



Disponible en ligne sur
ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com



RECOMMENDATIONS – ARTICLE IN ENGLISH AND FRENCH

Contribution of exhaled nitric oxide measurement in airway inflammation assessment in asthma. A position paper from the French Speaking Respiratory Society

Place de la mesure du NO expiré dans l'évaluation de l'inflammation bronchique dans l'asthme. Mise au point et position de la Société de pneumologie de langue française



A.T. Dinh-Xuan^{a,b,*}, I. Annesi-Maesano^{a,c},
P. Berger^{a,d}, A. Chambellan^{a,e}, P. Chanez^{a,f},
T. Chinet^{a,g}, B. Degano^{a,h}, C. Delclaux^{a,i},
V. Demange^{a,j}, A. Didier^{a,k}, G. Garcia^{a,l},
A. Magnan^{a,m}, B. Mahut^{a,n}, N. Roche^{a,o}

^a Groupe d'experts de la société de pneumologie de langue française sur la mesure du NO expiré dans l'asthme, société de pneumologie de langue française, 66, boulevard Saint-Michel, 75006 Paris, France

^b Service de physiologie-explorations fonctionnelles, université Paris-Descartes, hôpital Cochin, 27, rue du Faubourg-Saint-Jacques, 75014 Paris, France

^c Inserm et université de médecine Pierre-et-Marie-Curie, 75571 Paris cedex 12, France

^d Centre de recherche cardio-thoracique Inserm U1045, université de Bordeaux, 33076 Bordeaux cedex, France

^e Inserm UMR 1087, institut du thorax, 44007 Nantes cedex, France

^f Service de pneumologie, hôpital Nord, chemin des Bourrelly, 13015 Marseille, France

^g Service de pneumologie, CHU Ambroise-Paré, 92104 Boulogne, France

^h Explorations fonctionnelles, hôpital Jean-Minjoz, centre hospitalier régional universitaire, 25000 Besançon, France

ⁱ Hôpital européen Georges-Pompidou, Assistance publique-Hôpitaux de Paris, 75015 Paris, France

Available online 8 November 2014

* Corresponding author.

E-mail address: anh-tuan.dinh-xuan@cch.aphp.fr (A.T. Dinh-Xuan).

^j Département épidémiologie en entreprise, INRS, rue du Morvan, 54500 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

^k Service de pneumologie, CHU de Toulouse, 24, chemin de Poumourville – TSA, 31059 Toulouse cedex 9, France

^l Service de physiologie, hôpital Bicêtre, Assistance publique-Hôpitaux de Paris, 94275 Le Kremlin-Bicêtre, France

^m Inserm UMR 915, institut du thorax, CHU de Nantes, 44007 Nantes cedex, France

ⁿ Cabinet de pédiatrie, 4, avenue de la Providence, 92160 Antony, France

^o Service de pneumologie et soins intensifs respiratoires, Hôtel Dieu, groupe hospitalier Cochin-Broca, 75014 Paris, France

Received 11 August 2014; accepted 27 August 2014

Available online 8 November 2014

KEYWORDS

Nitric oxide;
Asthma;
Airway inflammation;
Eosinophils;
Exhaled breath

Summary Nitric oxide (NO) is both a gas and a ubiquitous inter- and intracellular messenger with numerous physiological functions. As its synthesis is markedly increased during inflammatory processes, NO can be used as a surrogate marker of acute and/or chronic inflammation. It is possible to quantify fractional concentration of NO in exhaled breath (FE_{NO}) to detect airway inflammation, and thus improve the diagnosis of asthma by better characterizing asthmatic patients with eosinophilic bronchial inflammation, and eventually improve the management of targeted asthmatic patients. FE_{NO} measurement can therefore be viewed as a new, reproducible and easy to perform pulmonary function test. Measuring FE_{NO} is the only non-invasive pulmonary function test allowing (1) detecting, (2) quantifying and (3) monitoring changes in inflammatory processes during the course of various respiratory disorders, including corticosensitive asthma.

© 2014 SPLF. Published by Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

MOTS CLÉS

Oxyde nitrique ;
Asthme ;
Inflammation des
voies aériennes ;
Éosinophiles ;
Air exhalé

Résumé Le monoxyde d'azote (NO) est à la fois un gaz et un messager inter- et intracellulaire ubiquitaire possédant de nombreuses fonctions physiologiques. Sa synthèse, fortement augmentée lors de l'inflammation, en fait un marqueur de la réaction inflammatoire aiguë et/ou chronique. La mesure de la concentration fractionnaire du NO dans l'air expiré (FE_{NO}) détecte l'inflammation des voies aériennes et, de ce fait, aide au diagnostic de l'asthme en permettant de mieux caractériser les patients asthmatiques ayant une inflammation bronchique liée à l'activation des polynucléaires éosinophiles. L'utilisation de la mesure de la FE_{NO} améliore la prise en charge de certaines populations d'asthmatiques bien ciblées. Examen reproductible, non traumatique pour le patient et facile à réaliser pour le personnel de santé (technicien d'explorations fonctionnelles respiratoires (EFR) et/ou médecin), la mesure de la FE_{NO} est le seul examen non invasif du souffle permettant la détection d'une inflammation éosinophile des voies aériennes. Cet examen vient donc enrichir la batterie des techniques d'EFR en nous donnant la possibilité de pouvoir désormais : (1) détecter la présence, (2) quantifier l'importance et (3) suivre l'évolution de l'inflammation des voies aériennes de nombreuses affections respiratoires, et en particulier l'asthme corticosensible.

© 2014 SPLF. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

English version

Introduction

Nitric oxide (NO) is a biogas whose physiological role is probably older than that of oxygen [1], which is – due to its chemical nature – both inhaled and detectable in patient exhaled breath [2]. Twenty-two years after the first publication of Gustafsson et al. [3], the measurement of exhaled NO is now a test commonly used by an increasing number of hospital departments for the non-invasive detection and quantification of airway inflammation [4,5]. For more than 20 years, almost 3300 articles listed on Pubmed [6] have

been published on this topic, including more than 2100 articles dedicated to the contribution of exhaled NO in asthma [7]. The two main international learned societies bringing together pulmonologists, allergists, physiologists and pediatric pulmonologists (the American Thoracic Society (ATS) and the European Respiratory Society (ERS)) have published the first recommendations in 1997 [8]. Since then, these recommendations have been regularly updated [9,10], showing the interest of this method in lung inflammatory diseases.

Compared to existing pulmonary function tests, NO measurement in exhaled breath has clear advantages, without being intended to replace them. Non-invasive for the patient, easy to perform for the healthcare staff (pulmonary

function test technician and/or physician), NO measurement in exhaled breath is the only non-invasive and reproducible test allowing detecting airway inflammation. It supports the diagnosis of asthma and enables better phenotyping asthmatic patients, in particular regarding their corticosen-sensitivity. Asthma is therefore the main disease for which measuring NO in exhaled breath is of interest, due to its prevalence, the pathophysiological importance of the airway inflammation and the major therapeutic role of glucocorticoids (inhaled and oral) used in its management. Other much rarer diseases are also concerned, including cystic fibrosis [11], primary ciliary dyskinesia [12] and interstitial involvement in systemic sclerosis [13,14], which are also associated with changes in pulmonary NO production. Studies assessing NO measurement in exhaled breath in these diseases, although increasingly numerous, will not be analyzed in this work which will solely be focused on the contribution of NO measurement in exhaled breath of asthmatic patients.

Biology of NO

The biosynthesis of the NO radical, from L-arginine and molecular oxygen, is controlled by a family of enzymes, the NO synthases (NOS), whose three isoforms (NOS-1, NOS-2 and NOS-3) differ by their functions, cellular locations and biochemical characteristics (Fig. 1) [15,16]. NOS-1 and NOS-3 are constitutive isoforms whereas NOS-2 is inducible as it is only expressed in pathological conditions such as septic shock or chronic inflammatory disease, including asthma. Stimulating constitutive isoforms (NOS-1 and NOS-3) results in a brief production of very low amounts of NO, which

plays a role in numerous body functions under physiological conditions, ranging from the modulation of the vascular tone to memory-related mechanisms. Thus, their expression appears currently as totally ubiquitous. In contrast, inducing the *NOS-2* gene (*NOS-2* being normally absent from the cell) results in the de novo synthesis of this protein, which, once present, becomes continuously active. Therefore, NOS-2 activity is responsible for a much higher NO production than that induced by the activity of constitutive NOS. The respiratory tract is particular insofar as inducible NOS is continuously expressed in the bronchial epithelium, as a result of permanent exposure to the external environment. This is why relatively high NO concentrations will diffuse from the bronchial walls to the gas present in the airways, and will therefore be measured in exhaled air. Under basal conditions, the protein level of the different NOS isoforms is lower in the alveolar than in the bronchial compartment.

L-arginine is also the substrate of arginases. Both pathways (NOS and arginases) are closely related and the decrease in NO observed in certain situations (bronchial suppuration) could be explained not only by a decrease in NOS activity but also by the consumption of arginine substrate following arginase activation.

NO is both an oxygen-derived free radical and a paracrine mediator synthesized by numerous – if not all – body cells. Due to its chemical nature, NO can also be assimilated to an endogenous nitrovasodilator whose physiological importance justifies the therapeutic use of nitrated derivatives for more than a century for the treatment of cardiovascular diseases. The knowledge of NO contribution and importance in respiratory physiology is much more recent [17]. Nevertheless, there are nowadays numerous arguments suggesting

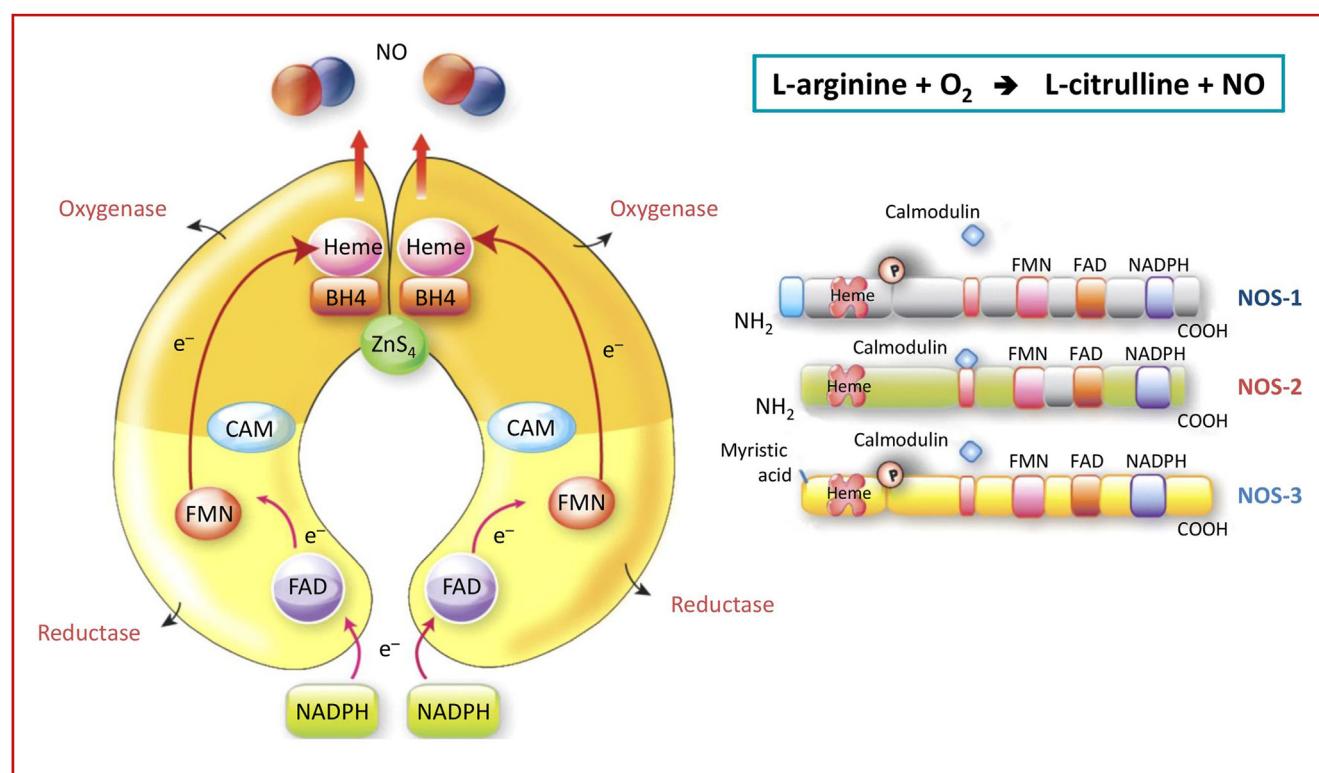


Figure 1. The 3 isoforms of NO synthases.

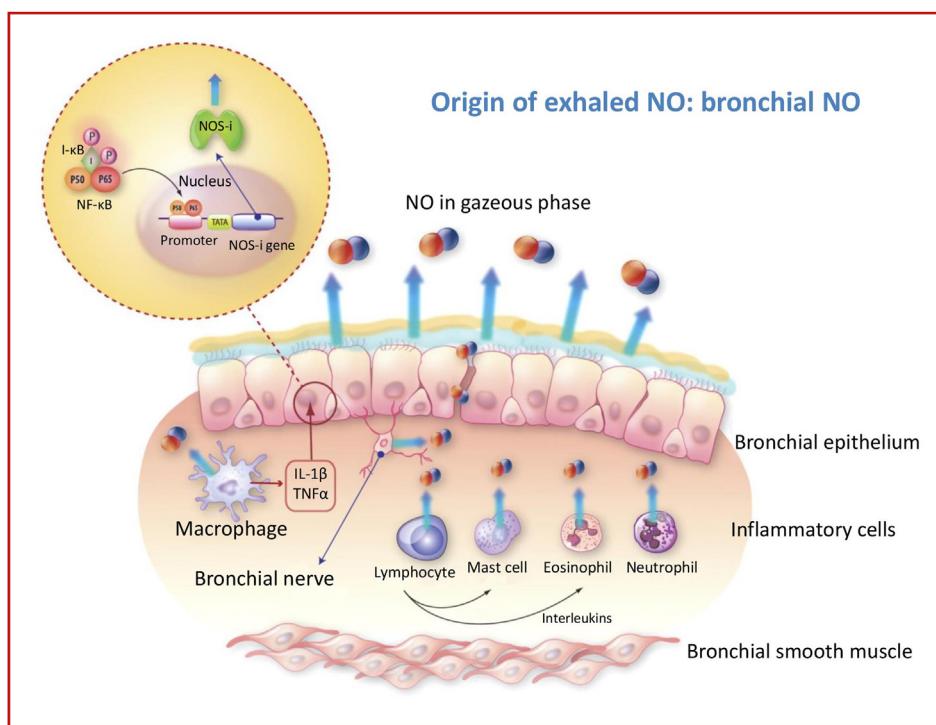


Figure 2. Cellular origins of NO in the respiratory tract.

a significant role of NO in the modulation of the bronchial tone and asthma pathophysiology. These arguments can be classified into four types:

- NO is a highly diffusible gas. It is therefore above all a mediator of intercellular communication in the airways;
- NO is synthesized by numerous lung cells (Fig. 2), especially the bronchial epithelium and neurons of the non-cholinergic non-adrenergic system which inhibits the bronchopulmonary tract;
- the bronchial smooth muscle contains NO-inducible enzymes;
- the endogenous NO production can be influenced by two main features of numerous bronchopulmonary diseases: bronchial inflammation and smoking.

