69±0.1	0.76±0.05	0.01
CP ₂₀ avant TPS, mg/ml	3.0±15.4	8.1±7.7	0.1
CP ₂₀ après TPS, mg/ml	0.9±6.9	3.4±5.8	0.04
Réaction asthmatique (I,R,D)	8/7/0	19/7/3	0.2
Eos, % avant TPS médiane (rang interquartile)	1.0 (2.7)	1.0 (2.5)	0.8
Neu, % avant TPS médiane (rang interquartile)	42.7 (50.5)	43.0 (39.2)	0.7
Eos, % après TPS médiane (rang interquartile)	0.5 (2.0)	16.3 (26.7)	<001
Neu après TPS médiane (rang interquartile)	55.0 (36.9)	42.5 (39.8)	0.1

TPS : test de provocation bronchique spécifique, H : homme, F : femme, NF : non fumeur, F : fumeur, exF : ex fumeur, HPM : haut poids moléculaire, BPM : bas poids moléculaire, CSI : corticostéroïdes inhalés, VEMS : volume expiré maximal en une seconde, CVF : capacité vitale forcée, CP₂₀ : concentration de méthacholine induisant une chute de 20 % du VEMS, I : Immédiate, R : retardée, D : double, Eos : éosinophiles de l'expectoration, Neu : neutrophiles de l'expectoration.

Parmi les participants, 15 d'entre eux avaient un changement d'éosinophilie dans l'expectoration de moins de 2 % [médiane (intervalle interquartile); 0 (2.5) % après le test de provocation bronchique spécifique], alors que 29 présentaient une augmentation d'éosinophiles de plus de 2 % [14.2 (22.8) % après le test de provocation bronchique spécifique]. Les sujets ayant une inflammation non éosinophilique avaient une légère augmentation de leur compte de neutrophiles [13.4 (45.2) %] qui n'était pas significativement différente des répondeurs éosinophiliques [-7 (32.8) %, (p=0.3)]. Au moment du diagnostic, les sujets avec inflammation non éosinophilique présentaient une obstruction bronchique légèrement plus marquée que les sujets éosinophiliques mais ne démontraient pas plus d'hyperexcitabilité bronchique.

Cinq ans plus tard, les sujets avec réponse non éosinophilique avaient un VEMS plus bas, une obstruction bronchique plus importante ainsi qu'une hyperexcitabilité bronchique plus marquée (Tableau 2). Ils avaient également davantage une mauvaise maîtrise de leur asthme comme en témoigne un score d'ACQ de plus de 0.5 comparé aux répondeurs éosinophiliques, indiquant une différence cliniquement significative, proche d'une signification statistique.

Tableau 2. Caractéristiques des répondeurs éosinophiliques et non éosinophiliques lors de l'étude (au moment du suivi)

	Changement d'éosinophiles pendant TPS <2 % Sujets non éosinophiliques	Changement d'éosinophiles pendant TPS ≥2 % Sujets éosinophiliques	p
n	15	29	
Traitement avec CSI, n (%)	11 (73.3)	9 (31)	0.01
VEMS, % pred	72.6±23.0	89.0±18.5	0.04
VEMS/CVF	0.66±0.1	0.77±0.1	0.001
CP ₂₀ , mg/ml	3.3±5.5	11.9±5.6	0.04
Eos, %	0.7 (3.0)	1.0 (3.5)	0.8
Neu, %	53.2 (46.5)	45.7 (47.8)	0.4
FeNO, ppb	13.8±7.5	15.9±6.3	0.3
ACQ	1.6±1.3	1.01±0.8	0.07
AQLQ	5.5±1.1	5.8±1.1	0.3

TPS : tests de provocation bronchique spécifique; CSI : corticostéroïdes inhalés, VEMS : volume expiré maximal en une seconde, CVF : capacité vitale forcée, CP₂₀ concentration de méthacholine induisant une chute de 20 % du VEMS, Eos : éosinophiles de l'expectoration, Neu : neutrophiles de l'expectoration, FeNO : fraction expiré d'oxyde nitrique, ACQ : Asthma Control Questionnaire, AQLQ : Asthma Quality of Life Questionnaire.

L'obstruction bronchique des répondeurs non éosinophiliques s'est détériorée, telle qu'indiquée par la différence entre le rapport VEMS/CVF au suivi et au moment du diagnostic (-0.03±0.08), contrairement aux répondeurs éosinophiliques (0.01±0.03) (p=0.01).

