



TOXICOLOGIE DU BERYLLIUM

Pr. Alain Botta

Laboratoire de Biogénotoxicologie et Mutagenèse Environnementale
(EA 1784)

Faculté de Médecine Université de la Méditerranée

FR ECCOREV Ecosystèmes Continentaux et Risques Environnementaux
Europôle de l'Arbois

Janvier 2008

Principaux secteurs utilisant le Béryllium

Be : plus léger que Al, plus résistant que l'acier , résistant à la corrosion, bon conducteur thermique, non magnétique

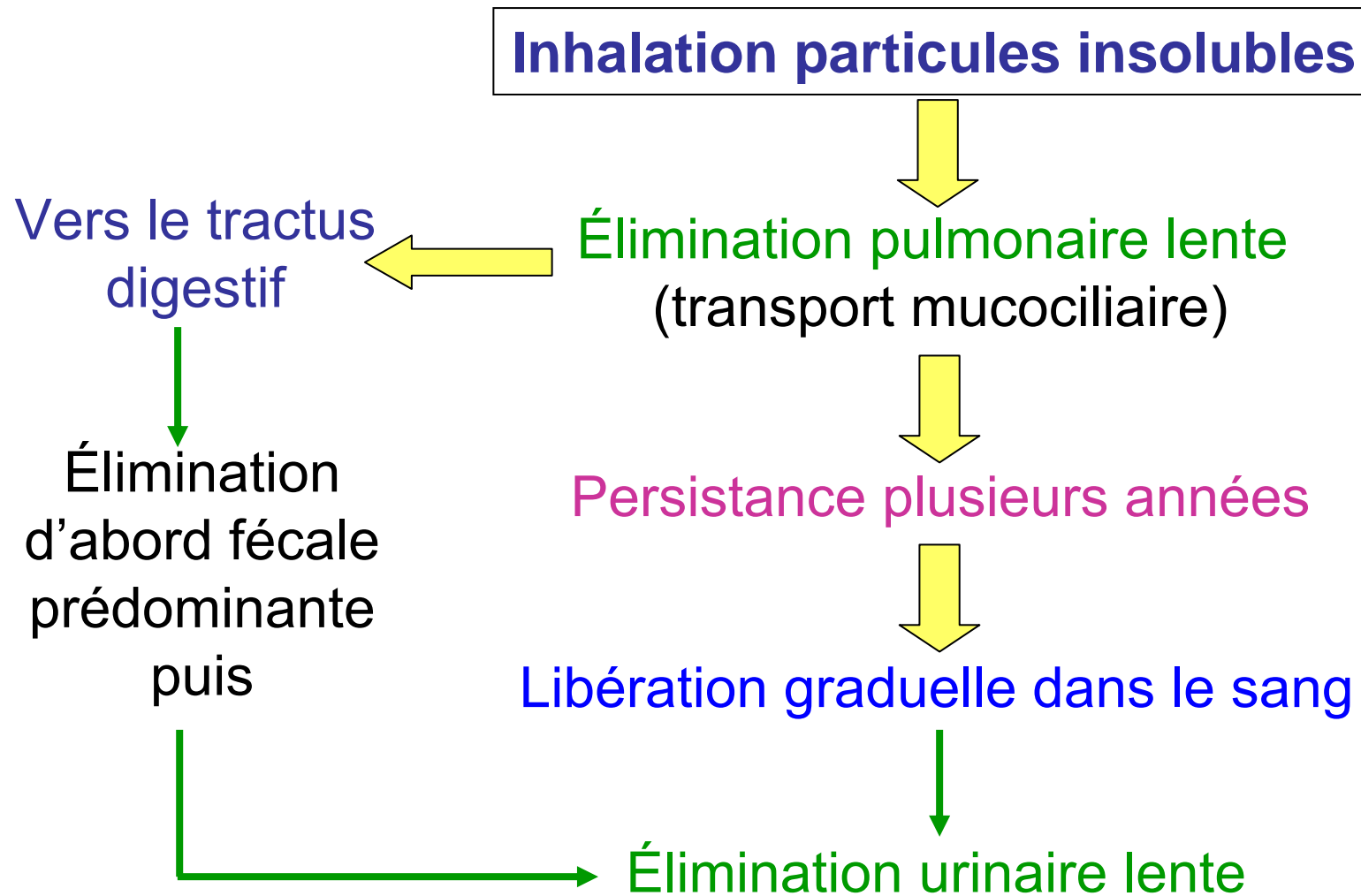
- métallurgie et fabrication d'alliages
- industrie des métaux précieux
- aérospatiale
- industrie nucléaire et militaire
- instrumentation scientifique et technique

