

Université de Montréal

2m11.2431.5

Syndrome d'irritation des bronches :  
aspects cliniques, pathologiques et épidémiologiques

par Catherine Lemière  
Département de médecine  
Faculté de médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures  
en vue de l'obtention du grade de  
Maître ès sciences (M.Sc.)  
en sciences biomédicales

(Septembre 1995)  
©Catherine Lemière, 1995  
Université de Montréal



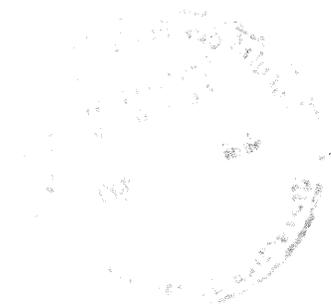
W

4

U58

1996

v.032



Université de Montréal  
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé:

“Syndrome d’irritation des bronches :  
aspects cliniques, pathologiques et épidémiologiques”

présenté par:

Catherine Lemière

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes:

Docteur R Nadeau

Docteur J-L Malo

Docteur L-P Boulet

~~Docteur L Garbe Galanti~~

Mémoire accepté le:..... 31.01.96 .....

## SOMMAIRE

Le syndrome d'irritation des bronches (SIB) a été défini comme la survenue de symptômes asthmatiques dans les 24 heures suivant une exposition unique et massive à un agent ayant des propriétés irritantes. Ce syndrome survient chez des sujets sans antécédents respiratoires, s'accompagne d'une hyperréactivité bronchique non spécifique et parfois d'une obstruction bronchique.

Cette entité est encore mal connue à l'heure actuelle, et il existe très peu de données pathologiques dans la littérature concernant le SIB. Les cas rapportés décrivent des lésions pathologiques chroniques ; les biopsies bronchiques ont été, en effet, effectuées plusieurs mois ou années après l'exposition initiale sans étude de l'évolution de ces lésions dans le temps. Nous nous sommes attachés dans ce travail d'une part à étudier les caractéristiques pathologiques aiguës du SIB en suivant leur évolution dans le temps, et d'autre part à préciser les lésions structurales chroniques observées dans le SIB plusieurs années après exposition initiale. Nous avons également fait une mise au point sur les connaissances actuelles de cette entité en insistant sur les aspects cliniques et épidémiologiques.

Nous rapportons les lésions aiguës rencontrées dans le SIB au travers de deux cas de SIB que nous avons eu l'opportunité d'étudier peu de temps après l'exposition (60 heures dans un des cas) et chez qui un suivi fonctionnel et histologique a pu être effectué. Après exposition à une concentration élevée d'agent irritant, il existe une desquamation initiale de l'épithélium bronchique avec apparition précoce d'un infiltrat inflammatoire suivi de l'apparition d'une fibrose sous épithéliale. Une régénération quasi complète de l'épithélium survient également dans les mois suivant l'exposition. Les atteintes fonctionnelles observées chez ces sujets ne semblent pas être étroitement reliées aux lésions histologiques.

Une étude précédente effectuée dans notre centre sur 5 sujets porteurs d'un SIB, avait montré qu'une des caractéristiques principales de l'atteinte pathologique 24 à 36 mois après exposition à un agent irritant était la présence d'une fibrose sous-épithéliale. Dès lors, nous nous sommes attachés à préciser les lésions pathologiques chroniques du SIB en décrivant plus précisément les modifications structurales observées dans cette affection. Nous avons étudié les caractéristiques de la fibrose sous-épithéliale rencontrée dans le SIB chez 4 sujets par des méthodes immuno-histo-chimiques. Le type de collagène retrouvé au niveau de la paroi bronchique suggère que, au contraire de l'asthme, les cellules épithéliales pourraient être responsables d'une partie des changements structuraux observés dans cette pathologie. Des myofibroblastes mis en évidence dans le tissu sous épithélial pourraient être responsables, conjointement aux cellules épithéliales, de cette fibrose sous-épithéliale.

Les lésions pathologiques rencontrées dans le SIB sont donc réversibles pour une part, mais une fibrose persiste généralement. Les conséquences fonctionnelles de cette fibrose sont difficiles à apprécier et devront être précisées dans l'avenir. Il existe encore de nombreux points à éclaircir concernant l'épidémiologie, le pronostic et le traitement du SIB.

## TABLE DES MATIÈRES

SOMMAIRE.....	iii
LISTE DES TABLEAUX.....	viii
LISTE DES FIGURES.....	ix
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS.....	xi
REMERCIEMENTS.....	xii
<b>A. INTRODUCTION ET HISTORIQUE.....</b>	<b>1</b>
1. Définitions.....	1
2. Historique du SIB.....	2
<b>B. ÉPIDÉMIOLOGIE.....</b>	<b>4</b>
1.Conséquences cliniques et fonctionnelles aiguës et chroniques d'une exposition accidentelle à un agent irritant .....	4
2. Suivi clinique et fonctionnel de travailleurs à risque d'être exposés à des inhalations répétées d'agent irritant.....	7
<b>C. PHYSIOPATHOLOGIE.....</b>	<b>11</b>
<b>D. DIAGNOSTIC.....</b>	<b>16</b>
1. Clinique.....	16
2 . Paraclinique.....	17
2.1. Exploration fonctionnelle respiratoire.....	17
2.2. Bronchoscopie (aspect endo bronchique).....	20
2.3. Cytologie (lavage broncho-alvéolaire).....	20

2.4. Pathologie.....	21
2.4.1. Études chez l'animal.....	21
2.4.2. Études chez l'homme.....	23
2.4.2.1. Microscopie optique.....	23
2.4.2.1.1. Lésions pathologiques observées dans l'asthme.....	23
2.4.2.1.2. Lésions pathologiques observées dans le SIB.....	24
a) lésions chroniques.....	24
b) lésions aiguës.....	27
Article 1 : "Reactive Airways Dysfunction Syndrome due to chlorine: sequential bronchial biopsies and functional assessment".....	28
2.4.2.2. Microscopie électronique.....	45
2.4.1.2.1. Lésions pathologiques observées dans l'asthme.....	45
2.4.1.2.2. Lésions pathologiques observées dans le SIB.....	46
a) lésions chroniques.....	46
b) lésions aiguës.....	47
Article 2 : "Reactive Airways Dysfunction Syndrome induced by exposure to a mixture containing isocyanate: functional and histopathological behaviour".....	49
2.4.2.3. Immuno-histo-chimie.....	62
2.4.2.3.1. étude de la cellularité de l'infiltrat inflammatoire.....	62
a) dans l'asthme.....	62
b) dans le SIB.....	63
2.4.2.3.2. étude des remaniements structuraux.....	63
a) dans l'asthme.....	63
b) dans le SIB.....	64

Article 3 : “Characterization of the subepithelial fibrosis observed in the bronchi of subjects at a chronic stage of irritant–induced asthma”.....	68
3. Diagnostic différentiel.....	89
3.1. Asthme professionnel et SIB.....	89
3.2. Asthme induit par des agents irritants et SIB.....	89
<b>E. AGENTS RESPONSABLES.....</b>	<b>93</b>
<b>F. PRONOSTIC.....</b>	<b>93</b>
<b>G. TRAITEMENT.....</b>	<b>96</b>
<b>H. PERSPECTIVES D’AVENIR.....</b>	<b>97</b>
<b>I. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>99</b>
CURRICULUM VITAE.....	xiv

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Études relatant les conséquences cliniques et fonctionnelles aiguës et chroniques d'une exposition accidentelle à un agent irritant .....	8
Tableau II: Études rapportant le suivi clinique et fonctionnel de travailleurs à risque d'être exposés à des inhalations répétées d'agent irritant.....	12
Article 1:	
Table 1: Time course of clinical, functional and histological features after acute exposure to chlorine.....	33
Article 3:	
Table 1 : Clinical and functional features.....	76
Table 2 : Semi-quantitative evaluation of some structural components of the airway wall.....	77
Tableau III: Diagnostic différentiel entre SIB et asthme professionnel.....	90
Tableau IV: Agents responsables de SIB.....	94

## LISTE DES FIGURES

Figure 1: Hypothèse physiopathologique du SIB.....	15
Figure 2 : Biopsie bronchique en microscopie optique 24 mois après des expositions répétées à du chlore.....	25
Article 1:	
Figure 1A.....	34
Figure 1B.....	35
Figure 1C.....	37
Figure 1D.....	38
Figure 3 : Biopsie bronchique en microscopie électronique 32 mois après exposition à de la fumée lors d'une explosion.....	48
Article 2:	
Figure 1A.....	54
Figure 1B.....	55
Figure 1C.....	56
Figure 1D.....	57
Figure 4 : Biopsie bronchique en microscopie optique 24 mois après exposition à du fluor et du SO <sub>2</sub> . Immuno-détection du collagène de type I : .....	66
Figure 5: Biopsie bronchique en microscopie optique 32 mois après exposition à de la fumée. Immuno-détection du collagène de type IV.....	67

Article 3:

Figure 1.....	78
Figure 2.....	79
Figure 3.....	80
Figure 4.....	81
Figure 5.....	82

## LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

- AP : Asthme professionnel
- CP<sub>20</sub> : Concentration de méthacholine inhalée induisant une diminution de 20% du VEMS.
- CVF : Capacité vitale forcée
- SIB : Syndrome d'irritation des bronches.
- VEMS : Volume expiratoire maximum seconde

Au Docteur Jean-Luc Malo,

Travailler à vos côtés a été un grand privilège.  
Votre compétence, la qualité de votre enseignement et  
votre dynamisme alliés à  
une grande humilité resteront pour nous un exemple.

Au Docteur André Cartier

Tout au long de notre stage, nous avons pu apprécier vos grandes qualités de clinicien et votre dévouement envers les patients. Travailler à vos côtés a été pour nous un grand enrichissement tant au niveau des connaissances médicales que du parler québécois.

Aux techniciennes du laboratoire de physiologie respiratoire, aux techniciennes et infirmières de recherche et aux secrétaires avec qui nous avons eu le plaisir de travailler.

Votre gentillesse et la qualité de votre travail ont rendu notre stage particulièrement agréable.

## **A. INTRODUCTION ET HISTORIQUE**

### 1. Définitions

L'apparition de symptômes respiratoires en relation avec une exposition professionnelle a été décrite dès l'Antiquité par les Égyptiens et les Romains (Pline), bien que l'activité industrielle ait été relativement limitée à cette époque (1). Plusieurs siècles plus tard, au seizième puis au dix-huitième siècles, Magnus puis Ramazzini décrivaient les premiers cas d'asthme professionnel (AP) chez des travailleurs exposés à des céréales (1). Ce n'est que récemment que les premières définitions de l'AP sont apparues (2,3). Une d'entre-elles a été proposée en 1980 par Newman-Taylor (2); elle définit l'AP comme un rétrécissement variable des voies aériennes en relation avec l'exposition à des poussières, des gaz, des vapeurs ou des fumées dans le milieu de travail. Il faudra attendre 1993 pour qu'un consensus éditorial soit émis, définissant l'AP comme une maladie caractérisée par une limitation variable du débit aérien et/ou par une hyperréactivité bronchique due à des causes et des conditions attribuables à un environnement professionnel particulier et non à des stimuli rencontrés en dehors du milieu de travail (4). Les auteurs individualisent ici, pour la première fois, deux types d'AP selon la présence ou non d'une période de latence entre le début de l'exposition à un agent professionnel et l'apparition des symptômes d'asthme.

L'AP avec période de latence implique l'existence d'un mécanisme immunologique même si celui-ci ne peut toujours être objectivé, en particulier dans les cas d'asthme professionnel causés par des agents de bas poids moléculaire. Le sujet doit donc être exposé pendant un certain intervalle de temps à l'agent professionnel avant de développer une sensibilisation à cet agent. En revanche, les symptômes en relation avec l'AP sans période de latence surviennent dans les heures suivant la première exposition à un agent professionnel et n'impliquent pas de

sensibilisation préalable à cet agent. De plus, les agents induisant ce type d'AP sont des composés sous forme de particules, de vapeurs ou d'aérosol ayant un pouvoir irritant. L'AP sans période de latence est illustré par le syndrome d'irritation des bronches ou SIB nommé ainsi pour la première fois par Brooks (5) en 1985 : Reactive Airways Dysfunction Syndrome ou RADS.

Bien que la prévalence de l'AP ne soit pas connue dans la population générale, l'AP avec période de latence est actuellement la maladie professionnelle pulmonaire la plus répandue. Elle représente 26% des cas rapportés dans des études de type "sentinelle" au Royaume-Uni (6) et 50%, en Colombie-Britannique (7). Les indemnisations des cas d'AP représentent au Québec 31% de tous les cas indemnisés dans les années 1986-1988 (8). La prévalence de l'AP sans période de latence n'est pas encore connue à l'heure actuelle. Elle représenterait environ 15% des cas d'AP reconnus en Ontario (9).

## 2. Historique du SIB

Le SIB consiste en l'apparition précoce de symptômes évocateurs d'asthme après exposition unique à un agent irritant. Cette symptomatologie avait déjà été rapportée dans la littérature, en particulier durant la première guerre mondiale après exposition à des gaz toxiques (10,11), tel que revu par Das et Blanc (12). Les tableaux cliniques secondaires à une inhalation massive étaient souvent sévères et conduisaient à la mort dans environ 5% des cas dans les heures suivant l'inhalation (10). Cependant, certains auteurs (11) rapportaient d'autres cas moins sévères où les sujets se plaignaient de toux, d'oppression thoracique et de brûlure de la gorge avec présence de râles bronchiques. En 1969, Weill et collaborateurs (13) rapportèrent la survenue de symptômes évoquant une atteinte bronchique chez la majorité des sujets exposés à du chlore après un déversement accidentel dans l'environnement. Ces sujets

ne présentait pas d'atteinte fonctionnelle consécutive à cette exposition mais aucune mesure de réactivité bronchique non spécifique n'avait été effectuée. Bien d'autres cas, compatibles avec un SIB, ont été rapportés (14-22) mais ce n'est qu'en 1985 que Brooks, Weiss et Bernstein intitulèrent cette entité clinique: «Reactive Airways Dysfunction Syndrome». Ils définirent ce syndrome et établirent les critères cliniques et fonctionnels suivants: 1) absence d'antécédents respiratoires, 2) survenue des symptômes après une exposition accidentelle unique, 3) exposition à un gaz, une fumée ou une vapeur aux propriétés irritantes à haute concentration, 4) survenue des symptômes dans les 24 heures suivant l'exposition et persistance durant au moins 3 mois, 5) symptômes évoquant de l'asthme avec toux, sifflements et dyspnée 6) tests de fonction respiratoire pouvant objectiver une obstruction bronchique, 7) test à la méthacholine positif, 8) absence d'autre affection pulmonaire. Après cette première description du SIB, de nombreux autres cas ont été décrits (23-29) et certains auteurs ont proposé une extension de cette entité pour les cas d'expositions répétées à des agents irritants (4,9) sous le nom d'asthme induit par des agents irritants (Irritant-Induced Asthma). Actuellement, de nouveaux cas sont toujours rapportés avec différents agents irritants (27) mais beaucoup d'aspects du SIB restent encore méconnus. En effet, les données dont nous disposons concernant la physiopathologie, l'épidémiologie, le pronostic et le traitement du SIB sont encore insuffisantes. Nous nous proposons dans ce travail de faire le point sur l'état actuel des connaissances concernant le SIB, en y apportant quelques éléments originaux pour une meilleure connaissance de cette entité.

## B. ÉPIDÉMIOLOGIE

Peu d'études épidémiologiques concernant le SIB ont été rapportées jusqu'à ce jour et la prévalence du SIB n'est pas connue. Il semble toutefois que la survenue d'un SIB ou d'un asthme induit par des agents irritants ne soit pas exceptionnelle. En effet, Tarlo et Broder (9) ont entrepris une étude rétrospective sur 154 employés référés pour AP entre 1978 et 1987. Cinquante-neuf étaient considérés comme atteints d'un AP, 25 avaient une histoire clinique évocatrice d'asthme survenue après exposition à de hautes concentrations d'agents irritants (10 de façon certaine, 15 de façon probable) : 17% des cas considérés comme étant de l'AP remplissaient donc les critères de SIB ou d'asthme induit par des irritants et 25 % avaient une histoire compatible avec un SIB.

Les études épidémiologiques réalisées jusqu'à ce jour portent soit sur l'évaluation clinique et fonctionnelle respiratoire de travailleurs ayant été exposés à une inhalation aiguë et massive d'un agent irritant (30-34), soit sur la prévalence de symptômes respiratoires et/ou d'obstruction bronchique dans des milieux à risque, chez des sujets exposés à des agents irritants (35-40). Ces études sont hétérogènes en raison des méthodologies différentes choisies pour l'investigation des travailleurs: questionnaire uniquement ou associé à des tests de fonction respiratoire, mesure éventuelle d'hyperréactivité bronchique non spécifique.

### 1. Conséquences cliniques et fonctionnelles aiguës et chroniques d'une exposition accidentelle à un agent irritant.

Plusieurs études se sont intéressées à des travailleurs ayant été exposés à des inhalations accidentelles de substances irritantes en pratiquant un suivi par questionnaire, spirométrie et, dans certains cas, par mesure de la réactivité bronchique non spécifique.

Plusieurs études (32,41,42) ont rapporté les conséquences

fonctionnelles immédiates après exposition aiguë à un agent irritant:

Kern (32) a pu évaluer un groupe de 51 travailleurs exposés à de l'acide acétique après un déversement accidentel dans un laboratoire. Un questionnaire fut administré à ces sujets concernant leurs antécédents, leur degré d'exposition durant l'accident ainsi que leurs symptômes consécutifs à l'exposition. Un test à la méthacholine fut pratiqué chez 24 sujets (47%). Huit sujets (14%) avaient une histoire clinique évocatrice de SIB. Parmi eux, 4/7 (57%) sujets ayant eu un test à la méthacholine présentaient une hyperréactivité bronchique non spécifique. Parmi les 17 autres patients, 5 (29%) avaient une hyperréactivité bronchique non spécifique. Les auteurs concluent à une possible relation dose-réponse entre la quantité d'acide acétique inhalée et la persistance d'une hyperréactivité bronchique non spécifique. Blanc et collaborateurs (41) ont interrogé 299 sujets ayant fait appel à un centre anti poison après exposition à un agent irritant. Quatre-vingt-huit pour cent d'entre-eux se plaignaient de symptômes respiratoires immédiats (dyspnée, toux, douleur thoracique, sifflements) et 44% rapportèrent la persistance de ces symptômes 12 à 24 heures post-exposition. Dix sujets furent soumis à des tests de fonction respiratoire comprenant une mesure de la réactivité bronchique non spécifique; aucun ne présentait d'obstruction bronchique, 8 présentaient une hyperréactivité bronchique non spécifique qui persistait pour 7 d'entre-eux 3 mois plus tard. Les auteurs mentionnaient que 4 de ces patients présentaient les critères cliniques de SIB décrits par Brooks (5), les autres présentant plus vraisemblablement selon les auteurs une hyperréactivité bronchique non spécifique préexistante. Enfin, Cone et collaborateurs (42) ont étudié 197 sujets exposés à un pesticide après un déversement accidentel. Trente sujets présentaient des critères cliniques de SIB; parmi eux, 20 sujets avaient une hyperréactivité bronchique non spécifique.

D'autres auteurs (30,31,33,34,43) ont étudié les effets d'une exposition unique à haute concentration d'un agent irritant à distance de

l'exposition aiguë (quelques mois à plusieurs années). Kowitz et collaborateurs (30) ont étudié 150 sujets accidentellement exposés à du chlore. Onze d'entre-eux furent hospitalisés en raison d'une détresse respiratoire. Ces 11 sujets furent évalués à 4 occasions durant les 2-3 années suivantes. Après l'exposition aiguë, ces sujets présentaient des anomalies fonctionnelles respiratoires compatibles avec une alvéolite; cependant, au cours des années suivantes, une augmentation des résistances des voies aériennes apparut. Les 48 autres sujets explorés présentaient une diminution de la capacité vitale forcée et une diminution de la capacité de diffusion. Aucune mesure de la réactivité bronchique non spécifique n'a été effectuée dans cette étude. Jones et collaborateurs (43) ont suivi 113 sujets ayant été soumis à une exposition de chlore après déraillement d'un train 3 semaines jusqu'à 6 ans après l'exposition initiale. Ils n'ont pu mettre en évidence d'altération de leur fonction respiratoire. Il faut cependant souligner que ces auteurs ne rapportent pas de mesure de réactivité bronchique non spécifique et que les valeurs fonctionnelles respiratoires avant exposition aiguë ne sont pas connues. Bhérer et collaborateurs (33) ont suivi 64 travailleurs exposés à du chlore 18 à 24 mois auparavant et ont mis en évidence chez 51 sujets testés, les anomalies suivantes: 16 (31%) sujets avaient une obstruction bronchique persistante et 29 (57%) présentaient toujours une hyperréactivité bronchique non spécifique. La même équipe (34) a suivi 20 de ces 29 sujets un an après la première évaluation. Il n'y avait pas de changement significatif des valeurs de VEMS. Six des 18 sujets (33%) ayant eu un second test à la méthacholine avaient recouvré un niveau normal d'hyperréactivité bronchique non spécifique. Schwartz et collaborateurs (31) ont suivi 13 sujets exposés accidentellement à du chlore sur une période de 12 ans. Ils ont mis en évidence une prévalence élevée d'obstruction bronchique après l'exposition accidentelle qui persistait les années suivantes. Cinq de ces 13 sujets présentaient une hyperréactivité

bronchique non spécifique 12 ans après l'exposition aiguë. Les caractéristiques principales des études citées ci-dessus sont résumées dans le tableau I.

Il semble, au vu de ces différentes études, que la survenue d'une hyperréactivité bronchique non spécifique, après exposition à un agent irritant à des concentrations élevées, soit fréquente. Cependant, la prévalence d'hyperréactivité bronchique non spécifique après exposition à un agent irritant est difficile à estimer en consultant ces seules études en raison de leur hétérogénéité (critères de sélection des sujets, niveau d'exposition, type d'agent incriminé, tests fonctionnels respiratoires effectués). Il semble également que le degré d'hyperréactivité bronchique non spécifique puisse diminuer spontanément au cours du temps chez les sujets porteurs d'un SIB (34).

## 2. Suivi clinique et fonctionnel de travailleurs à risque d'être exposés à des inhalation répétées d'agent irritant.

Plusieurs études de travailleurs exposés de façon chronique à de faibles concentrations d'agent irritant et à risque d'être exposés à de plus hautes concentrations ont été menées afin de détecter la survenue de symptômes respiratoires, d'obstruction bronchique et/ou d'hyperréactivité bronchique non spécifique. Dans certaines de ces études, il n'a pas été possible de détecter de différences dans l'évolution de sujets exposés ou non exposés.