Measuring devices for NO

In practice, the measurement can be limited to the study of the NO concentration during a single exhalation. The analysis of the relationship between the expiratory flow rate and the NO concentration allows determining, using a recent standardized approach, the bronchial NO production capacity and alveolar NO concentration, thus distinguishing the respective contributions of both NO-producing compartments. Other techniques under development should ultimately allow calculating even more accurate features during tidal ventilation.

The first measuring devices (reference method) used the chemiluminescence method which consists of counting the number of photons emitted during the return to the steady state of NO_2 molecules produced by the NO reaction in the presence of ozone excess: the luminescent signal measured is proportional to the NO concentration in the studied environment and the device indicates a concentration in ppb

(10^{-9} L/L: part per billion). The theoretical developments detailed below and the vast majority of initial clinical studies have been carried out with this type of material. The purchase price of these devices is high so that they are generally only available in a few university hospitals.

A technique using an electrochemical measurement method (NO reduction in metabolites assayable in aqueous phase) has been developed secondarily for ambulatory use while meeting the international recommendations for measuring at a single flow rate of 50 mL/s. This method is less adapted for measuring low NO concentrations. At least two devices of this type are currently available on the market. The cost is highly reduced compared to the chemiluminescence method; these devices could therefore be widely distributed, even in community health care practices.

Measurements of exhaled NO

NO measurement peculiarity is the dependence between the NO concentration or fractional exhaled NO (FE_{NO}) measured and its amount [18,19]. This relationship has a theoretical explanation (modeling interpreting this dependence) and technical consequences (all the conditions allowing comparing the measurements).

Measurements using modelings of NO exchanges in the airways

Most of the theoretical developments of these models have been done by the group of Steven George and the reader can refer to the papers describing these fundamental aspects [20]. In the model described by this team (Fig. 3), the NO produced by the respiratory tract originates from two

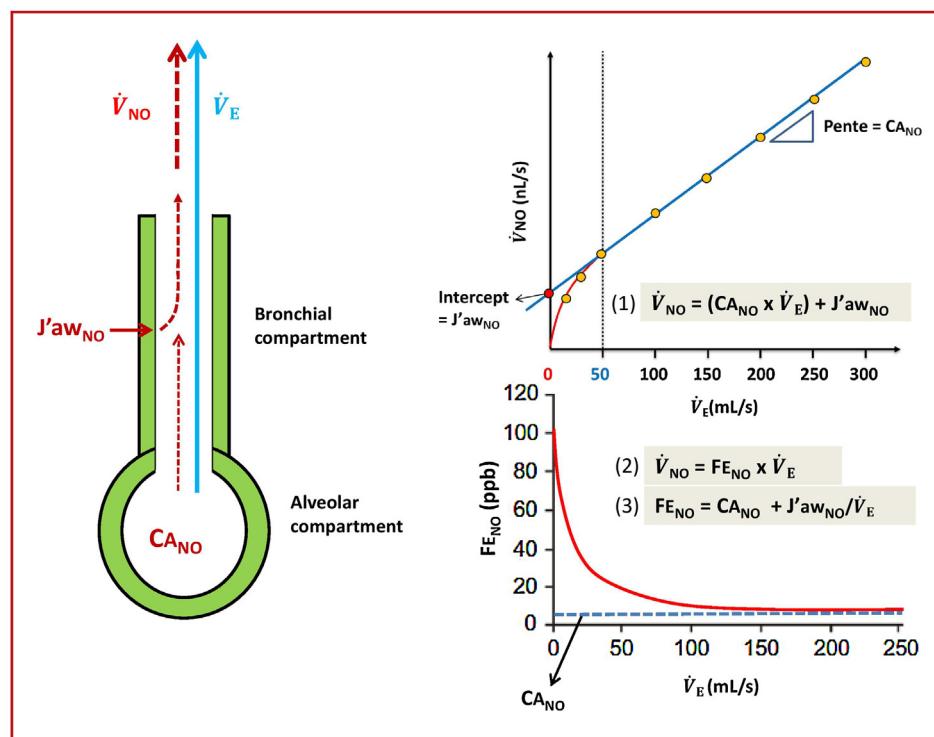


Figure 3. Two-compartment linear model of NO production. The fractional concentration of exhaled nitric oxide (FENO) is made by the addition of alveolar concentration of NO (CA_{NO}) with the ratio of maximum airway flux of NO ($J'aw_{NO}$) to expiratory flow ($\dot{V}E$) (equation 3). When expiratory flow is low (50 mL/s, as recommended for FENO measurement), and given the normally low values of CA_{NO} , FENO is mainly a reflection of bronchial sources of NO, that can be increased by inflammatory processes that occur during allergens exposure of subjects with atopic asthma.

compartments organized in series: the airways and the distal lung. The compressible compartment (distal lung) contains a very low NO concentration, which varies during the respiratory cycle but can be considered stable (alveolar NO concentration, CA_{NO}) after the 8–10 seconds of continuous apnea or exhalation necessary to allow a balance to be achieved between the local production and the exchange with the vascular bed. The gas flow from this space gains some NO flow rate ($J'aw_{NO}$) during its passage through the airways. The contribution of the airways can therefore be characterized by an amount ($J'aw_{NO}$) corresponding to the maximum NO flow rate that can be provided by the bronchus when there is no factor limiting the NO transfer. When exhaled NO flow rates are low (50 mL/s), the gain of bronchial origin is thus important. Other amounts reflecting these NO exchanges can be described and calculated [20] but they will not be detailed in this review. These amounts have the advantage to be independent of the exhaled NO flow rate and their theoretical advantage is to allow separating the distal lung production from the conducting airway production. Thus, these approaches are the only pulmonary function test allowing a non-invasive assessment of distal lung inflammation. In practice, these approaches require to perform either several exhalations at constant flow rate or one exhalation at decreasing flow rate after one apnea or one measurement during tidal ventilation (the latter two approaches require computer processing of the research field [21]) using usually chemiluminescence devices (due to low NO concentrations at high flow rate). This modeling is validated both in healthy and pathological subjects [22–25].

The key points to remember are that most exhaled NO found in low exhaled flow rates (in particular 50 mL/s) is produced by the airways (according to the production sites). During atopy (with or without asthma), there is an increase in airway NO production ($J'aw_{NO}$) [26], explaining the increase in FE_{NO} . In asthma, $J'aw_{NO}$ (and FE_{NO}) correlates with the eosinophilic airway inflammation [27,28]. A distal inflammation, increased CA_{NO} , characterizes a number of asthmatic patients but the usefulness of its measurement remains to be demonstrated [29].

Measurement of exhaled NO during a single exhalation

This is the most commonly performed measurement and this approach provides information that probably answers most clinician questions. Several consensus meetings have specified its modalities [30–32,8], without fundamentally changing their recommendations that focus primarily on the prevention of rhinosinusal contamination, and emphasize the dependence between the exhaled NO concentration and the expiratory flow rate. Numerous factors related to measurement conditions or to the subject (morphometric characteristics, medication taken, concomitant diseases) can influence the results of exhaled NO measurement (Table 1). The three key points for performing a single exhalation measurement are:

- immediate exhalation against buccal resistance (5–15 cm H₂O). The NO produced by the ENT sphere is thus isolated

Table 1 Factors (apart from atopy and bronchial inflammation) which can influence NO measurement in exhaled breath.

Factors increasing exhaled NO measurement

- Size
- Age
 - In children (probably related to the size)
- Rhinitis
- Pulmonary infections
- Foods
 - High nitrate content

Factors decreasing exhaled NO measurement

- Cigarette smoke
 - Active and passive smoking
- Corticosteroids
 - Oral and inhaled
- Respiratory maneuvers
- Coffee

from the gas flow produced by the lower airways by the closure of the soft palate during exhalation;

- constant expiratory flow rate: learned society recommendations seemed initially contradictory (200 mL/s for the ERS versus 50 mL/s for the ATS [30,8]). The last conference recommends the flow rate of 50 ± 5 mL/s [31], with however the possibility of applying other flow rates depending on the type of information sought (the distal inflammation should thus be sought with high expiratory flow rates);
- duration of the exhalation: it must be of at least 6 seconds in adults and at least 4 seconds in children under 12 years old. The fractional NO measured during an at least 3-second plateau is averaged, and the variation between the plateau extreme values must be less than 10%.

The first phase of the exhalation, which is often associated with a NO concentration peak, corresponds on the one hand to the drainage of the dead space and on the other hand to the time required to achieve stable conditions, in particular in the alveolar space.

Given the high nasal epithelium NO production, the use of a nose clip is strongly discouraged due to the risk of contamination of bronchial NO by NO produced by the rhinosinusal cavities. The ambient NO does not influence the result, except perhaps if the concentration is high over the long term (greater than 50 ppb for several hours), which has potentially a depressant effect on the NO synthase activity. The interindividual FE_{NO} variability is less than 10–15% in most subjects [33] but this good reproducibility is not observed in some patients, in particular in atopic patients, without being able to clearly characterize these subjects [21]. Forced expiratory techniques decrease the FE_{NO} and it is thus recommended to carry out the measurement before performing spirometry and at least 30 mn after sustained exercise.

The expiratory flow rate used during the measurement must be specified in the result statement: $FE_{NO\ 0.05} = 10$ ppb means that the mean NO concentration measured for at least 3 seconds in the second phase of the exhalation performed at 0.05 L/s (or $FE_{NO\ 50}$ for 50 mL/s) is of 10 ppb. The test

can be performed in cooperating children from the age of 8–9 years. The main difficulty is to maintain a stable expiratory flow rate: some devices provide a flow controller, which significantly increases the test reliability. It is then possible to achieve an interpretable measurement in about half of 4–5-year-old children [33].

NO, lung inflammation and asthma

Lung inflammation leads to a significant increase in NO synthesis by inflammatory cells through the activation of inducible NO synthases (iNOS or NOS-2) through a NF- κ B-dependent mechanism. Due to its gaseous nature, the NO produced by lung cells is present in the air volumes passing through the airways, diffusing from the most to the less concentrated environment. A high pulmonary NO production results in an increase in NO in exhaled breath, whose volume can be quantified using various measurement methods (chemiluminescence or electrochemistry). A high NO concentration in exhaled breath is therefore common in acute or chronic airway inflammation (asthma, viral or bacterial acute bronchitis, infectious pneumonitis, auto-immune systemic diseases with lung involvement). Two diseases are an exception to this rule: cystic fibrosis (for incompletely elucidated reasons) [11] and tobacco-related chronic obstructive pulmonary disease (through the inhibition of endogenous NO synthesis by very high exogenous NO amounts contained in tobacco smoke).

Asthma is an inflammatory airway disease. In asthma, airway inflammation is a chronic process whose intensity, variable over time, is related to bronchial hyperresponsiveness and obstruction, and histologically proven structural remodeling. There are several types of inflammation in asthma: eosinophilic inflammation, neutrophilic inflammation, mixed inflammation with low polymorphonuclear cell content. The predominant form of inflammation in asthma is eosinophilic inflammation which is corticosensitive and the presence of eosinophils in bronchial secretions strongly correlates with the increased NO concentration in exhaled breath [34,35].

Predictive value of exhaled NO measurement in diagnosing asthma

NO measurement in exhaled breath can help in the diagnosis of asthma when clinical symptoms are non-specific and pulmonary function tests are normal [36–42]. Indeed, high NO concentrations in exhaled breath are correlated with airway inflammation, which is itself associated with clinical signs suggestive of asthma, which is a strong argument for the disease (Table 2). In this context, NO measurement in exhaled breath has a better predictive value than conventional pulmonary function tests such as the forced expiratory volume in one second (FEV₁), the FEV₁/forced vital capacity ratio and changes in peak expiratory flow rate (PEFR) [36]. Moreover, the predictive value of exhaled NO in diagnosing asthma is comparable to that of bronchial challenge tests (methacholine, exercise, adenosine-5'-monophosphate) [43]. Compared to these challenge tests, NO measurement in exhaled breath is faster and there is no risk of bronchial obstruction [43].

Table 2 Specificity, sensitivity and predictive value of exhaled NO measurement in asthma. It should be noted that the exhaled NO has always a high negative predictive value from one study to another.

Indications	Threshold (ppb)	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Positive predictive value (%)	Negative predictive value (%)	Authors (Ref.)
<i>Diagnosis of asthma in subjects with</i>						
Non-specific respiratory symptoms	20	88	79	70	92	Smith et al. [36]
Chronic cough	30	75	87	60	93	Chatkin et al. [37]
The same	40	88	83	73	93	Kowal et al. [38]
The same	32	86	76	47	95	Oh et al. [39]
<i>Responses to glucocorticoids in subjects with</i>						
Non-specific respiratory symptoms	47	82	91	82	91	Smith et al. [40]
Chronic cough	38	90	85	90	85	Hahn et al. [41]
Severe asthma	30	88	91	88	91	Pérez-de-Llano et al. [42]

Predictive value of exhaled NO measurement on the response to corticosteroids

Corticosteroids are still the reference anti-inflammatory treatment in asthma. The use of inhaled corticosteroids is recommended as background treatment of persistent asthma, while the use of oral corticosteroids is often necessary in the most severe forms of asthma. However, the response to corticosteroids has a high interindividual variability and, in the same individual, this response can vary over time depending on the course of asthma and the importance of inflammation.

In this context, the availability of an individual test to predict the corticosensitivity is of great interest. Numerous publications have shown that the NO concentration in exhaled breath, due to its correlation with the eosinophilic inflammation, which is itself corticosensitive, is a better predictor than the other respiratory tests, including the measurement of the FEV₁, the bronchodilator response and the variability in PEFR [40]. A recent study has extended the predictive value of NO concentration in exhaled breath on the response to corticosteroids to other forms of asthma, including non-eosinophilic asthma [44].

Correlation between exhaled NO measurement and asthma control

According to international and French recommendations, inhaled corticosteroid adjustment in asthma is based on the disease control [45] whose measurement is the primary endpoint of disease stability, and therefore of the efficacy of the background treatment. Asthma control is defined by the absence of diurnal and nocturnal symptoms, the absence of use of short-acting bronchodilators and normal pulmonary function tests, including the FEV₁ [45]. By extension, the loss of asthma control is a major event of the disease requiring a new management and often a therapeutic change (increasing the dose of inhaled corticoids,

switching to oral route...). The loss of asthma control can be a sign of exacerbation requiring a course of oral corticosteroids or hospitalization.

Measuring exhaled NO concentration can help predicting the maintenance of a good asthma control with a predictive value greater than 95% when NO is less than 40 ppb [46]. Changes in exhaled NO concentrations are associated with asthma control: a decrease by more than 40% in the initial concentration is equivalent to an optimal asthma control [47]. Similarly, improving asthma control will be even more likely when the initial exhaled NO concentration is high (greater than 30 ppb) [42,47]. Conversely, the loss of asthma control is significantly associated with an increase by more than 30% in exhaled NO concentration in asthmatic patients without rhinitis (and by more than 40% in asthmatic patients with concomitant rhinitis) between the first and second measurement [48].

Pediatricians often discontinue corticosteroids to minimize the risk of side effects on the growth of children with well controlled asthma, but these corticosteroid-weaned children are thus at risk of relapse. In this context, an early re-increase in NO concentration in exhaled breath shows the recurrence of the bronchial inflammation and precedes by a few days to a few weeks the clinical relapse of the disease [49].

Contribution of exhaled NO measurement on inhaled corticosteroid adjustment

Ideally, the dose of corticosteroids should be adjusted based on the presence or absence of inflammation, but also on the importance of the latter. However, no clinical (number of episodes of diurnal and nocturnal symptoms) and functional (FEV₁, PEFR, presence of bronchial hyperresponsiveness) parameter is sensitive enough to help adjusting the dose of corticosteroids depending on disease progression. The advantage of measuring exhaled NO concentration to adjust inhaled corticosteroids has been assessed in several

double-blind or single-blind randomized studies in children and/or adults.