Hydrosolubilité des sels de Béryllium

Propriété	Béryllium métallique	Fluorure	Chlorure	Oxyde	Hydroxyde	Sulfate (anhydre)	Sulfate (tétra-hydrate)	Nitrate	Carbonate	Phosphate
CAS N°	7 440-41-7	7 787-49-7	7 787-47-5	1 304-56-9	13 327-32-7	13 510-49-1	77 787-56-6	13 597-99-4	66 104-24-3	35 089-00-0
Formule moléculaire	Be	BeF ₂	BeCl ₂	BeO	Be(OH) ₂	BeSO ₄	BeSO ₄ · 4H ₂ O	Be(NO ₃) ₂	BeCO ₃ + Be(OH) ₂	Be(PO ₄) ₂
Poids moléculaire	9,012	47,01	79,93	25,01	43,03	105,07	177,14	187,07	112,05	271,03
Solubilité dans l'eau (mg/litre)	Insoluble	Très soluble	Très soluble	Très peu soluble	Très peu soluble	Insoluble dans l'eau froide Devient tétrahydrate dans l'eau chaude	Très soluble	Très soluble	Insoluble dans l'eau froide Se décompose dans l'eau chaude	Soluble

Toxicocinétique du Béryllium (1)

- Non étudiée chez l'homme
- Expérimentation animale uniquement



Toxicocinétique du Béryllium (2)

Inhalation particules solubles

Élimination biphasique

Phase rapide

Transport mucociliaire

(qqes jours, qqes semaines)

Vers le tractus digestif

Élimination
d'abord fécale
prédominante
puis

Phase lente et prolongée

Via les ganglions trachéobronchiques

Ques mois pour
les particules très solubles

Ques années pour les
particules modérément solubles

Libération graduelle dans le sang

Composés solubles plus résorbés que composés modérément solubles

Élimination urinaire lente

Toxicocinétique du Béryllium (3)

Ingestion des particules



Résorption faible (<1%)



Stockage osseux



Élimination fécale
prédominante
puis



Élimination urinaire lente

Toxicocinétique du Béryllium (4)

Be Cl₂ très soluble

- 1/2 vie pulmonaire 20 jours
- 1/3 quantité inhalée passe dans le sang

BeO très peu soluble

- 1/2 vie pulmonaire 1 an

90 % de la dose absorbée éliminés dans les urines jusqu'à 10 ans après arrêt de l'exposition

Problématique de la pénétration cutanée

- Études « in vitro » sur peau humaine
- Processus pouvant intervenir dans la sensibilisation

Particules fines de Be ou BeO ($\leq 1 \mu\text{m}$)