Ferris et collaborateurs (35) ont comparé la fonction pulmonaire de sujets employés dans une usine de fabrication de pâte à papier susceptibles d'être exposés à différents agents toxiques (chlore, dioxyde de soufre, dioxyde de chlore)(n=147), à celle de sujets affectés à la vérification de machines dans une papeterie, ces derniers n'étant soumis à aucune

**Tableau I :** Études relatant les conséquences cliniques et fonctionnelles aiguës et chroniques d'une expositionn accidentelle à un agent irritant:

Sujets étudiés/ population totale exposée	Type de population	Type d'agent	durée du suivi	symptômes respiratoires	EFR	HRBNS	Facteurs individuels: tabagisme asthme	références
59/150	Dockers	chlore	2 ans	dyspnée: 27%	Diminution de la CVF et de la CRF Augmentation des Rva	-	fumeurs: 48%	(30)
51/56	employés d'un hôpital	acide acétique	8 mois	symptômes respiratoires: 15/51 ( 29%)	non mentionné	9/24 (37.5%)	fumeurs:45%	(32)
64/289	employés d'une usine de pâte à papier	chlore, ClO <sub>2</sub>	18-24 mois	symptômes respiratoires 58/64 (91%)	VEMS<80% pred 16/51 (31.3%)	29/51 (56.8%)	fumeurs: 53%	(33)
299/547	sujets appelant un CAP après inhalation d'un produit irritant	divers	7-107 jours	toux:53% dyspnée: 51% sifflements: 18%	VEMS<80% pred 0/10	8/10 (80%)	non mentionné pour lapopulation totale	(41)
197/3000	population exposée accidentellement à un pesticide	pesticide	≥ 3 mois	symptômes respiratoires 100%	VEMS<80% pred 5/30	20/30 (67%)	Parmi 20 sujets porteurs d'un SIB :65% fumeurs	(42)
13/20	employés de la construction dans une papeterie	chlore	12 ans	non mentionnés	VEMS/CVF<80%	5/13(38%)	fumeurs: 70%	(31)
20/29	employés d'une usine de pâte à papier	chlore ClO <sub>2</sub>	2-3 ans	dyspnée:80%	Pas de changement du VEMS après 1 an	14/19 74%	Pas d'antécédent d'asthme	(34)

**Légende:** CAP: Centre anti poison, EFR: épreuves fonctionnelles respiratoires, HRBNS: Hyperréactivité bronchique non spécifique, CVF: capacité vitale forcée, CRF: capacité résiduelle fonctionnelle, Rva: résistances des voies aériennes, ClO<sub>2</sub>: dioxyde de chlore.

exposition (n=124). Ces auteurs n'ont pu mettre en évidence de différences fonctionnelles respiratoires entre ces deux populations. Après 10 ans de suivi de ces travailleurs (1963-1973), ces mêmes auteurs (44) ont fait une étude de mortalité et de morbidité par questionnaire et par spirométrie. Ils n'ont pas mis en évidence d'augmentation de la mortalité dans ce groupe. Par ailleurs, la prévalence d'affections respiratoires (bronchite chronique, maladie obstructive et asthme) était identique dans les groupes employés dans l'usine de pâte à papier et la papeterie ainsi que dans la population générale. Cependant, les auteurs rapportent une très discrète diminution du VEMS et de la CVF dans le groupe des employés de l'usine de pâte à papier par rapport à ceux employés dans la papeterie. Chester et collaborateurs (36) ont étudié 139 travailleurs à risque employés dans une usine utilisant du chlore. Ils ont mis en évidence une diminution du volume expiratoire maximal médian dans les groupes de sujets exposés au chlore, fumeurs ou non fumeurs (n=58), sans que ces groupes soient plus symptomatiques. Plusieurs autres études ont été effectuées dans des usines de pâte à papier (37-39), Kennedy et collaborateurs (37) ont comparé 316 employés d'une usine de pâte à papier à 283 cheminots en pratiquant questionnaire, spirométrie et mesures environnementales. Parmi les employés de l'usine de pâte à papier, 189 rapportaient une ou plusieurs inhalations accidentelles de chlore ou de dioxyde de chlore. Il n'existait pas de différences fonctionnelles respiratoires entre le groupe des travailleurs de l'usine de pâte à papier et celui des cheminots. Cependant, les employés de l'usine de pâte à papier ayant été soumis à une ou plusieurs inhalations accidentelles de chlore ou de dioxyde de chlore rapportaient davantage de symptômes en relation avec une obstruction bronchique (râles sibilants). Ce groupe présentait également une obstruction bronchique plus marquée que les autres travailleurs de l'usine de pâte à papier qui n'avaient pas été soumis à une inhalation accidentelle.

Salisbury et collaborateurs (38) ont évalué 316 employés d'une usine de fabrication de pâte à papier. Parmi ces employés, 78 avaient été exposés accidentellement à du chlore au moins à une occasion. Ce groupe avait une obstruction bronchique plus marquée que les sujets n'ayant pas été victimes d'exposition accidentelle à du chlore. Des résultats similaires sont rapportés par Enarson et collaborateurs (39) qui retrouvent des symptômes respiratoires plus fréquents chez les sujets employés dans une usine de pâte à papier (n = 392) par rapport à des sujets vivant dans la même communauté mais travaillant dans une usine différente (n = 310). Au sein de l'usine de pâte à papier, ces auteurs retrouvent une obstruction bronchique chez les sujets affectés à la zone de production où l'exposition à des agents irritants est la plus marquée. Henneberger et collaborateurs (45) ont étudié 230 sujets employés dans une usine de pâte à papier sur une période de 30 ans (1961-1991). Les sujets étaient évalués tous les 6 ans par un questionnaire. Des tests de fonction respiratoire étaient pratiqués à deux ou trois occasions à 6 ans d'intervalle. Il existait une chute de VEMS et une diminution du rapport de Tiffeneau (VEMS/CVF) chez les sujets ayant inhalé accidentellement des agents irritants. Enfin, plus récemment, Courteau et collaborateurs (40) ont étudié 281 sujets employés dans une usine de pâte à papier. Seuls 8.5% d'entre-eux ne rapportaient aucune exposition au chlore durant la durée de leur emploi par cette compagnie. Les 257 autres sujets rapportaient une moyenne de 25 expositions accidentelles sur une période de 3 mois. Plus de 60% d'entre-eux mentionnèrent avoir présenté des symptômes à type d'irritation des yeux et du nez ainsi qu'une toux après exposition. Cinquante-quatre pour-cent d'entre-eux rapportèrent avoir présenté une dyspnée, une plus grande proportion de ces sujets ont dû se rendre dans une salle d'urgence. Les sujets ayant été à l'urgence avaient plus de risque de présenter une dyspnée persistante. Les études épidémiologiques de sujets exposés au chlore rapportent rarement des mesures d'hyperréactivité bronchique non

spécifique. Gautrin et collaborateurs(46) se sont récemment intéressés dans une étude transversale à la relation existant entre la survenue d'inhalations accidentelles répétées de chlore et la présence de symptômes respiratoires, d'obstruction bronchique et d'hyperréactivité bronchique chez 239 employés qui avaient été exposés à du chlore à plusieurs reprises sur une période de 3 ans. Dans ce groupe de travailleurs, les expositions répétées au chlore associées à des symptômes respiratoires aigus dans les 3 ans suivant le début de l'exposition étaient associées à une réduction légère mais significative des débits expiratoires avec augmentation de la réactivité bronchique non spécifique. Les caractéristiques principales des études citées ci-dessus sont résumées dans le tableau II.

Les différentes études s'accordent donc pour la plupart sur le fait que les expositions répétées à des agents irritants sont reliées à la présence de symptômes respiratoires plus fréquents ainsi qu'à la présence d'une obstruction bronchique.

### **C. PHYSIOPATHOLOGIE**

La physiopathologie du SIB est mal connue. Compte tenu du fait que les lésions histologiques observées dans le SIB ont des points communs avec celles observées dans l'asthme, une hypothèse physiopathologique voisine a été proposée par Brooks et Bernstein (47) à partir du modèle de l'asthme.

La lésion majeure inaugurale dans le SIB concerne l'épithélium bronchique puisque celui-ci subit une desquamation presque totale après exposition massive à un agent irritant. Ces lésions entraînent, entre autres, une perte de l'activité ciliaire, une diminution de l'activité de l'endopeptidase neutre et une diminution d'activité du facteur relaxant dérivant de l'épithélium: EpDRF. Les lésions des cellules épithéliales

**Tableau II:** Études rapportant le suivi clinique et fonctionnel de travailleurs à risque d'être exposés à des inhalations répétées d'agent irritant.

Nb de sujets étudiés/ (exposés/ non exposés)	Population	Agent irritant	Type d'étude	symptômes respiratoires	EFR	réactivité bronchique non spécifique	Facteurs personnels	Référence
147/124	employés d'une papeterie	chlore	transversale avec groupe contrôle	pas de différence significative dans les 2 groupes	pas de différence dans les 2 groupes	non mesurée	fumeurs:69% tabagisme contrôlé dans les analyses	(35)
58(forte exposition)/ 61 (faible exposition)	fabrique de chlore	chlore	transversale	non reliés à l'exposition	diminution du DEMM en relation avec une forte exposition	non mesurée	fumeurs:73%	(36)
392/310	employés d'une papeterie/ cheminots	chlore, SO2, H2S	transversale avec groupe contrôle	sifflements chez les papetiers	VEMS/CVF et DEMM < chez les jeunes papetiers	non mesurée	fumeurs: 47% atopie:17%	(39)
316/283	employés d'une papeterie/ cheminots	chlore, SO2, H2S	transversale avec groupe contrôle	sifflements chez les papetiers ayant inhalés du chlore	VEMS/CVF et DEMM < chez les papetiers ayant inhalé du chlore	non mesurée	tabagisme et asthme contrôlés dans les analyses	(37)
230	employés d'une papeterie	chlore, SO2	transversale	non rapportés	changement du VEMS et du VEMS/CVF en relation avec l'exposition au chlore	non mesurée	tabagisme contrôlé dans l'analyse	(45)

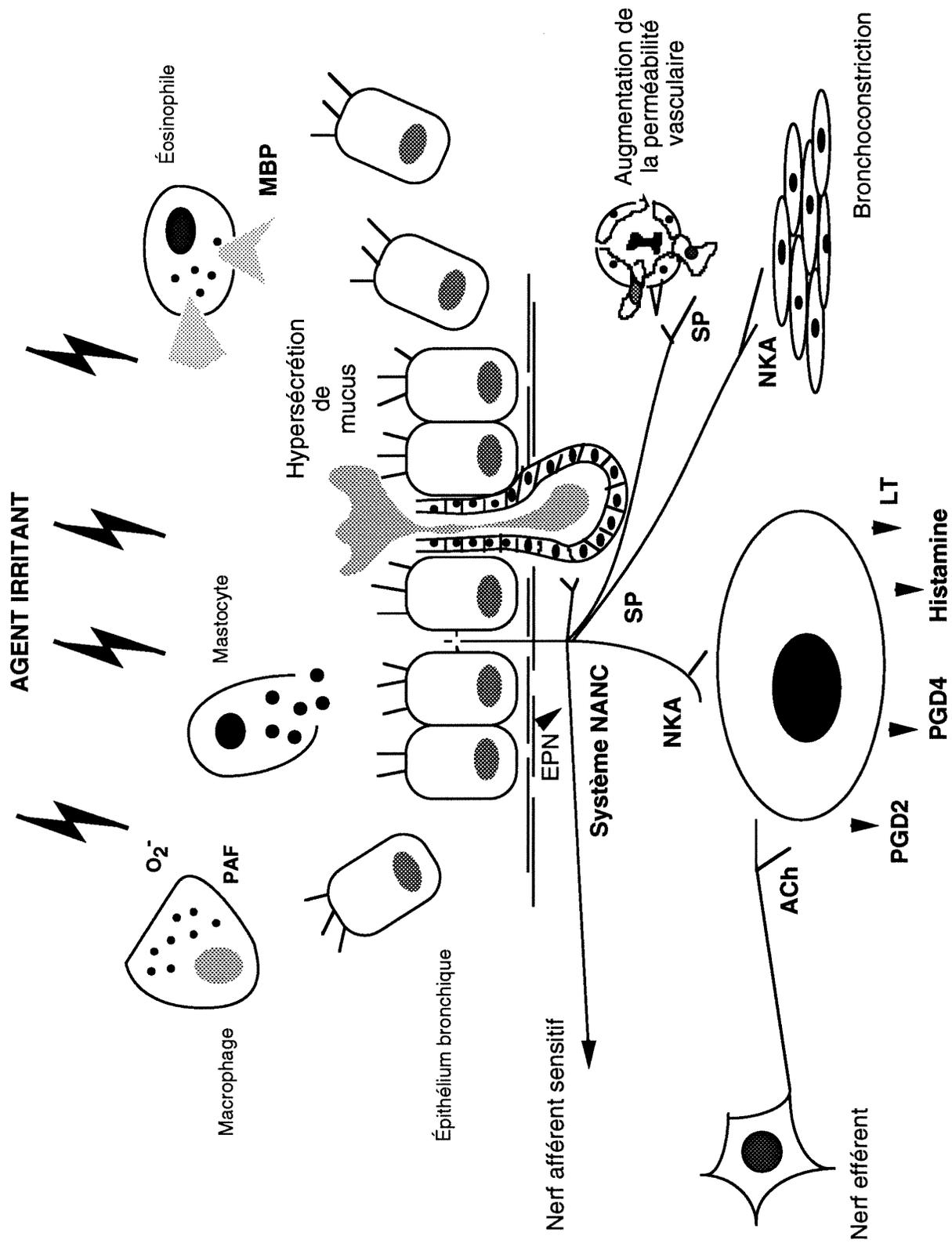
Tableau II: suite

Nb de sujets étudiés (exposés/ non exposés)	Population	Agent irritant	Type d'étude	symptômes respiratoires	EFR	réactivité bronchique non spécifique	Facteurs personnels	Référence
273	employés d'une papeterie	chlore ClO <sub>2</sub>	transversale	irritation de la gorge (78%), des yeux (77%) toux(67%), dyspnée(54%) céphalées(63%)	non pratiqués	non mesurée	tabagisme(53%) asthme ou bronchite chronique (7%)	(40)
239	ouvriers	chlore HCl	transversale	faible prévalence non reliée à l'exposition	VEMS, CVF VEMS/CVF <	courbe dose réponse reliée à l'exposition	fumeurs:55% asthme préexistant 3%, facteurs contrôlés	(46)

Légende : CVF: capacité vitale forcée, DEMM : Débit expiratoire maximum médian,

bronchiques entraînent un relargage de médiateurs de l'inflammation provoquant l'activation du système NANC (non adrénérgique, non cholinérgique). Le système NANC est également activé directement lors des lésions massives de l'épithélium bronchique. Il s'ensuit une relâche accrue de tachykinines (substance P (SP), neurokinines (NK)). L'effet de ces tachykinines: bronchoconstriction, modification de la perméabilité vasculaire, accroissement de la sécrétion de mucus, etc. est par ailleurs augmenté par la déficience de l'endopeptidase neutre. En effet, la diminution d'activité de cette endopeptidase entraîne une moindre dégradation de ces tachykinines déversées par les terminaisons nerveuses du système NANC (48). L'effet de ces tachykinines est alors accru. Ces lésions sont décrites dans la figure 1.

La persistance d'une inflammation de façon chronique observée dans les biopsies bronchiques réalisées au moins un an après l'exposition aiguë (5,49) pourrait être expliquée par la présence de médiateurs provenant des macrophages alvéolaires, des mastocytes et des éosinophiles. Ces médiateurs ayant une action toxique directe ou entraînant une activation lymphocytaire avec relâche de cytokines accroissent la réponse inflammatoire. Certains agents comme le toluène diisocyanate peuvent de plus majorer l'inflammation neurogénique en diminuant les taux d'endopeptidase neutre (50). On constate assez rapidement après exposition aiguë une régénération de l'épithélium bronchique (voir articles pages: 28 à 44 et 49 à 61) qui permet certainement une diminution de l'activation pro-inflammatoire (diminution d'activation du système NANC, sécrétion d'endopeptidase neutre). Cependant, il apparaît aussi assez précocement un dépôt collagénique sous la membrane basale ainsi que dans la paroi bronchique dont les conséquences fonctionnelles à long terme ne sont pas encore connues.



**Figure 1:** Hypothèse physiopathologique du SIB (adaptée à partir de réf 47), voir texte pour la légende.

## **D. DIAGNOSTIC**

### 1 Diagnostic clinique

La plupart du temps, le diagnostic de SIB est rétrospectif puisque les sujets sont le plus souvent vus à distance de l'exposition aiguë. L'interrogatoire prend alors une place prépondérante dans le diagnostic de SIB. Cette affection survient comme un coup de tonnerre dans un ciel serein. En effet, la survenue des symptômes est brutale, consécutive à une inhalation accidentelle massive d'un agent irritant chez des sujets sans antécédents respiratoires. Les sujets sont donc capables, contrairement aux patients atteints d'un AP avec période de latence, de dater avec précision le début de leurs symptômes. Dans les 24 heures suivant cette exposition, les sujets se plaignent généralement de brûlures de la gorge et du nez et de douleurs rétrosternales. Ils font état également d'une symptomatologie respiratoire (toux et dyspnée) et présentent fréquemment des sifflements intrathoraciques. Ces symptômes peuvent survenir immédiatement après l'exposition ou mettre quelques heures à apparaître (5). Contrairement à l'AP avec période de latence, les sujets ne constatent pas une amélioration significative de leurs symptômes à distance de leur travail. Cependant, certains sujets atteints d'un SIB remarquent sur leur lieu de travail une majoration de leurs symptômes lorsqu'ils sont exposés à des agents irritants, même à faible concentration, probablement en raison de l'acquisition récente d'une hyperréactivité bronchique non spécifique (47).

L'évolution de cette symptomatologie est variable. En effet, si dans certains cas ces symptômes peuvent s'amender au cours des mois suivants (13,21,40,41), on note fréquemment l'apparition d'un asthme au décours de l'exposition pouvant persister plusieurs années (5,24,51,52,29,49). Les facteurs prédictifs de cette évolution ne sont pas connus. On pourrait

supposer que l'intensité de l'exposition puisse jouer un rôle dans la persistance des symptômes sans que cela soit aisément démontrable (32). En effet, l'intensité de l'exposition varie souvent selon chaque sujet selon la distance à laquelle il se trouve de la source d'exposition.

L'intensité de l'exposition est sans doute un facteur prépondérant dans la genèse d'un SIB. En effet, selon sa concentration, un même agent est capable d'induire des entités différentes comme le SIB ou le syndrome de détresse respiratoire de l'adulte. Ces deux affections ne sont peut être que des aspects différents d'une même pathologie consécutive à l'inhalation d'un agent irritant qui se manifeste de façon différente selon l'intensité de l'exposition à laquelle sont soumis les sujets. En effet, à faible intensité, le chlore peut n'induire que des symptômes irritatifs non spécifiques, à plus forte intensité, il peut causer un SIB, une très forte concentration pouvant causer un oedème pulmonaire voire un syndrome de détresse respiratoire de l'adulte et causer la mort (12).

## 2 Diagnostic paraclinique

### 2.1 Exploration fonctionnelle respiratoire

Les séquelles fonctionnelles décrites par Brooks (5), après exposition à un agent irritant à haute concentration sont, en rapport avec un syndrome obstructif et une hyperréactivité bronchique non spécifique.

Un syndrome obstructif peut-être mis en évidence après exposition aiguë à un agent irritant. Celui-ci peut persister plusieurs années (5,24,33). Parmi les 10 sujets explorés par Brooks (5), quatre présentaient une diminution du rapport de Tiffeneau, 4 mois à 11 ans après l'exposition aiguë et 7, une diminution du débit expiratoire maximum médian. Bhérer et collaborateurs (33) ont mis en évidence un syndrome obstructif chez 31/51 (60%) sujets 18 à 24 mois après une exposition aiguë au chlore. Bien que

les cas de SIB explorés immédiatement après exposition soient rares (53) (voir article pages 28 à 44), il semble que l'obstruction bronchique apparaisse préférentiellement de façon précoce après exposition et puisse être réversible dans certains cas quelques semaines plus tard. L'absence d'obstruction bronchique ne permet donc pas d'éliminer le diagnostic de SIB puisque la normalisation de la spirométrie quelques semaines après exposition est fréquente (42).

Quelques auteurs ont observé un syndrome restrictif associé à une obstruction bronchique après exposition aiguë à un agent irritant (20,54). L'hypothèse émise par Gilbert et collaborateurs (54) concernant l'existence d'un syndrome restrictif suggère que la survenue de ce déficit ventilatoire pourrait être en rapport avec le siège de l'obstruction bronchique; en effet, en cas d'obstruction bronchique prédominant au niveau des grosses bronches, un syndrome obstructif serait observé, alors que si l'obstruction se déplace vers les petites bronches, un syndrome restrictif pourrait être observé en association avec l'obstruction bronchique. Rajan et Davies (55) rapportent le cas d'un sujet exposé à de l'acide acétique présentant, 3 mois après l'accident, une diminution conjointe du VEMS et de la CVF s'améliorant après traitement par stéroïdes inhalés et bronchodilatateurs. Cependant, dans cette observation comme dans celle rapportée par Chan-Yeung et collaborateurs (28), les auteurs ne rapportent pas d'étude des volumes pulmonaires. La diminution concomitante de la CVF pourrait alors être due à une hyperaération avec augmentation du volume résiduel aux dépens de la capacité vitale, sans diminution de la capacité pulmonaire totale. Cette atteinte fonctionnelle respiratoire ne devrait donc pas être considérée comme un vrai syndrome restrictif. Gilbert et collaborateurs (56) ont par ailleurs démontré que 10% des patients avec une obstruction bronchique isolée avaient une spirométrie compatible avec un syndrome restrictif.

L'existence d'une hyperréactivité bronchique non spécifique est un

critère majeur décrit par Brooks (5) pour porter le diagnostic de SIB. Cette hyperréactivité bronchique non spécifique persiste souvent plusieurs années après l'exposition initiale (5,49). Cependant, la réactivité bronchique peut se normaliser à distance de l'exposition. Blanc et collaborateurs (41) ont rapporté une normalisation de la réactivité bronchique non spécifique 3 mois après l'exposition initiale chez un sujet exposé à des gaz. Bhérier et collaborateurs (33) ont étudié l'évolution clinique et fonctionnelle de sujets présentant une symptomatologie respiratoire consécutivement à une exposition au chlore. Un premier suivi fut mené chez 71 travailleurs à risque, 18 à 24 mois après une ou plusieurs expositions: 29 des 51 sujets (57%) ayant eu un test à la méthacholine présentaient une hyperréactivité bronchique non spécifique. Les mêmes auteurs (34) ont exploré 20 des 29 sujets qui avaient une hyperréactivité bronchique au moment du premier suivi effectué 30 à 36 mois après l'exposition aiguë; cinq sujets avaient normalisé leur CP<sub>20</sub>. Ces sujets n'avaient pas été traités par stéroïdes oraux ou inhalés.

Les rapports de cas isolés ou les études portant sur des groupes de sujets exposés accidentellement à des agents irritants ne comportent pas de mesure de réactivité bronchique non spécifique avant exposition. Kennedy (57) a formulé l'hypothèse qu'une hyperréactivité bronchique non spécifique surviendrait après exposition, préférentiellement chez des sujets qui présentaient déjà, avant exposition, une hyperréactivité bronchique silencieuse. Il pourrait donc exister une susceptibilité individuelle à présenter un SIB pour des sujets soumis à une exposition identique. Cependant, Sherman et collaborateurs (58) ont montré qu'il existait une majoration de la réactivité bronchique non spécifique chez des pompiers après exposition à un feu aussi bien chez les sujets ayant une réactivité bronchique non mesurable que chez ceux qui avaient une réactivité bronchique plus élevée. Ceci suggère donc que le niveau de base de réactivité bronchique n'influence pas le devenir.

## 2.2 Bronchoscopie (aspect endobronchique)

L'aspect endobronchique après exposition à un agent irritant a été peu rapporté. En effet, la plupart des cas rapportés dans la littérature ont été explorés plusieurs mois après l'exposition aiguë. Néanmoins, nous avons pu pratiquer une bronchoscopie 60 heures après une exposition aiguë (article pages : 28 à 44) au chlore. La muqueuse bronchique était hyperhémisée de façon diffuse sans autre particularité.