Smith et al. [50] have shown that the therapeutic adjustment based on the exhaled NO helped reducing the doses of corticosteroids without worsening the level of asthma control. In this single-blind study, 97 patients with asthma aged 12–73 years, treated with inhaled corticosteroids as monotherapy, have been randomized to receive a conventional strategy based on asthma control or a strategy based solely on exhaled NO [50]. It has been shown that the NO-based strategy allowed reducing significantly by 270 µg/day the dose of fluticasone, and no difference was found between both strategies in terms of asthma control or exacerbation number [50]. In another single-blind study, 118 patients with asthma aged 20–81 years have been randomized to the same strategies [51]. Again, no difference was found between both strategies in terms of asthma control or exacerbation number [51]. At the end of the study, the exhaled NO-based strategy allowed however decreasing the dose of inhaled corticosteroids by 338 µg/day but overall, over the 12 months of the study, the difference was not significant [51]. Regarding double-blind studies, a first study has enrolled 546 patients with uncontrolled asthma aged 12–20 years who have been randomized to receive a conventional strategy and a strategy in which the exhaled NO was added to the conventional strategy [52]. As above, there was no difference between both strategies in terms of asthma control or exacerbation number, but here the dose of corticosteroids was not decreased in the arm receiving the NO-based strategy [52]. However, the algorithm of Szeffler et al. based on exhaled NO has allowed increasing inhaled corticosteroids even when the clinical control was optimal, whereas this dose could not be reduced when the exhaled NO was low unless all other parameters were also controlled [52]. Two studies have been conducted in asthmatic children. In a first study, 89 children with mild to moderate asthma aged 6–18 years have been randomized to receive a symptom-based strategy or a symptom and exhaled NO-based strategy with visits every three months [53]. The dose of inhaled corticosteroids, level of asthma control and number of exacerbations were not significantly different between both groups [53]. However, the FEV and bronchial hyperresponsiveness were significantly improved in the exhaled NO group whereas no significant difference was found in the symptom only group [53]. In a second study by the same team, 151 children with mild to moderate allergic asthma aged 6–18 years have been randomized to receive a symptom-based strategy or a symptom and exhaled NO-based strategy as above, but with daily information acquisition by telemonitoring [54]. Both strategies have improved disease control or reduced the dose of inhaled corticosteroids, with no difference found between both telemonitorings [54]. As in the previous study and with lower values in the exhaled NO group, the number of exacerbations did not significantly differ from the symptom group, but the sample size was not intended to determine such a difference [54].

A recent controlled randomized study has just shown that pregnant women with asthma whose corticosteroids were adjusted based on exhaled NO concentrations had fewer exacerbations than those of the control group [55].

The hospitalization in intensive care unit of newborns from asthmatic mothers monitored using the exhaled NO was also significantly reduced compared to the control group [55]. In this double-blind study, 220 pregnant women with asthma with a mean age of 28 years have been randomized to receive a conventional strategy or a strategy in which the exhaled NO was added to the conventional strategy [55]. Unlike the previous study, the number of exacerbations and the use of on-demand β_2 -agonists were reduced in the NO-based strategy. In addition, the number of neonatal hospitalizations was also significantly reduced [55]. Finally, in another double-blind study, 342 adult patients with mild to moderate asthma have been randomized to receive one of the three following strategies: a FEV₁ and symptom-based strategy, an exhaled NO-based strategy or a symptom-based strategy [56]. No difference was found in terms of time to treatment failure.

A recent meta-analysis including several previous meta-analyses and two systematic Cochrane reviews indicates that the use of exhaled NO allows significantly reducing inhaled corticosteroids in adults but not in children [57]. However, according to this work, the use of exhaled NO does not allow reducing the number of patients with at least one exacerbation [57]. Note that this meta-analysis has not taken into account the study of Powell [55]. In contrast, a more recent meta-analysis, taking into account the adult studies by Smith [50], Shaw [51] and Powell [55], has found that the rate of exacerbations is significantly reduced when an exhaled NO-based strategy is used [58]. Overall, numerous evidence support the use of exhaled NO for adjusting inhaled corticosteroids in adults. However, in children, formal evidence are lacking but the algorithms the most effective in adults have not been used. In addition, although the various controlled studies have provided conflicting results regarding the contribution of exhaled NO in asthma in adults and children, these discrepancies are technical (expiratory flow with exhaled gas sample collection, choice of threshold NO concentrations to increase or decrease corticosteroids) and/or methodological (choice of the primary objective: asthma control vs number of exacerbations). The heterogeneity of asthmatic populations (patients with different asthma severity) could also be a possible cause to explain the discrepancy between the different randomized studies conducted to date. Measuring NO concentration in exhaled breath in pregnant women with asthma allows better controlling their asthma [55].

Usefulness of exhaled NO measurement to assess asthma patient compliance

A poor compliance with background treatment is one of the main causes of poor asthma control [59–61]. However in practice, there is no reliable method to assess the poor compliance. Demonstrating that the exhaled NO concentration measure varies depending on the degree of bronchial inflammation and disease control by the background treatment in some patients allows proposing the use of this measurement to assess the compliance. Indeed, it can be assumed that one of the causes of increased FE_{NO} in a patient with asthma treated with inhaled corticosteroids could be a lack of compliance. This assumption has been reinforced by observations made in children [62–64].

A study of 31 children with asthma (6–15 years old) has reported a strong correlation between the change in FE_{NO} and the compliance with budesonide treatment (measurement based on Turbuhaler® dose indicator) [62]. Another study of 30 asthmatic children (7–17 years old) has also evidenced a highly significant correlation between the FE_{NO} and the compliance, which was self-assessed by children [63]. Cano-Garcinuno et al. [64] have enrolled 151 asthmatic children aged 6–14 years and studied the relationships between the FE_{NO} measurement and a range of clinical and functional data. Their main result was that in patients treated with inhaled corticosteroids, the only factor significantly associated with the FE_{NO} was the compliance self-reported by the child or his/her parents. However, Katsara et al. [65] have measured the FE_{NO} in 20 asthmatic children aged 7–14 years four times at monthly intervals and recorded the use of an inhaler administering inhaled corticosteroids with an electronic device. The correlation between both measurements was not significant. However, there is no evidence that all these subjects had an elevated FE_{NO} without anti-inflammatory treatment and the authors have nevertheless concluded that the poor compliance was the most likely explanation of the elevated FE_{NO} found in their population but not the only cause.

A recent work has clearly reinforced the initial assumption [66]. The authors have enrolled patients with poorly controlled asthma and elevated initial FE_{NO} ($> 45 \text{ ppm}$) on two occasions. Patients were identified as "compliant" or "non-compliant" depending on the effective rate of renewal of their drug prescription ($> 80\%$ and $< 50\%$, respectively). In the first phase, a group of 9 "non-compliant" and 13 "compliant" participants has received inhaled corticosteroids ($1600 \mu\text{g}/\text{d}$ of budesonide in two daily doses) with direct monitoring for 7 days. After this phase, the decrease in FE_{NO} was significantly higher in the "non-compliant" group than in the "compliant" group (79% versus 47%). The authors have thus been able to calculate a threshold for the decrease in FE_{NO} after 5 days of treatment, allowing differentiating "compliant" from "non-compliant" asthmatic patients ($\log_{10}\Delta\text{FE}_{\text{NO}} \geq 0.24$). In a second phase (validation phase), 40 other asthmatic patients with high FE_{NO} ($> 45 \text{ ppm}$) on two occasions have received inhaled corticosteroids under direct supervision for 5 days and have then been classified as "compliant" and "non-compliant" based on the threshold calculated during the first phase. Thirteen participants have been classified into the "non-compliant" group. Compared with a composite score of adherence based on prescriptions actually delivered, a targeted interview, blood tests (serum cortisol...) and the analysis of the use of an inhaler, the test proposed by the authors had a positive predictive value of 92% and a negative predictive value of 78% for the compliance. The authors have concluded that the importance of the decrease in FE_{NO} under controlled inhaled corticosteroids could help differentiating "compliant" from "non-compliant" asthmatic patients. Obviously, this observation can only be applied to asthmatic patients whose initial FE_{NO} is elevated and decreases under effective inhaled corticosteroid treatment; moreover, further studies must confirm this result. Nevertheless, all data available suggest that measuring the FE_{NO} could help identifying non-compliant asthmatic patients within the subgroup with an initially high FE_{NO} .

Contribution of exhaled NO measurement in occupational asthma

In the research field on occupational respiratory health, measuring the FeNO is increasingly integrated in the range of tests used and it has been assessed among employees of different professional settings: employees exposed to laboratory animals, endotoxins, spices, isocyanates, latex or among farmers, bakers, healthcare professionals, swimming instructors [67–69]. Some studies have observed a high level of exhaled NO in sensitised employees [69] or its increase after specific allergen challenge in sensitised employees [67,70,71]. The increase in exhaled NO has been observed 24–48 hours post-allergen exposure in the working environment [67]. However, other studies have shown no association between the exhaled NO measurement and the results of the specific allergen challenge or the specific IgE concentration for latex, diisocyanates and triglycidyl isocyanurate [72,73] or between the increased exhaled NO and the increased exposure to chromium and cobalt [74]. In a case-control study conducted in the professional cleaning setting, exhaled NO measurement was not higher in asthmatic than in non-asthmatic subjects but it was higher when using multi-purpose cleaning products [75]. In baker and hairdresser apprentices followed during their training, the increase in exhaled NO was associated with the occurrence of non-specific bronchial hyperresponsiveness [76]. Exhaled NO measurement was not increased in hospital staff exposed to detergents compared to non-exposed hospital staff, whereas other biomarkers of inflammation and oxidative stress were increased in the first group compared to the second group, which could suggest an irritating rather than an allergic mechanism [77]. A study of baker and hairdresser apprentices aiming at comparing the efficacy of exhaled NO measurement versus spirometry on the monitoring of their respiratory health has shown that each test provides unique information on the respiratory system and allows identifying subjects requiring more extensive investigations [78]. A study of employees exposed to endotoxin-rich organic dusts has shown that exhaled NO measurement significantly decreased one year after exposure cessation, as well as other markers of airway inflammation [79]. Exhaled NO and hydrogen peroxide measurements have been used to monitor the progression of occupational latex-induced asthma of a nurse kept at her position after layout, complaining of symptom recurrence. Although standard laboratory or workstation tests only varied slightly between work (at night) and rest periods, these measurements clearly increased with the occupational activity [80].

In summary, in the research field on occupational respiratory health, exhaled NO measurement is used in addition to other functional or biological tests. In this context, it could help monitoring the effect of certain occupational exposures on the respiratory health of employees, understanding the pathophysiological mechanisms and monitoring the effects of a reduced or removed occupational exposure.

Regarding clinical practice, the ATS has stated in its 2011 guidelines that exhaled NO measurement before and after allergen challenge tests can have an interest in occupational asthma [10]. Similarly, exhaled NO measurement during work and rest periods, as the analysis of induced sputum, help improving the accuracy of the diagnosis of

Table 3 Medico-economic interests of exhaled NO measurement in the diagnosis and monitoring of asthma.

Country	Procedure	Gain	References
Germany	Diagnosis Monitoring	+€12 (+€18 if FE _{NO} + spirometry) -€30 (-€160 for moderate-severe) +0.055 QALYs	[84]
United Kingdom	Diagnosis Monitoring	-£43 (+£42 if FE _{NO} + spirometry) -£341 (-£554 for moderate-severe) +0.06–0.004 QALYs	[85]

occupational asthma [81]. The European Academy of Allergy and Clinical Immunology specifies that the exhaled NO measurement, less specific than the cell count in induced sputum, provides useful information when its analysis is not possible, which is the case in routine practice [82]. In summary, exhaled NO measurement cannot be used to replace the reference tests in occupational asthma but it can help with diagnosis, just like results obtained with other non- or minimally invasive techniques such as induced sputum or exhaled breath condensates [83].

Medico-economic data

Exhaled NO measurement for detecting inflammation in asthma is currently reimbursed in several European countries (Switzerland, Netherlands, Denmark, Norway, Italy, Portugal, Czech Republic). Studies of the medico-economic impact of this test must compare the contribution of the FE_{NO} in the diagnosis of asthma by comparing its diagnostic value to that of spirometry and bronchial

hyperresponsiveness tests (methacholine, exercise...). Its impact on the monitoring of asthmatic patients must also be assessed to determine if measuring the FE_{NO} helps reducing the costs related to the treatment of exacerbations and to patient hospitalization. Data from two previously published studies (one German [84] and one British [85] study) suggest that measuring the FE_{NO} allows reducing the costs related to the diagnosis of asthma and asthmatic patient monitoring (Table 3). These encouraging data must be confirmed by further studies in Europe and worldwide and emphasize the need for a real-life study to confirm the economic benefit of the FE_{NO} in asthma management [86].

Conclusion

So far, randomized studies have not been able to provide a clear answer regarding the contribution of the inhaled corticosteroid adjustment method in asthma [57]. It should be noted that no pulmonary function test has until now proven its usefulness in this specific indication. Discordant results

Table 4 Usefulness of exhaled NO measurement in the detection of bronchial inflammation in asthma.

Asthma is suspected (without having been formally diagnosed) in a patient with Atypical symptoms or whose description is vague (with or without atopy, with or without known bronchial hyperresponsiveness)
High ^a FE _{NO} values help in the diagnosis of asthma
Low FE _{NO} values do not allow ruling out the diagnosis of asthma
Typical symptoms
High FE _{NO} values increase the likelihood of allergic asthma
Normal or low FE _{NO} values reduce the likelihood of presence of a sensitization to an allergen present in patient environment
Asthma is known but uncontrolled in a patient who has not yet received inhaled corticosteroids (or receiving low doses)
High FE _{NO} values increase the likelihood of efficacy of corticosteroids (dose initiation or increase) or of management of a poor compliance
Normal or low FE _{NO} values do not exclude the therapeutic test with inhaled corticosteroids
Asthma is known and controlled in a patient treated with inhaled corticosteroids
High FE _{NO} values support maintaining doses of inhaled corticosteroid if they are intermediate or high ^b but should not encourage to increase the dose in patients treated with low-dose inhaled corticosteroids
Intermediate or low FE _{NO} values support a decrease in inhaled corticosteroids in patients treated with high-dose inhaled corticosteroids and are against an increase in corticosteroids in patients treated with low-dose inhaled corticosteroids
Asthma is known but uncontrolled in a patient already treated with inhaled corticosteroids at maximum doses
High FE _{NO} values increase the likelihood of efficacy of anti-IgE treatment

^a Criteria for high (> 50 ppb in adults, > 35 ppb in children), intermediate (25–50 ppb in adults, 20–35 ppb in children) or low (< 25 ppb in adults, < 20 ppb in children) FE_{NO} values are those of the latest ATS recommendations [10].