Contact cutané



Dynamique des particules



Pénétration couche cornée



Accumulation couche germinative de l'épiderme



Cellules de Langerhans

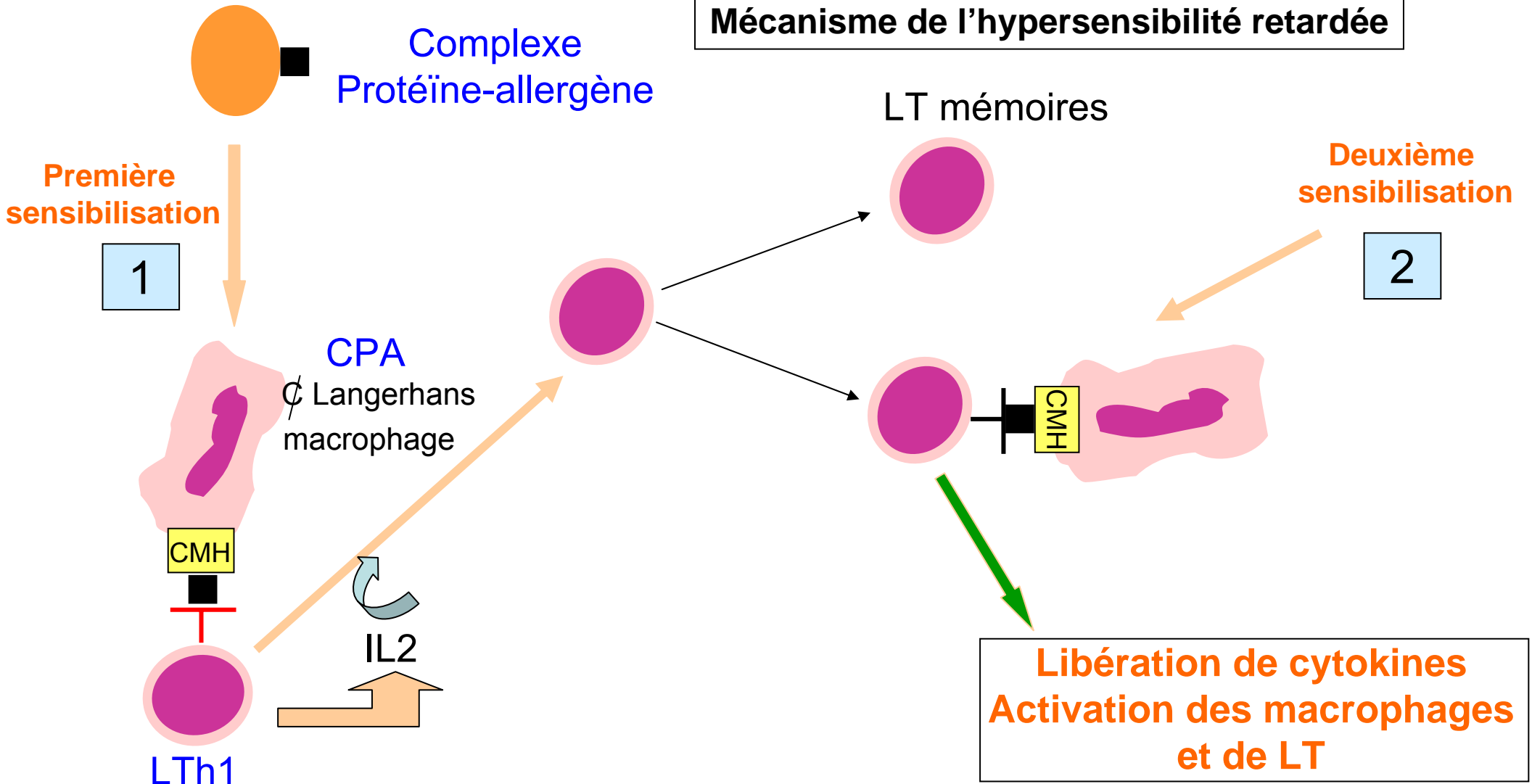


Initiation de la sensibilisation ?