## 2.3. Cytologie (lavage broncho-alvéolaire)

Peu de résultats de lavage broncho-alvéolaire après exposition à un agent irritant sont rapportés dans la littérature.

Gautrin et collaborateurs (49) ont rapporté des résultats de lavage broncho-alvéolaire chez 5 sujets atteints de RADS, 24 à 30 mois après l'exposition initiale. Deux des 5 sujets présentaient une augmentation de la cellularité totale et trois d'entre eux, une lymphocytose alvéolaire. Les premiers lavages que nous avons pu effectuer chez les deux sujets que nous avons étudiés (un mois après exposition pour le premier sujet, 60 heures puis un mois après exposition pour le second sujet) étaient normaux. En revanche, il est apparu à respectivement 3 et 2 mois après exposition une lymphocytose alvéolaire témoin d'un processus inflammatoire. Si l'on constate des similitudes entre les lésions histologiques observées dans l'asthme et dans le SIB (voir ci-dessous), la cellularité observée dans le lavage broncho-alvéolaire des sujets atteints de RADS est bien différente de celle observée chez les sujets asthmatiques (59), puisque l'on n'observe pas d'augmentation d'éosinophiles ni de mastocytes dans ces lavages, du moins chez le petit nombre de cas publiés ayant eu un lavage broncho-alvéolaire.

## 2.4. Pathologie

### 2.4.1. Études chez l'animal

Les observations pathologiques sériées après exposition aiguë à un agent irritant sont difficiles à pratiquer chez l'homme compte tenu d'une part, du contexte accidentel dans lequel le SIB survient, et, d'autre part, du caractère relativement invasif de la bronchoscopie. De plus, les concentrations auxquelles sont exposés les sujets sont la plupart du temps inconnues. Il apparaît donc nécessaire de réaliser un modèle animal de SIB pour étudier les conséquences histologiques d'une exposition à un agent irritant à une concentration pré-déterminée. Peu d'auteurs (60,61,62) ont étudié chez l'animal les effets d'une exposition aiguë à un agent irritant.

Winternitz (60) a étudié les effets de plusieurs gaz utilisés durant la première guerre mondiale en examinant des chiens décédés à différents intervalles (24 heures à 193 jours) après exposition à des gaz. L'exposition à une dose unique et massive de chlore causa la mort chez plusieurs animaux. Les changements observés deux heures après exposition comprenaient une nécrose épithéliale et une dissociation entre l'épithélium et la paroi bronchique. Après une plus longue période, il apparaissait une desquamation de l'épithélium bronchique suivi de la survenue d'un infiltrat inflammatoire dans la lumière et la paroi bronchiques. Des zones de nécrose parenchymateuse ainsi qu'une incidence élevée de pneumonies furent également décrites chez les chiens décédés 12 heures après exposition.

Bell et collaborateurs (61) ont exposé 16 rats (8 mâles, 8 femelles) à des concentrations de 40 ppm de chlore pendant une durée totale de 43 heures. Ce groupe constituait un groupe faiblement exposé. Huit mâles ayant été antérieurement exposés ainsi que 8 autres n'ayant jamais été

exposés, étaient exposés à 117 ppm de chlore pendant 3 heures par jour jusqu'à ce que la moitié d'entre eux meurent. Huit femelles ayant déjà été exposées ainsi que 8 autres, étaient également exposées au chlore dans les conditions précédemment décrites. Ces groupes constituaient un groupe à forte exposition. Les auteurs constataient dans le groupe des animaux faiblement exposés, 2 semaines après exposition, une prolifération des cellules à mucus. Douze semaines après exposition, il n'y avait plus de différence avec les animaux contrôles n'ayant jamais été exposés. Après exposition à de fortes concentrations, les animaux décédés spontanément présentaient une nécrose extensive de la muqueuse bronchique. Il existait une hypersécrétion de mucus. Les animaux décédés plus tardivement présentaient un épithélium bronchique partiellement différencié avec principalement des cellules cubiques sans cils. Il n'y avait pas d'infiltration par des cellules polynucléées. Chez les survivants, l'épithélium retrouvait son aspect antérieur cilié.

Demnati et collaborateurs (62) ont étudié 74 rats après exposition à un contrôle et à des concentrations croissantes de chlore: 50 100, 200, 500 et 1500 ppm pendant 2 à 10 minutes. Un examen histologique était pratiqué à 1, 3, 6, 12, 24 et 72 heures après exposition. L'exposition à de faibles concentrations ( $\leq 500$ ppm) n'entraînait pas de modifications histologiques significatives. En revanche, l'exposition à 1500 ppm pendant 2 minutes entraînait un oedème périvasculaire ainsi que l'apparition d'une légère inflammation. La prolongation de l'exposition durant 10 minutes à cette même concentration induisait des remaniements histologiques significatifs : une heure après exposition, apparaissait une desquamation de l'épithélium bronchique avec oedème interstitiel, 6 à 24 heures après exposition on notait une diminution de l'oedème avec apparition d'un infiltrat de leucocytes polynucléés maximal à 12 heures. Dès 72 heures après exposition, une régénération de l'épithélium bronchique débutait avec hyperplasie et métaplasie des cellules à mucus. Ces lésions retrouvées

chez l'animal sont cohérentes avec celles observées chez l'homme décrites ci-dessous.

#### 2.4.2 Études chez l'homme

Assez peu d'auteurs (5,27,28,29,49) ont rapporté des résultats de biopsies bronchiques chez des sujets atteints de SIB. Ces biopsies ont été pratiquées plusieurs mois après l'exposition à l'agent irritant et décrivent des lésions chroniques du SIB. Nous rapportons ci-dessous les descriptions histologiques faites chez les sujets atteints de SIB en microscopie optique, électronique et au moyen de techniques immuno-histo-chimiques. Une comparaison avec les lésions observées dans l'asthme est également rapportée.

##### 2.4.2.1 Microscopie optique

###### 2.4.2.1. 1. Lésions pathologiques observées dans l'asthme

Les modifications de la muqueuse bronchique dans l'asthme ont été étudiées en microscopie optique par plusieurs auteurs. Jeffery et collaborateurs (63) ont effectué des biopsies bronchiques chez 11 asthmatiques atopiques ainsi que chez 10 sujets contrôles. Parmi les quatre asthmatiques symptomatiques, trois présentaient une desquamation de l'épithélium bronchique visible en microscopie optique. Il existait une tendance à l'épaississement de la membrane basale chez les patients présentant une hyperréactivité bronchique non spécifique. Par ailleurs, une corrélation était mise en évidence entre le degré de réactivité bronchique et le degré d'atteinte de l'épithélium bronchique. Laitinen et collaborateurs (64) ont étudié les biopsies bronchiques en microscopie optique de 8 sujets asthmatiques et d'un sujet contrôle. Aucun patient asthmatique n'avait une

intégrité complète de son épithélium bronchique contrairement au sujet contrôle. Il existait dans la plupart des cas une desquamation de l'épithélium bronchique et certains sujets présentaient un oedème sous épithélial. Il semble donc qu'une des lésions histologiques majeures retrouvées dans l'asthme a trait à l'épithélium bronchique.

Les études histo-pathologiques des bronches de sujets asthmatiques en microscopie optique rapportent aussi fréquemment un épaissement et une hyalinisation de la membrane basale (65).

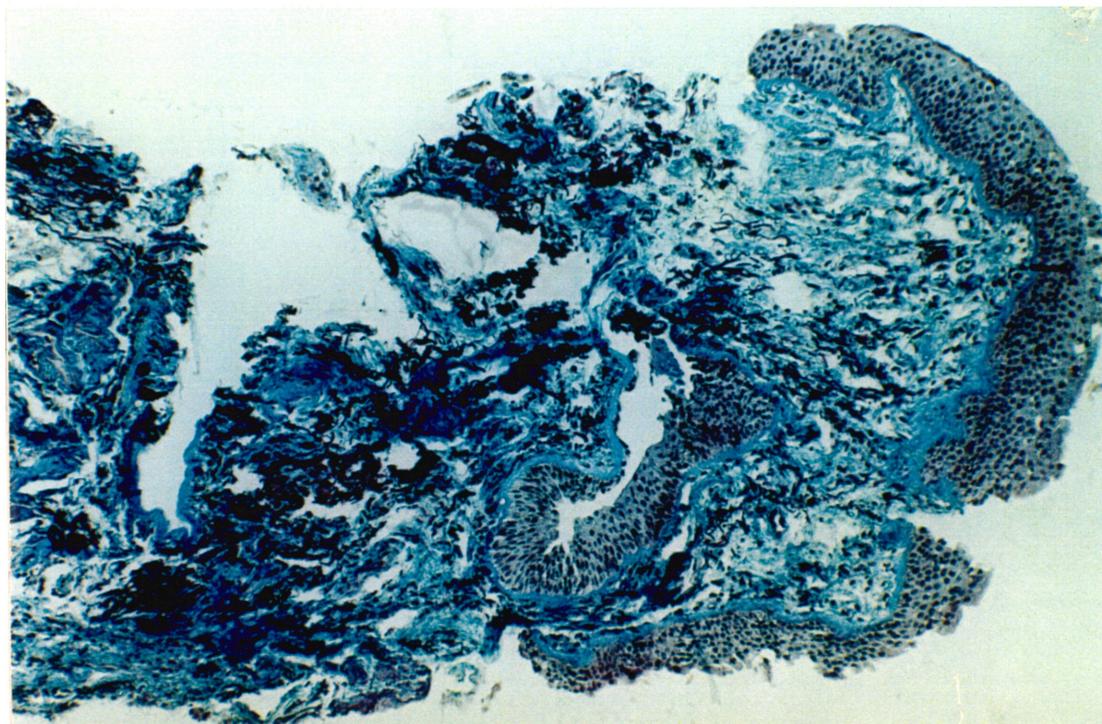
Les biopsies de sujets asthmatiques montrent également une infiltration de la paroi bronchique par des cellules inflammatoires. La plupart des auteurs rapportent que les éosinophiles sont les cellules les plus fréquemment retrouvées dans cet infiltrat mais des neutrophiles et des lymphocytes ont également été observés. Éosinophiles et mastocytes ont été mis en évidence dans l'épithélium bronchique en quantité anormalement élevée (65,66).

#### 2.4.2.1.2 Lésions pathologiques observées dans le SIB

##### a) Lésions chroniques

Les premières biopsies effectuées chez des sujets atteints de SIB ont été réalisées en 1985 par Brooks (5). Les biopsies effectuées chez deux sujets 3 et 6 ans après exposition initiale à un agent irritant montraient dans le premier cas une desquamation de l'épithélium bronchique, et dans l'autre, une hyperplasie des cellules à mucus. Il existait également un infiltrat inflammatoire composé de lymphocytes dans les deux cas. Gautrin et collaborateurs(49) ont pratiqué des biopsies chez 5 sujets atteints de SIB en moyenne 2 ans après l'exposition. Certaines biopsies montraient une desquamation de l'épithélium associée à une métaplasie épidermoïde. La figure 2 illustre l'existence d'une métaplasie épidermoïde associée à une

Figure 2 : Biopsie bronchique en microscopie optique 24 mois après des expositions répétées à du chlore. Métaplasie épidermoïde de l'épithélium bronchique, fibrose du tissu conjonctif sous-épithélial. Coloration trichrome de Weigert Masson, grossissement x 750.



fibrose du tissu sous-épithélial. Le tissu conjonctif sous épithélial comportait de nombreuses cellules inflammatoires: lymphocytes pour la plupart, associés à quelques polynucléaires neutrophiles et éosinophiles. Il existait une fibrose réticulo-collagénique sous épithéliale avec épaissement de la membrane basale. Les biopsies décrites par Deschamps en 1992 et 1994 (27,29) réalisées pour les premières 3 ans et, pour les secondes, quelques mois après l'exposition aiguë, montraient une destruction de l'épithélium bronchique ainsi qu'un petit infiltrat inflammatoire comprenant des lymphocytes sans éosinophiles. Les biopsies réalisées par Chan-Yeung et collaborateurs (28) chez 3 sujets, 5 mois à un an après des expositions répétées à du dioxyde de soufre, peroxyde d'hydrogène et acide acétique montraient une dénudation partielle de l'épithélium bronchique chez deux sujets sur trois, un épaissement de la membrane basale chez deux sujets sur trois, ainsi qu'une infiltration de la muqueuse et de la sous muqueuse par des polynucléaires éosinophiles et des cellules mononuclées. On constate donc plusieurs points communs entre ces différentes biopsies:

- dénudation de l'épithélium bronchique,
- infiltrat inflammatoire comportant dans les cas d'une exposition aiguë, une majorité de lymphocytes, mais, dans les cas consécutifs à des expositions répétées, à une prédominance de polynucléaires éosinophiles,
- épaissement de la membrane basale.

Cependant, toutes ces observations ont été faites tardivement par rapport à l'exposition initiale et rapportent donc des lésions pathologiques chroniques du SIB, et il n'existe pas jusqu'ici, à notre connaissance, dans la littérature de description pathologique des lésions aiguës ni de suivi histologique de patients atteint de SIB.

## b) Lésions aiguës

Les biopsies que nous avons réalisées 60 heures après une exposition au chlore (article pages 28 à 44) montraient une dénudation totale de l'épithélium bronchique remplacé par un liséré fibrino-hémorragique, avec présence de polynucléaires dans la fibrine; on notait, douze jours après l'exposition, une persistance de l'hémorragie de surface et une absence d'épithélium bronchique de surface. Après coloration de Weigert-Masson, on constatait une augmentation de la quantité de collagène ainsi qu'une augmentation de la cellularité des éléments du tissu conjonctif. Deux mois après l'exposition, il existait un début de régénération des cellules épithéliales basales et parabasales avec persistance de dégénérescence du collagène et phénomène d'élastase. Il existait également des amas de lymphocytes avec de rares polynucléaires. La coloration de Weigert-Masson mettait en évidence une augmentation de collagène au niveau de la membrane basale. Cinq mois après exposition, on notait une régénération quasi complète de l'épithélium bronchique. On retrouve plusieurs points communs entre l'asthme et le SIB en microscopie optique: atteinte de l'épithélium bronchique, infiltrat inflammatoire de la paroi bronchique et épaissement apparent de la membrane basale. En revanche, les cellules inflammatoires retrouvées dans l'asthme sont des éosinophiles de façon prépondérante alors que des lymphocytes sont préférentiellement retrouvés dans le SIB. Il semble également que la fibrose retrouvée dans le SIB soit plus prononcée que dans l'asthme. La description détaillée des caractéristiques cliniques, fonctionnelles et histologiques du sujet que nous avons exploré est exposée dans l'article figurant ci-après et qui a été soumis pour publication dans l' «European Respiratory Journal».

REACTIVE AIRWAYS DYSFUNCTION SYNDROME DUE TO CHLORINE:  
SEQUENTIAL BRONCHIAL BIOPSIES AND FUNCTIONAL ASSESSMENT

Catherine Lemière, M.D.<sup>1</sup>, Jean-Luc Malo, M.D.<sup>1</sup>,  
Michel Boutet, M.D.<sup>2</sup>

1. From: 1.Sacré-Coeur Hospital and 2. Laval Hospital, Quebec City.  
J.L. Malo is a senior researcher with the Fonds de la Recherche en Santé  
du Québec and the Université de Montréal School of Medicine. Members of  
the Centre québécois d'excellence en santé respiratoire. C.Lemière is the  
recipient of a research grant from L'Association recherche et partage (Paris,  
France).

2. Requests for reprints should be addressed to: Jean-Luc Malo, M.D.,  
Department of Chest Medicine,  
Hôpital du Sacré-Coeur, 5400 West Gouin, Montreal, Canada H4J 1C5  
tel: 514-338-2796; FAX:514-338-3123.

**ABSTRACT**

Background: very little information is available on the acute histopathological bronchial alteration caused by Reactive Airways Dysfunction Syndrome (RADS). Material and methods: We had the opportunity to carry out bronchial biopsies in a subject with RADS due to chlorine on four occasions, 60 hours, 15 days, 2 and 5 months after acute exposure as well as to assess spirometry and bronchial responsiveness to methacholine. Case report: a 36-year-old worker in a water-filtration plant (non-smoker) abruptly inhaled high concentrations of chlorine on September 12, 1994. He experienced immediate nasal and throat burning, retrosternal burning and wheezing, and these persisted during and after the workshift. Two days later, he complained of retrosternal burning, dyspnea and wheezing. Inspiratory wheezing was documented. His FEV1 was 66%pred and the PC20 slightly abnormal(2.5 mg/ml). On the following day he underwent bronchial biopsies, which showed complete replacement of the mucosa by a fibrinohemorrhagic exudate. The subject was put on inhaled steroids: 15 days after the accident the PC20 was improved to 6 mg/ml and bronchial biopsies showed the absence of mucosa with an inflammatory exudate and collagen deposition. Five weeks after the accident, the PC20 was normal (57 mg/ml). Inhaled steroids were stopped. Two months after the accident, the PC20 deteriorated to 4 mg/ml. Biopsies then showed regeneration of the mucosa by basal cells with more collagen deposition. Inhaled steroids were re-started. Three and five months later, the PC20 was normal (24 mg/ml). Bronchial biopsies still showed collagen deposition.Conclusion: this case report shows that RADS causes: 1)early epithelial destruction; 2)subacute deposition of collagen. Inhaled steroids may modulate changes in bronchial responsiveness in this condition.

**Key-words:** occupational diseases, airway obstruction, bronchial biopsies

**Introduction**

In 1985, Brooks, Weiss and Bernstein defined the Reactive Airways Dysfunction Syndrome as an asthma-like condition that arises after a single inhalation of miscellaneous irritant agents (1). Bronchial hyperresponsiveness is the key functional alteration, with airway caliber most often remaining normal. Chlorine is one of the main causal agents as described in later case reports (2, 3) and discussed (4). The time course of functional and histological changes after acute inhalation of irritant agents is not yet well known. The effect of inhaled steroids on bronchial hyperresponsiveness caused by RADS is also unknown. We herein report on a case of a subject who developed RADS after high exposure to chlorine. We carried out serial functional assessment and performed bronchial biopsies on 4 occasions (60 hours, 15 days, 2 and 5 months) after acute exposure.

### **Case report**

A 36-year-old male had been employed for 10 years in a water filtration plant. He used gaseous chlorine mixed with sodium chloride -- that is chlorine dioxide ( $\text{ClO}_2$ )--, and had to mix it with water. Five years earlier, the subject had experienced symptoms of burning throat, transient cough, dyspnea and wheezing after chlorine inhalation, but these symptoms had been transient and the subject had not been symptomatic since that event. He was a non-smoker.

On the 12th of September 1994, when the subject mixed chlorine dioxide with water, he suddenly experienced a strong odor and nasal, throat and retrosternal burning. A chlorine detector rang. He had to leave the room where he worked. After the room had been ventilated, he came back to work. One hour later, he started noticing wheezing, retrosternal burning and headaches. These symptoms worsened in the evening and he could not sleep until 3 AM. On the following day, he went back to work, and again experienced chest wheezing and retrosternal burning. He was seen by a physician. The chest radiograph was normal. He was prescribed salbutamol on demand. On the 14th of September, the subject was seen by a chest physician who noticed inspiratory wheezing. A spirometry showed a reduced FEV1 value of 2.6L, (pred(5): 3.9L), (66% pred) and forced vital capacity (FVC) 3.8L (pred(5): 4.6L) (84% pred). The carbon diffusing capacity was normal. The provocative concentration of methacholine causing a 20% fall in FEV1 (PC20) using a standardized procedure(6) (output of the nebulizer = 0.14 ml/min) was 2.5 mg/ml (mild bronchial hyperresponsiveness). Functional and histological investigations are reported in Table1. On the 15th of September, i.e., 60 hours after the acute exposure, a bronchoscopy was performed. Bronchial mucosa was hyperemic with mucoid secretions. Bronchial biopsies showed a complete epithelial sloughing with fibrino-hemorrhagic laying, degeneration of conjunctive tissue with oedema and inflammatory cell infiltrate containing

neutrophils (Figure 1A). Bronchoalveolar lavage showed  $7.2 \times 10^4$  cells/ml with 86% of macrophages, 12% lymphocytes, 2% eosinophils. The subject was then given inhaled steroids (budesonide, 1600  $\mu\text{g}$  daily). He was re-assessed on the 21st of September (Day 9). He was asymptomatic, with no more bronchial obstruction, and methacholine challenge showed borderline bronchial hyperresponsiveness (Table 1). A second bronchoscopy was scheduled on the 27th of September (Day 15). Hyperemia of the bronchial mucosa was less pronounced than twelve days ago. Biopsies showed persistent superficial hemorrhage without bronchial epithelium layer. Weigert-Masson staining revealed increase in collagen (Figure 1B). Bronchoalveolar lavage showed  $4.8 \times 10^4$  cells/ml with 88% macrophages, 9% lymphocytes, 2% neutrophils and 1% eosinophils. The dose of inhaled steroids was reduced to 800 $\mu\text{g}$  daily. On the 19th of October (Day 43), the subject had normal spirometry and the methacholine test no longer showed bronchial hyperresponsiveness. Inhaled steroids were progressively decreased and stopped. One month later, the subject complained of dyspnea and retrosternal burning during exercise. Spirometry was normal, but the methacholine test showed mild bronchial hyperresponsiveness. Inhaled steroids were re-started (budesonide, 800 $\mu\text{g}$  daily). Bronchoscopy was repeated a third time two months after the initial event. Bronchial mucosa was still hyperemic; BAL showed an alveolar lymphocytosis:  $8 \times 10^4$  cells/ml with 55% macrophages, 40% lymphocytes, 3% lymphocytes, 2% eosinophils. Bronchial biopsies showed: regeneration of the epithelial cells (basal, parabasal), collagen deposit, and spots of

Table 1: Time course of clinical, functional and histological features after acute exposure to chlorine.

		acute exposure								
		12/09/94	14/09/94	15/09/94	21/09/94	27/09/94	19/10/94	17/11/94	14/12/94	6/02/95
<b>Symptoms</b>	burning throat dyspnea wheezing	cough dyspnea wheezing	cough dyspnea wheezing	cough dyspnea wheezing	None	None	None	dyspnea on exercise	None	None
<b>FEV1(L)/FVC(L) (pred: 3.9/4.6)</b>	ND	2.6/3.8	3.5/4.6 (3.8/4.9 post-BDT)	3.8/4.7	3.8/4.8	3.9/4.7	3.8/4.7	3.8/4.8	3.7/4.7	
<b>PC<sub>20</sub> methacholine (mg/ml)</b>	ND	2.5	ND	16	6.4	57	4	21	24.5	
<b>Bronchial biopsies</b>	ND	ND	superficial fibrino-hemorrhagic laying instead of bronchial epithelial which is sloughed degeneration of conjunctive tissue	ND	ND	superficial hemorrhage, bronchial epithelial sloughing. Increase in collagen	regeneration of the epithelial cells (basal, parabasal)	ND	ciliated epithelium; increased basal cells; enlarged mucus glands; edematous collagen space with inflammatory cells.	
<b>BAL</b>	ND	ND	normal	ND	normal	ND	lymphocytosis	ND	lymphocytosis	
<b>Inhaled steroids Budesonide (µg)</b>	--	--	--	1600	800	800	800	800	800	
				inhaled steroids	inhaled steroids	inhaled steroids	inhaled steroids	inhaled steroids	inhaled steroids	

Legend: ND: not done.

Figure 1A : Almost complete desquamation of the bronchial mucosa (left and upper portion) with fibrinohemorrhagic deposit (dark pink colour). Inflammatory influx of neutrophils (dark purple spots in the middle and upper portions). Normal smooth muscle (right end side). Hematoxylin-eosin stain X 250.