^b The dose of inhaled corticosteroids is considered low if ≤ 200 µg, intermediate if ranging between 200 and 400 µg and high if > 400 µg daily beclomethasone equivalent.

are probably related to the heterogeneity of inclusion criteria and primary objectives of these studies. However, it is now possible to identify a number of clinical situations related to asthma where exhaled NO measurement could help in diagnosis and therapeutic management of asthma in adults [87] and children (Table 4). Thus, the use of exhaled NO measurement clearly improves the management of certain well-targeted asthmatic populations such as pregnant women [55]. In its initial indication, namely the non-invasive detection of airway inflammation, the usefulness of NO measurement in exhaled breath is now widely recognized by various medical communities in France and around the world. Finally, the use of cumbersome measuring devices has contributed to limit this test to a small number of PFT laboratories. It is likely that this constraint is disappearing with the availability of portable devices [86,88–93], which could facilitate large-scale real-life studies. Exhaled NO measurement is paving the way for non-invasive tests of airway inflammation, the inflammatometry, while adopting a metabolomic approach of asthma through NO quantification, a ubiquitous gaseous metabolite. Thus, in the era of exhaled breath measurement for detecting and monitoring respiratory diseases, the pulmonologist will now have tools available for quantifying not only volumes and exhaled breath flow rates but also its chemical composition.

Acknowledgements

This manuscript has been approved by the Scientific Council members of the French Speaking Respiratory Society to whom we express our gratitude. We thank especially Doctors and Professors Philippe Bonniaud, Jean-Charles Dalphin, Agnès Hamzaoui, Christophe Leroyer and Thierry Perez who have reviewed and helped improving this manuscript thanks to their constructive comments.

Disclosure of interest

AT Dinh-Xuan has received honorarium from Aerocrine in order to participate to a symposium about exhaled NO during the Congrès de Pneumologie de Langue Française in 2013.

P. Berger: during the 5 previous years, Patrick Berger has been principal investigator, coordinator, scientific responsible of clinical studies promoted by Amgen, Novartis, GSK, Astra-Zeneca, Janssen, Boehringer Ingelheim. He has perceived fees or grants for participating to scientific meetings, communications, teaching programs, consulting, board experts and research programs for Novartis, GSK, AstraZeneca, Chiesi, Takeda and Pierre Fabre.

P. Chanez has performed consulting for Almirall, Boehringer Ingelheim, Centocor, GSK, MSD, AstraZeneca, Novartis, Teva, Chiesi and Schering Plough. He has participated to boards for Almirall, Boehringer Ingelheim, Centocor, GSK, AstraZeneca, Novartis, Teva, Chiesi, Schering Plough and MSD. He has received teaching fees from Almirall, Boehringer Ingelheim, Centocor, GSK, AstraZeneca, Novartis, Teva, Chiesi, Schering Plough and MSD. He has received grants from Almirall, Boston scientific, Boehringer Ingelheim, Centocor, GSK, AstraZeneca, Novartis, Teva, Chiesi, and Merck.

T. Chinet: during the 5 previous years, Thierry Chinet has perceived honorarium or grants for communications at

scientific meetings and participation to a board from AEROCRINE.

A. Didier: during the 5 previous years, Alain Didier has perceived honorarium or grants for communications at scientific meetings and participation to symposia from Stallergènes.

N. Roche: during the 5 previous years, Nicolas Roche has perceived honorarium or grants for participating to scientific meetings, communications, teaching programs, consulting, boards of experts from Aerocrine, Almirall, AstraZeneca, Boehringer Ingelheim, Chiesi, Cipla, GSK, MSD, MundiPharma, Meda, Novartis, Nycomed/Takeda, Pfizer, Stallergènes and Teva. He has received research grants from Novartis, Nycomed, Pfizer and Boehringer Ingelheim. He is coordinator or principal investigator of research projects promoted by Almirall, Novartis and GSK.

I. Annesi-Maesano, A. Chambellan, B. Degano, C. Delclaux, V. Demange, G. Garcia, A. Magnan and B. Mahut declare that they have no conflicts of interest concerning this article.

Version française

Introduction

Gaz biologique dont le rôle physiologique est probablement plus ancien que celui de l'oxygène [1], le monoxyde d'azote (NO) est – de par sa nature chimique – à la fois administrable par voie inhalée et détectable dans l'air expiré des patients [2]. Vingt-deux ans après la publication princeps de Gustafsson et al. [3], la mesure du NO expiré est maintenant un examen couramment utilisé par un nombre croissant de services hospitaliers pour la détection et la quantification non invasive de l'inflammation bronchique [4,5]. Depuis plus de vingt ans, près de 3300 articles recensés sur le site Pubmed [6] ont été publiés sur ce sujet, dont plus de 2100 articles sont consacrés à la place de la mesure du NO expiré dans l'asthme [7]. Les deux principales sociétés savantes internationales regroupant pneumologues, allergologues, physiologistes et pneumopédiatres (l'American Thoracic Society (ATS) et l'European Respiratory Society (ERS)) ont commencé à publier les premières recommandations en 1997 [8]. Ces recommandations ont été depuis régulièrement mises à jour [9,10] prouvant l'intérêt que représente cette méthode pour les affections inflammatoires pulmonaires.

Par rapport aux techniques d'explorations fonctionnelles respiratoires existantes, la mesure du NO dans l'air expiré présente des avantages indéniables, sans pour autant avoir vocation à les supplanter. Non invasive pour le patient, facile à réaliser pour le personnel de santé (technicien d'explorations fonctionnelles respiratoires et/ou médecin), la mesure du NO dans l'air expiré est le seul examen non invasif et reproductible permettant la détection d'une inflammation des voies aériennes. Elle apporte une aide au diagnostic de l'asthme et permet de mieux phénotyper les patients asthmatiques, notamment concernant leur sensibilité à la corticothérapie. De ce fait, l'asthme est la première maladie intéressée par la mesure du NO dans l'air expiré, de par sa prévalence, l'importance physiopathologique de l'inflammation bronchique et le rôle thérapeutique prépondérant des glucocorticoïdes (inhalés

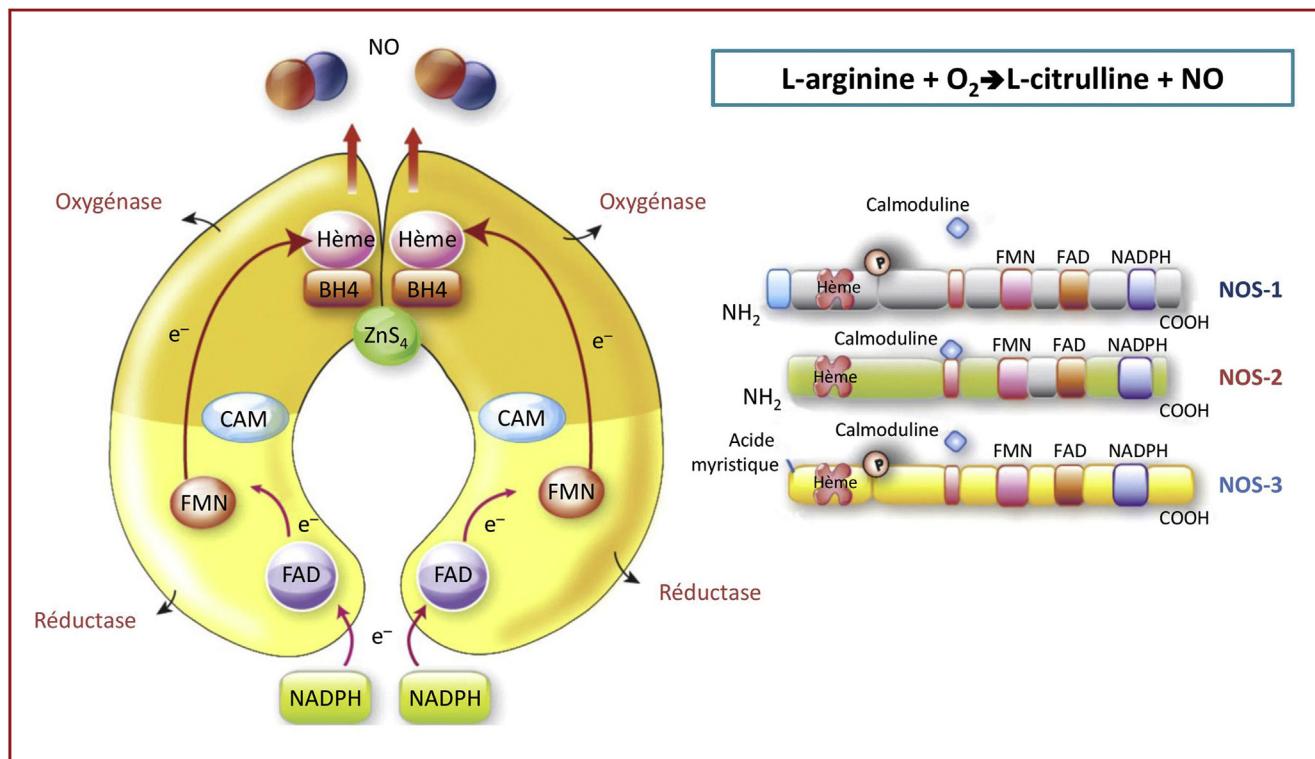


Figure 1. Les 3 isoformes des NO synthases.

et oraux) utilisés dans sa prise en charge. D'autres maladies beaucoup plus rares sont aussi concernées, comme la mucoviscidose [11], la dyskinésie ciliaire primitive [12] et l'atteinte interstitielle pulmonaire de la sclérodermie systémique [13,14] s'accompagnent également de modifications de la production du NO par l'appareil respiratoire. Les études évaluant la mesure du NO dans l'air expiré au cours de ces maladies, bien que de plus en nombreuses, ne seront pas analysées dans ce travail qui sera uniquement consacré à la place de la mesure du NO dans l'air expiré des patients asthmatiques.

La biologie du NO

La biosynthèse du radical NO, à partir de la L-arginine et de l'oxygène moléculaire, est sous la dépendance d'une famille d'enzymes, les NO synthases (NOS), dont les trois isoformes (NOS-1, NOS-2 et NOS-3) diffèrent entre elles par leurs fonctions, certaines localisations cellulaires et leurs caractéristiques biochimiques (Fig. 1) [15,16]. Les isoformes NOS-1 et NOS-3 appartiennent à la famille des NOS « constitutives ». À l'inverse, l'isoforme NOS-2 est inducible car sa présence n'apparaît que dans des états pathologiques comme le choc septique ou les maladies inflammatoires chroniques, dont l'asthme. La stimulation des isoformes constitutives (NOS-1 et NOS-3) se traduit par la production brève de très faibles quantités de NO, intervenant à l'état physiologique dans de nombreuses fonctions de l'organisme, allant de la modulation du tonus vasculaire aux mécanismes de la mémoire. Ainsi, actuellement leur expression apparaît comme totalement ubiquitaire. À l'opposé, l'induction du gène de la NOS-2 (normalement absente de la cellule)

donne lieu à la synthèse de novo de cette protéine qui, une fois présente, devient continuellement active. De ce fait, l'activité de la NOS-2 est responsable d'une production beaucoup plus importante en comparaison avec la production physiologique du NO provenant de l'activité des NOS constitutives. Le système respiratoire est particulier dans la mesure où la NOS inducible est en permanence active dans l'épithélium bronchique, sans doute du fait de l'exposition à l'environnement extérieur. Ceci explique que des concentrations relativement importantes de NO vont pouvoir diffuser des parois bronchiques vers le gaz présent dans les voies aériennes, et vont donc être mesurées dans l'air expiré. L'expression protéique à l'état basal des différentes isoformes de NOS est relativement faible dans le secteur alvéolaire par rapport au compartiment bronchique.

La L-arginine est également le substrat des arginases. Ces deux voies (NOS et arginases) sont étroitement liées et il est possible que la diminution du NO observée dans certaines situations (suppuration bronchique) soit expliquée non seulement par une baisse d'activité des NOS, mais aussi par une consommation du substrat arginine liée à une activation de l'arginase.

Le NO est à la fois un radical libre dérivé de l'oxygène (RLO) et un médiateur paracrine synthétisé par de nombreuses – si ce n'est toutes les – cellules de l'organisme. De par sa nature chimique, le NO est également assimilable à un vasodilatateur nitré endogène dont l'importance physiologique justifie l'utilisation thérapeutique depuis plus d'un siècle des dérivés nitrés dans le traitement des maladies cardiovasculaires. La place et l'importance du NO en physiologie respiratoire sont de connaissance beaucoup plus récente [17]. Il existe néanmoins aujourd'hui de nombreux

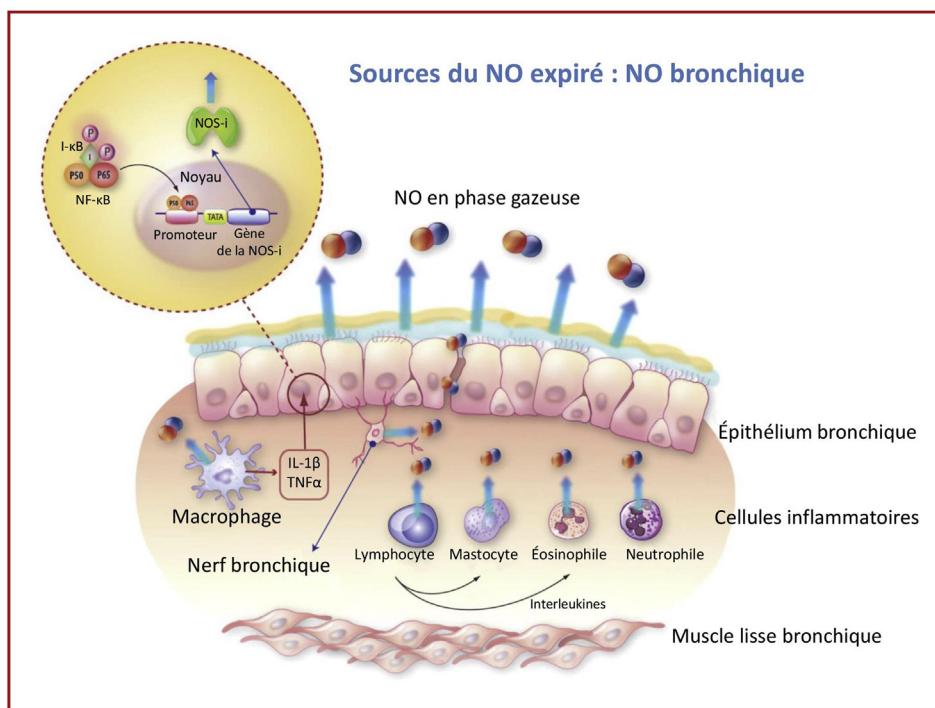


Figure 2. Sources cellulaires du NO dans l'appareil respiratoire.

arguments en faveur d'un rôle important du NO dans la modulation du tonus bronchique et la physiopathologie de l'asthme. Ces arguments sont de quatre ordres :

- le NO est un gaz extrêmement diffusible. Il est donc, par excellence, un médiateur de la communication intercellulaire dans les voies aériennes ;
- le NO est synthétisé par de nombreuses cellules pulmonaires (Fig. 2), notamment l'épithélium bronchique et les neurones du système non adrénnergique non cholinergique inhibiteur de l'appareil broncho-pulmonaire ;
- le muscle lisse bronchique possède des enzymes activables par le NO ;
- la production endogène du NO peut être modifiée par deux principales caractéristiques de nombreuses maladies broncho-pulmonaires : l'inflammation bronchique et le tabagisme.

Appareils de mesure du NO

En pratique, la mesure peut se limiter à l'étude de la concentration de NO durant un débit expiratoire unique. L'analyse de la relation entre débit expiratoire et concentration de NO permet de déterminer selon une approche aujourd'hui standardisée la capacité de production bronchique et la concentration alvéolaire en NO, distinguant ainsi la contribution respective des deux compartiments producteurs de NO. D'autres techniques en développement devraient à terme permettre le calcul de caractéristiques encore plus fines durant la ventilation courante.