Mécanisme d'action toxique du Be

- Mécanisme immuno-allergique admis dans la genèse de la beryllose chronique
- Immunité de type cellulaire (hypersensibilité retardée type IV de Gell et Coombs)
 - Présence de lymphocytes T CD4⁺ Be-spécifiques dans le sang et les poumons
 - Réaction d'hypersensibilité indépendante de l'intensité de l'exposition (aux faibles concentrations)

Mécanisme de l'hypersensibilité retardée



CPA : cellule présentatrice de l'antigène
 IL 2 : interleukine 2
 LTh1 : lymphocyte T phase 1 (auxiliaires)
 LT mémoires : lymphocytes T mémoires

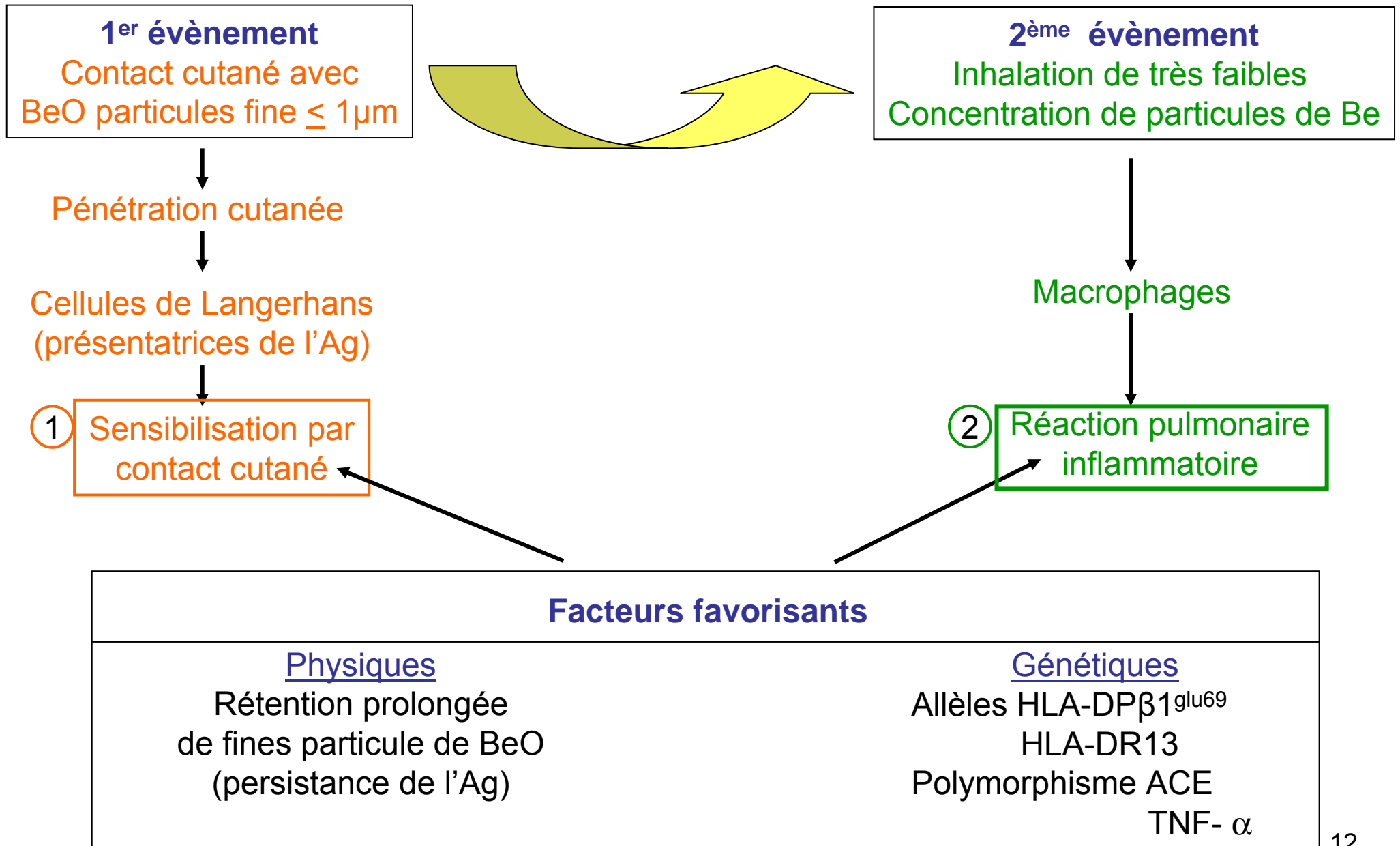
■ Allergène
 CMH Complexe majeur d'histocompatibilité de classe II
 T Récepteur de la cellule T