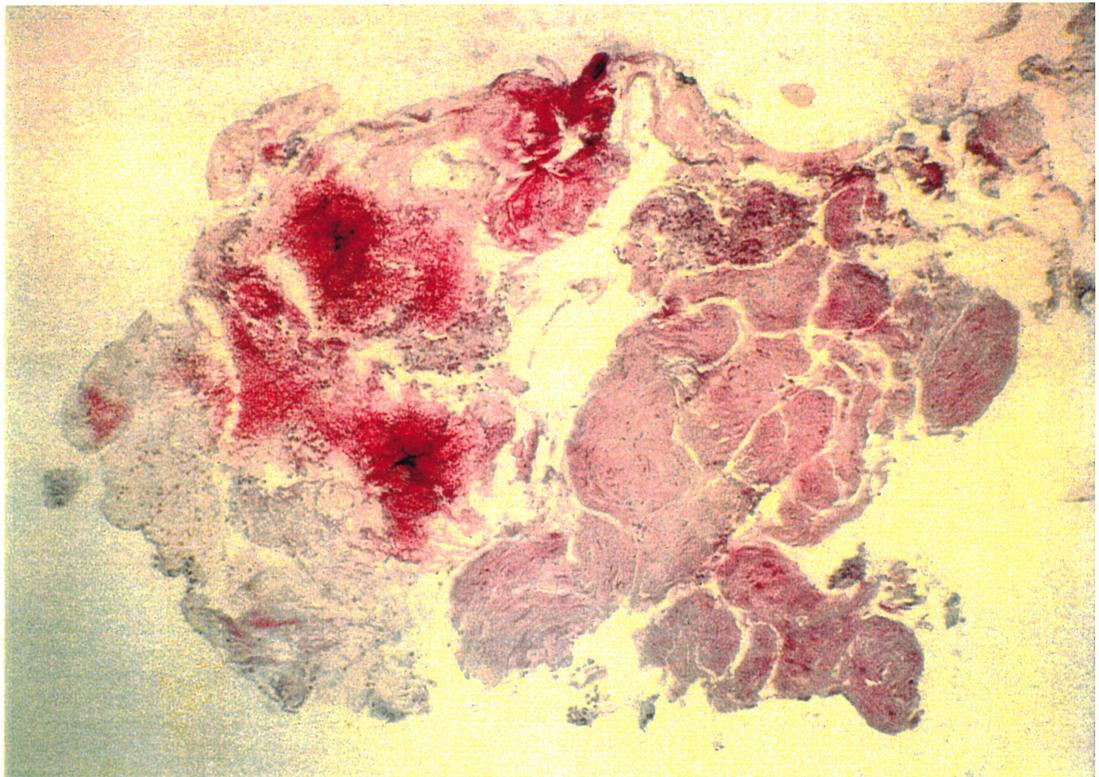
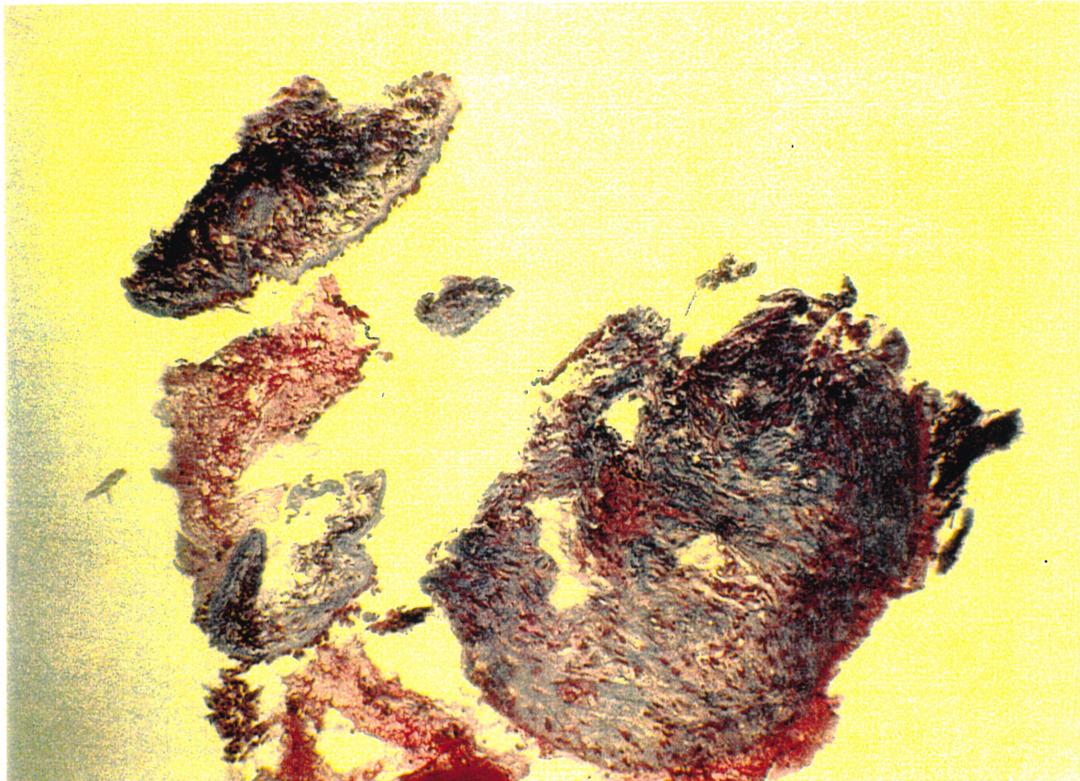


Figure 1B : Absence of surface epithelium. Edema of the subepithelial space with inflammatory infiltrate of collagen. Increased collagen deposit. Weigert-Masson stain X 250.



lymphocytes with few polynuclear cells. There was increased collagen in the basement membrane (Figure 1C). One month later, the subject was asymptomatic; he no longer had bronchial hyperresponsiveness. Inhaled steroids were maintained at the same doses. On the 14th of February, 1995 (Day 166), the subject was completely asymptomatic and had normal respiratory function. A bronchoscopy was performed and showed hyperplasia of the epithelium (basal cells) with hypertrophic mucus glands, focal thickening of the basement membrane and subepithelial oedema, and infiltrate of inflammatory cells (Figure 1D). BAL again showed an alveolar lymphocytosis:  $25.8 \cdot 10^4$  cells/ml with 58% macrophages and 42% lymphocytes.

Figure 1C : Regeneration of basal cells. No ciliated cells. Focal thickening of the basement membrane (blue-grey lining). Degenerated collagen deposition with elastosis (dark brown-red area). Weigert-Masson stain X 750.

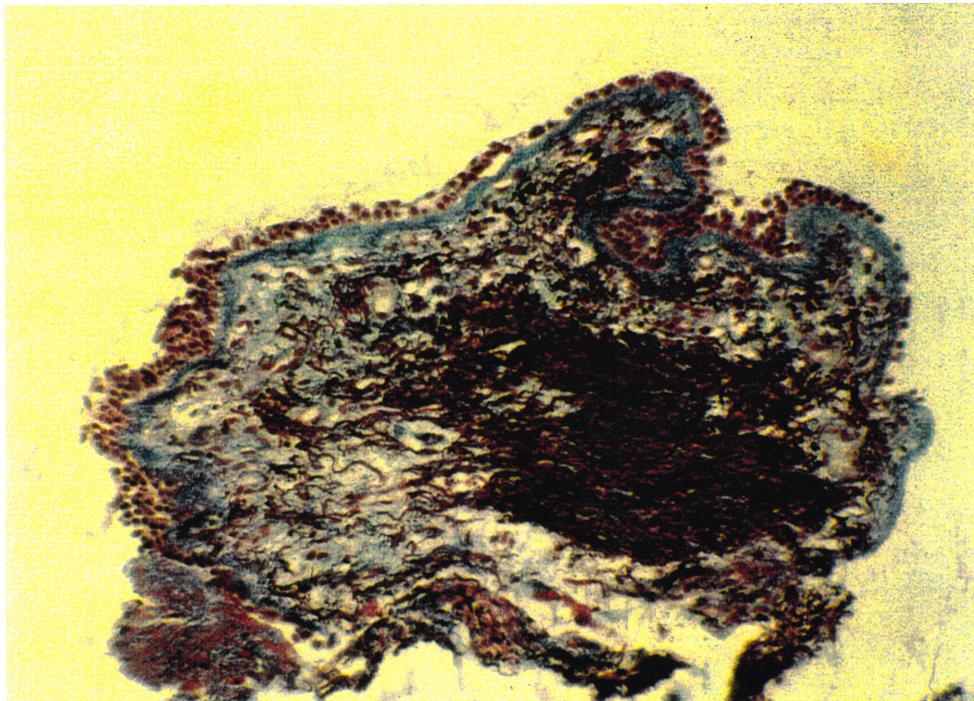
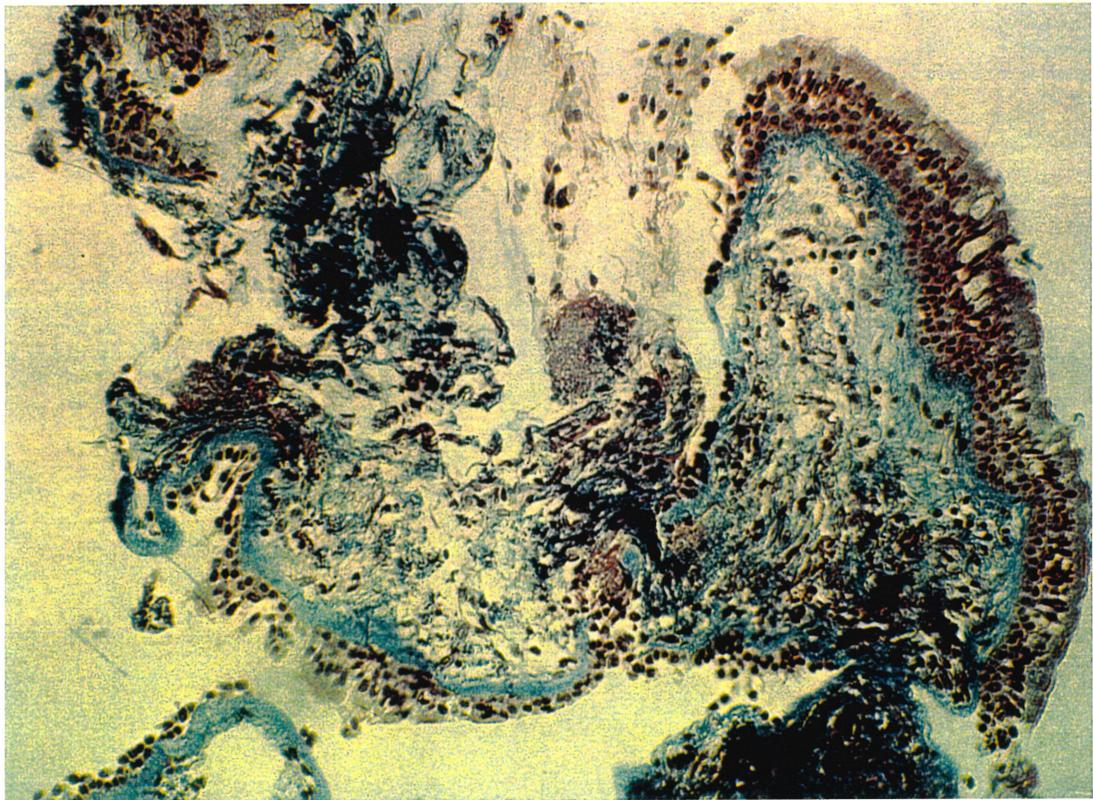


Figure 1D : Ciliated epithelium with increased basal cells and enlarged mucus glands. Focal thickening of the basement membrane (blue-grey lining). Oedematous collagen space with inflammatory cells. Weigert-Masson stain X 750.



## **Discussion**

We herein report on a case of RADS that occurred after acute exposure to chlorine. Although RADS secondary to chlorine has been described by several authors (3, 7, 8), we report for the first time, to our knowledge, on serial measurements of spirometry and bronchial responsiveness combined with histological evaluation on 4 occasions, soon after acute exposure to chlorine. The histopathological features are those of acute desquamation of the epithelium with early deposition of collagen (from Day 3 onwards) and regeneration of the epithelium at a later stage (Day 72). Bronchial hyperresponsiveness appeared to be modulated and reversed by the use of inhaled steroids.

Few authors (1, 8) have reported histological findings of RADS and these were documented at least one year after the acute exposure. They showed mild chronic inflammation and focal desquamation of the epithelial layer, as well as bronchial wall thickening. There is no report, to our knowledge, on histological features shortly after acute exposure to a common causal agent, chlorine. We report histological findings shortly after the acute chlorine exposure (60 hours) and describe their course over a five-month period. Chlorine exposure induced complete desquamation of the epithelial layer as well as an inflammatory reaction. Indeed, the first biopsy showed bronchial epithelial sloughing with fibrino-hemorrhagic laying containing polynuclear cells, degeneration of conjunctive tissue with oedema and inflammatory cell infiltrate containing neutrophils. Two months after the exposure, regeneration of the bronchial epithelium (basal and parabasal cells) began, whereas inflammation persisted and collagen fibrosis appeared. Basement membrane was thickened with an increase in collagen. At five months, regeneration of the epithelial layer was complete with increased basal cells indicating regeneration. There was some focal thickening of the basement membrane and subepithelial edema with inflammatory infiltrate. The various subjects reported on in previous

studies(1,8) showed persistent histological damage after at least one year from exposure. They also had persistent airway hyperresponsiveness. The two subjects reported on by Brooks(1), each of whom had bronchial biopsies one and three years after exposure, had persistent bronchial obstruction and airway hyperresponsiveness. Among the 15 subjects suffering from RADS studied by Gautrin and coworkers (8) five subjects with bronchial hyperresponsiveness underwent bronchoscopy with bronchial biopsies. These revealed desquamation of the epithelial layer, inflammatory infiltrate and extended reticulocollagenis fibrosis, which was the mean feature. These authors did not perform biopsies among subjects with normal responsiveness. It is likely that persistent airway hyperresponsiveness is related, in this condition as for asthma, to persistent epithelial damage (9, 10), inflammation (11,12), and/or structural changes. It has been shown in asthma that structural changes related to bronchial wall thickness with oedema and inflammation, or in airway smooth muscle can modify airway hyperresponsiveness (13,14). It seems that persistence of collagenic fibrosis in RADS a long time after acute exposure could also increase bronchial responsiveness. However, functional integrity does not necessarily mean histological integrity. Indeed, our subject was no longer complaining of respiratory symptoms nor did he have airway hyperresponsiveness or airway obstruction, at a time bronchial biopsies showed epithelial desquamation, inflammatory infiltrate and collagen deposition.

Inhaled steroids could have modulated the course of the disease. Indeed, after the first attempt to stop inhaled steroids, the subject again complained of respiratory symptoms when exposed to non-specific irritant agents, and the PC20 fell from 57 to 4 mg/ml. He rapidly recovered after one month of inhaled steroid treatment. Inhaled steroids therefore seem to show efficacy in RADS, normalizing non-specific bronchial hyperresponsiveness and improving symptoms. We do not know, however,

what the course of functional changes and histological injuries would have been without inhaled steroids. The changes we noticed might just as well represent the natural history of the disease, although it seems that inhaled steroids can modulate the course of bronchial responsiveness. Randomized studies on RADS using inhaled steroids versus placebo would be necessary to evaluate precisely the efficacy of inhaled steroids, and to determine the optimum doses and duration of treatment after acute exposure. Alternatively, the effect of parenteral or inhaled steroids can be assessed in animal models of RADS.

**Acknowledgements**

We would like to thank Carole Leblanc and Michèle Bélanger for technical support and Lori Schubert for reviewing the manuscript.

## References

1. Brooks SM, Weiss MA, Bernstein IL. Reactive airways dysfunction syndrome (RADS); persistent asthma syndrome after high level irritant exposures. *Chest* 1985;88:376-84.
2. Boulet LP. Increases in airway responsiveness following acute exposure to respiratory irritants. Reactive airway dysfunction syndrome or occupational asthma? *Chest* 1988;94:476-81.
3. Moore B, Sheman M. Chronic reactive airway disease following acute chlorine gas exposure in an asymptomatic atopic patient. *Chest* 1991;100:855.
4. Das R, Blanc PD. Chlorine gas exposure and the lung: a review. *Toxicology and Industrial Health* 1993;9:439-455.
5. Knudson RJ, Lebowitz MD, Holberg CJ, Burrows B. Changes in the normal maximal expiratory flow-volume curve with growth and aging. *Am Rev Respir Dis* 1983;127:725-34.
6. Cockcroft DW, Killian DN, Mellon JJA, Hargreave FE. Bronchial reactivity to inhaled histamine: a method and clinical survey. *Clinical Allergy* 1977;7:235-43.
7. Hasan FM, Geshman A, Fuleihan FJD. Resolution of pulmonary dysfunction following acute chlorine exposure. *Arch Environ Health* 1983;38:76-80.
8. Gautrin D, Boulet LP, Boutet M, Dugas M, Bhérier L, L'Archevêque J, Laviolette M, Côté J, Malo JL. Is Reactive Airways Dysfunction Syndrome

- (RADS) a variant of occupational asthma ? *J Allergy Clin Immunol* 1994;93:12-22.
9. Laitinen LA, Heino M, Laitinen A, Kava T, Haahtela T. Damage of the airway epithelium and bronchial reactivity in patients with asthma. *Am Rev Respir Dis* 1985;131:599-606.
  10. Beasley R, Roche WR, Roberts JA, Holgate ST. Cellular events in the bronchi in mild asthma and after bronchial provocation. *Am Rev Respir Dis* 1989;139:806-17.
  11. Bousquet J, Chanez P, Lacoste J-Y, Barnéon G, Ghavanian N, Enander I, Venge P, Ahlstedt S, Sinomy-Lafontaine J, Godard P, Michel F-B. Eosinophilic inflammation in asthma. *N Eng J Med* 1990;323:1033-1039.
  12. Pin I, Godard P. Mécanismes de l'hyperréactivité bronchique: rôle de l'inflammation des voies aériennes et de l'atopie. *Rev Mal Resp* 1994;11:111-122.
  13. Moreno RH, Hogg JC, Pare PD. Mechanics of airway narrowing. *Am Rev Respir Dis* 1986;133:1171-80.
  14. Marthan R, Stephens NL. Mécanismes de l'hyperréactivité bronchique. Rôle du muscle lisse. *Rev Mal Resp* 1994;11:149-159.

## 2.4.2.2. Microscopie électronique

### 2.4.2.2.1 Lésions pathologiques observées dans l'asthme

Les études effectuées sur les changements observés en microscopie électronique sur les biopsies bronchiques de sujets asthmatiques montrent des lésions importantes de l'épithélium bronchique allant jusqu'à, dans certains cas, une desquamation complète de l'épithélium (63,64). En effet, l'étude des biopsies de 11 sujets asthmatiques atopiques pratiquée par Jeffery et collaborateurs (63) en microscopie électronique montre une perte de l'épithélium de surface avec persistance de quelques cellules basales attachées à la lame basale. Laitinen et collaborateurs (64) ont étudié les changements ultrastructuraux de l'épithélium bronchique chez 8 sujets asthmatiques. L'épithélium présentait des modifications variables allant de lésions mineures jusqu'à une desquamation complète de l'épithélium bronchique. Les cellules ciliées, lorsqu'elles étaient présentes, montraient souvent des signes de souffrance: vacuolisation du réticulum endoplasmique et des mitochondries ainsi que perte de cils (64). Les terminaisons nerveuses présentes dans l'épithélium bronchique des sujets asthmatiques semblaient atteintes par comparaison avec l'image obtenue pour l'épithélium bronchique des sujets normaux (64). Jeffery et collaborateurs (63) ont constaté que l'aspect et l'épaisseur de la lame basale était inchangés chez les sujets asthmatiques alors que la lame réticulaire sous jacente était grandement épaissie par du collagène fibrillaire. Dans un des cas étudiés, l'épithélium était constitué de cellules épidermoïdes stratifiées avec présence de lymphocytes. Le nombre de cellules inflammatoires intra-épithéliales des sujets asthmatiques n'était pas significativement différent de celui retrouvé chez les sujets sains, probablement en raison de la présence parmi ceux-ci d'un sujet présentant

un taux particulièrement haut de neutrophiles intra-épithéliaux après une infection récente. Les proportions de chaque type de cellule inflammatoire de la lamina propria étaient différentes chez les sujets asthmatiques et les sujets sains. Chez les sujets sains contrôles, 73% des cellules inflammatoires étaient des lymphocytes par comparaison avec 20% chez les sujets asthmatiques, la plupart des cellules étant chez eux difficiles à classifier en raison de cellules atypiques (neutrophiles dégranulés).

#### 2.4.2.2.2. Lésions pathologiques observées dans le SIB

##### a) lésions chroniques

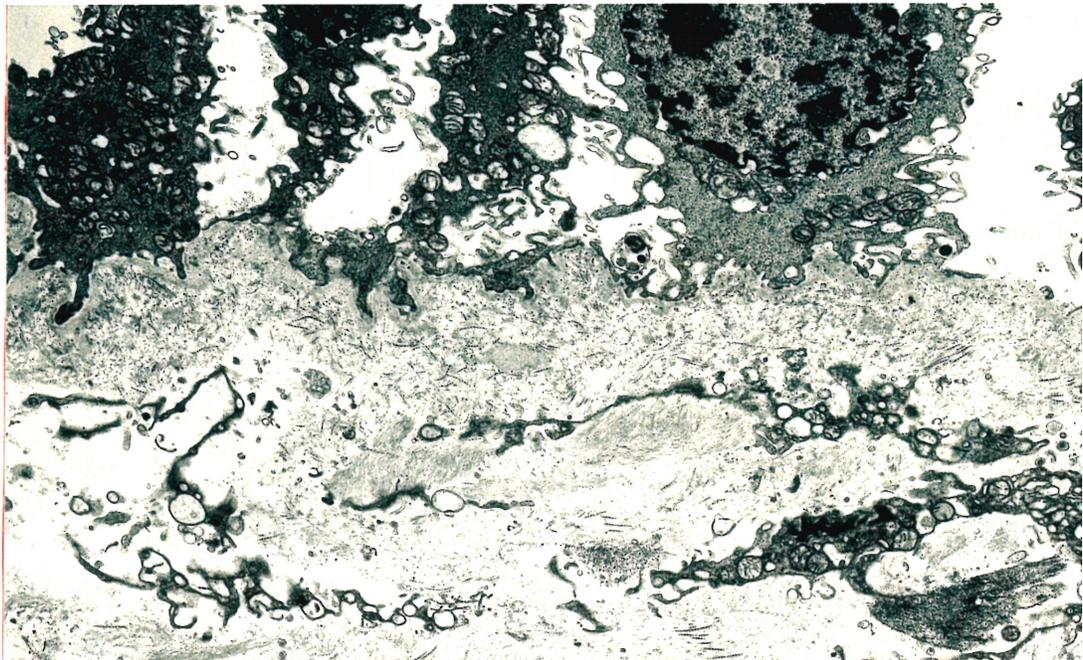
Les biopsies pratiquées par Gautrin et collaborateurs (49) chez 5 sujets atteints de SIB 2 ans après l'exposition initiale montraient une desquamation de l'épithélium bronchique ainsi que des zones de métaplasie épidermoïde. Les cellules ciliées encore présentes avaient une diminution significative de leur nombre de cils. Dans les zones de destruction de l'épithélium, il persistait des cellules basales. Les biopsies pratiquées par Deschamps et collaborateurs (27) trois ans après l'exposition initiale chez un sujet ayant développé un SIB après exposition à l'oxyde d'éthylène montraient, en microscopie électronique, une destruction partielle de l'épithélium bronchique ainsi qu'un épaissement du tissu conjonctif sous-épithélial. Il existait une discrète réaction inflammatoire sans altération des jonctions serrées; il n'y avait pas non plus d'épaississement de la membrane basale. Les mêmes auteurs (29) retrouvaient, en microscopie électronique, plusieurs mois après exposition à de l'hypochlorite de soude et de l'acide chlorhydrique, chez un sujet ayant développé un SIB, des signes de lésions des cellules épithéliales (diminution de densité du cytoplasme, vacuolisation des organites), un épaissement du tissu conjonctif sous épithélial avec des fibres de

collagène. Il n'y avait pas d'épaississement de la membrane basale ni d'altération des jonctions serrées. La figure 3 qui représente une biopsie bronchique en microscopie électronique d'un sujet 2 ans et demi après exposition à divers gaz durant une explosion, illustre bien certaines lésions chroniques observées en microscopie électronique dans le SIB : lésions de l'épithélium, dépôt de collagène, désunion du tissu conjonctif.