Les premiers appareils de mesure (méthode de référence) utilisaient le principe de la chimioluminescence qui consiste à compter le nombre de photons émis lors du retour à l'état stable des molécules de NO_2 produites par la réaction du NO en présence d'excès d'ozone : le

signal lumineux mesuré est proportionnel à la concentration de NO dans le milieu étudié et l'appareil indique une concentration en ppb (10^{-9} L/L : part par milliard ou billion en terminologie anglo-saxonne). Les développements théoriques détaillés ci-dessous et la très grande majorité des études cliniques initiales ont été effectués avec ce type de matériel. Ces machines sont coûteuses à l'achat et sont donc réservées en général à quelques centres hospitalo-universitaires.

Une technique utilisant une mesure par des procédés électrochimiques (réduction du NO en métabolites dosables en phase aqueuse) a été secondairement développée dans une optique d'usage ambulatoire tout en satisfaisant aux recommandations internationales de mesure au débit unique de 50 mL/s. Cette méthodologie est moins adaptée à la mesure de faibles concentrations de NO. Au moins deux appareils de ce type sont actuellement disponibles sur le marché. Le coût est très réduit par rapport à la méthode utilisant la chimioluminescence ; ces appareils pourraient donc avoir une large diffusion, jusque dans les cabinets de praticiens extra-hospitaliers.

Mesures du NO expiré

La singularité de la mesure du NO est la dépendance entre la concentration ou fraction de NO mesurée dans un débit de gaz expiré (FE_{NO}) et l'importance de ce débit [18,19]. Cette relation a une explication théorique (modélisation interprétant cette dépendance) et des conséquences techniques (ensemble des conditions permettant la comparaison des mesures).

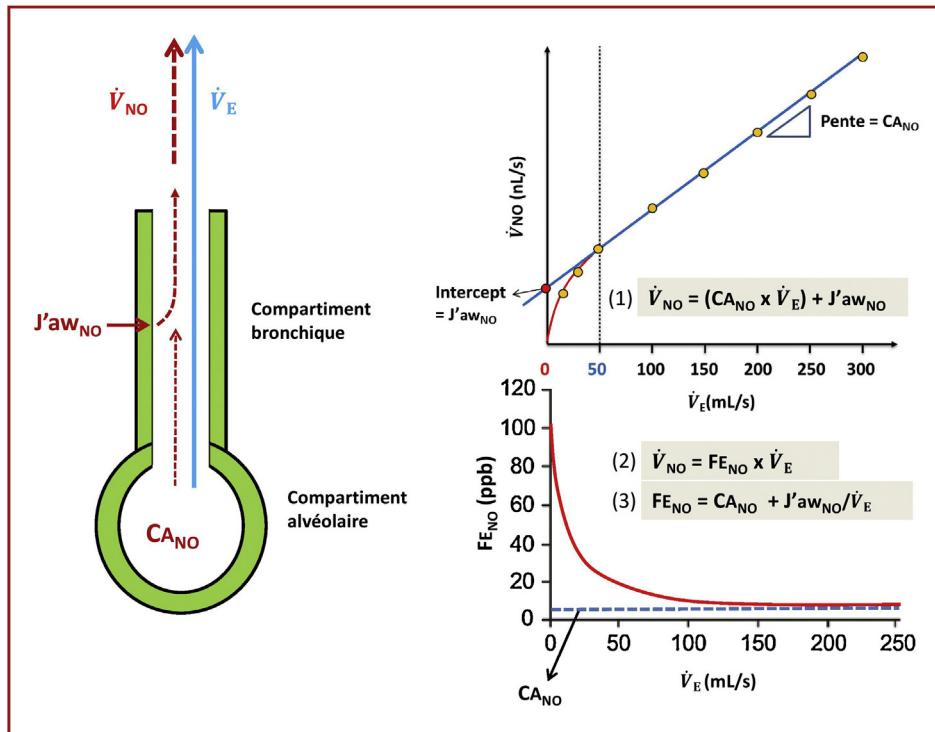


Figure 3. Modélisation linéaire : deux compartiments de production du NO. La concentration (CA_{NO}) ou fraction expirée de NO (FE_{NO}) est égale à la concentration alvéolaire (CA_{NO}) additionnée d'un débit maximal bronchique de NO ($J'aw_{NO}$) rapporté au débit expiratoire ($\dot{V}E$) (équation 3). Ainsi, à faible débit expiratoire (50 mL/s, débit recommandé pour la mesure à débit unique) et compte tenu des valeurs normalement basses de la CA_{NO} , la FE_{NO} est essentiellement le reflet du NO d'origine bronchique, dont l'augmentation traduit une inflammation des voies aériennes des sujets atopiques soumis à des expositions allergéniques.

Mesures utilisant des modélisations des échanges de NO dans les voies aériennes

L'équipe de Steven George est à l'origine de la majeure partie des avancées théoriques concernant ces modélisations et le lecteur intéressé pourra se référer à la succession d'articles décrivant ces aspects fondamentaux [20]. Dans le modèle décrit par cette équipe (Fig. 3), la production de NO par le système respiratoire est origininaire de deux compartiments en série : les voies aériennes et le poumon profond. Le compartiment compressible (poumon profond) contient une très faible concentration de NO, variable durant le cycle respiratoire mais qui peut être considérée comme stable (concentration alvéolaire de NO, CA_{NO}) après les 8 à 10 secondes d'apnée ou d'expiration continue nécessaires à l'obtention d'un état d'équilibre entre production locale et échange avec le lit vasculaire. Le flux de gaz en provenance de cet espace s'enrichit d'un certain débit de NO ($J'aw_{NO}$) durant son passage au travers des voies aériennes. On peut donc caractériser la contribution des voies aériennes par une grandeur ($J'aw_{NO}$) correspondant au débit maximal de NO que peut fournir la bronche lorsqu'il n'y a aucun facteur limitant le transfert du NO. Lors de faibles débits expiratoires (50 mL/s) l'enrichissement d'origine bronchique sera donc important. D'autres grandeurs décrivant ces échanges de NO peuvent être décrites et calculées [20] mais ne seront pas exposées. Ces grandeurs ont l'avantage d'être indépendantes du débit expiratoire et leur avantage théorique est de pouvoir distinguer la production de NO du secteur distal pulmonaire de celle des voies aériennes de conduction. Ainsi,

ces approches constituent la seule méthode d'exploration fonctionnelle respiratoire permettant une évaluation non invasive de l'inflammation distale pulmonaire. En pratique, ces approches impliquent la réalisation soit de plusieurs expirations à débits constants, soit d'une expiration à débit décroissant après une apnée, soit d'une mesure en ventilation courante (les deux dernières approches nécessitent un traitement informatique du domaine de la recherche [21]) avec en règle générale des appareils utilisant la chimiluminescence (du fait des faibles concentrations de NO à débit élevé). Cette modélisation est validée à la fois chez le sujet sain et en conditions pathologiques [22–25].

On pourra retenir simplement que la contribution bronchique au NO expiré est très majoritaire (en accord avec les sites de production) aux débits expiratoires faibles (notamment 50 mL/s). Au cours de l'atopie (avec ou sans asthme), il existe une augmentation de la production bronchique de NO ($J'aw_{NO}$) [26], expliquant l'augmentation de FE_{NO} . Au cours de l'asthme, $J'aw_{NO}$ (et FE_{NO}) est corrélée à l'inflammation eosinophilique des voies aériennes [27,28]. Une inflammation distale, augmentation de CA_{NO} , caractérise un certain nombre de sujets asthmatiques, mais l'utilité de sa mesure reste à démontrer [29].

Mesure du NO expiré durant un débit expiratoire unique

Il s'agit de la mesure la plus couramment réalisée et cette approche fournit une information qui répond probablement à la plupart des questions du clinicien. Plusieurs

réunions de consensus en ont précisé les modalités [30–32,8], sans modifier fondamentalement leurs recommandations qui portent essentiellement sur la prévention de la contamination rhino-sinusienne, et insistent sur la dépendance entre concentration du NO expiré et débit expiratoire. De nombreux facteurs liés aux conditions de mesures ou au sujet (caractéristiques morphométriques, prises médicamenteuses, maladies intercurrentes) peuvent influencer les résultats de mesure du NO expiré (**Tableau 1**). Les trois points essentiels à la réalisation d'une mesure à débit unique sont :

- expiration immédiate contre une résistance buccale (5 à 15 cmH₂O). Le NO produit par la sphère ORL est ainsi isolé du flux de gaz issu des voies aériennes inférieures par la fermeture du voile du palais durant l'expiration ;
- débit expiratoire constant : les recommandations des sociétés savantes ont d'abord semblé contradictoires (200 mL/s pour l'ERS versus 50 mL/s pour l'ATS [30,8]). La dernière conférence propose d'utiliser un débit de 50 ± 5 mL/s [31], en laissant cependant la possibilité d'appliquer d'autres débits en fonction du type d'informations recherchées (l'inflammation distale devrait ainsi être recherchée avec des débits expiratoires élevés) ;
- durée de l'expiration : elle doit être d'au moins 6 secondes chez l'adulte et d'au moins 4 secondes chez l'enfant de moins de 12 ans. On moyenne la fraction de NO mesurée durant un plateau d'au moins 3 secondes, la variation entre les points extrêmes de ce plateau devant être inférieure à 10 %.

La première partie de l'expiration, s'accompagnant souvent d'un pic de concentration de NO, correspond, d'une part, à la vidange de l'espace mort et, d'autre part, au délai nécessaire à l'obtention de conditions stables, notamment dans l'espace alvéolaire.

Compte tenu de la forte production du NO par l'épithélium nasal, l'utilisation d'un pince-nez est fortement déconseillée du fait du risque de contamination du

NO bronchique par le NO provenant des cavités rhino-sinusienne. Le NO ambiant n'a pas d'influence sur le résultat, sauf peut-être si la concentration est élevée de façon durable (supérieure à 50 ppb durant plusieurs heures), ce qui a potentiellement un effet dépresseur sur l'activité des NO synthases. La variation intra-individuelle de FE_{NO} est inférieure à 10–15 % chez la plupart de sujets [33] mais cette bonne reproductibilité n'est pas observée chez quelques patients, notamment atopiques, sans qu'on puisse clairement caractériser ces sujets [21]. Les manœuvres expiratoires forcées diminuent la FE_{NO} et il est donc recommandé d'effectuer sa mesure avant la réalisation d'une spirométrie et au moins 30 mn après un exercice soutenu.

Le débit expiratoire utilisé durant la mesure doit être indiqué dans l'énoncé du résultat : FE_{NO 0.05} = 10 ppb signifie que la concentration moyenne de NO mesuré pendant au moins 3 secondes dans la deuxième partie d'une expiration effectuée à 0,05 L/s (ou FE_{NO 50} pour 50 mL/s) est de 10 ppb. L'examen est réalisable chez l'enfant coopérant à partir de l'âge de 8–9 ans. La difficulté principale est de maintenir un débit expiratoire stable : certains appareils proposent un contrôleur de flux qui accroît considérablement la fiabilité de l'examen. Il est alors possible d'obtenir une mesure interprétable à l'âge de 4–5 ans chez près d'un enfant sur deux [33].

NO, inflammation pulmonaire et asthme

L'inflammation pulmonaire entraîne une forte augmentation de la synthèse de NO par les cellules inflammatoires en activant l'isoforme inducible de la NO synthase (NOSi ou NOS2) par un mécanisme dépendant du facteur de transcription NF-κB. De par sa nature gazeuse, le NO produit par les cellules pulmonaires est présent dans les volumes d'air parcourant les voies respiratoires, diffusant du milieu le plus concentré vers le milieu le moins concentré. Une forte production de NO par les cellules pulmonaires se traduit par une présence accrue de NO dans l'air expiré, dont le volume est quantifiable par diverses méthodes de mesure (chimiluminescence ou électrochimie). De ce fait, une concentration élevée de NO dans l'air expiré est fréquente lors d'une inflammation, aiguë ou chronique, affectant les voies respiratoires (asthme, bronchites aigües virales ou bactériennes, pneumopathies infectieuses, maladies systémiques auto-immunes avec une atteinte pulmonaire). Deux maladies font exception à cette règle : la mucoviscidose (pour des raisons imparfaitement élucidées) [11] et la bronchite chronique post-tabagique (par un mécanisme d'inhibition de la synthèse de NO endogène par de très fortes quantités de NO exogène contenu dans la fumée de tabac).

L'asthme est une maladie inflammatoire bronchique. L'inflammation des voies aériennes dans l'asthme est un processus chronique, dont l'intensité, variable dans le temps, est liée à l'hyperréactivité bronchique, l'obstruction des voies aériennes et les remaniements histologiques de la structure bronchique (remodelage). Il existe plusieurs types d'inflammation dans l'asthme : inflammation éosinophile, neutrophile, mixte et pauvre en polynucléaires. L'inflammation éosinophile est la forme d'inflammation prépondérante dans l'asthme. Elle est connue pour sa sensibilité à la corticothérapie et la forte corrélation entre la présence de polynucléaires éosinophiles dans les sécrétions

Tableau 1 Facteurs (en dehors de l'atopie et de l'inflammation bronchique) pouvant influencer la mesure du NO dans l'air expiré.

Facteurs augmentant la concentration de NO expiré

- Taille
- Âge
 - Chez l'enfant (probablement en relation avec la taille)
- Rhinite
- Infections pulmonaires
- Aliments
 - Riches en nitrates

Facteurs diminuant la concentration de NO expiré

- Fumée de cigarette
- Tabagisme actif et passif
- Corticothérapie
- Orale et inhalée
- Manœuvres respiratoires
- Café

Tableau 2 Spécificité, sensibilité et valeurs prédictives de la mesure du NO expiré dans l'asthme. Il est à noter que le NO expiré a constamment une forte valeur prédictive négative, retrouvée d'une étude à l'autre.

Indications	Seuil (ppb)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Valeur prédictive positive (%)	Valeur prédictive négative (%)	Auteurs (Réf.)
<i>Diagnostic d'asthme chez des personnes avec Des symptômes respiratoires non spécifiques</i>						
Une toux chronique	20	88	79	70	92	Smith et al. [36]
Idem	30	75	87	60	93	Chatkin et al. [37]
Idem	40	88	83	73	93	Kowal et al. [38]
Idem	32	86	76	47	95	Oh et al. [39]
<i>Réponses aux glucocorticoïdes chez des personnes avec Des symptômes respiratoires non spécifiques</i>						
Une toux chronique	47	82	91	82	91	Smith et al. [40]
Un asthme sévère	38	90	85	90	85	Hahn et al. [41]
	30	88	91	88	91	Pérez de Llano et al. [42]

bronchiques et l'augmentation de la concentration de NO dans l'air expiré [34,35].

Valeur prédictive de la mesure du NO expiré pour diagnostiquer l'asthme

La mesure du NO dans l'air expiré peut contribuer au diagnostic d'asthme lorsque les symptômes cliniques sont non spécifiques et les explorations fonctionnelles respiratoires normales [36–42]. En effet, des valeurs élevées de la concentration de NO dans l'air expiré sont corrélées à l'inflammation bronchique, dont la présence associée aux signes cliniques évocateurs d'asthme, est un argument fort en faveur de la maladie (Tableau 2). Dans ce contexte, la mesure du NO dans l'air expiré a une meilleure valeur prédictive que les tests d'explorations fonctionnelles respiratoires classiques tels que le volume expiratoire maximal à la première seconde (VEMS), le rapport VEMS/capacité vitale forcée et les variations du débit expiratoire de pointe (DEP) [36]. La valeur prédictive du NO expiré pour diagnostiquer l'asthme est par ailleurs comparable à celle des tests de provocation bronchique (méthacholine, exercice, adénosine-5'-monophosphate) [43]. Par rapport à ces tests de provocation, la mesure du NO dans l'air expiré est plus rapide et ne présente pas de risque de provoquer d'obstruction bronchique [43].