En ce qui a trait à l'utilisation des soins de santé, davantage de sujets non éosinophiliques ont été hospitalisés dans les cinq ans précédant le diagnostic en comparaison avec les sujets éosinophiliques (Tableau 3). Les nombres étant très petits, il est toutefois difficile de tirer une conclusion fiable. Il n'y avait pas de différence significative dans l'utilisation des soins de santé entre les deux groupes, due à un manque de puissance statistique.

Tableau 3. Utilisation des soins de santé cinq ans précédant et cinq ans suivant le diagnostic, chez les réponders éosinophiliques et non éosinophiliques

	Non éosinophiliques (n=15)	Éosinophiliques (n=29)
Dans les cinq ans précédant le diagnostic		
Sujets hospitalisés pour asthme, n (%)	2 (13.3)	0
Nombre moyen d'hospitalisations par sujet	0.1±0.4	0
Sujets ayant eu au moins une visite à l'urgence pour asthme, n (%)	3 (20)	8 (27.6)
Nombre moyen de visites à l'urgence par sujet pour asthme	0.9±2.1	0.6±1.1
Nombre moyen de visites en clinique externe par sujet pour asthme	14.7±5.7	12.5±6.7
Dans les cinq ans suivant le diagnostic		
Sujets hospitalisés pour asthme, n	0	0
Sujets ayant eu au moins une visite à l'urgence pour asthme, n (%)	1(6.7)	3 (10.3)
Nombre moyen de visites à l'urgence par sujet pour asthme	0.1±0.3	0.2±0.5
Nombre moyen de visites en clinique externe par sujet pour asthme	12.0±4.8	11.1±5.7

5. DISCUSSION ET CONCLUSION

Les résultats de cette étude suggèrent que les sujets avec asthme professionnel ayant une réponse non éosinophilique ont un asthme plus sévère au moment du diagnostic et n'évoluent pas aussi bien que ceux ayant une réponse éosinophilique. En effet, les sujets non éosinophiliques ont un VEMS/CVF plus bas au moment du diagnostic. Cinq ans plus tard, ils présentent un VEMS plus bas, une plus grande obstruction bronchique, une concentration de méthacholine induisant une chute de 20 % du VEMS (CP_{20}) plus basse ainsi qu'une tendance vers un score de maîtrise de l'asthme (ACQ) plus élevé que les sujets éosinophiliques, indicatifs d'un moins bon contrôle de l'asthme. Les différences observées entre les deux groupes sont non seulement statistiquement significatives mais également cliniquement significatives. Par exemple, une différence de 15 % est notée entre les valeurs de VEMS des deux groupes (une différence de plus de 10 % est considérée comme étant cliniquement significative). Également, la CP_{20} du groupe non éosinophilique est 3.6 fois plus basse que celle du groupe éosinophilique (une différence de 3.2 fois est considérée comme étant cliniquement significative) (25). Une différence de 0.6 est notée entre les scores de maîtrise de l'asthme entre les deux groupes, représentant une différence cliniquement significative. En effet, une différence de 0.5 est considérée comme étant cliniquement significative (17). Le déclin du VEMS/CVF est aussi plus marqué dans le groupe des répondeurs non éosinophiliques. Cette étude semble être la première qui démontre qu'une réponse non éosinophilique, lors de l'exposition à l'agent professionnel responsable, est associée à un mauvais pronostic de l'asthme. Ces résultats mériteront d'être confirmés par une étude de plus grande envergure, incluant un plus grand nombre de sujets.

L'utilisation de marqueurs de l'inflammation bronchique a permis de diminuer le nombre d'exacerbations asthmatiques et d'améliorer la prise en charge de l'asthme (26, 27). Plusieurs études suggèrent que l'asthme non éosinophilique est un asthme dont le phénotype est différent (5, 6). Ce phénotype représente 20 % des cas d'asthme (28). Quelques auteurs ont suggéré que ce phénotype pourrait être une caractéristique de l'asthme réfractaire (5). Cependant, ces phénotypes ont été caractérisés de façon transversale sans tenir compte de l'environnement des sujets asthmatiques. Ces phénotypes pourraient démontrer un état transitoire représentant la maîtrise de l'asthme plutôt qu'une caractéristique intrinsèque de la maladie, tel que suggéré par la variation des comptes cellulaires de l'expectoration dans le temps (29). En revanche, les phénotypes en réponse à l'exposition à un agent professionnel pourraient être une conséquence directe de l'exposition aiguë à un agent spécifique auquel les sujets sont sensibilisés et pourraient être un reflet du mécanisme physiopathologique de la réaction asthmatique. Selon notre expérience, un phénotype non éosinophilique serait observé dans 20 % des cas de tests de provocation bronchique spécifiques positifs (30).