#### b) lésions aiguës

Les biopsies en microscopie électronique que nous avons pratiquées chez un sujet, 60 jours après exposition, montraient une desquamation totale de l'épithélium bronchique avec dépôt de fibrine. Un mois et demi après, soit trois mois après l'exposition, il existait une régénération de l'épithélium bronchique, avec une régénération incomplète des cellules ciliées. Il existait également une dilatation du réticulum endoplasmique lisse témoin d'une souffrance cellulaire. Les changements observés dans le SIB en microscopie électronique ont donc des similitudes avec les lésions observées dans l'asthme en ce qui concerne les lésions de l'épithélium bronchique. Les caractéristiques cliniques, fonctionnelles et pathologiques de ce sujet sont exposés dans l'article ci-après qui a été soumis pour publication dans la revue «Allergy»

Figure 3 : biopsie bronchique en microscopie électronique 32 mois après exposition à de la fumée à la suite d'une explosion. Lésion de l'épithélium bronchique, dépôt de collagène, désunion du tissu conjonctif. Grossissement x 2700



Reactive Airways Dysfunction Syndrome  
induced by exposure to a mixture containing isocyanate:  
functional and histopathological behaviour

Catherine Lemière, M.D.<sup>1</sup>, Jean- Malo, M.D.<sup>1</sup>,  
Louis-Philippe Boulet, M.D.<sup>2</sup>, and Michel Boutet, M.D.<sup>2</sup>

1. From: 1.Sacré-Coeur Hospital and 2. Laval Hospital, Quebec City.

J.L. Malo is a senior researcher with the Fonds de la Recherche en Santé du Québec and the Université de Montréal School of Medicine. Members of the Centre québécois d'excellence en santé respiratoire. C.Lemière is the recipient of a research grant from L'Association recherche et partage (Paris, France).

2. Requests for reprints should be addressed to: Jean-Luc Malo, MD,  
Department of Chest Medicine,  
Hôpital du Sacré-Coeur, 5400 West Gouin, Montreal, Canada H4J 1C5  
tel: 514-338-2796; FAX:514-338-3123.

**Abstract**

A 31-year old machinist experienced acute symptoms of rhino-conjunctivitis, coughing, shortness of breath and wheezing after sudden exposure to fumes containing isocyanates and solvents. Lung function tests carried out eleven days after the event showed reduced flow rates. Forty days after the acute inhalational injury, expiratory flows improved and the PC20 was 0.8 mg/ml, showing moderate bronchial hyperresponsiveness. Six days later, the subject underwent a bronchoscopy. Bronchial biopsies showed a marked loss of epithelial cells, severe subepithelial oedema and inflammatory cells infiltrate. The subject was given inhaled steroids. The PC20 was back to normal 42 days later. Bronchial biopsies then showed incomplete regeneration of the epithelial layer with few ciliated cells and persistence of inflammation in epithelia and connective tissue. We conclude that irritant exposure to a mixture of isocyanates and solvents can cause occupational asthma without a latency period, RADS.

**key-words** : occupational diseases, airway obstruction, bronchial biopsy.

**Introduction**

Two types of occupational asthma can be distinguished by whether it appears with or without a latency period (1). Reactive Airways Dysfunction Syndrome (acronym=RADS) is a form of irritant-induced asthma which develops after a single exposure to an irritant material(2). Patients are left with “asthma-like symptoms” and airway hyperresponsiveness.

The time course and mechanisms of development of this entity are still to be defined. We describe a case of RADS in a subject who experienced irritant exposure to isocyanates and its diluents at the workplace. We obtain follow-up information derived from serial lung function tests and bronchial biopsy materials.

### **Case report**

A 31-year old subject had been employed for six years as a machinist for a company in which he would normally do metal polishing, using oil. The workplace was located approximately one hundred meters away from a large, well ventilated paintshop in which isocyanates mixed with organic solvents (aliphatic polyisocyanates, hexamethylene diisocyanate, isophorone diisocyanate, aromatic hydrocarbon, ethyl acetate, propylene glycol, toluene, xylene, tritolyl phosphate) were used for spraypainting. The subject never went into these paintshops. He had never experienced respiratory symptoms. He had stopped smoking five years before and had smoked 5 packs-years.

On August 12, 1994, a large piece of metal had to be painted out of the paintshop. One or two hours after the spraying started, several employees who were present started experiencing symptoms of runny eyes and nose, headaches and nausea. The subject also reported symptoms of cough, shortness of breath and wheezing. He left after a total of 3 to 4 hours of exposure. On the 23rd of August, he was seen by a chest physician who noticed expiratory wheezing. A spirometry showed a reduced FEV1 value of 2.9 L, (pred(3)=5.4 L) (54% pred) and forced vital capacity (FVC) (3.6 L, pred(3) of 6.1 L(59% pred). He took salbutamol on demand. He was assessed on September 21. He still complained of dyspnea, cough and wheezing on exercise. Chest auscultation was normal. His FEV1 was 4.6 L (84% pred) and his FVC, 4.9 L (81% pred). The provocative concentration of methacholine causing a 20% fall in FEV1 (PC20) using a standardized procedure(4)(output of the nebulizer = 0.14 ml/min) was 0.8 mg/ml (moderate hyperresponsiveness). Skin tests carried out by the prick method with 15 common inhalants were all negative. A bronchoscopy was performed on September 27. Bronchial biopsies examined on light and electronic microscopy showed a severe loss of epithelial cells and marked

subepithelial oedema with an inflammatory cell infiltrate underneath the basement membrane (Figure 1). The subject was given inhaled steroids (beclomethasone, 2 mg daily). He was re-assessed on October 19. He had tried to resume work on October 11 and 12 but experienced symptoms of cough, dizziness and wheezing which forced him to leave work. The subject then reported having been indirectly exposed to isocyanates at work. The PC20 was 31 mg/ml, indicating no significant hyperresponsiveness. In order to exclude that high exposure to isocyanates had induced "sensitization" to isocyanates, we carried out specific inhalation challenges by exposing the subject to increasing concentrations of the mixture of isocyanates and solvents for a maximum duration of two hours. These challenges failed to induce a significant fall in FEV1. The subject was kept on high doses of inhaled beclomethasone (2 mg daily), and a bronchoscopy was repeated on November 17, at a time the PC20 was 19 mg/ml (not significantly changed). This showed an incomplete regeneration of the epithelial layer with few ciliated cells. Inflammatory cells persisted in epithelia and connective tissue (Figure 2).

Figure 1A: Light micrograph of a bronchial biopsy 46 days after single massive exposure to isocyanates. Severe loss of epithelial cells (open arrow) with few remaining basal cells (closed arrow). Subepithelial oedema with inflammatory cells underneath the basement membrane. Hematoxylin-Eosin (H-E) stain. Original magnification x 250.

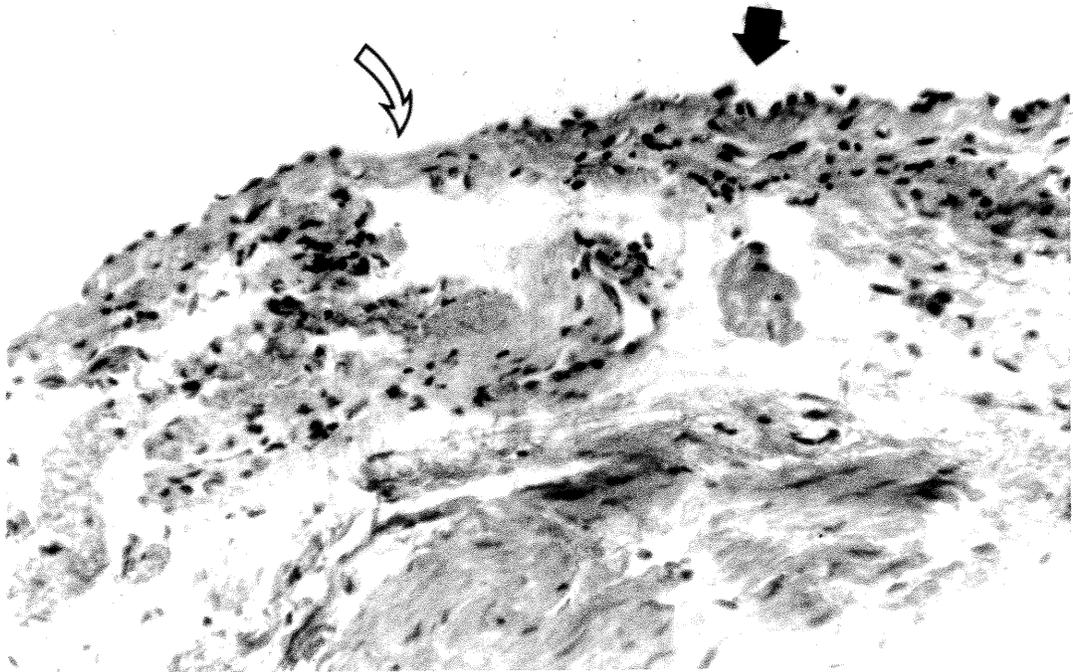


Figure 1B: Electron micrograph of the first biopsy. Epithelial cell loss at luminal surface with fibrin deposition and intra-fibrillar oedema (arrow). Original magnification x 2700. Epon-embedded material stained with uranyl acetate and lead citrate.



Figure 2A: Light micrograph of a second bronchial biopsy 98 days following isocyanate exposure. Incomplete regeneration of the epithelial layer with few ciliated cells (arrows). Inflammatory cells persist in epithelia and connective tissue. (H-E stain). Original magnification x 250.

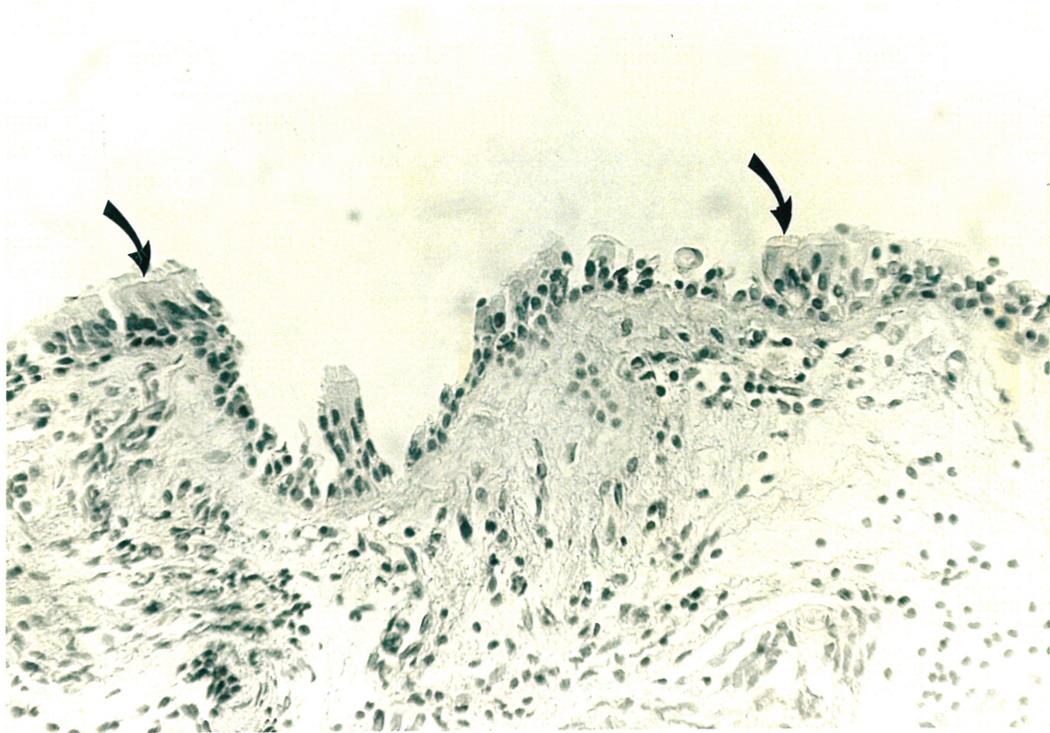
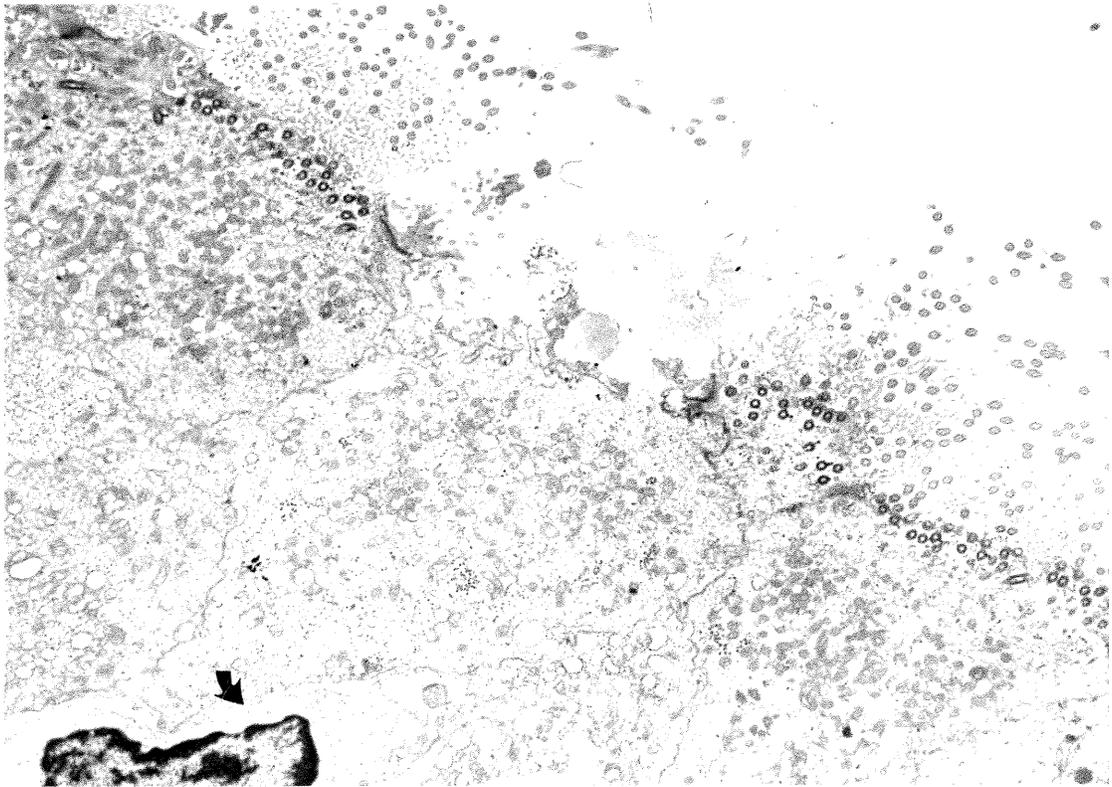


Figure 2B: Electron micrograph of the second biopsy. Epithelial cells with incomplete cilia genesis, dilatation of the smooth endoplasmic reticulum. Lymphocytes at the lower part of the figure(arrow). Original magnification x 2700. (Uranyl acetate and lead citrate staining.)



## Discussion

We herein report a case of RADS due to irritant exposure to isocyanates and its diluents. Even if it is not possible to be sure that isocyanates alone caused these symptoms as there were various solvents mixed with the isocyanates, they are likely to be the offending agent. Fuchs and Valade described cases of intoxication by isocyanates (5). It is difficult however to distinguish between a toxic reaction and a "sensitization" reaction in these observations. This criticism also applies to the case reported by Boulet (6). Brugsch and coworkers (7) described symptoms experienced in 48 cases of intoxication by isocyanates. There was no functional or histological evidence of RADS. Nevertheless, some of these subjects reported symptoms consistent with RADS after exposure to a spill of isocyanates. A few years later, Axford and coworkers(8) reported that most of a group of 35 firemen exposed to chemical fumes including toluene di-isocyanate developed respiratory symptoms within 24 hours of this single high exposure. Almost four years later, 20 subjects had persistent respiratory symptoms. More recently, Luo and coworkers(9) reported the case of two police officers who developed an asthma-like illness after a single exposure to TDI. Follow-up examination over 7 years showed persistence of respiratory symptoms and airway obstruction, but the authors did not describe the course of bronchial responsiveness. We herein report for the first time, to our knowledge, a case of RADS to isocyanates in which the course of bronchial responsiveness is described and results of bronchial biopsies are presented. Few authors (2,10) have reported histopathological changes among subjects suffering from RADS. Mild chronic inflammation and focal desquamation of the epithelial layer, as well as bronchial wall thickening, are features of this condition. However, in these works, biopsies were taken at least one year after the single exposure to the offending agent. Our first biopsies were performed only six weeks after the exposure.

Features of injury to the epithelial layer seemed more pronounced than described in the previous observations (2,10). Biopsies performed three months after exposure showed regeneration of the epithelial layer with lesser collagen deposition than what has been noticed approximately one year after inhalational accident (10). The time course of functional changes among subjects suffering from RADS is not yet well known. The efficacy of inhaled steroids on RADS is also unknown. Spirometric values of our subject improved one month after exposure without any treatment but there was still moderate bronchial hyperresponsiveness. After a month and a half of inhaled steroid treatment, PC20 improved significantly towards normal values. Functional recovery could have been enhanced by inhaled steroids even though such improvement could represent the natural course of RADS which would follow without treatment. Further studies concerning RADS need to be performed to evaluate the course of this disease from the functional and pathological points of view, with and without anti-inflammatory treatment.

### **Acknowledgments**

We thank Lori Schubert for reviewing the manuscript.

## References

1. Bernstein DI, Bernstein IL, Malo JL, Chan-Yeung M. Definition and classification of asthma. In: *Asthma in the Workplace* ; Bernstein IL, Chan-Yeung M, Malo JL, Bernstein DI, eds. Marcel Dekker Inc., New York:1993 : 1-4.
2. Brooks SM, Weiss MA, Bernstein IL. Reactive airways dysfunction syndrome (RADS). Persistent asthma syndrome after high level irritant exposures. *Chest* 1985; 88:376-84.
3. Knudson RJ, Lebowitz MD, Holberg CJ, Burrows B. Changes in the normal maximal expiratory flow-volume curve with growth and aging. *Am Rev Respir Dis* 1983; 127:725-34.
4. Cockcroft DW, Killian DN, Mellon JJA, Hargreave FE. Bronchial reactivity to inhaled histamine: a method and clinical survey. *Clinical Allergy* 1977; 7:235-43.
5. Fuchs S, Valade P. Étude clinique et expérimentale sur quelques cas d'intoxication par le Desmodur T (diisocyanate de toluylene 1-2-4 et 1-2-6). *Arch Mal Profess* 1951; 12:191-6.
6. Boulet LP. Increases in airway responsiveness following acute exposure to respiratory irritants. Reactive airway dysfunction syndrome or occupational asthma? *Chest* 1988; 94:476-81.
7. Brugsch HG, Elkins HB. Toluene di-isocyanate (TDI) toxicity. *N Engl J Med* 1963; 268:353-7.

8. Axford AT, McKerrow CB, Jones A Parry, Lequesne PM. Accidental exposure to isocyanate fumes in a group of firemen. *Br J Ind Med* 1976; 33:65-71.
9. Luo JC, Nelsen KG, Fischbein A. Persistent reactive airway dysfunction syndrome after exposure to toluene diisocyanate. *Br J Indust Med* 1990; 47:239-241.
10. Gautrin D, Boulet LP, Boutet M, Dugas M, Bhérer L, L'Archevêque J, Laviolette M, Côté J, Malo JL. Is Reactive Airways Dysfunction Syndrome (RADS) a variant of occupational asthma ? *J Allergy Clin Immunol* 1994; 93:12-22.

### 2.4.2.3. Immuno-histo-chimie

Les biopsies des sujets asthmatiques et des sujets porteurs de SIB ont été étudiées en immuno-histo-chimie pour évaluer les changements cellulaires et structuraux survenant dans l'asthme. Les études menées dans le SIB portent toutes sur le stade chronique de cette affection.

#### 2.4.2.3.1 Étude de la cellularité de l'infiltrat inflammatoire

##### a) dans l'asthme

La composition cellulaire de l'infiltrat inflammatoire observé dans l'asthme a été étudiée par plusieurs auteurs en immunohistochemie. Le lymphocyte T semble jouer un rôle clé en initiant l'inflammation des voies aériennes impliquant mastocytes et éosinophiles. L'épithélium bronchique semble être une cible majeure (67). Les lymphocytes T sont à un stade d'activation plus avancé chez l'asthmatique avec une plus grande proportion de cellules exprimant à leur surface des marqueurs d'activation que chez les sujets contrôles. Il a été démontré que le nombre de cellules T dans la muqueuse était corrélé avec le nombre d'éosinophiles et avec le degré d'hyperréactivité bronchique non spécifique (68). Les cellules T ont le pouvoir d'interagir avec les éosinophiles et les mastocytes. Les cytokines sécrétées par les lymphocytes T: IL3, IL5 et GM-CSF, favorisent la production, la survie et l'activité des éosinophiles. Dans les biopsies de sujets asthmatiques, une corrélation a été établie entre le nombre de lymphocytes T activés CD25+ et les éosinophiles activés (68). Les lymphocytes T jouent également un rôle dans la maturation et la prolifération des mastocytes par la production d'IL3, IL4 et IL5. Ils favorisent également la dégranulation mastocytaire par l'intermédiaire de facteurs relarguant l'histamine. Il ne semble pas y avoir de grande différence chez les sujets porteurs d'un AP et d'un asthme personnel.

#### b) dans le SIB

Une seule étude à notre connaissance a été publiée dans la littérature faisant état, par immuno-histo-chimie, de l'infiltrat inflammatoire de sujets atteints d'un asthme induit par des agents irritants. Chan-yeung et collaborateurs (28) ont montré que les trois sujets, atteints d'un asthme induit par des agents irritants, avaient une augmentation de l'infiltration cellulaire dans la muqueuse et la sous-muqueuse. Les cellules étaient pour la plupart des éosinophiles et des cellules mononuclées. Les éosinophiles étaient activés et la présence d'un marquage EG2+ indiquait la présence d'éosinophiles dégranulés. Il y avait peu de lymphocytes T et ceux qui étaient présents étaient pour la plupart de lymphocytes CD8+ chez 2 sujets et CD4+ chez le troisième. La densité des éosinophiles activés chez ces 3 sujets était plus importante, alors que le nombre de lymphocytes T était moindre que celui présent chez des sujets sains ou atteints d'asthme ou d'AP. Les auteurs concluaient qu'étant donné la faible proportion de lymphocytes présents dans la muqueuse bronchique, un mécanisme immunologique à médiation cellulaire n'était probablement pas impliqué dans l'asthme induit par des agents irritants.