Valeur prédictive de la mesure du NO expiré sur la réponse aux corticoïdes

La corticothérapie demeure le traitement anti-inflammatoire de référence dans l'asthme. L'utilisation des corticoïdes inhalés est recommandée pour le traitement de fond de l'asthme persistant, alors que le recours à la voie orale est souvent nécessaire dans les asthmes les plus

sévères. Pourtant, la réponse aux traitements corticoïdes présente une forte variabilité interindividuelle et, chez un même individu, cette réponse peut fluctuer au cours du temps, en fonction de l'évolution de la maladie astmatique et de l'importance de l'inflammation.

Dans ce contexte, la possibilité d'avoir un test individuel prédictif de la sensibilité aux corticoïdes ne peut être qu'intéressante. De nombreuses publications ont montré que la concentration de NO dans l'air expiré, du fait de sa corrélation avec l'inflammation à polynucléaires éosinophiles, elle-même sensible à la corticothérapie, a un meilleur pouvoir prédictif que les autres tests respiratoires tels que la mesure du volume expiratoire maximal à la première seconde (VEMS), la réversibilité bronchique et la variabilité du débit expiratoire de pointe (DEP) [40]. Une récente étude vient d'étendre ce pouvoir prédictif de la concentration de NO dans l'air expiré sur la réponse aux corticoïdes aux autres formes d'asthme, notamment l'asthme non éosinophilique [44].

Corrélation entre la mesure du NO expiré et le contrôle de l'asthme

Selon les recommandations internationales et nationales françaises, l'ajustement de la corticothérapie inhalee dans l'asthme est fondé sur le contrôle de la maladie [45] dont la mesure est le principal critère d'évaluation de la stabilité de la maladie, et donc de l'efficacité du traitement de fond. Le contrôle de l'asthme est défini par l'absence de symptôme diurne et nocturne, l'absence d'utilisation de bronchodilatateurs de courte durée d'action et la normalité des épreuves fonctionnelles respiratoires notamment du VEMS [45]. Par extension, la perte du contrôle de l'asthme est un évènement majeur de la maladie nécessitant une nouvelle

prise en charge et souvent un changement thérapeutique (augmentation des doses de corticoïdes inhalés, passage à la voie orale, etc.). La perte de contrôle de l'asthme peut annoncer une exacerbation nécessitant une cure de corticoïdes oraux ou une hospitalisation.

La mesure de la concentration de NO expiré peut prédire le maintien d'un bon contrôle de l'asthme avec une valeur prédictive de plus de 95 % lorsque le NO est inférieur à 40 ppb [46]. Les variations des valeurs du NO expiré sont associées au niveau de contrôle de l'asthme : une réduction de plus de 40 % de la valeur initiale équivaut à un contrôle optimal de l'asthme [47]. De même, le gain de contrôle de l'asthme sera d'autant plus probable que la concentration initiale de NO expiré est élevée (supérieure à 30 ppb) [42,47]. À l'inverse, la perte de contrôle de l'asthme est associée de façon significative à une augmentation de plus de 30 % chez l'asthmatique sans rhinite (et plus de 40 % chez l'asthmatique avec une rhinite concomitante) de la concentration de NO expiré entre la première et la seconde mesure [48].

L'arrêt de la corticothérapie, souvent pratiqué par les pédiatres afin de minimiser les risques d'effets secondaires des glucocorticoïdes sur la croissance des enfants dont l'asthme est bien contrôlé, expose ces mêmes enfants sevrés en corticoïdes à un risque de rechute. Dans ce contexte, une ré-augmentation précoce de la concentration de NO dans l'air expiré traduit la réapparition de l'inflammation bronchique et précède de quelques jours à quelques semaines la rechute clinique de la maladie [49].

Apport de la mesure du NO expiré sur l'ajustement de la corticothérapie inhalée

Idéalement, il faudrait pouvoir ajuster la posologie de la corticothérapie en fonction de la présence ou de l'absence d'inflammation, mais aussi en fonction de l'importance de cette dernière. Force est de constater qu'aucun paramètre, tant clinique (nombre d'épisodes de symptômes diurnes ou nocturnes) que fonctionnel (VEMS, DEP, présence d'une hyperréactivité bronchique) n'est suffisamment sensible pour permettre d'adapter la posologie de la corticothérapie à l'évolution de la maladie. L'intérêt de la mesure de la concentration de NO expiré pour ajuster la corticothérapie inhalée a été évalué au cours de plusieurs études randomisées chez l'enfant et/ou chez l'adulte, en simple et en double insu.

Smith et al. ont montré que l'ajustement thérapeutique en fonction du NO expiré a permis de réduire les doses de corticoïdes sans pour autant aggraver le niveau de contrôle de l'asthme [50]. Dans cette étude en simple insu, 97 patients asthmatiques âgés de 12 à 73 ans, sous corticothérapie inhalée seule, ont été randomisés entre une stratégie conventionnelle basée sur le contrôle de l'asthme et une stratégie basée uniquement sur le NO expiré [50]. Il a ainsi été montré que la stratégie basée sur le NO permettait une épargne corticoïde significative de 270 µg/jour de fluticasone, sans différence entre les deux stratégies sur le niveau de contrôle ou sur le nombre d'exacerbations [50]. Dans une autre étude toujours en simple insu, 118 patients asthmatiques âgés de 20 à 81 ans ont été randomisés entre les deux mêmes stratégies [51]. Là non plus, aucune différence n'a été retrouvée entre les deux

stratégies concernant le niveau de contrôle et le nombre d'exacerbations [51]. En fin d'étude, la stratégie basée sur le NO expiré permettait cependant une épargne en corticoïdes inhalés de 338 µg/jour mais globalement, sur les 12 mois de l'étude, la différence n'était pas significative [51]. Concernant les études en double insu, une première étude concerne 546 patients asthmatiques non contrôlés, âgés de 12 à 20 ans randomisés entre une stratégie conventionnelle et une stratégie où le NO expiré est ajouté à la stratégie conventionnelle [52]. Comme précédemment, il n'y avait pas de différence entre le niveau de contrôle de l'asthme ou le nombre d'exacerbations entre les deux stratégies mais ici l'épargne corticoïde n'était pas retrouvée dans la stratégie utilisant le NO en plus du contrôle [52]. Cependant, l'algorithme de Szeffler et al. permettait d'utiliser le NO expiré pour augmenter la corticothérapie inhalée même quand le contrôle clinique était optimal, alors que cette dose ne pouvait pas être réduite quand le NO expiré était bas à moins que tous les autres paramètres soient aussi contrôlés [52]. Deux études ont été conduites chez les enfants asthmatiques. Dans une première étude, 89 enfants asthmatiques légers à modérés âgés de 6 à 18 ans ont été randomisés entre une stratégie basée uniquement sur les symptômes et une stratégie combinant symptômes et NO expiré avec des visites tous les 3 mois [53]. La dose de corticoïdes inhalés, le niveau de contrôle et le nombre d'exacerbations n'étaient pas significativement différents entre les deux groupes [53]. En revanche, l'amélioration du VEMS et de l'hyperréactivité bronchique était significative dans le groupe NO expiré et non significative dans le groupe symptômes seuls [53]. Dans une seconde étude de la même équipe, 151 enfants asthmatiques allergiques légers à modérés âgés de 6 à 18 ans ont été randomisés entre une stratégie basée uniquement sur les symptômes et une stratégie combinant symptômes et NO expiré comme précédemment mais avec une acquisition quotidienne des informations par télé-monitorage [54]. Ces deux stratégies ont amélioré le contrôle de la maladie ou diminué la dose de corticoïdes inhalés, sans qu'une différence ne soit retrouvée entre les deux télé-monitorages [54]. Comme dans l'étude précédente et bien que plus bas dans le groupe NO expiré, le nombre d'exacerbations n'était pas significativement différent du groupe traité selon les symptômes seuls, mais la taille de l'échantillon n'avait pas été dimensionnée pour établir une telle différence [54].

Une récente étude randomisée et contrôlée vient de montrer que les femmes enceintes asthmatiques dont la corticothérapie a été réglée en fonction des valeurs de NO expiré ont moins d'exacerbations que celles du groupe témoin [55]. L'hospitalisation en unité de soins intensifs des nouveau-nés des mères asthmatiques suivies par le NO expiré fut également significativement réduite par rapport à ceux du groupe témoin [55]. Dans cette étude également en double insu, 220 femmes asthmatiques enceintes âgées de 28 ans en moyenne ont été randomisées entre une stratégie conventionnelle et une stratégie où le NO expiré est ajouté à la stratégie conventionnelle [55]. Contrairement à l'étude précédente, les nombres d'exacerbations et d'utilisation de β_2 -mimétiques à la demande sont réduits dans la stratégie utilisant le NO. De plus, le nombre d'hospitalisations néonatales est également réduit significativement [55]. Enfin, dans cette dernière étude également en double insu,

342 patients adultes asthmatiques légers à modérés ont été randomisés en 3 stratégies, la première basée sur le VEMS et les symptômes, la deuxième uniquement sur le NO expiré et la troisième uniquement sur les symptômes [56]. Aucune différence n'a été retrouvée sur le délai d'échec au traitement.

Une récente méta-analyse reprenant plusieurs méta-analyses antérieures, ainsi que deux revues systématiques Cochrane, indiquent que l'utilisation du NO expiré permet de réduire significativement la corticothérapie inhalée chez l'adulte mais pas chez l'enfant [57]. En revanche, d'après ce travail, l'utilisation du NO expiré ne permet pas de réduire le nombre de patients présentant une ou des exacerbations [57]. À noter que cette méta-analyse ne prenait pas en compte l'étude de Powell [55]. Une méta-analyse plus récente, qui prend en compte les études chez l'adulte de Smith [50], Shaw [51] et Powell [55], retrouve au contraire que le taux d'exacerbations est significativement réduit par une stratégie basée sur le NO expiré [58]. Au total, le niveau de preuve en faveur de l'utilisation du NO expiré pour l'ajustement de la corticothérapie inhalée est forte chez l'adulte. Chez l'enfant en revanche, il manque de preuves formelles, mais les algorithmes les plus efficaces de l'adulte n'ont pas été utilisés. De plus, si les différentes études contrôlées ont pu donner des résultats discordants concernant l'apport de la mesure du NO expiré dans l'asthme de l'adulte et de l'enfant, les raisons de ces résultats discordants sont d'ordre technique (débit expiratoire de prélèvement du gaz expiré, choix des valeurs seuil de NO pour augmenter ou diminuer la corticothérapie) et/ou méthodologique (choix du principal objectif : contrôle de l'asthme vs nombre d'exacerbations). L'hétérogénéité des populations d'asthmatiques (avec différents stades de gravité de l'asthme des patients inclus) semble également une cause plausible pour expliquer la discordance entre les différentes études randomisées conduites jusqu'à ce jour. La mesure de la concentration du NO dans l'air expiré des femmes enceintes asthmatiques permet un meilleur contrôle de leur maladie asthmatische [55].

Utilité de la mesure du NO expiré pour évaluer l'observance chez les malades asthmatiques

La mauvaise observance du traitement de fond est une des principales causes de mauvais contrôle de la maladie asthmatische [59–61]. Cependant, il n'existe pas en pratique de méthode fiable pour évaluer la mauvaise observance. La démonstration que la valeur mesurée de la concentration du NO expiré varie en fonction du degré d'inflammation bronchique et du contrôle de la maladie par le traitement de fond chez certains asthmatiques permet de proposer l'utilisation de cette mesure pour apprécier l'observance. En effet, on peut émettre l'hypothèse qu'une des causes de l'élévation de FE_{NO} chez un asthmatique traité par corticostéroïde inhalé pourrait être une observance insuffisante. Cette hypothèse a été renforcée par des observations réalisées chez l'enfant [62–64]. Une étude portant sur 31 enfants asthmatiques (6–15 ans) a rapporté une forte corrélation entre la variation de FE_{NO} et l'observance de la prise de budésonide (mesurée sur l'indicateur de dose du Turbuhaler®) [62]. Un autre travail portant sur 30 enfants asthmatiques (7–17 ans) a également mis en évidence une

corrélation hautement significative entre la valeur de FE_{NO} et l'observance, appréciée par les enfants eux-mêmes [63]. Cano-Garcinuno et al. [64] ont recruté 151 enfants asthmatiques de 6 à 14 ans et étudié les relations entre la mesure de FE_{NO} et toute une série de données cliniques et fonctionnelles. Leur principal résultat est que chez les patients traités par corticostéroïdes inhalés, le seul facteur significativement associé à la valeur de FE_{NO} était l'observance rapportée par l'enfant lui-même ou ses parents. En revanche, Katsara et al. [65] ont mesuré FE_{NO} chez 20 enfants asthmatiques de 7 à 14 ans à 4 reprises à un mois d'intervalle et enregistré l'utilisation de l'aérosol-doseur administrant le corticostéroïde inhalé grâce à un dispositif électronique. La corrélation entre ces 2 mesures n'était pas significative. Cependant, il n'est pas établi que tous ces sujets avaient une valeur de FE_{NO} élevée sans traitement anti-inflammatoire et les auteurs concluaient malgré tout que la mauvaise observance était l'explication la plus probable des valeurs élevées de FE_{NO} dans leur population mais n'était pas la seule cause.

Un travail récent vient clairement conforter l'hypothèse de départ [66]. Les auteurs ont recruté des patients atteints d'asthme mal contrôlé et présentant un FE_{NO} initial élevé (> 45 ppm) à deux reprises. Les patients étaient identifiés comme «observants» ou «non-observants» selon le taux de renouvellement effectif de leur prescription médicamenteuse (> 80% et < 50% respectivement). Dans une première phase, un groupe de 9 participants «non-observants» et 13 «observants» a reçu un traitement corticoïde inhalé (1600 µg/j de budésonide en 2 prises journalières) sous surveillance directe pendant 7 jours. À l'issue de cette phase, la réduction de FE_{NO} était significativement plus élevée dans le groupe «non-observants» que dans le groupe «observants» (79% versus 47%). Les auteurs ont ainsi pu calculer un seuil de diminution de FE_{NO} au bout de 5 jours de traitement permettant de différencier les asthmatiques «observants» et «non-observants» ($\log_{10}\Delta\text{FE}_{\text{NO}} \geq 0,24$). Dans une seconde phase (phase de validation), 40 autres asthmatiques ayant un FE_{NO} élevé (> 45 ppm) à deux reprises ont reçu le traitement corticoïde inhalé sous supervision directe durant 5 jours et ont pu être ainsi classés comme «observants» et «non-observants» selon le seuil calculé dans la phase 1. Treize participants se sont vus ainsi classés dans le groupe «non-observants». Par comparaison avec un score composite d'adhésion basé sur les prescriptions effectivement délivrées, un entretien ciblé, des dosages sanguins (cortisolémie...) et l'analyse de l'utilisation de l'inhalateur, le test proposé par les auteurs avait une valeur prédictive positive de 92% et une valeur prédictive négative de 78% pour l'observance. Les auteurs concluent que l'importance de la diminution de FE_{NO} lors de la prise contrôlée de corticoïde inhalé pourrait permettre de différencier les asthmatiques «observants» et les «non-observants». Bien évidemment, cette observation ne s'applique qu'aux asthmatiques dont le taux initial de FE_{NO} est élevé et diminue lors de la prise effective de corticoïde inhalé ; de surcroît, ce résultat doit être confirmé par d'autres études. Néanmoins, l'ensemble des données disponibles suggère que la mesure de FE_{NO} peut aider à identifier les asthmatiques non-observants parmi le sous-groupe ayant une valeur de FE_{NO} initialement élevée.