Ces résultats confirment ceux obtenus dans une étude de suivi de travailleurs avec asthme professionnel. Les sujets qui présentaient un phénotype non éosinophilique avaient un moins bon pronostic que ceux ayant un phénotype éosinophilique (11). Toutefois, en dépit d'un asthme qui semble plus sévère, il n'y a aucune mise en évidence de différences dans l'utilisation des soins de santé entre ces deux groupes. Cela est probablement dû à un manque de puissance de la présente étude. En effet, les visites à l'urgence et les hospitalisations sont des événements assez rares et ces groupes sont trop petits pour permettre de mettre en évidence une telle différence.

La force de cette étude est la caractérisation clinique minutieuse des sujets de recherche au moment du diagnostic et au moment de la réévaluation. Cependant, ces résultats devront être confirmés avant de pouvoir être appliqués en pratique clinique. En premier lieu, il faudrait évaluer si ce phénotype est reproductible après chaque exposition à l'agent responsable. En effet, si tel est le cas, il est vraisemblable que cette réponse inflammatoire est le reflet d'un mécanisme physiopathologique sous-jacent.

Une des retombées de ce projet de recherche, outre la publication des résultats permettant de contribuer à l'avancement des connaissances, est la démonstration qu'un suivi plus serré auprès des patients non éosinophiliques est recommandé afin d'optimiser leur prise en charge.

En conclusion, les répondeurs non éosinophiliques semblent présenter un asthme plus sévère et évoluent moins bien que les répondeurs éosinophiliques. Il est possible que le mécanisme physiopathologique sous-jacent soit différent pour ces deux groupes de patients, menant à une détérioration plus importante de la fonction pulmonaire, même après le retrait de l'exposition à l'agent en cause.

6. BIBLIOGRAPHIE

1. Bernstein I, Bernstein D, Chan-Yeung M, Malo J. Definition and classification of asthma in the workplace. In: *Asthma in the Workplace*. 2006; Bernstein IL, Chan-Yeung M, Malo JL, Bernstein DI, eds., 3rd ed., Taylor & Francis, New York:1-8.
2. Chan-Yeung M, MacLean L, Paggiaro P. Follow-up study of 232 patients with occupational asthma caused by western red cedar (*Thuja plicata*). *J Allergy Clin Immunol*. 1987;79:792-6.
3. Rachiotis G, Savani R, Brant A, MacNeill SJ, Newman Taylor A, Cullinan P. Outcome of occupational asthma after cessation of exposure: a systematic review. *Thorax*. 2007 Feb;62(2):147-52.
4. Wenzel SE. Asthma: defining of the persistent adult phenotypes. *Lancet*. 2006 Aug 26;368(9537):804-13.
5. Pavord I, Brightling C, Woltmann G, Wardlaw A. Non-eosinophilic corticosteroid unresponsive asthma. *The Lancet*. 1999;353:2213-4.
6. Berry M, Morgan A, Shaw D, Parker D, Green R, Brightling C, et al. Pathological features and inhaled corticosteroid response of eosinophilic and non-eosinophilic asthma. *Thorax*. 2007;62:1043-9.
7. Douwes J, Gibson P, Pekkanen J, Pearce N. Non-eosinophilic asthma: importance and possible mechanisms. *Thorax*. 2002;57:643-8.
8. Haldar P, Pavord ID. Noneosinophilic asthma: a distinct clinical and pathologic phenotype. *J Allergy Clin Immunol*. 2007 May;119(5):1043-52; quiz 53-4.
9. Lemièrè C, Romeo P, Chaboillez S, Tremblay C, Malo J. Airway inflammation and functional changes after exposure to different concentrations of isocyanates. *J Allergy Clin Immunol*. 2002;110:641-6.
10. Girard F, Chaboillez S, Cartier A, Côté J, Hargreave F, Labrecque M, et al. An effective strategy for diagnosing occupational asthma. Induced sputum. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;170:845-50.
11. Lemiere C, Chaboillez S, Welman M, Maghni K. Outcome of occupational asthma after removal from exposure: A follow-up study. *Can Respir J*. 2010 March/April;17(2):61-6.
12. Maghni K, Lemièrè C, Ghezzi H, Yuquan W, Malo J. Airway inflammation after cessation of exposure to agents causing occupational asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;169:367-72.
13. Romagnoli M, Vachier I, Tarodo de la Fuente P, Meziane H, Chavis C, Bousquet J, et al. Eosinophilic inflammation in sputum of poorly controlled asthmatics. *Eur Respir J*. 2002 Dec;20(6):1370-7.