#### 2.4.2.3.2 Étude des remaniements structuraux

##### a) dans l'asthme

Plusieurs études rapportent les remaniements structuraux observés en immuno-histo-chimie dans l'asthme alors qu'il n'existe pas à notre connaissance d'études équivalentes dans l'AP.

La présence d'une couche hyaline sous l'épithélium bronchique des sujets asthmatiques a été observée dans les études autopsiques

pulmonaires depuis au moins une quarantaine d'années (69). Il avait souvent été dit qu'il existait un épaississement de la membrane basale chez l'asthmatique mais plus récemment l'immuno-histo-chimie a permis de déterminer qu'en réalité la "vraie" membrane basale (lame basale) n'était pas épaissie mais qu'il existait un dépôt fibrillaire au niveau de la lame réticulaire contenant du collagène I et III ainsi que de la fibronectine. La membrane basale des sujets normaux contient du collagène IV et de la laminine qui proviennent des cellules épithéliales (65). Étant donné que l'épaississement de la lame sous-épithéliale contient du collagène I, III et V ainsi que de la fibronectine, on suppose que les cellules épithéliales ne sont pas responsables des remaniements structuraux observés dans l'asthme. Le collagène I et III seraient sécrétés par des myofibroblastes. En effet, Brewster et collaborateurs ont mis en évidence une corrélation hautement significative entre l'importance du dépôt collagénique sous-épithélial et la présence de cellules marquées par le PR2D3, composé marquant les myofibroblastes (70). L'hypothèse que les lésions de l'épithélium bronchique de l'asthmatique soient à l'origine du dépôt collagénique sous-épithélial est donc peu probable. En revanche, il semble que les myofibroblastes soient à l'origine de ce processus fibrosant.

b) dans le SIB

Gautrin et collaborateurs (49) avaient noté dans leur étude de 5 sujets atteints d'un SIB d'importants changements structuraux au niveau des biopsies bronchiques. Nous avons donc entrepris une étude plus approfondie de ces remaniements structuraux en immuno-histo-chimie chez 2 de ces cinq patients ainsi que chez 2 autres sujets. Deux sujets avaient été exposés de façon répétée à du chlore sur une période de 3 mois alors qu'ils travaillaient dans une usine de pâte à papier, les deux autres sujets avaient eu une seule exposition aiguë à des gaz, l'un dans une aluminerie, l'autre lors d'une explosion alors qu'il était pompier. Les

fibroscopies avec pratique de biopsies bronchiques avaient été pratiquées 24 à 36 mois après la fin de l'exposition. Un dépôt anormal a été identifié sous la membrane basale, entre les fibres musculaires lisses et entre les terminaisons nerveuses. Il existait un dépôt de collagène I et III sous la membrane basale ainsi qu'au niveau de la paroi bronchique (figure 4). Alors que du collagène IV était présent sous les cellules épithéliales et de façon diffuse dans le tissu conjonctif (figure 5), une fine lame de collagène VII était notée sous l'épithélium. De la fibronectine était déposée le long de la membrane basale, autour des vaisseaux et des fibres musculaires lisses alors que de la laminine était également déposée de façon diffuse dans le tissu conjonctif. Le dépôt diffus de collagène IV et de laminine au niveau du mur bronchique dans le SIB laisse supposer que, au contraire de l'asthme, les cellules épithéliales pourraient être responsables d'une partie des changements structuraux observés dans cette pathologie. Les autres types de collagène (I et III) et la fibronectine pourraient être sécrétés par des myofibroblastes. En effet, des myofibroblastes étaient également identifiés dans la sous-muqueuse à l'aide d'un marquage par le PR2D3. Il se pourrait donc que les lésions de l'épithélium bronchique soient responsables d'une partie des changements structuraux observés dans le SIB, les myofibroblastes jouant également un rôle dans ce processus fibrosant. L'article relatant la description de ces changements structuraux est rapporté ci-après et a été soumis pour publication dans le «Journal of Allergy and Clinical Immunology».

Figure 4 : Biopsie bronchique en microscopie optique 24 mois après exposition à du fluor et du SO<sub>2</sub>. Immunodétection du collagène de type I : dépôt dense de collagène I le long de la fibrose sous-épithéliale dans la région de la membrane basale. Dépôt de collagène au niveau de la paroi bronchique.

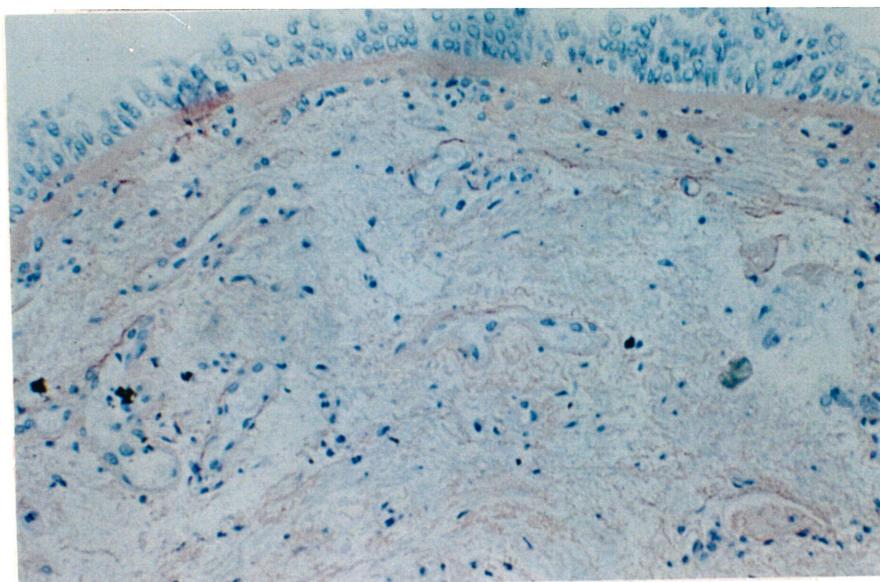
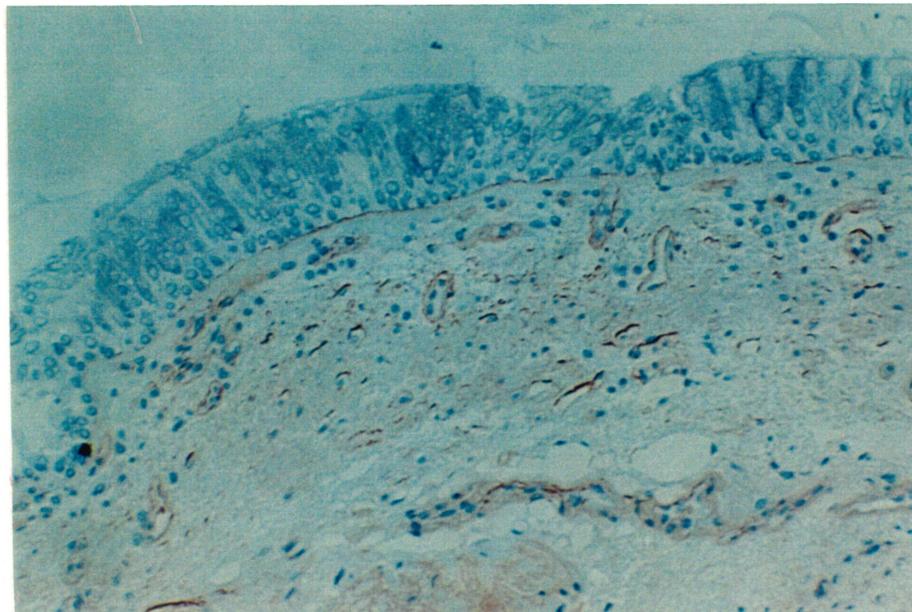


Figure 5 : Biopsie bronchique en microscopie optique 32 mois après exposition à de la fumée à la suite d'une explosion. Immunodétection du collagène de type IV au niveau de la paroi bronchique. Fine ligne de collagène IV sous les cellules épithéliales et dépôt diffus dans le tissu conjonctif autour des parois vasculaires.



Characterization of the subepithelial fibrosis observed in the bronchi  
of subjects at a chronic stage of irritant-induced asthma

Michel Boutet, M.D.<sup>1</sup>, Louis-Philippe Boulet, M.D.<sup>2</sup>,  
André Cartier, M.D.<sup>3</sup>, Jean-Luc Malo, M.D.<sup>3</sup>, and Catherine Lemièrè, M.D.<sup>3</sup>

From: 1) the Department of Pathology, Hôpital Laval, Sainte-Foy,  
2) the Centre de pneumologie, Hôpital Laval, Sainte-Foy,  
and 3) Department of Chest Medicine, Hôpital du Sacré-Coeur, Montreal,  
Canada.

J.L. Malo is a research scholar with the Fonds de la Recherche en Santé du  
Québec

and the Université de Montréal School of Medicine. C. Lemièrè is the  
recipient of a research grant from L'Association recherche et partage (Paris,  
France).

This study was partly funded by the Institut de recherche en santé et sécurité  
du travail and the Centre québécois d'excellence en santé respiratoire.

Correspondence should be addressed to Jean-Luc Malo, MD, Department  
of Chest Medicine,

Hôpital du Sacré-Coeur, 5400 West Gouin, Montreal, Canada H4J 1C5, tel:  
514-338-2796; FAX:514-338- 3123.

**Abbreviations**

GMA: glycol methacrylate

PC 20: provocative concentration of methacholine causing a fall of 20% in FEV1

PR2 D3: clonal pericyptal fibroblast monoclonal antibodies

**Abstract**

Background: high level exposure to irritant gases, fumes or vapors can cause persistent asthma-like symptoms and bronchial hyperresponsiveness, referred to as "irritant-induced asthma". We recently showed that subjects with "irritant-induced asthma" had reduced post-bronchodilator reversibility of airflow obstruction in association with a marked airway wall fibrosis by comparison with a group of subjects with occupational asthma with a latency period (Gautrin D. et al. JACI 1994; 93:12-22).

Aim and methods: we characterized the structural changes in bronchial biopsies of 4 subjects with irritant-induced asthma, 24 to 30 months after single or multiple exposures to an irritant agent (chlorine in 2 construction subjects, SO<sub>2</sub> and fluorine in one aluminium potroom worker and various in a fireman) by immunohistochemical studies.

Results: staining of GMA-embedded bronchial biopsy sections revealed the presence of laminin, collagen types I, III and IV, as well as of fibronectin, beneath the basement membrane, between smooth muscle fibers and around nerves. PR2D3 staining revealed numerous myofibroblasts in the submucosal area.

Conclusion: bronchial biopsies of subjects with irritant-induced asthma obtained two years or more after exposure to the causal agent show marked

airway remodeling. Diffused deposition of collagen IV and laminin may suggest participation of epithelial cells in the fibrotic process unlike what is seen in asthma. Pathological features seem similar after one or multiple exposures.

**key-words**

asthma; occupational asthma; occupational lung diseases.

## **Introduction**

Single or repeated exposures to high-concentration of irritant gases, fumes or vapors can cause persistent asthma-like symptoms and bronchial hyperresponsiveness. Brooks, Weiss and Bernstein were the first authors to propose the name of Reactive Airways Dysfunction Syndrome (RADS) to describe the clinical and functional status of subjects who underwent a single exposure to irritant material(1). Repeated exposures can also cause a similar syndrome, referred to as Irritant-Induced Asthma(2). We recently showed that subjects with this syndrome who are left with bronchial obstruction do not show the same extent of reversibility from an inhaled beta-agonist as subjects with occupational asthma with a latency period(3). It has been hypothesized that this reduced reversibility can be related to an abundance of subepithelial fibrosis(3). Bronchial biopsies also show epithelial desquamation, loss of ciliae and an inflammatory infiltrate.

Immunohistochemistry studies have recently been performed on subjects who had been repeatedly and chronically exposed to chlorine in papermills(4). These showed activated eosinophils with fewer T-lymphocytes than those present in normal subjects or in subjects with asthma.

The aim of this work was to characterize the type of subepithelial fibrosis developing in subjects who underwent single or repeated exposures to irritant material at work, as obtained from bronchoscopies performed 24 to 30 months after the end of exposure. The hypotheses were that: 1) the pathological features would be similar after one or multiple exposures; 2) subepithelial fibrosis would be characterized by the deposition of the same collagen subtypes as in other types of asthma.

## **Subjects and Methods**

### Subjects

Four subjects with a diagnosis of irritant-induced asthma were included in this study. All underwent bronchoscopy with biopsies. Some clinical and functional results on these subjects are given in Table 1. All subjects were men in their thirties. Two subjects (nos. 1 and 2) had been exposed to chlorine repeatedly over a three-month period while working as pipefitters in a papermill. Some clinical, functional and pathological findings (bronchoalveolar lavage, bronchial biopsies under light and electron microscopy) for these two subjects have been described (3). The other two subjects (nos. 3 and 4) had undergone a single acute exposure to gases, one in a potroom and the other in a blast as a fireman. Two subjects had never smoked and one had stopped smoking 10 years before he was seen. No subject had been treated previously with inhaled or oral antiinflammatory preparations. Bronchoscopy with bronchial biopsies was carried out 24 to 36 months after the end of exposure.

### Functional assessments

Baseline spirometry was done according to the criteria of the American Thoracic Society(5). Dose-response curves to inhaled methacholine were drawn on a non-cumulative semi-logarithmic scale, and the PC 20 interpolated on individual curves.

### Bronchoscopy

Before the bronchoscopy, salbutamol and ipratropium bromide were given at doses of 200 and 80 µg respectively using metered-dose inhalers. Each subject received O<sub>2</sub> at 5 l/min by nasal catheter during the bronchoscopy. Vital signs, electrocardiograph readings and oximetry were recorded throughout the procedure. Spirometry was done before and after, and patients were kept under observation for up to one hour following the bronchoscopy. After local anesthesia of the throat, larynx and bronchi with 2 and 4% lidocaine, the flexible bronchoscope (Olympus OES 10 fiberscope,

Markham, ONT) was introduced into the bronchial tree. Biopsy specimens were obtained from carinae of the right upper and lower lobes and the segmental bronchi of the lower and upper lobes using conventional forceps.

### Immunohistochemistry

Mucosal biopsies were fixed in buffered formalin and processed for embedding in Araldite, then embedded in the water-soluble resin GMA (6). According to descriptions by Britten, Howarth and Roche (personal communication), tissue was placed directly into chilled acetone containing protease inhibitors (20mM iodoacetamide and 2mM phenyl methyl sulfonyl fluoride), and held at 4°C for less than 30 minutes until transfer to -20°C overnight. Prior to processing, the biopsies were transferred to acetone at room temperature for 15 minutes and then into methyl benzoate for a further 15 minutes. The specimens were processed into GMA (Polyscience, Warrington, Pa) at 4°C for seven hours. During this time, GMA solution was changed three times. Finally, the tissue was embedded in GMA resin prepared by mixing GMA monomer, N,N-dimethylalanin in PEG 400 and benzoyl peroxide, and polymerized overnight at 4°C (Britten, Howarth and Roche, personal communication). Samples embedded in GMA were stored at -20°C in an airtight container. Two micrometer sections were cut on an ultramicrotome (Leica Reichert Ultracut S, Austria), and floated on water containing 0.02% ammonia until fixed on poly-L-lysine coated slides.

Immunohistochemical staining of resin sections employed commercial mouse, rabbit and goat monoclonal and polyclonal antibodies directed to laminin, fibronectin, desmine, myofibroblast (PR 2D3, a monoclonal antibody to myofibroblasts of the pericrypt sheath of the colon), and collagen types I, II, III, IV, V and VII (Sigma Immuno Chemicals, Mississauga, ONT and Biotest International, Kennebunkport, ME). Monoclonal antibody staining was detected by ABC method (Vectastain Elite ABC kit, Vector Laboratories, Burlingame, CA). Briefly, samples were blocked for

background peroxidase activity with 0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0.1% sodium azide in TBS for 30 minutes and blocked with normal serum for 30 minutes. Slides were washed three times with TBS between each step. The samples were then incubated overnight with primary antibody (4°C), one hour with a biotinylated secondary antibody (23°C) and 30 minutes with the ABC complex (23°C). The slides were washed three times with TBS between each step. Revelation was made with AEC substrate until coloration was visible under the microscope. The reaction was stopped by washing in water, and Mayer hematoxylin was used for counterstaining. Slides were mounted with Crystalmount (Biomedex, Foster City, CA). Negative controls were included in each staining run by omission of the primary antibody.

Each biopsy area was measured with a calibrated image analyzer (Mocha Image Analysis Software, Jandel Scientific, San Raphael, CA).

## **Results**

### Functional assessment

Two subjects had abnormal (< 80% pred),(7) FEV1 values (Table 1). All showed significantly increased but mild bronchial responsiveness to methacholine(8).

### Immunohistochemistry

Bronchial biopsies examined by light microscopy showed extensive squamous cell metaplasia of the epithelium with collagen deposition, as in previously reported cases (9) (Figure 1). Table 2 shows the results of immunohistochemical studies using collagen, laminin, fibronectin, desmine and myofibroblast antibodies. There was a predominance of collagen types I, III and IV, as well as of fibronectin, desmin and laminin. There were no differences in these features according to subject and type of exposure, i.e, between subjects who suffered single (nos. 1 and 2), and those who had multiple exposures (nos.3 and 4). Abnormal deposition of collagen was identified beneath the basement membrane, between smooth muscle fibers and around nerves. Collagens types I and III were deposited in the basement membrane area as well as throughout the bronchial wall (Figure 2), whereas collagen type IV was present underneath the epithelial cells and diffusely in connective tissue. Collagen type VII was deposited as a fine line underneath the epithelium (Figure 3). Fibronectin was observed along the basement membrane and around vessels and smooth muscle cells (Figure 4), whereas laminin was also deposited diffusely throughout the connective tissue (Figure 5). Myofibroblasts were identified in the submucosa with PR 2D3.

Table 1. Clinical and functional features.

No.	Age (yrs)	Sex	Type of exposure	Interval between end of exposure and biopsy (months)	Smoking habits	Medication	L	FEV1 % pred	FEV1/FVC % pred	PC20* mg/ml	
1	36	M	pipefitter; chlorine repeated "puffs" X 3 months	24	NS	beta-2 agonists	3.2	82	77	92	1.3
2	34	M	pipefitter; chlorine repeated "puffs" X 3 months	24	ES (5 p-y)	beta-2 agonists	4.9	104	82	98	1.0
3	32	M	potroom; acute and single inhalation of fluorine and SO2	24	S (15 p-y)	none	3.4	65	58	70	1.5
4	38	M	fireman; blast (single inhalation)	32	NS	beta-2 agonists	3.4	74	78	94	5.8

\*: PC20 methacholine

Table 2. Semi-quantitative evaluation of some structural components of the airway wall.

No.	Col I	Col II	Col III	Col IV	Col V	Col VII	Fibronectin	Laminin	Desmine	Myofibroblast	Control
1	++++	-	++++	++++	+	+	++++	+++	+++	++	-
2	+++	-	++++	+++	+	+	++++	++	+++	++	-
3	++++	-	++++	++++	+	+	++++	+++	++++	++	-
4	++++	(-)	++++	++++	+	+	++++	++	+++	++	-

Figure 1 : Bronchial biopsy of subject no.2 (see Table 1), showing intense fibrosis of subepithelial connective tissue. Note extensive squamous cell metaplasia of the epithelium (Weigert Masson Trichrome X 750).

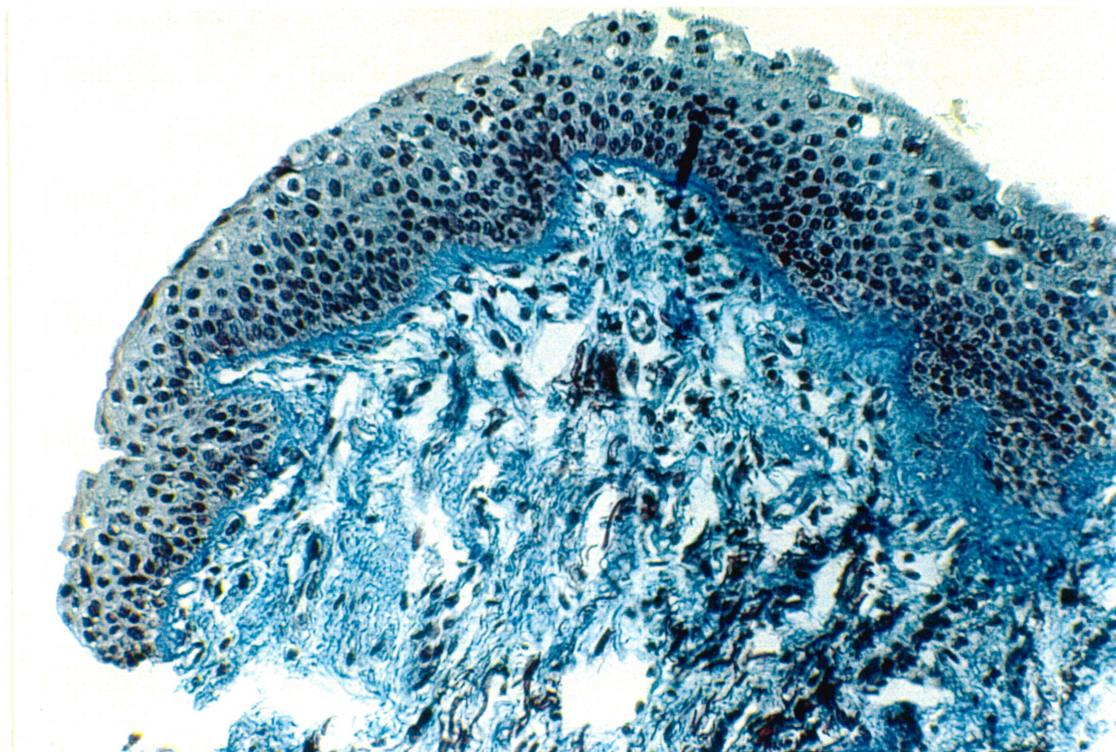


Figure 2 : Immuno-localization of collagen III in bronchial biopsy of patient 1, showing a dense deposition along the basement membrane area and throughout the bronchial wall. Monoclonal antibody to collagen III. Hematoxyline staining from GMA-embedded material X 250.

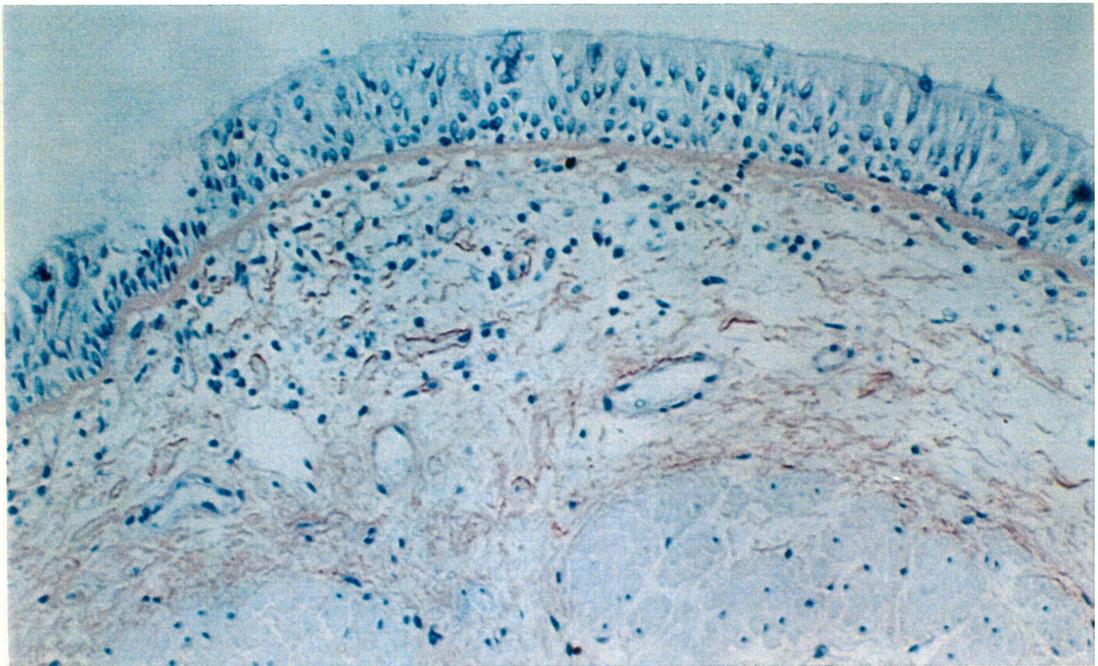


Figure 3 : Immuno-localization of collagen VII in bronchial wall, shown as a fine line underneath the epithelium. There is no deposition of collagen VII in loose connective tissue (subject no.4, Table 1) (X 500).