Apport de la mesure du NO expiré dans les asthmes en relation avec le travail

Dans le domaine de la recherche sur la santé respiratoire en milieu professionnel, la mesure de FeNO est de plus en plus souvent intégrée dans la batterie d'examens utilisés et a été réalisée chez des salariés de différents milieux professionnels : salariés exposés à des animaux de laboratoire, aux endotoxines, à des épices, aux isocyanates, au latex ou encore chez des agriculteurs, boulanger, personnel de soins, maîtres-nageurs [67–69]. Certaines études ont observé un niveau élevé de NO expiré chez des salariés sensibilisés [69] ou son augmentation après un test de provocation spécifique chez des salariés sensibilisés [67,70,71]. L'augmentation du NO expiré a été observée de 24 à 48 heures après l'exposition aux allergènes du milieu professionnel [67]. D'autres études cependant, n'ont pas observé d'association entre la mesure de NO expiré et le résultat de tests de provocation bronchique spécifique ou la concentration en IgE spécifiques pour le latex, les diisocyanates et l'isocyanurate de triglycidyle [72,73] ou d'augmentation de la mesure de NO expiré avec l'augmentation de l'exposition au chrome et au cobalt [74]. Dans une étude cas-témoins dans le milieu professionnel du nettoyage, la mesure du NO expiré n'était pas plus élevée chez les asthmatiques que chez les non-asthmatiques. Par contre, elle était plus élevée en cas d'utilisation de produits de nettoyage multi-usages [75]. Chez des apprentis boulanger et coiffeurs suivis pendant leur apprentissage, l'augmentation du NO expiré était associée à l'apparition d'une hyperréactivité bronchique non spécifique [76]. La mesure du NO expiré n'était pas augmentée chez des agents hospitaliers exposés à des détergents par rapport à des agents hospitaliers non exposés, alors que d'autres biomarqueurs d'inflammation et de stress oxydatif étaient augmentés dans le premier groupe par rapport au second, pouvant suggérer un mécanisme irritatif plutôt qu'allergique [77]. Une étude auprès d'apprentis boulanger et coiffeurs, visant à comparer la performance de la mesure du NO expiré et de la spirométrie dans la surveillance de leur santé respiratoire, a observé que chaque examen apporte des informations uniques sur le système respiratoire et permet d'identifier des sujets nécessitant des investigations plus poussées [78]. Une étude chez des salariés exposés à des poussières organiques riches en endotoxines a observé que la mesure de NO expiré avait diminué de façon statistiquement significative un an après l'arrêt de l'exposition, de même que d'autres marqueurs d'inflammation des voies aériennes [79]. Les mesures du NO expiré et du peroxyde d'hydrogène ont été utilisées pour suivre l'évolution de l'asthme professionnel au latex d'une infirmière maintenue à son poste après aménagement, se

plaint d'une reprise des symptômes. Alors que les tests standards en laboratoire ou au poste de travail variaient peu entre les périodes de travail (de nuit) et de repos, ces mesures augmentaient clairement avec l'activité professionnelle [80].

En résumé, dans le domaine de la recherche sur la santé respiratoire en milieu professionnel, la mesure du NO expiré est utilisée en complément d'autres explorations fonctionnelles ou biologiques. Dans ce cadre, elle pourrait aider à surveiller l'effet de certaines expositions professionnelles sur la santé respiratoire de travailleurs, à comprendre les mécanismes physiopathologiques et à suivre les effets d'une réduction ou d'une suppression de l'exposition professionnelle.

En ce qui concerne la pratique clinique, l'ATS note dans ses recommandations en 2011 que la mesure du NO expiré avant et après les tests d'inhalation d'allergènes peut avoir un intérêt dans l'asthme professionnel [10]. De même, la mesure du NO expiré pendant des périodes de travail et de repos, comme l'analyse de l'expectoration induite, permet d'augmenter la précision du diagnostic d'asthme professionnel [81]. L'Académie européenne d'allergologie et d'immunologie clinique précise que la mesure du NO expiré, moins spécifique que le compte des cellules dans l'expectoration induite, apporte des informations utiles quand l'analyse de celle-ci n'est pas possible, ce qui est le cas en pratique quotidienne [82]. En résumé, la mesure du NO expiré ne peut remplacer les explorations de référence de l'asthme professionnel mais peut contribuer au diagnostic, au même titre que des résultats obtenus par d'autres techniques non ou peu invasives comme l'expectoration induite ou les condensats de l'air exhalé [83].

Données médico-économiques

La mesure du NO expiré pour détecter l'inflammation dans l'asthme est actuellement remboursée dans plusieurs pays d'Europe (Suisse, Pays-Bas, Danemark, Norvège, Italie, Portugal, République Tchèque). Les études de l'impact médico-économique de cet examen doivent comparer l'apport de la FE_{NO} dans le diagnostic de l'asthme en comparant la valeur diagnostique de ce test à celles apportées par la spirométrie et les tests d'hyperréactivité bronchique (méthacholine, exercice physique...), ainsi que dans le suivi des patients asthmatiques pour savoir si la mesure de la FE_{NO} permet de réduire les coûts liés aux traitements des exacerbations et à l'hospitalisation des malades. Les données des deux études déjà publiées (une étude allemande [84] et une étude britannique [85]) suggèrent que la mesure de la FE_{NO} permet de faire des économies tant pour le

Tableau 3 Intérêts médico-économique de la mesure du NO expiré dans le diagnostic et le suivi de l'asthme.

Pays	Procédure	Gain	Références
Allemagne	Diagnostic	+12 € (+18 € si FE _{NO} + spirométrie)	[84]
	Suivi	-30 € (-160 € pour modérés-sévères) +0,055 QALYs	
Royaume-Uni	Diagnostic	-43 £ (+ 42 £ si FE _{NO} + spirométrie)	[85]
	Suivi	-341 (£ -554 £ pour modérés-sévères) +0,06–0,004 QALYs	

Tableau 4 Utilité de la mesure du NO expiré dans la détection de l'inflammation bronchique dans l'asthme.

<i>L'asthme est suspecté (sans avoir été formellement diagnostiqué) chez un patient ayant Des symptômes atypiques ou dont la description est floue (avec ou sans atopie, avec ou sans hyperréactivité bronchique connue)</i>
Des valeurs élevées ^a de FE _{NO} renforcent le diagnostic d'asthme
Des valeurs basses de FE _{NO} ne permettent pas d'éliminer le diagnostic d'asthme
<i>Des symptômes typiques</i>
Des valeurs élevées de FE _{NO} renforcent la probabilité d'un asthme allergique
Des valeurs normales ou basses de FE _{NO} réduisent la probabilité de l'existence d'une sensibilisation à un allergène présent dans l'environnement du patient
<i>L'asthme est connu, mais non contrôlé, chez un patient n'ayant pas encore reçu (ou recevant de faibles doses) de corticoïdes inhalés</i>
Des valeurs élevées de FE _{NO} renforcent la probabilité de l'efficacité de la corticothérapie (instauration ou augmentation de la posologie) ou de la prise en charge d'une mauvaise observance
Des valeurs normales ou basses de FE _{NO} n'excluent pas le test thérapeutique aux corticoïdes inhalés
<i>L'asthme est connu, et contrôlé, chez un patient traité par corticoïdes inhalés</i>
Des valeurs élevées de FE _{NO} sont en faveur du maintien des doses de corticoïdes inhalés si celles-ci sont intermédiaires ou fortes ^b , mais ne doivent pas inciter à augmenter la posologie chez les malades recevant de faibles doses de corticoïdes inhalés
Des valeurs intermédiaires ou basses de FE _{NO} sont en faveur d'une diminution de la corticothérapie inhalée chez les malades recevant de fortes doses de corticoïdes inhalés et sont contre une augmentation de la corticothérapie chez des malades recevant de faibles doses de corticoïdes inhalés
<i>L'asthme est connu, mais non contrôlé, chez un patient déjà traité par des corticoïdes inhalés à doses maximales</i>
Des valeurs élevées de FE _{NO} renforcent la probabilité d'un traitement efficace par les anti-IgE

^a Les critères des valeurs élevées (> 50 ppb chez l'adulte, > 35 ppb chez l'enfant), intermédiaires (de 25 à 50 ppb chez l'adulte, de 20 à 35 ppb chez l'enfant) ou basses (< 25 ppb chez l'adulte, < 20 ppb chez l'enfant) de FE_{NO} sont ceux des dernières recommandations de l'ATS [10].

^b Une corticothérapie inhalée est considérée comme faible si la posologie journalière est ≤ 200 µg, intermédiaire, comprise entre 200 et 400 µg, et forte > 400 µg équivalent bêclométhasone.

diagnostic de l'asthme que le suivi des patients asthmatiques (**Tableau 3**). Ces données encourageantes doivent être confortées par d'autres études à venir provenant d'autres pays en Europe et dans le monde et soulignent la nécessité d'une étude vraie-vie pour confirmer l'intérêt économique de la FE_{NO} dans la prise en charge de l'asthme [86].

Conclusion

Les études randomisées n'ont jusqu'à maintenant pu apporter une réponse claire quant à l'apport de la méthode dans l'ajustement de la corticothérapie inhalé au cours de l'asthme [57]. Notons ici qu'aucune méthode d'explorations fonctionnelles respiratoires n'a jusqu'à ce jour prouvé son utilité dans cette indication précise. Les résultats discordants sont probablement liés à l'hétérogénéité des critères d'inclusion et des objectifs primaires de ces études. Cependant, il nous est désormais possible d'identifier un certain nombre de situations cliniques liées à la maladie asthmatique où la mesure du NO expiré pourrait utilement aider au diagnostic, à la prise en charge thérapeutique de l'asthme chez l'adulte [87] et l'enfant (**Tableau 4**). Ainsi, l'utilisation de la mesure du NO expiré améliore clairement la prise en charge de certaines populations d'asthmatiques bien ciblées comme celle des femmes enceintes [55]. Dans son indication princeps, à savoir la détection non invasive de l'inflammation des voies aériennes, l'utilité de la mesure du NO dans l'air expiré est aujourd'hui unanimement reconnue par les diverses communautés médicales, en

France et dans le monde. Enfin, le recours à des appareils de mesure encombrants a contribué à restreindre cet examen à un cercle relativement confidentiel des laboratoires d'EFR. Il est probable que cette contrainte soit en train de disparaître avec la mise à disposition d'appareils portables [86,88–93] qui pourraient faciliter les études vraie-vie à grande échelle. Nous pourrions dès lors, avec la mesure du NO expiré, ouvrir une nouvelle voie d'explorations non invasives de l'inflammation des voies aériennes, l'inflammométrie, tout en adoptant une approche métabolomique de l'asthme grâce à la quantification d'un métabolite gazeux ubiquitaire, le NO. Ainsi, à l'ère de la mesure du souffle pour la détection et le suivi des maladies respiratoires, le pneumologue aura dès lors à sa disposition des outils pour quantifier non seulement les volumes et débits de l'air expiré mais également la composition chimique de ce dernier.

Remerciements

Ce texte a été approuvé par les membres du conseil scientifique de la société de pneumologie de langue française (SPLF) à qui nous exprimons notre reconnaissance. Nous tenons à remercier plus particulièrement les Docteurs et Professeurs Philippe Bonniaud, Jean-Charles Dalphin, Agnès Hamzaoui, Christophe Leroyer et Thierry Perez qui ont relu et contribué à améliorer ce manuscrit par leurs remarques constructives.

Déclaration d'intérêts

AT Dinh-Xuan a reçu des honoraires de la part d'Aérocrine pour participer à un symposium sur le NO expiré organisé pendant le congrès de pneumologie de langue française en 2013.

P. Berger : au cours des 5 dernières années, Patrick Berger a été investigator principal, coordonnateur, responsable scientifique d'études cliniques promues par les laboratoires Amgen, Novartis, GSK, Astra-Zeneca, Janssen et Boehringer Ingelheim. Il a perçu des honoraires ou des financements pour participation à des congrès, communications, actions de formation, conseil, participation à des groupes d'experts et travaux de recherche de la part des Laboratoires Novartis, GSK, Astra-Zeneca, Chiesi, Takeda et Pierre Fabre.

P. Chanez : a fourni un service de conseil pour Almirall, Boehringer Ingelheim, Centocor, GSK, MSD, AstraZeneca, Novartis, Teva, Chiesi, and Schering Plough. Il a participé à des boards pour Almirall, Boehringer Ingelheim, Centocor, GSK, AstraZeneca, Novartis, Teva, Chiesi, Schering Plough et MSD. Il a reçu des honoraires de conférencier de Almirall, Boehringer Ingelheim, Centocor, GSK, AstraZeneca, Novartis, Teva, Chiesi, Schering Plough et MSD. Il a reçu des subventions sponsorisées par Almirall, Boston scientific, Boehringer Ingelheim, Centocor, GSK, AstraZeneca, Novartis, Teva, Chiesi et Merck.

T. Chinet : au cours des 5 dernières années, Thierry Chinet a perçu des honoraires ou financements pour communication à un congrès, participation à un groupe d'expert et conseils de la part du laboratoire AEROCRINE.

A. Didier : au cours des 5 dernières années Alain Didier a reçu des honoraires pour participation à des boards d'experts ou participation à des symposia de la part de Stallergènes.

N. Roche : au cours des 5 dernières années, Nicolas Roche a perçu des honoraires ou des financements pour participation à des congrès, communications, actions de formation, conseil, participation à des groupes d'experts, de la part des laboratoires/entreprises Aerocrine, Almirall, AstraZeneca, Boehringer Ingelheim, Chiesi, Cipla, GSK, MSD, MundiPharma, Meda, Novartis, Nycomed/Takeda, Pfizer, Stallergènes et Teva. Il a reçu des budgets de recherche de la part des laboratoires Novartis, Nycomed, Pfizer, Boehringer Ingelheim. Il est coordinateur ou investigator principal de projet de recherche promus par les laboratoires Almirall, Novartis et GSK.