Rôle probable de la voie cutanée dans la sensibilisation
et importance de la susceptibilité individuelle

ARGUMENTS

- Pas de relation dose-réponse entre concentration atmosphérique et sensibilisation au Be
- L'abaissement significatif des niveaux d'exposition n'a pas diminué significativement le taux de sensibilisation parmi les sujets exposés
- 90 % des sujets atteints de Béryllose chronique sont porteurs de l'allèle HLA-DP β 1^{glu69} (Glu← Lys)

HYPOTHESE



- Études épidémiologiques rétrospectives

Lien entre exposition au Be et cancer du poumon

- Non formellement établi
- Possible voire probable selon certaines études

- Expérimentation animale

Le Béryllium est cancérogène au niveau des poumons et des os

Le Be est classé Groupe 1 CIRC
Groupe B1 (probable) USEPA (Environmental Protection Agency)
Groupe 2 (probable) UE

- Tests de génotoxicité

Actuellement en cours de révision

Ils orientent vers des mutations et aberrations chromosomiques

Inconvénient : seuls les sels solubles (BeSO_4 , BeCl_2) sont étudiés

L'exposition humaine est surtout représentée par les particules insolubles

Hypothèse de génotoxicité

Particules insolubles → Réaction inflammatoire

Lésions de l'ADN

ERO, ERN

Espèces radicalaires

Directes

Indirectes

Oxydation

CSB

Adduits exocycliques

Test des Comètes

HPLC-MS/MS
Immunohistochimie

Bérylliose chronique (1)

❖ **Granulomatose** systémique avec atteinte pulmonaire largement prédominante

❖ **Signes précoces**

asthénie

toux discrète

dyspnée d'effort croissante

hippocratisme digital et cyanose

❖ **Signes tardifs**

toux sèche tenace

dyspnée invalidante

douleurs thoraciques

anorexie, amaigrissement

arthralgies

évolution vers insuffisance respiratoire

Béryllose chronique (2)

❖ Histopathologie

granulomes pulmonaires accompagnés d'une alvéolite avec accumulation de lymphocytes T CD4⁺ puis fibrose interstitielle

❖ Radiologie

- au début id. pneumoconiose
- puis id. sarcoïdose (principal diagnostic différentiel)

❖ Lavage broncho-pulmonaire

riche en lymphocytes TCD4⁺

❖ Signes fonctionnels : très variables :

syndrome obstructif, restrictif ou mixte
hypoxémie d'abord à l'effort puis au repos

❖ Évolution

- guérison totale exceptionnelle (corticothérapie)
- réversibilité partielle possible des signes radiologique et fonctionnels après suppression de l'exposition

Bérylliose chronique (3)

- La sensibilisation paraît le passage obligatoire vers la bérylliose chronique
- 10 % (\bar{M}) des sujets exposés au Be se sensibilisent. Parmi eux 50 % développent une bérylliose chronique
- La sensibilisation apparaît après un temps de latence très variable = quelques mois à > 40 ans
- La sensibilisation pourrait progresser vers la maladie même en l'absence d'une exposition continue (persistance des particules insolubles dans les poumons)

Bérylliose chronique (4)

Hypothèse d'évolution en 3 phases

1 - Phase de sensibilisation

2 - Phase sub-clinique

Sensibilisation + histopathologie

Pas de signes cliniques

3 - Phase clinique

Sensibilisation + histopathologie + signes cliniques
et/ou radiologiques et/ou fonctionnels