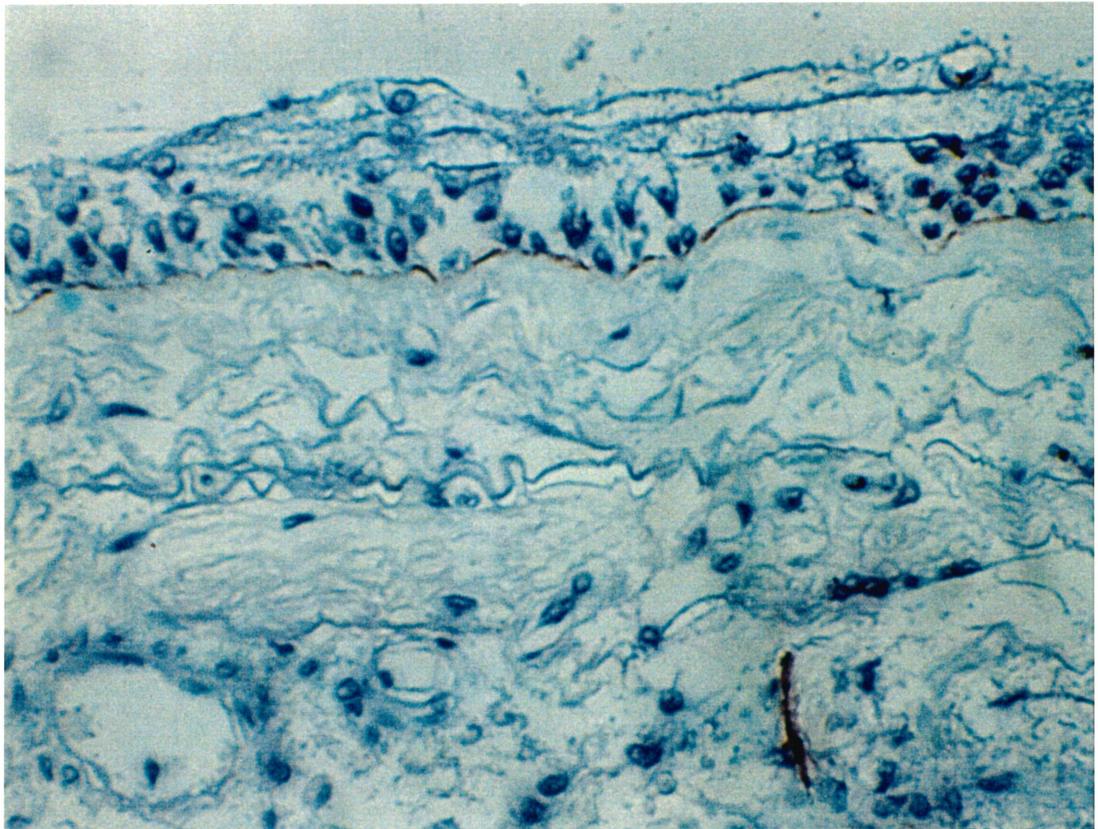


Figure 4 : Immuno-localization of fibronectin in bronchial wall of subject no.1 (Table 1), showing deposition along basement membrane and around vessels and smooth muscle cells (X 500).

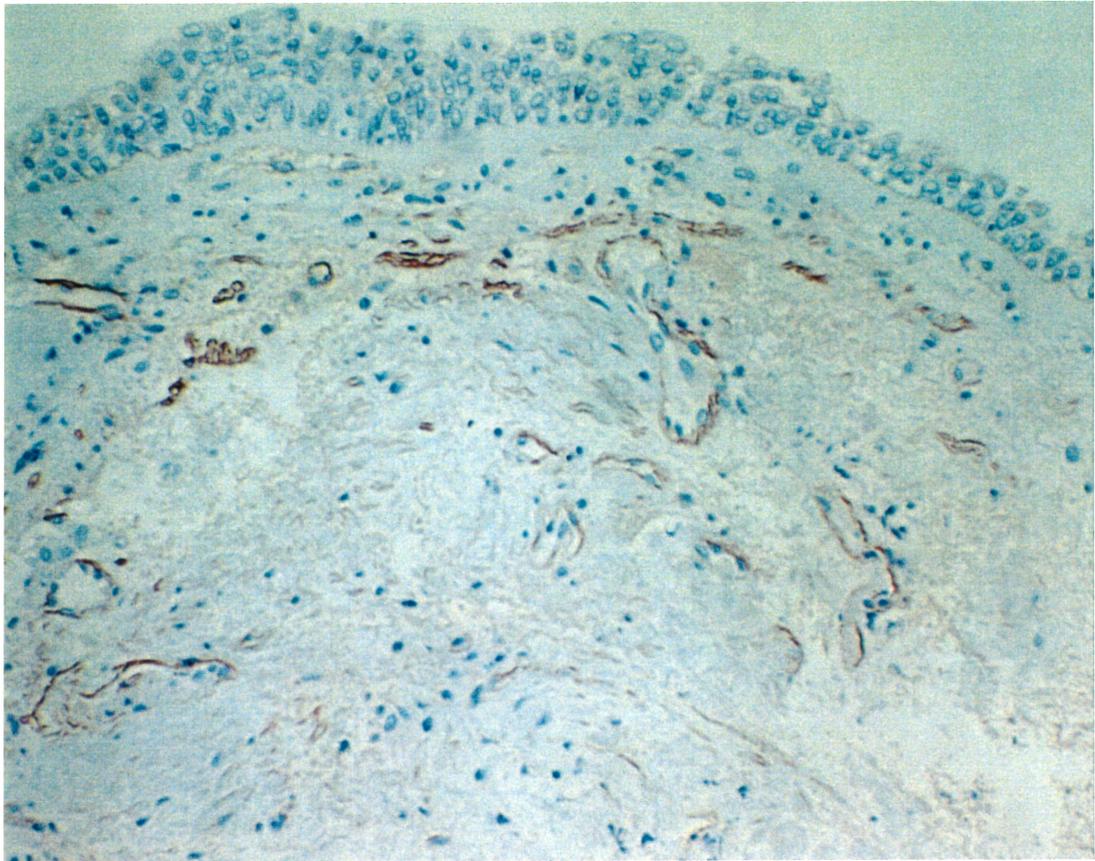
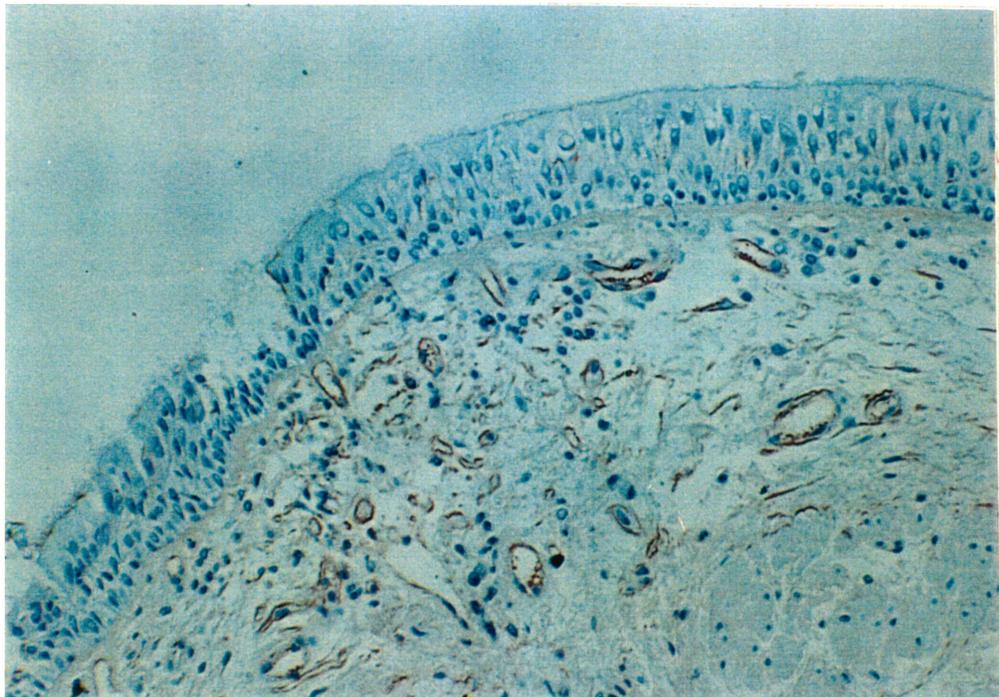


Figure 5 : Immuno-localization of laminin in bronchial wall of subject no. 3 (Table 1), showing diffuse deposition in connective tissue and around vessels and smooth muscle cells. Note the absence of deposition along the basement membrane (X 500).



## Discussion

Irritant-induced asthma is an asthmatic condition that results from exposure to high concentrations of fumes, dusts or vapors. It can result from a single exposure, provoking a condition that has been labelled the Reactive Airways Dysfunction Syndrome or from multiple exposures as can occur in paper and pulp mills. The most striking histological finding in RADS was the marked deposit of collagen beneath the basement membrane (9). We were therefore interested in further characterizing these structural changes. We found that: 1) Collagens types I, III and IV, as well as laminin, desmine and fibronectin, were the most noticeable constituents of this deposit; 2) some constituents such as collagen IV were deposited diffusely in the airway, while others such as collagen VII and fibronectin were deposited focally; 3) no differences in the type and extent of subepithelial collagen deposition could be found between subjects who underwent single exposure and those who had multiple ones.

Very little is known of the histological features of irritant-induced asthma. In the original description of this entity, there was no mention of collagen deposition in the case of two subjects who underwent bronchial biopsies (1). Deschamps and coworkers described thickening of the subepithelial tissue with tangle of collagen fibers without thickening of the basal lamina in two subjects respectively exposed to ethylene oxide (10), and sodium hypochlorite (11). Chan-Yeung and coworkers (4) showed thickened basement membrane in two of three subjects who repeatedly inhaled "puffs" of chlorine in pulpmills. These authors found activated eosinophils and T- lymphocytes but did not study immunohistochemical structural changes of these biopsies. To our knowledge, there is no immunohistochemical information regarding the components of the subepithelial fibrosis.

Besides the partial loss of surface epithelium and increased inflammatory cells, subepithelial fibrosis seems to be a feature of asthma(12, 13).

Submucosal collagen deposition is also found in subjects with allergic rhinitis, even in the absence of significant bronchial hyperresponsiveness (14). Subepithelial fibrosis is also a feature of subjects with occupational asthma at the time they are removed from exposure (15) with improvement in the months following cessation of exposure(16). Fibroblasts seem to play a central role in the structural changes occurring in asthma likely in producing type III collagen and fibronectin (17). Roche and coworkers identified various types of collagens in the subepithelial area of asthmatic subjects (18). Collagen type I, III and V seemed to play a more predominant role than collagen IV (in their study, collagen VII was not tested). By comparison, whereas collagen type I and III were also relevant in the bronchi of subjects with irritant-induced asthma, collagen type IV, but not V, seemed to be more involved. Basement membrane of normal subjects contains both laminin and collagen IV and the epithelial cell is thought to be the source of basement membrane components (19). It has been suggested in asthmatic subjects that, since the thickened subepithelial band contain interstitial collagen I, III and V and fibronectin, epithelial cells make no contribution to this thickening (18). Diffused deposit of collagen IV and of laminin in connective tissue may suggest that unlike what occurs in asthma, epithelial cell damage in RADS could be responsible, at least for a part, of these structural changes. This hypothesis is consistent with the fact that injury of the epithelial layer is one of the main pathological feature of RADS. Fibronectin and laminin were implicated in asthma as in irritant-induced asthma. Anti-desmine antibodies were not assayed by Roche and coworkers (18). It has been hypothesized that bronchial myofibroblasts are responsible for the characteristic subepithelial fibrosis seen in allergic asthma, as there was a highly significant correlation between the depth of subepithelial collagen and the number of PR 2D3-positive cells(20). We also found myofibroblasts in the submucosa of our subjects with irritant-induced asthma, which gives credence to the hypothesis that one of

the source of subepithelial fibrosis is also the subepithelial myofibroblasts.

Our findings apply for the chronic changes occurring in irritant-induced asthma. Bronchial biopsies were indeed obtained 24–32 months after the end of exposure. It is unknown whether these findings apply for the earlier stages of the pathological process. The time-course of the collagen deposition in this condition merits further study.

### **Acknowledgements**

The authors wish to express their gratitude to Professor Stephen Holgate and his group from Southampton, U.K. for offering precious expertise and advice for the immunohistochemical studies, and to Lori Schubert for reviewing this manuscript.

## References

1. Brooks SM, Weiss MA, Bernstein IL. Reactive airways dysfunction syndrome (RADS). Persistent asthma syndrome after high level irritant exposures. *Chest* 1985;88:376-84.
2. Brooks SM, Bernstein IL. Reactive airways dysfunction syndrome or irritant-induced asthma. In: *Asthma in the workplace*. Bernstein IL, Chan-Yeung M, Malo JL, Bernstein DI., eds. Marcel Dekker Inc., New York, 1993:533-549.
3. Gautrin D, Boulet LP, Boutet M, Dugas M, Bhérer L, L'Archevêque J, Laviolette M, Côté J, Malo JL. Is Reactive Airways Dysfunction Syndrome (RADS) a variant of occupational asthma ? *J Allergy Clin Immunol* 1994;93:12-22.
4. Chan-Yeung M, Lam S, Kennedy SM, Frew AJ. Persistent asthma after repeated exposure to high concentrations of gases in pulpmills. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149:1676-1680.
5. American Thoracic Society. Standardization of spirometry-1987 Update. *Am Rev Respir Dis* 1987;136:1285-1307.
6. Djukanovic R, Lai CKW, Wilson JW, Britten KM, Wilson SJ, Roche WR, Howarth PH, Holgate ST. Bronchial mucosal manifestations of atopy: a comparison of markers of inflammation between atopic asthmatics, atopic nonasthmatics and healthy controls. *Eur Respir J* 1992;5:538-44.
7. Knudson RJ, Lebowitz MD, Holberg CJ, Burrows B. Changes in the normal maximal expiratory flow-volume curve with growth and aging. *Am*

Rev Respir Dis 1983;127:725-34.

8. Malo JL, Pineau L, Cartier A, Martin RR. Reference values of the provocative concentrations of methacholine that cause 6% and 20% changes in forced expiratory volume in one second in a normal population. *Am Rev Respir Dis* 1983;128:8-11.

9. Gautrin D, Boulet LP, Boutet M, Dugas M, Bhérer L, L'Archevêque J, Laviolette M, Côté J, Malo JL. Is reactive airways dysfunction syndrome a variant of occupational asthma ? *J Allergy Clin Immunol* 1994;93:12-22.

10. Deschamps D, Rosenberg N, Soler P, Maillard G, Fournier E, Salson D, Gervais P. Persistent asthma after accidental exposure to ethylene oxide. *Br J Ind Med* 1992;49:523-525.

11. Deschamps D, Soler P, Rosenberg N, Baud F, Gervais P. Persistent asthma after inhalation of a mixture of sodium hypochlorite and hydrochloric acid. *Chest* 1994;105:1895-96.

12. Jeffery PK, Wardlaw AJ, Nelson FC, Collins JV, Kay AB. Bronchial biopsies in asthma. An ultrastructural quantitative study and correlation with hyperreactivity. *Am Rev Respir Dis* 1989;140:1745-53.

13. Laitinen A, Laitinen LA. Airway morphology: epithelium/basement membrane. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;150:S14-S17.

14. Boulet LP, Milot J, Boutet M, Georges F St, Laviolette M. Airway inflammation in nonasthmatic subjects with chronic cough. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149:482-489.

15. Boulet LP, Boutet M, Laviolette M, Dugas M, Milot J, Leblanc C, Paquette L, Côté J, Cartier A, Malo JL. Airway inflammation after removal from the causal agent in occupational asthma due to high and low molecular weight agents. *Eur Respir J* 1994;7:1567-1575.
16. Saetta M, Maestrelli P, Turato G, Mapp CE, MIlani G, Pivrotto F, Fabbri LM, DiStefano A. Airway wall remodeling after cessation of exposure to isocyanates in sensitized asthmatic subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151:489-494.
17. Roche WR. Fibroblast and asthma. *Clin Exp Allergy* 1991;21:545-8.
18. Roche WR, Williams JH, Beasley R, Holgate ST. Subepithelial fibrosis in the bronchi of asthmatics. *Lancet* 1989;1:520-523.
19. Djukanovic R, Roche WR, Wilson JW, Beasley CRW, Twentyman OP, Howarth PH, Holgate ST. Mucosal inflammation in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1990;142:434-357.
20. Brewster CEP, Howarth PH, Djukanovic R, Wilson J, Holgate ST, Roche WR. Myofibroblasts and subepithelial fibrosis in bronchial asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1990;3:507-511.

### **3. Diagnostic différentiel**

#### **3.1. AP et SIB**

L'AP avec période de latence et le SIB comportent des points communs. Le résumé de leurs similitudes et de leurs différences est présenté dans le tableau III.

#### **3.2. Asthme induit par des agents irritants et SIB**

Lors de la description princeps de Brooks (5), le SIB avait été initialement décrit comme apparaissant après une exposition massive et unique à un agent ayant des propriétés irritantes. Une autre entité dérivant du SIB a été décrite sous le nom d'asthme induit par des agents irritants. Il s'agit de l'apparition de symptômes asthmatiques consécutivement à des inhalations répétées de substances irritantes. La frontière entre ces deux entités apparaît floue et ces deux affections sont fréquemment regroupées, bien que leurs similitudes et leurs différences mériteraient d'être évaluées.

Tarlo et Broder (9) ont recensé les sujets atteints d'asthme induit par des agents irritants parmi 154 travailleurs référés pour AP entre 1978 et 1987. Trois pour-cent avait une histoire clinique évocatrice de SIB selon les critères de Brooks (5) et un autre 3% rapportait l'apparition de symptômes asthmatiques, non pas après une exposition unique à une substance irritante, mais après des contacts répétés avec une telle substance. Ces auteurs regroupaient l'asthme induit par des agents irritants après exposition unique et multiple en une seule entité. En effet, les sujets avaient

**Tableau III:** Diagnostic différentiel entre asthme professionnel avec période de latence et SIB

	<b>Asthme professionnel avec période de latence</b>	<b>Asthme professionnel sans période de latence: SIB</b>
Symptômes	symptômes d'asthme survenant plusieurs mois ou années après la première exposition. apparition progressive	“brûlure” des voies aériennes supérieures, symptômes d'asthme survenant dans les 24 heures après exposition. survenue brutale
Fonction respiratoire	amélioration à distance du lieu de travail obstruction bronchique variable bonne réversibilité après $\beta_2$ mimétiques hyperréactivité bronchique non spécifique	absence d'amélioration hors du lieu de travail obstruction bronchique inconstante parfois associée à un syndrome restrictif réversibilité moins importante après $\beta_2$ mimétiques hyperréactivité bronchique non spécifique
Cytologie (LBA)	éosinophiles, mastocytes parfois neutrophiles	lymphocytose

**Tableau III** (suite)

	<b>Asthme professionnel avec période de latence</b>	<b>Asthme professionnel sans période de latence: SIB</b>
<b>Pathologie bronchique</b>	desquamation de l'épithélium bronchique épaississement de la lame réticulaire inflammation comportant éosinophiles et lymphocytes T activés fibrose sous épithéliale composée de collagène III et de fibronectine (origine fibroblastique probable)	desquamation de l'épithélium bronchique épaississement de la lame réticulaire inflammation comportant peu de lymphocytes T peu d'éosinophiles fibrose sous-épithéliale composé de collagène III et de fibronectine, fibrose diffuse au niveau de la sous muqueuse composée de collagène IV (origine épithéliale et fibroblastique possible)
<b>Facteurs pronostiques</b>	Durée d'exposition avant diagnostic Durée de la période symptomatique État fonctionnel au moment du diagnostic Type de réaction asthmatique lors des tests de provocation bronchique spécifiques Présence de polynucléaires éosinophiles dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire Traitement précoce par stéroïdes inhalés.	Pas de facteur pronostique connu

des caractéristiques cliniques et fonctionnelles similaires à celles rapportées par Brooks et collaborateurs (5). Bernstein et collaborateurs (4) ont proposé ultérieurement de considérer le SIB comme un asthme induit par des agents irritants. On peut se demander si la séparation du SIB proprement dit survenant après exposition unique à un agent irritant et de l'asthme survenant après des expositions répétées à des agents irritants, est justifiée, ou si ces deux entités sont en réalité une seule et même pathologie survenant après exposition à des agents irritants de façon unique ou multiple. Ce point reste à être exploré.

Certaines nuances entre ces deux types d'asthme pourraient rendre préférable la distinction entre ces deux entités. En effet, le tableau clinique semble souvent plus dramatique dans le SIB. Les niveaux d'exposition sont probablement plus faibles dans les cas d'asthme induit par des agents irritants, les symptômes n'apparaissant qu'au bout de plusieurs expositions répétées. Il pourrait également exister des différences dans les aspects pathologiques de ces affections. Chan-yeung et collaborateurs (28) ont mis en évidence chez 3 sujets atteints d'asthme induit par des agents irritants un infiltrat inflammatoire dans la muqueuse et la sous-muqueuse bronchique, infiltrat constitué principalement d'éosinophiles, ce qui n'est pas le cas dans les cas de SIB rapportés dans la littérature (voir ci-dessus). Des études ultérieures comparant ces deux entités seraient nécessaires pour espérer les différencier.

## **E. AGENTS RESPONSABLES**

Des cas de SIB sont régulièrement rapportés dans la littérature et de nouveaux agents responsables sont mentionnés. Le tableau IV rapporte les agents répertoriés jusqu'à ce jour comme étant responsables de SIB.

## **F. PRONOSTIC**

Comme on a pu le constater dans ce travail, l'évolution du SIB semble très variable selon les individus. La durée de la symptomatologie également, puisque certains sujets deviennent rapidement asymptomatiques (voir articles pages 28 à 44 et 49 à 61) alors que d'autres présentent un asthme persistant pour plusieurs années (5,49). L'atteinte fonctionnelle est également très variable aussi bien dans son intensité que dans sa persistance. Sur le plan histologique, on note une régénération de l'épithélium bronchique après la desquamation initiale. Cependant, il apparaît consécutivement à l'exposition une fibrose sous-épithéliale dont les conséquences fonctionnelles sont difficiles à apprécier.