I. Annesi-Maesano, A. Chambellan, B. Degano, C. Delclaux, V. Demange, G. Garcia, A. Magnan et B. Mahut déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

References

- [1] Pagnier J, Baudin-Creusa V, Marden MC. La désoxygénéation du milieu ambiant était-elle la fonction première de l'hémoglobine? *Med Sci (Paris)* 2000;16:961–3.
- [2] Thébaud B, Arnal JF, Mercier JC, et al. Inhaled and exhaled nitric oxide. *Cell Mol Life Sci* 1999;55:1103–12.
- [3] Gustafsson LE, Leone AM, Persson MG, et al. Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbits, guinea pigs and humans. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;181:852–7.
- [4] Delclaux C, Dinh-Xuan AT. Art et artefacts de la mesure du NO expiré dans l'asthme. *Rev Mal Respir* 2005;22:209–11.
- [5] Dinh-Xuan AT, Texereau J. Measuring exhaled NO: not only a matter of how—but also why—should we do it? *Eur Respir J* 1998;12:1005–7.
- [6] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=exhaled%20nitric%20oxide>. (consulté le 16 juillet 2014).
- [7] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=exhaled%20nitric%20oxide%20asthma> (consulté le 16 juillet 2014).
- [8] Kharitonov S, Alving K, Barnes PJ. Exhaled and nasal nitric oxide measurements: recommendations. The European Respiratory Society Task Force. *Eur Respir J* 1997;10:1683–93.
- [9] American Thoracic Society, European Respiratory Society. ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171:912–30.
- [10] Dweik RA, Boggs PB, Erzurum SC, et al. An official ATS clinical practice guideline: interpretation of exhaled nitric oxide levels (FE_{NO}) for clinical applications. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;184:602–15.
- [11] de Winter-de Groot KM, van der Ent CK. Nitric oxide in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2005;4:25–9.
- [12] Walker WT, Jackson CL, Lackie PM, et al. Nitric oxide in primary ciliary dyskinesia. *Eur Respir J* 2012;40:1024–32.
- [13] Tieb KP, Cabane J, Aubourg F, et al. Severity of scleroderma lung disease is related to alveolar concentration of nitric oxide. *Eur Respir J* 2007;30:26–30.
- [14] Tieb KP, Hua-Huy T, Kettaneh A, et al. Alveolar concentration of nitric oxide predicts pulmonary function deterioration in scleroderma. *Thorax* 2012;67:157–63.
- [15] Moncada S, Higgs EA. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993;329:2002–12.
- [16] Ricciardolo FL, Sterk PJ, Gaston B, et al. Nitric oxide in health and disease of the respiratory system. *Physiol Rev* 2004;84:731–65.
- [17] Dinh-Xuan AT. Rôle du monoxyde d'azote en physiologie respiratoire et dans la physiopathologie des maladies pulmonaires. *Rev Mal Respir* 1996;13:381–8.
- [18] Mahut B, Louis B, Delclaux C. Mesure du NO expiré : méthodologie. *Rev Mal Respir* 2006;23:6529–365.
- [19] Silkoff PE, McClean PA, Slutsky AS, et al. Marked flow-dependence of exhaled nitric oxide using a new technique to exclude nasal nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155:260–7.
- [20] George SC, Hogan M, Permutt S, et al. Modeling pulmonary nitric oxide exchange. *J Appl Physiol* 2004;96:831–9.
- [21] Mahut B, Louis B, Zerah-Lancner F, et al. Validity criteria and comparison of analytical methods of flow-independent exhaled NO parameters. *Respir Physiol Neurobiol* 2006;153:148–56.
- [22] Delclaux C, Mahut B, Zerah-Lancner F, et al. Increased nitric oxide output from alveolar origin during liver cirrhosis versus bronchial source during asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165:332–7.
- [23] Lehtimaki L, Kankaanranta H, Saarelainen S, et al. Extended exhaled NO measurement differentiates between alveolar and bronchial inflammation. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:1557–61.
- [24] Tsoukias NM, George SC. A two-compartment model of pulmonary nitric oxide exchange dynamics. *J Appl Physiol* 1998;85:653–66.
- [25] Tsoukias NM, Tannous Z, Wilson AF, et al. Single-exhalation profiles of NO and CO₂ in humans: effect of dynamically changing flow rate. *J Appl Physiol* 1998;85:642–52.
- [26] Höglund M, Malinovschi A, Norback D, et al. Added value with extended NO analysis in atopy and asthma. *Clin Physiol Funct Imaging* 2011;31:294–9.

- [27] Mahut B, Delclaux C, Tillie-Leblond I, et al. Both inflammation and remodeling influence nitric oxide output in children with refractory asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:252–6.
- [28] Payne DN, Adcock IM, Wilson NM, et al. Relationship between exhaled nitric oxide and mucosal eosinophilic inflammation in children with difficult asthma, after treatment with oral prednisolone. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:1376–81.
- [29] Mahut B, Trinquart L, Le Bourgeois M, et al. Multicentre trial evaluating alveolar NO fraction as a marker of asthma control and severity. *Allergy* 2010;65:636–44.
- [30] Recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide in adults and children-1999. This official statement of the American Thoracic Society was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:2104–17.
- [31] ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171:912–30.
- [32] Baraldi E, de Jongste JC. Measurement of exhaled nitric oxide in children, 2001. *Eur Respir J* 2002;20:223–37.
- [33] Buchvald F, Baraldi E, Carraro S, et al. Measurements of exhaled nitric oxide in healthy subjects age 4 to 17 years. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:1130–6.
- [34] Warke TJ, Fitch PS, Brown V, et al. Exhaled nitric oxide correlates with airway eosinophils in childhood asthma. *Thorax* 2002;57:383–7.
- [35] Silkoff PE, Lent AM, Busacker AA, et al. Exhaled nitric oxide identifies the persistent eosinophilic phenotype in severe refractory asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:1249–55.
- [36] Smith AD, Cowan JO, Filsell S, et al. Diagnosing asthma: comparisons between exhaled nitric oxide measurements and conventional tests. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;169:473–8.
- [37] Chatkin JM, Ansarin K, Silkoff PE, et al. Exhaled nitric oxide as a non-invasive assessment of chronic cough. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159:1810–3.
- [38] Kowal K, Bodzenta-Lukaszyk A, Zukowski S. Exhaled nitric oxide in evaluation of young adults with chronic cough. *J Asthma* 2009;46:692–8.
- [39] Oh MJ, Lee JY, Lee BJ, et al. Exhaled nitric oxide measurement is useful for the exclusion of non-asthmatic eosinophilic bronchitis in patients with chronic cough. *Chest* 2008;134:990–5.
- [40] Smith AD, Cowan JO, Brassett KP, et al. Exhaled nitric oxide: a predictor of steroid response. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;172:453–9.
- [41] Hahn PY, Morgenthaler TY, Lim KG. Use of exhaled nitric oxide in predicting response to inhaled corticosteroids for chronic cough. *Mayo Clin Proc* 2007;82:1350–5.
- [42] Pérez-de-Llano LA, Carballada F, Castro Añón O, et al. Exhaled nitric oxide predicts control in patients with difficult-to-treat asthma. *Eur Respir J* 2010;35:1221–7.
- [43] Berkman N, Avital A, Breuer R, et al. Exhaled nitric oxide in the diagnosis of asthma: comparison with bronchial provocation tests. *Thorax* 2005;60:383–8.
- [44] Cowan DC, Cowan JO, Palmary R, et al. Effects of steroid therapy on inflammatory cell subtypes in asthma. *Thorax* 2010;65:384–90.
- [45] GINA. Global strategy for asthma management and prevention. Global Initiative for Asthma; 2014 [<http://www.ginasthma.org>, consulté le 16 juillet 2014].
- [46] Ozier A, Girodet PO, Bara I, et al. Control maintenance can be predicted by exhaled NO monitoring in asthmatic patients. *Respir Med* 2011;105:989–96.
- [47] Michals A, Baldassarre S, Van Muylem A. Exhaled nitric oxide and asthma control: a longitudinal study in unselected patients. *Eur Respir J* 2008;31:539–46.
- [48] Papaioannou AI, Minas M, Tanou K, et al. Exhaled NO may predict loss of asthma control: the effect of concomitant allergic rhinitis. *Eur Respir J* 2009;34:1006–7.
- [49] Pijnenburg MW, Hofhuis W, Hop WC, et al. Exhaled nitric oxide predicts asthma relapse in children with clinical asthma remission. *Thorax* 2005;60:215–8.
- [50] Smith AD, Cowan JO, Brassett KP, et al. Use of exhaled nitric oxide measurements to guide treatment in chronic asthma. *N Engl J Med* 2005;352:2163–73.
- [51] Shaw DE, Berry MA, Thomas M, et al. The use of exhaled nitric oxide to guide asthma management: a randomized controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;176:231–7.
- [52] Szefler SJ, Mitchell H, Sorkness CA, et al. Management of asthma based on exhaled nitric oxide in addition to guideline-based treatment for inner-city adolescents and young adults: a randomised controlled trial. *Lancet* 2008;372:1065–72.
- [53] Pijnenburg MW, Bakker EM, Hop WC, et al. Titrating steroids on exhaled nitric oxide in children with asthma: a randomized controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;172:831–6.
- [54] de Jongste JC, Carraro S, Hop WC, et al. Daily telemonitoring of exhaled nitric oxide and symptoms in the treatment of childhood asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2009;179:93–7.
- [55] Powell H, Murphy VE, Taylor DR, et al. Management of asthma in pregnancy guided by measurement of fraction of exhaled nitric oxide: a double-blind, randomised controlled trial. *Lancet* 2011;378:983–90.
- [56] Calhoun WJ, Ameredes BT, King TS, et al. Comparison of physician-, biomarker-, and symptom-based strategies for adjustment of inhaled corticosteroid therapy in adults with asthma: the BASALT randomized controlled trial. *JAMA* 2012;308:987–97.
- [57] Petsky HL, Cates CJ, Lasserson TJ, et al. A systematic review and meta-analysis: tailoring asthma treatment on eosinophilic markers (exhaled nitric oxide or sputum eosinophils). *Thorax* 2012;67:199–208.
- [58] Donohue JF, Jain N. Exhaled nitric oxide to predict corticosteroid responsiveness and reduce asthma exacerbation rates. *Respir Med* 2013;107:943–52.
- [59] Robinson DS, Campbell DA, Durham SR, et al. Systematic assessment of difficult-to-treat asthma. *Eur Respir J* 2003;22:478–83.
- [60] Williams LK, Pladenvall M, Xi H, et al. Relationship between adherence to inhaled corticosteroids and poor outcomes among adults with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:1288–93.
- [61] Murphy AC, Proeschal A, Brighling CE, et al. The relationship between clinical outcomes and medication adherence in difficult-to-control asthma. *Thorax* 2012;67:751–3.
- [62] Beck-Ripp J, Gries M, Arenz S, et al. Changes of exhaled nitric oxide during steroid treatment in childhood asthma. *Eur Respir J* 2002;19:1015–9.
- [63] Delgado-Corcoran C, Kissoon N, Murphy SP, et al. Exhaled nitric oxide reflects asthma severity and asthma control. *Pediatr Crit Care Med* 2004;5:48–52.
- [64] Cano-Garcinuno A, Carvajal-Uruena I, Diaz-Vazquez CA, et al. Clinical correlates and determinants of airway inflammation in pediatric asthma. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2010;20:303–10.
- [65] Katsara M, Donnelly D, Iqbal S, et al. Relationship between exhaled nitric oxide levels and compliance with inhaled corticosteroids in asthmatic children. *Respir Med* 2006;100:1512–7.
- [66] McNicholl DM, Stevenson M, McGarvey LP, et al. The utility of fractional exhaled nitric oxide suppression in the identification of nonadherence in difficult asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2012;186:1102–8.
- [67] Chérot-Kornobis N, Hulo S, de Broucker V, et al. Induced sputum, exhaled NO and breath condensate in occupational medicine. *J Occup Environ Med* 2012;54:922–7.

- [68] van der Walt A, Singh T, Baatjies R, et al. Work-related allergic respiratory disease and asthma in spice mill workers is associated with inhalant chili pepper and garlic exposures. *Occup Environ Med* 2013;70:446–52.
- [69] Baatjies R, Jeebhay MF. Sensitisation to cereal flour allergens is a major determinant of elevated exhaled nitric oxide in bakers. *Occup Environ Med* 2013;70:310–6.
- [70] Polychronakis I, Thanasis E, Raulf-Heimsoth M, et al. Occupational non-immediate-type allergic asthma due to ammonium persulfate. *Adv Exp Med Biol* 2013;755:79–84.
- [71] Thanasis E, Polychronakis I, van Kampen V, et al. Occupational immediate-type allergic asthma due to potassium tetrachloroplatinate in production of cytotoxic drugs. *Adv Exp Med Biol* 2013;755:47–53.
- [72] Dykewicz MS. Occupational asthma: current concepts in pathogenesis, diagnosis, and management. *J Allergy Clin Immunol* 2009;123:519–28.
- [73] Sastre J, Carnes J, García del Potro M, et al. Occupational asthma caused by triglycidyl isocyanurate. *Int Arch Occup Environ Health* 2011;84:547–9.
- [74] Walters GI, Moore VC, Robertson AS, et al. An outbreak of occupational asthma due to chromium and cobalt. *Occup Med (Lond)* 2012;62:533–40.
- [75] Vizcaya D, Mirabelli MC, Orriols R, et al. Functional and biological characteristics of asthma in cleaning workers. *Respir Med* 2013;107:673–83.
- [76] Tossa P, Paris C, Zmirou-Navier D, et al. Increase in exhaled nitric oxide is associated with bronchial hyperresponsiveness among apprentices. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;182:738–44.
- [77] Corradi M, Gergelova P, Di Pilato E, et al. Effect of exposure to detergents and other chemicals on biomarkers of pulmonary response in exhaled breath from hospital cleaners: a pilot study. *Int Arch Occup Environ Health* 2012;85:389–96.
- [78] Bohadana AB, Hannhart B, Ghezzo H, et al. Exhaled nitric oxide and spirometry in respiratory health surveillance. *Occup Med (Lond)* 2011;61:108–14.
- [79] Sikkeland LI, Eduard W, Skogstad M, et al. Recovery from workplace-induced airway inflammation 1 year after cessation of exposure. *Occup Environ Med* 2012;69:721–6.
- [80] de Broucker V, Hulo S, Cherot-Kornobis N, et al. Interest of exhaled biomarkers in occupational asthma to latex: a case report. *Arch Environ Occup Health* 2012;67:170–6.
- [81] Malo JL, Chan-Yeung Moira, Kennedy S. Occupational agents. In: Barnes PJ, Drazen JM, Rennard SI, Thomson NC, editors. *Asthma and COPD. Basic mechanisms and clinical management*. 2nd ed. Academic Press; 2009 [878 p].
- [82] Moscato G, Pala G, Barnig C, et al. EAACI consensus statement for investigation of work-related asthma in non-specialized centres. *Allergy* 2012;67:491–501.
- [83] Jares EJ, Baena-Cagnani CE, Gómez RM. Diagnosis of occupational asthma: an update. *Curr Allergy Asthma Rep* 2012;12:221–31.
- [84] Berg J, Lindgren P. Economic evaluation of FE_{NO} measurement in diagnosis and 1-year management of asthma in Germany. *Respir Med* 2008;102:219–31.
- [85] Price D, Berg J, Lindgren P. An economic evaluation of NIOX MINO airway inflammation monitor in the United Kingdom. *Allergy* 2009;64:431–8.
- [86] Measuring fractional exhaled nitric oxide concentration in asthma: NIOX MINO, NIOX VERO and NObreath. National Institute for Health and Care Excellence (NICE). <https://www.nice.org.uk/Guidance/DG12>. (consulté le 16 juillet 2014).
- [87] Hanania NA, Wenzel S, Rosén K, et al. Exploring the effects of omalizumab in allergic asthma: an analysis of biomarkers in the EXTRA study. *Am J Respir Crit Care Med* 2013;187:804–11.
- [88] Boot JD, de Ridder L, de Kam ML, et al. Comparison of exhaled nitric oxide measurements between NIOX MINO electrochemical and Ecomedics chemiluminescence analyzer. *Respir Med* 2008;102:1667–71.
- [89] Kalliola S, Malmberg P, Rito T, et al. Can we use portable nitric oxide analyzer in young children? *Pediatr Pulmonol* 2011;46:627–31.
- [90] Antus B, Horvath I, Barta I. Assessment of exhaled nitric oxide by a new hand-held device. *Respir Med* 2010;104:1377–80.
- [91] Mandon J, Höglund M, Merkus PJ, et al. Exhaled nitric oxide monitoring by quantum cascade laser: comparison with chemiluminescent and electrochemical sensors. *J Biomed Opt* 2012;17:017003.
- [92] Korn S, Telke I, Kornmann O, et al. Measurement of exhaled nitric oxide: comparison of different analysers. *Respirology* 2010;15:1203–8.
- [93] Alving K, Janson C, Nordvall L. Performance of a new hand-held device for exhaled nitric oxide measurement in adults and children. *Respir Res* 2006;7:67.