Béryllose chronique (5)

INCONNUES

1. Existe-t-il un niveau d'exposition sans risques ?
2. Rôle de la taille des particules ?
3. Rôle de la spéciation du Be ?
4. Durée minimale d'exposition susceptible d'engendrer une sensibilisation ?
5. Délai maximal d'apparition de la béryllose après arrêt de l'exposition ?
6. Facteurs déterminant le passage à la sensibilisation (seuil ? expositions associées ?)
7. Problème du diagnostic différentiel avec la sarcoïdose : études en 2003 et 2006 suggèrent que jusqu'à 40 % des cas étiquetés sarcoïdose seraient des bérylloses.

❖ Biomarqueurs d'exposition

Dosage du Be urinaire par ICP-MS ou AAS-EA

Les dosages en fin de poste reflèteraient plus le pool de Be mobilisé récemment que l'exposition récente
Pas de valeur-guide proposée actuellement

A titre indicatif :

- Exposition à $0,2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de poussière \Rightarrow
[C] de Be urinaire $\simeq 0,15 \mu\text{g}/\text{L}$
- Chez les sujets non exposés professionnellement
[C] $< 0,03 \mu\text{g}/\text{L}$ (limite de détection analytique)

❖ Biomarqueurs d'effets

- Test épicutané (patch-test) avec sel soluble (fluorure, chlorure, sulfate)
- Test de prolifération lymphocytaire au Béryllium (TPL Be) ancien nom TTL (test de transformation lymphocytaire)
- Dosage de la Néoptérine sérique
- Immuno TPL

Test épicutané (patch-test)
avec sel soluble (fluorure, chlorure, sulfate)

Non recommandé car :

- risque de sensibilisation chez un sujet non exposé
- risque de flambée de l'affection
- risque d'apparition de granulome au site d'application avec risque de choc anaphylactique

Test de prolifération lymphocytaire au Be (TPL Be)

- Détecte l'hypersensibilité retardée

- Principe :

Mise en culture et induction de la transformation « in vitro » en lymphoblastes des lymphocytes T sensibilisés et prolifération en présence de Be.

La prolifération est mesurée par l'incorporation de thymidine tritiée

- Intérêt :

Détection précoce de la sensibilisation au Be

Aide au diagnostic d'une béryllose

TPL Be (suite)

- Test réalisable sur lymphocytes circulants ou ceux provenant du liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA)
- Le TPL Be sur LBA n'est théoriquement indiqué que si 2 TPL Be sanguins ont été positifs
- Préconisé aux USA et au Canada mais réticences en Europe car énorme variabilité intra et inter-laboratoires (depuis 2001 protocole mieux standardisé)

- Au Canada le diagnostic de béryllose chronique est posé sur :

2 TPL Be sanguins positifs

ou 1 TPL Be sur LBA positif

ou les 2

+ signes cliniques

+ anomalies radiologiques ou anomalies fonctionnelles

TPL Be (suite)

Précautions fondamentales

- Le test doit être réalisé dans un laboratoire spécialisé

Il faut savoir l'exécuter et l'interpréter

- Il doit être réalisé sur cellules vivantes (prélèvement analysé dans les 24 h) sinon faux (-)
- Attention aux faux (+) chez les gros fumeurs

Tests en cours de validation

Dosage de la néoptérine

- Excrétée par les cellules en prolifération
- Index de la réaction immunitaire à médiation cellulaire
- Dosage sérique ou dosage « in vitro » dans les lymphocytes en présence et absence de Be

Immuno TPL

Tri cellulaire par cytométrie de flux

- Évite l'utilisation de thymidine tritiée
- Permettrait de détecter la prolifération de populations cellulaires spécifiques de LTCD4⁺, LTCD3⁺, LTCD8⁺ en réponse au Be