Le pronostic est dès lors très difficile à déterminer. Un des facteurs pronostiques essentiel est sans doute le niveau d'exposition à l'agent incriminé (concentration et durée d'exposition). Plus celui-ci sera élevé, plus l'atteinte risquera d'être sévère et les séquelles, importantes. Il pourrait également exister des facteurs individuels (tabagisme, hyperréactivité bronchique non spécifique préexistante) influençant le devenir du SIB. Si dans l'AP avec période de latence, une plus courte durée d'exposition a été mise en relation dans certaines études avec un meilleur pronostic, aucune étude à l'heure actuelle n'a encore pu déterminer les facteurs pronostics du SIB.

**Tableau IV: Agents responsables de SIB**

<b>Agent</b>	<b>Type d'étude</b>	<b>Données</b>	<b>Références</b>
acide acétique	épidémiologique	H, S, RB	(32)
	cas clinique	H, S, P	(55)
acides divers	cas clinique	H, S, RB, P	(5,71)
acide sulfurique	cas clinique	H, S, RB	(24)
acide chlorhydrique	cas clinique	H, S	(24)
	cas clinique	H, S, RB	(5,26)
acide chauffé	cas clinique	H, S, RB, P	(5)
ammoniaque	cas clinique	H, S	(72)
	cas clinique	H, S (pré,post),P	(73)
agent décolorant	cas clinique	H, S, RB	(24)
chlore	épidémiologique, clinique	H, S, RB, P	(12)
chloropicrine	expérimental	P	(74)
agents nettoyants	cas clinique	H, S	(19)
fumées de diesel	cas clinique	H, S, RB	(5,23)
diéthylaminoéthanol	épidémiologique	H, S	(71)
épichlorohydrine	expérimental	P	(74)
oxyde d'éthylène	cas clinique	H, S, RB,P	(27)
feu/fumée	cas clinique	H, S, RB	(24)
	épidémiologique, cas clinique	H, S, RB, P	(75)
	cas clinique	H, S	(5,51)
enduit de plancher	cas clinique	H, S, RB	(24)
formol	cas clinique	H, S	(18)
brouillard désinfectant	cas clinique	H, S, RB	(24)
hydrazine	cas clinique	H, S, RB	(24)

<b>Agent</b>	<b>Type d'étude</b>	<b>Données</b>	<b>Références</b>
isocyanates	cas clinique	H, S, RB	(15)
	expérimental	S	(76)
	cas clinique	H, S	(55,77)
	cas clinique	H, S, RB	(55,9)
décapant de métaux	cas clinique	H, S, RB	(24)
oxyde(calcium)	cas clinique	H, S, RB	(9)
peintures (brûlées)	cas clinique	H, S, RB	(9)
anhydride phthalique	cas clinique	H, S, RB	(78)
peinture en spray	cas clinique	H, S, RB, P	(5,9)
dioxyde de soufre	cas clinique	H, S, RB, P	(20,26)
	cas clinique	H, S, RB	(22,73)
	cas clinique	H, P	(11)
gaz de guerre (chlore, moutarde, phosgène, etc)	cas cliniques	H, P	(10)

Légende: H: histoire clinique; S: spirométrie; RB: réactivité bronchique non spécifique; P: pathologie

Un seule étude a, à notre connaissance, comparé le devenir fonctionnel de sujets atteints de SIB à celui de sujets atteints d'AP avec période de latence. Gautrin et collaborateurs (49) ont comparé la réversibilité du syndrome obstructif de 15 sujets atteints d'un SIB à celle de 30 sujets atteints d'un AP. Le pourcentage d'augmentation de VEMS après administration de salbutamol était de  $10\pm 9\%$  dans le SIB contre  $19\pm 16\%$  chez les sujets porteurs d'un AP. Deux sujets sur 15 (13%) atteints de SIB avaient une réversibilité significative de leur syndrome obstructif, définie comme une amélioration du VEMS de 20% ou plus après l'inhalation de salbutamol, contre 12 des 30 sujets (40%) atteints d'un AP. Il semble donc que les sujets atteints d'un SIB à un stade chronique aient une réversibilité moindre que ceux atteints d'un AP. Ceci pourrait être en rapport avec la fibrose sous-épithéliale et sous-muqueuse présente, semble-t-il, en plus grande quantité dans le SIB que dans l'asthme.

## **G. TRAITEMENT**

Il n'existe pas encore, à l'heure actuelle, de traitement de référence dans le SIB. Si la corticothérapie inhalée a fait depuis de longues années les preuves de son efficacité dans le traitement de l'asthme, nous ne savons pas si l'administration de stéroïdes oraux ou inhalés modifie l'évolution du SIB.

Chester et collaborateurs (53) ont rapporté le cas de deux sujets ayant développé un SIB après exposition à du chlore. Un des sujets avait été traité par corticothérapie orale et oxygénothérapie alors que l'autre ne recevait qu'une oxygénothérapie. Les deux sujets avaient une amélioration importante de leur VEMS, mais le sujet traité par cortisone récupérait à des valeurs normales de VEMS alors que les valeurs de VEMS de l'autre sujet

atteignaient un plateau à 80% de sa valeur prédite. Les auteurs concluaient à une efficacité de la corticothérapie pour prévenir des séquelles fonctionnelles du SIB à long terme. Cette étude doit être considérée avec prudence car nous ne disposons pas des valeurs de VEMS avant exposition. Il se pourrait que le sujet n'ayant pas été traité par corticothérapie, bien qu'il n'ait pas recouvré des valeurs prédites normales de VEMS, ait recouvré ses propres valeurs antérieures de VEMS.

Nous avons constaté chez un des sujets que nous avons exploré à la suite d'une exposition à du chlore (pages 28 à 44), une normalisation du VEMS et de la réactivité bronchique non spécifique un mois après traitement par stéroïdes inhalés. Ce traitement a alors été interrompu. La CP<sub>20</sub> mesurée quelques semaines après interruption du traitement a chuté de 57 à 4 mg/ml. Le traitement par stéroïdes inhalés a été réintroduit et, un mois après ré-introduction du traitement, la CP<sub>20</sub> s'était normalisée.

Les stéroïdes inhalés semblent donc être efficaces dans le SIB. Nous ne savons pas, cependant, quelle aurait été l'évolution spontanée de cette affection sans traitement par stéroïdes dans le cas rapporté. Les changements que nous avons constatés pourraient représenter l'évolution naturelle de la maladie. Seules des études prospectives randomisées utilisant les stéroïdes inhalés par comparaison avec un placebo pourront préciser l'efficacité des stéroïdes inhalés dans le SIB et pourront déterminer les doses et la durée optimales de traitement après exposition aiguë à un agent irritant.

## **H. PERSPECTIVES D'AVENIR**

Bien des points concernant le SIB demeurent encore obscurs. Existe-t-il des facteurs de risque personnels de cette pathologie (niveau de réactivité bronchique non spécifique, tabagisme par exemple)? Existe-t-il une corrélation entre les lésions histologiques observées et les atteintes

cliniques et fonctionnelles? Y-a-t-il des critères pronostiques fonctionnels ou histologiques de cette affection?

Des études épidémiologiques prospectives pourraient être menées dans des milieux à risque où des sujets peuvent être exposés à des agents irritants à forte concentration. Ces études permettraient de préciser les caractéristiques cliniques et fonctionnelles des sujets avant exposition, d'évaluer en cas d'inhalation massive de plusieurs sujets leurs facteurs de risque de développer un SIB, de déterminer les caractéristiques cliniques, fonctionnelles et histologiques des sujets exposés. De plus, si un nombre de sujets suffisamment grand était exposé cela permettrait d'entreprendre un suivi clinique, fonctionnel et histologique de ces sujets. Une étude randomisée contre placebo pourrait également être entreprise pour juger de l'efficacité des stéroïdes inhalés dans le SIB.

Ce type d'étude semble cependant difficile à mener en pratique car bien souvent aucun incident significatif ne survient pendant la période de l'étude. On pourrait imaginer, pour parer à cette difficulté, de constituer des «cellules de crise» en milieu à risque devenant opérationnelles en cas d'accident pour débiter un suivi des sujets exposés.

La recherche animale pourra également répondre à plusieurs questions restant en suspens dans le SIB concernant sa physiopathologie et son traitement. L'efficacité thérapeutique des stéroïdes ou d'autres classes médicamenteuses pourrait en effet être évaluée par ce type de recherche.

Le SIB reste donc une pathologie encore largement inexplorée et souvent méconnue qui bénéficiera certainement de l'apport de la recherche clinique, épidémiologique et fondamentale dans un proche avenir.

## I. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Pepys J. Historical aspects of occupational asthma. in: Asthma in the workplace; Bernstein IL, Chan-Yeung M, Malo JL, Bernstein DI., eds. Marcel Dekker Inc. New York; 1993 :5-27.
2. Newman-Taylor AJ. Occupational asthma. Thorax 1980;35:241-5.
3. Brooks SM. Occupational asthma. Chest 1985;87:218S-22S.
4. Bernstein DI, Bernstein IL, Malo JL, Chan-Yeung M. Definition and classification of asthma. In : Asthma in the Workplace; Bernstein IL, Chan-Yeung M, Malo JL, Bernstein DI, eds. Marcel Dekker Inc., New York: 1993 : 1-4.
5. Brooks SM, Weiss MA, Bernstein IL. Reactive airways dysfunction syndrome (RADS); persistent asthma syndrome after high level irritant exposures. Chest 1985;88:376-84.
6. Meredith SK, Taylor VM, McDonald JC. Occupational respiratory disease in the United Kingdom 1989: a report to the British Thoracic Society and the Society of Occupational Medicine by the SWORD project group. Br J Ind Med 1991;48:292-8.
7. Contreras GR, Rousseau R, Chan-Yeung M. Occupational respiratory diseases in British Columbia, Canada in 1991. Occup Env Med 1994;51:710-712.
8. Lagier F, Cartier A, Malo JL. Statistiques médico-légales sur l'asthme professionnel au Québec de 1986 à 1988. Medico-legal statistics on

occupational asthma in Quebec between 1986 and 1988. *Rev Mal Respir* 1990;7:337-41.

9. Tarlo SM, Broder I. Irritant-induced occupational asthma. *Chest* 1989;96:297-300.

10. Black JE, Glennon ET. Observations on 685 cases of poisoning by noxious gases used by the enemy. *Br Med J* 1915;165-167.

11. Berghoff RS. The more common gases; their effect on the respiratory tract. *Arch Int Med* 1919;24:678-684.

12. Das R, Blanc PD. Chlorine gas exposure and the lung: a review. *Toxicology and Industrial Health* 1993;9:439-455.

13. Weill H, George R, Schwartz M, Zuskind M. Late evaluation of pulmonary function after acute exposure to chlorine gas. *Am Rev Respir Dis* 1969;99:374-379.

14. Axford AT, McKerrow CB, Jones A Parry, Lequesne PM. Accidental exposure to isocyanate fumes in a group of firemen. *Br J Ind Med* 1976;33:65-71.

15. Berlin L, Hjortsberg V, Wass V. Life-threatening pulmonary reaction to car paint containing a prepolymerized isocyanate. *Scand J Work Environ Health* 1981;7:310-2.

16. Beach FXM, Jones ES, Scarrow GD. Respiratory effects of chlorine gas. *Br J Ind Med* 1969;26:231-236.

17. Chasis H, Zapp JA, Bannon JH, Whittenberger JL, Helm J, Doheny JJ, MacLeod CM. Chlorine accident in Brooklyn. *Occup Med* 1947;4:152-170.
18. Porter JAH. Acute respiratory distress following formalin inhalation. *Lancet* 1975;2:603-4.
19. Murphy D, Fairman R, Lapp NL, Morgan WKC. Severe airways disease due to the inhalation of fumes from cleaning agents. *Chest* 1976;69:372-6.
20. Charan NB, Myers CG, Lakshminarayan S, Spencer TM. Pulmonary injuries associated with acute sulfur dioxide inhalation. *Am Rev Respir Dis* 1979;119:555-560.
21. Hasan FM, Geshman A, Fuleihan FJD. Resolution of pulmonary dysfunction following acute chlorine exposure. *Arch Environ Health* 1983;38:76-80.
22. Härkönen H, Nordman H, Korhonen O, Winblad I. Long-term effects of exposure to sulfur dioxide. *Am Rev Respir Dis* 1983;128:890-893.
23. Wade JF, Newman LS. Diesel asthma. Reactive airways disease following overexposure to locomotive exhaust. *JOM* 1993;35:149-154.
24. Boulet L-P. Increases in airway responsiveness following acute exposure to respiratory irritants. Reactive airway dysfunction syndrome or occupational asthma? *Chest* 1988;94:476-81.
25. Alford PT, McLees BD, Case LD, Faust JR. Reactive airways dysfunction syndrome (RADS) in workers post exposure to sulfur dioxide (SO<sub>2</sub>). *Chest* 1988;94:87S.

26. Promisloff RA, Phan A, Lenchner GS, Cichelli AV. Reactive airway dysfunction syndrome in three police officers following a roadside chemical spill. *Chest* 1990;98:928-929.
27. Deschamps D, Rosenberg N, Soler P, Maillard G, Fournier E, Salson D, Gervais P. Persistent asthma after accidental exposure to ethylene oxide. *Br J Ind Med* 1992;49:523-525.
28. Chan-Yeung M, Lam S, Kennedy SM, Frew AJ. Persistent asthma after repeated exposure to high concentrations of gases in pulpmills. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149:1676-1680.
29. Deschamps D, Soler P, Rosenberg N, Baud F, Gervais P. Persistent asthma after inhalation of a mixture of sodium hypochlorite and hydrochloric acid. *Chest* 1994;105:1895-96.
30. Kowitz TA, Reba RC, Parker RT, Spicer WS. Effects of chlorine gas upon respiratory function. *Arch Environ Health* 1967;14:545-558.
31. Schwartz DA, Smith DD, Lakshminarayan S. The pulmonary sequelae associated with accidental inhalation of chlorine gas. *Chest* 1990;97:820-5.
32. Kern DG. Outbreak of the reactive airways dysfunction syndrome after a spill of glacial acetic acid. *Am Rev Respir Dis* 1991;144:1058-64.
33. Bhérier L, Cushman R, Courteau JP, Quévillon M, Côté G, Bourbeau J, L'Archevêque J, Cartier A, Malo JL. Survey of construction workers repeatedly exposed to chlorine over a three to six month period in a pulpmill: II. Follow up of affected workers by questionnaire, spirometry and

assessment of bronchial responsiveness 18 to 24 months after exposure. *Occup Environ Med* 1994;51:225-228.

34. Malo JL, Cartier A, Boulet LP, L'Archevêque J, Saint-Denis F, Bhérier L, Courteau JP. Bronchial hyperresponsiveness can improve while spirometry plateaus two to three years after repeated exposure to chlorine causing respiratory symptoms. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;150:1142-1145.

35. Ferris BG, Burgess WA, Worcester J. Prevalence of chronic respiratory disease in a pulp mill and a paper mill in the United States. *Br J Ind Med* 1967;24:26-37.

36. Chester EH, Gillespie DG, Krause FD. The prevalence of chronic obstructive pulmonary disease in chlorine gas workers. *Am Rev Respir Dis* 1969;99:365-373.

37. Kennedy SM, Enarson DA, Janssen RG, Chan-Yeung M. Lung health consequences of reported accidental chlorine gas exposures among pulpmill workers. *Am Rev Respir Dis* 1991;143:74-79.

38. Salisbury DA, Enarson DA, Chan-Yeung M, Kennedy SM. First-aid reports of acute chlorine gassing among pulpmill workers as predictors of lung health consequences. *Am J Ind Med* 1991;20:71-81.

39. Enarson DA, Maclean L, Dybuncio A, Chan-Yeung M, Grzybowski S, Johnson A, Block G, Schragg K. Respiratory health at a pulpmill in British Columbia. *Arch Environ Health* 1984;39:325-330.

40. Courteau JP, Cushman R, Bouchard F, Quévillon M, Chartrand A, Bhérier L. Survey of construction workers repeatedly exposed to chlorine in

a pulpmill over a three to six month period: I. Exposure and symptomatology. *Occup Environ Med* 1994;51:219-224.

41. Blanc PD, Galbo M, Hiatt P, Olson KR, Balmes JR. Symptoms, lung function, and airway responsiveness following irritant inhalation. *Chest* 1993;103:1699-1705.

42. Cone JE, Wugofski L, Balmes JR, Das R, Bowler R, Alexeef G, Shusterman D. Persistent respiratory health effects after a metam sodium pesticide spill. *Chest* 1994;106:500-08.

43. Jones RN, Hughes JM, Glindmeyer H, Weill H. Lung function after acute chlorine exposure. *Am Rev Respir Dis* 1986;134:1190-5.

44. Ferris BG, Puleo S, Chen HY. Mortality and morbidity in a pulp and a paper mill in the United States: a ten-year follow-up. *Br J Ind Med* 1979;36:127-134.

45. Henneberger PK, BG Ferris Jr, Sheehe PR. Accidental gassing incidents and the pulmonary function of pulp mill workers. *Am Rev Respir Dis* 1993;148:63-67.

46. Gautrin D, Leroyer C, L'Archevêque J, Dufour JG, Girard D, Malo JL. Cross-sectional assessment of workers who underwent repeated exposure to chlorin over a three-year period. *Eur Respir J* in press.

47. Brooks SM, Bernstein IL. Reactive airways dysfunction syndrome or irritant-induced asthma. in: *Asthma in the workplace*; Bernstein IL, Chan-Yeung M, Malo JL, Bernstein DI., eds. Marcel Dekker Inc., New York:1993 : 533-549.

48. Barnes PJ, Baraniuk JN, Belvisi MG. Neuropeptides in the respiratory tract: Part 1. *Am Rev Respir Dis* 1991;144:1187-98.
49. Gautrin D, Boulet LP, Boutet M, Dugas M, Bhérer L, L'Archevêque J, Laviolette M, Côté J, Malo JL. Is Reactive Airways Dysfunction Syndrome (RADS) a variant of occupational asthma ? *J Allergy Clin Immunol* 1994;93:12-22.
50. Sheppard D, Thompson JE, Scypinski L, Dusser D, Nadel JA, Borson DB. Toluene diisocyanate increases airway responsiveness to substance P and decreases airway neutral endopeptidase. *J Clin Invest* 1988;81:1111-1115.
51. Moisan TC. Prolonged asthma after smoke inhalation: a report of three cases and a review of previous reports. *JOM* 1991;33:458-61.
52. Moore B, Sheman M. Chronic reactive airway disease following acute chlorine gas exposure in an asymptomatic atopic patient. *Chest* 1991;100:855.
53. Chester EH, Kaimal J, Payne CB, Kohn PM. Pulmonary injury following exposure to chlorine gas. Possible beneficial effects of steroid treatment. *Chest* 1977;72:247-250.
54. Gilbert R, Auchincloss JH. Reactive airways dysfunction syndrome presenting as a reversible restrictive defect. *Lung* 1989;167:55-61.
55. Rajan KG, Davies BH. Reversible airways obstruction and interstitial pneumonitis due to acetic acid. *Br J Ind Med* 1989;46:67-8.

56. Gilbert R, Auchincloss JH. The interpretation of spirogram. *Arch Intern Med* 1985;147:1779-1781.
57. Kennedy SM. Acquired airway hyperresponsiveness from nonimmunologic irritant exposure. *Occupational Medicine. State of the Art Reviews* 1992;7:287-300.
58. Sherman CB, Barnhart S, Miller MF, Segal MR, Aitken M, Schoene R, Daniell W, Rosenstock L. Firefighting acutely increases airway responsiveness. *Am Rev Respir Dis* 1989;140:185-190.
59. Wardlaw AJ, Dunnette S, Gleich GJ, Collins JV, Kay AB. Eosinophils and mast cells in bronchoalveolar lavage in subjects with mild asthma. *Am Rev Respir Dis* 1988;137:62-9.
60. Winternitz MC. Collected studies on the pathology of war gas poisoning. New Haven: Yale University Press, 1920 ; 1-31.
61. Bell DP, Elmes PC. The effects of chlorine gas on the lungs of rats without spontaneous pulmonary disease. *J Path Bact* 1965;89:307-317.
62. Demnati R, Fraser R, Plaa G, Malo JL. Histopathological effects of acute exposure to chlorine gas on Sprague-Dawley rat lungs. *JEPTO* in press.
63. Jeffery PK, Wardlaw AJ, Nelson FC, Collins JV, Kay AB. Bronchial biopsies in asthma. An ultrastructural quantitative study and correlation with hyperreactivity. *Am Rev Respir Dis* 1989;140:1745-53.
64. Laitinen LA, Heino M, Laitinen A, Kava T, Haahtela T. Damage of the airway epithelium and bronchial reactivity in patients with asthma. *Am Rev*

Respir Dis 1985;131:599-606.

65. Djukanovic R, Roche WR, Wilson JW, Beasley CRW, Twentyman OP, Howarth PH, Holgate ST. Mucosal inflammation in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1990;142:434-357.

66. Djukanovic R, Wilson JW, Britten KM, Wilson SJ, Walls AF, Roche WR, Howarth PH, Holgate ST. Quantitation of mast cells and eosinophils in the bronchial mucosa of symptomatic atopic asthmatics and healthy control subjects using immunohistochemistry. *Am Rev Respir Dis* 1990;142:863-871.

67. Holgate ST, Djukanovic R, Howarth PH, Montefort S, Roche W. The T cell and the airway's fibrotic response in asthma. *Chest* 1993;103:125S-128S.

68. Bradley BL, Azzawi M, Jacobson M, Assoufi B, Collins JB, Irani AMA, Schwartz LB, Durham SR, Jeffery PK, Kay AB. Eosinophil, T-lymphocytes, mast cells, neutrophils, and macrophages in bronchial biopsy specimens from atopic subjects without asthma and normal control subjects and relationship to bronchial hyperresponsiveness. *J Allergy Clin Immunol* 1991;88:661-74.

69. Houston JC, Navasquez S de, Trounce JR. A clinical and pathological study of fatal cases of status asthmaticus. *Thorax* 1953;8:207-213.

70. Brewster CEP, Howarth PH, Djukanovic R, Wilson J, Holgate ST, Roche WR. Myofibroblasts and subepithelial fibrosis in bronchial asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1990;3:507-511.

71. Gadon ME, Melius JM, McDonald GJ, Orgel D. New-onset asthma after exposure to the steam system additive 2-diethylaminoethanol. *JOM* 1994;36:623-626.
72. Flury KE, Ames DE, Rodarte JR, Rodgers R. Airway obstruction due to inhalation of ammonia. *Mayo Clin Proc* 1983;58:389-393.
73. Leduc D, Gris P, Lheureux P, Gevenois PA, Vuyst P De, Yernault JC. Acute and long term respiratory damage following inhalation of ammonia. *Thorax* 1992;47:755-6.
74. Buckley LA, Jiang XZ, James RA, Morgan KT, Barrow CS. Respiratory tract lesions induced by sensory irritants at the RD50 concentration. *Toxicol Appl Pharm* 1984;74:417-429.
75. Haponik EF. Clinical smoke inhalation injury: pulmonary effects. *Occup Med* 1993;8:431-468.
76. Ferguson JS, Schaper M, Alarie Y. Pulmonary effects of a polyisocyanate aerosol: Hexamethylene diisocyanate trimer (HDI) or desmodur-N (DES-N). *Toxicol App Pharmacol* 1987;89:332-46.
77. Luo J-C, Nelsen KG, Fischbein A. Persistent reactive airway dysfunction syndrome after exposure to toluene diisocyanate. *Br J Indust Med* 1990;47:239-241.
78. Frans A, Pahulycz C. Apparition transitoire d'un syndrome d'irritation aiguë des bronches induit par une inhalation unique et massive d'anhydride phtalique. *Rev Pneumol Clin* 1993;49:247-251.