14. Paggiaro P, Bacci E, Dente F, Marchetti G, Talini D, Menconi G, et al. Bronchoalveolar lavage and morphology of the airways after cessation of exposure in asthmatic subjects sensitized to toluene diisocyanate. *Chest*. 1990;98:536-42.
15. Anees W, Huggins V, Pavord I, Robertson A, Burge P. Occupational asthma due to low molecular weight agents: eosinophilic and non-eosinophilic variants. *Thorax*. 2002;57:231-6.
16. Juniper E, O'Byrne P, Ferrie P, King D, Roberts J. Measuring asthma control. Clinic questionnaire or daily diary? *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;162:1330-4.
17. Juniper E. Quality of life questionnaires: Does statistically significant = clinically important? *J Allergy Clin Immunol*. 1998;102:16-7.
18. Juniper EF, Bousquet J, Abetz L, Bateman ED. Identifying 'well-controlled' and 'not well-controlled' asthma using the Asthma Control Questionnaire. *Respir Med*. 2006 Apr;100(4):616-21.
19. Juniper EF, Svensson K, Mork AC, Stahl E. Measurement properties and interpretation of three shortened versions of the asthma control questionnaire. *Respir Med*. 2005 May;99(5):553-8.
20. Hargreave F, Ryan G, Thomson N, O'Byrne P, Latimer K, Juniper E, et al. Bronchial responsiveness to histamine or methacholine in asthma: measurement and clinical significance. *J Allergy Clin Immunol*. 1981;68:347-55.
21. Pin I, Gibson P, Kolendowicz F, Girgis-Gabardo A, Denburg J, Hargreave F, et al. Use of induced sputum cell counts to investigate airway inflammation in asthma. *Thorax*. 1992;47:25-9.
22. Pizzichini E, Pizzichini M, Efthimiadis A, Evans S, Morris M, Squillace D, et al. Indices of airway inflammation in induced sputum: reproducibility and validity of cell and fluid-phase measurements. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996;154:308-17.
23. ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005 Apr 15;171(8):912-30.
24. Cartier A. Definition and diagnosis of occupational asthma. *Eur Respir J*. 1994;7:153-60.
25. Dehaut P, Rachiele A, Martin R, Malo J. Histamine dose-response curves in asthma: reproducibility and sensitivity of different indices to assess response. *Thorax*. 1983;38:516-22.
26. Green R, Brightling C, McKenna S, Hargadon B, Parker D, Bradding P, et al. Asthma exacerbations and sputum eosinophil counts: a randomised controlled trial. *Lancet*. 2002;360:1715-21.

27. Jayaram L, Pizzichini MM, Cook RJ, Boulet LP, Lemiere C, Pizzichini E, et al. Determining asthma treatment by monitoring sputum cell counts: effect on exacerbations. *Eur Respir J*. 2006 Mar;27(3):483-94.
28. Turner M, Hussack P, Sears M, Dolovich J, Hargreave F. Exacerbations of asthma without sputum eosinophilia. *Thorax*. 1995;50:1057-61.
29. Al-Samri MT, Benedetti A, Prefontaine D, Olivenstein R, Lemiere C, Nair P, et al. Variability of sputum inflammatory cells in asthmatic patients receiving corticosteroid therapy: A prospective study using multiple samples. *J Allergy Clin Immunol*. 2010 May;125(5):1161-3 e4.
30. Lemiere C, Mawad H, Chaboillez S. Non-Eosinophilic Occupational Asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009;179:A1656.